

พืชตัดแปลงพันธุกรรม และการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพ



สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ
กรมวิชาการเกษตร

คำนำ

เอกสารประกอบการบรรยายเรื่อง “พีชตัดแปลงพันธุกรรมและการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพ” ฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการจัดการความรู้ ของสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ตามแผนการจัดการความรู้ของกรมวิชาการเกษตร โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ นักวิชาการและผู้เกี่ยวข้องได้ทราบถึงข้อมูลในการสร้างสร้างพีชตัดแปลงพันธุกรรม ขั้นตอนในการทดสอบภาคสนาม ตลอดจนข้อมูลด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ อย่างเป็นระบบ และสามารถนำมาใช้เป็นคู่มือในการปฏิบัติงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การจัดทำเอกสารฉบับนี้ สำเร็จลงได้ด้วยความร่วมมือของคณะทำงานจัดการความรู้ของสำนัก วิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพประจำปี 2557 – 58 ทุกท่าน และขอขอบคุณ ดร.ชาลินี คงสวัสดิ์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ดร.หทัยรัตน์ อุไรรงค์ ผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีชีวภาพ และ ดร.กษิตติศ ดิษฐบรรจง สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ได้เสียสละเวลาในการเพิ่มเติมแก้ไขเอกสารฉบับนี้ให้มีเนื้อหาสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ และผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้การสนับสนุนในการจัดทำเอกสารในครั้งนี้

คณะทำงานจัดการความรู้ ประจำปี 2557-58

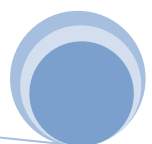
สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ

สิงหาคม 2558



สารบัญ

	หน้า
การสร้างพีชดัดแปลงพันธุกรรม	1
การประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพของพีชดัดแปลงพันธุกรรม	12
- การประเมินความปลอดภัยด้านอาหาร	12
- การประเมินความปลอดภัยด้านสิ่งแวดล้อม	19
ขั้นตอนการทดสอบพีชดัดแปลงพันธุกรรมก่อนการปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม	23
- การทดสอบพีชดัดแปลงพันธุกรรมระดับห้องปฏิบัติการ/โรงเรือน	23
- การทดสอบพีชดัดแปลงพันธุกรรมภาคสนามขนาดเล็ก	26
- การทดสอบพีชดัดแปลงพันธุกรรมภาคสนามขนาดใหญ่	28
ร่างมาตรการการทดสอบกำกับดูแลงานทดสอบความเสี่ยงของพีชดัดแปลงพันธุกรรม ในแปลงทดลองของทางราชการ	33



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 การโคลนยีนในแบคทีเรียโดยใช้พลาสมิดเป็นเวกเตอร์	3
ภาพที่ 2 ภาพจำลองโครงสร้างยีนที่ต้องการถ่ายเข้าสู่พืช (chimeric construct)	4
ภาพที่ 3 แสดงชุดโครงสร้างของ Ti-plasmid	5
ภาพที่ 4 การถ่ายยีนเข้าสู่พืช	8
ภาพที่ 5 ขั้นตอนการดำเนินการ : ทดสอบความปลอดภัยทางชีวภาพพืชตัดแปลงพันธุกรรม	30
ภาพที่ 6 ขั้นตอนการดำเนินการ : ทดสอบภาคสนามพืชตัดแปลงพันธุกรรม กรณี NK603	30
ภาพที่ 7 ขั้นตอนการดำเนินการ: ทดสอบภาคสนามพืชตัดแปลงพันธุกรรม กรณีนำเข้าจากต่างประเทศ	31
ภาพที่ 8 ขั้นตอนการดำเนินการ : ทดสอบภาคสนามพืชตัดแปลงพันธุกรรม กรณีพัฒนาในต่างประเทศ	31
ภาพที่ 9 ขั้นตอน : การรับฟังความคิดเห็น	32
ภาพที่ 10 แปลงทดสอบมะละกอตัดแปลงพันธุกรรม	38
ภาพที่ 11 แปลงทดสอบมะเขือเทศตัดแปลงพันธุกรรม	38
ภาพที่ 12 แปลงทดสอบข้าวโพดตัดแปลงพันธุกรรม	39



บทที่ 1

การสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรม

พืชดัดแปลงพันธุกรรมหมายถึงพืชที่ได้รับการตกแต่งพันธุกรรมหรือตัดต่อพันธุกรรม โดยการผสมและการคัดเลือกพันธุ์ด้วยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) เป็นการนำเอายีน (gene) หรือหน่วยพันธุกรรม ที่ได้มีการศึกษาถึงคุณสมบัติและหน้าที่โดยชัดเจนจากสิ่งมีชีวิตหนึ่งนำไปใส่ในอีกสิ่งมีชีวิตหนึ่ง เพื่อให้มีการแสดงออกของยีน หรือคุณลักษณะที่จำเพาะเจาะจงตามที่เรากำลังต้องการ เช่น มีความต้านทานต่อแมลงศัตรูพืช คงทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม หรือมีการเพิ่มขึ้นของสารโภชนาการบางชนิด เช่น วิตามิน โปรตีน ไขมัน เป็นต้น

ในสมัยก่อนได้มีความพยายามในการปรับปรุงพันธุ์พืชอย่างต่อเนื่องโดยมีการใช้หลักการทางพันธุศาสตร์ของเมนเดลเพื่อให้ได้ลักษณะตามที่ต้องการ ซึ่งต้องใช้ระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์เป็นระยะเวลานานกว่าที่จะได้พืชพันธุ์ใหม่ ต่อมาความก้าวหน้าทางวิทยาการด้านเซลล์และชีววิทยาระดับอนุ ทำให้ก้าวเข้าสู่ยุคใหม่ของการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยการตัดต่อนำเอารหัสพันธุกรรมจากสิ่งมีชีวิตหนึ่งไปใส่ในพันธุกรรมของอีกสิ่งมีชีวิตหนึ่ง ซึ่งเทคโนโลยีใหม่นี้ทำให้เกิดการพัฒนาสายพันธุ์ชนิดใหม่ๆ ที่เรียกว่าพืชดัดแปลงพันธุกรรม ซึ่งช่วยเพิ่มโอกาสและประสิทธิภาพการปรับปรุงพันธุ์พืช ไม่ว่าจะเป็นการถ่ายฝากยีนที่ทนทานต่อศัตรูพืช ยาปราบวัชพืช และปัญหาต่างๆที่เกิดจากสภาพแวดล้อม เช่น ความแห้งแล้ง ให้กับพืชที่ต้องการได้ นอกจากนี้พืชดัดแปลงพันธุกรรมยังสามารถช่วยปรับปรุงคุณภาพของผลิตผลจากพืชได้อีกด้วย เช่น ช่วยให้มีผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวมีอายุยาวนานขึ้นและมีคุณภาพดีขึ้น หรือช่วยปรับปรุงคุณภาพทางด้านโภชนาการ เป็นต้น ทำให้ผลผลิตมีปริมาณเพียงพอและมีคุณภาพ ลดอัตราการใช้สารเคมีในการทำเกษตรกรรมทำให้ต้นทุนในการผลิตพืชไปด้วย และยังสามารถเพิ่มพื้นที่ในการเพาะปลูกโดยสร้างพืชพันธุ์ใหม่ที่ทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมเพื่อนำไปปลูกในพื้นที่แห้งแล้งได้ ในวงการไม้ดอกไม้ประดับการใช้เทคโนโลยีตัดต่อพันธุกรรมจะทำให้ได้สีดอกหลากหลายขึ้น ซึ่งจะช่วยเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมพืชให้มากขึ้น ในปัจจุบัน พืชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมมีหลายชนิด บางชนิดก็มีจำหน่ายอยู่ในท้องตลาดในหลายๆ ประเทศ เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด มันฝรั่ง มะเขือเทศ มะละกอ ฝ้าย คาโนลา

สถานการณ์พืชดัดแปลงพันธุกรรม

สถานการณ์การปลูกพืชดัดแปลงพันธุกรรม ในปี 2557 นับเป็นปีที่ 19 ที่มีการปลูกพืชดัดแปลงพันธุกรรมเชิงพาณิชย์ พื้นที่ปลูกทั่วโลกปัจจุบัน ทั้งสิ้น 1,134.4 ล้านไร่ ใน 28 ประเทศ มีพื้นที่ปลูกเพิ่มขึ้นจากปี 2556 รวม 39.4 ล้านไร่ ประเทศที่ปลูกพืชดัดแปลงพันธุกรรมมากที่สุด อันดับแรก คือ สหรัฐอเมริกาปลูกข้าวโพด ถั่วเหลือง ฝ้าย คาโนลา ชูการ์บีท อัลฟัลฟา มะละกอ สควอส ดัดแปลงพันธุกรรม รองมาคือ บราซิล และอาร์เจนตินา ที่ปลูก ข้าวโพด ถั่วเหลือง และ ฝ้าย

มีการอนุมัติใช้ประโยชน์จากพืชดัดแปลงพันธุกรรมชนิดในเชิงการค้าหลายชนิด ได้แก่ ประเทศสหรัฐอเมริกา ปลูกข้าวโพดทนแล้ง DroughtGard™ และอนุมัติพืชดัดแปลงพันธุกรรมใหม่ 2 ชนิด คือ

มันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรม ที่มีสารก่อมะเร็ง acrylamide ระดับต่ำ และลดการสูญเสียจากอาการแผลซ้ำ อัลฟัลฟาดัดแปลงพันธุกรรม ให้มีลิกนินต่ำ บังคลาเทศ อนุมัติปลูกมะเขือม่วงปีที่ด้านทานแมลง อินโดนีเซียอนุมัติอ้อยดัดแปลงพันธุกรรมให้ทนทานต่อภาวะแล้ง บราซิลอนุมัติถั่วเหลืองทนทานสารกำจัดวัชพืช และถั่วพินโตดัดแปลงพันธุกรรมต้านทานไวรัส (พร้อมปลูกในปี 2559) และเวียดนามอนุมัติปลูกข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมต้านทานแมลง และทนทานสารกำจัดวัชพืช รวม 4 สายพันธุ์ ได้แก่ Bt11 MIR162 Mon89034 และ NK603

ขั้นตอนการสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรม

1. การค้นหายีนหรือดีเอ็นเอที่สนใจ

ก่อนที่จะดำเนินงานต้องทราบว่ายีนที่ต้องการโคลนหรือสืบค้นนั้น มีแหล่งของยีนจากสิ่งมีชีวิตชั้นสูงหรือจากเชื้อจุลินทรีย์ใด เป็นแบคทีเรีย ไวรัสหรือเชื้อรา หลังจากนั้นจึงทำการเตรียมดีเอ็นเอจากสิ่งมีชีวิตที่สนใจ ซึ่งดีเอ็นเออาจจะได้มาจากแหล่งต่างๆ เช่น ดีเอ็นเอที่แยกได้มาจากเซลล์ของสิ่งมีชีวิตโดยตรง หรือ ดีเอ็นเอที่สังเคราะห์จากอาร์เอ็นเอในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เรียกดีเอ็นเอที่ได้ว่าดีเอ็นเอสายคู่ผสม (complementary DNA หรือ cDNA)

2. การเตรียมดีเอ็นเอพาหะ

ในการโคลนยีนต้องอาศัยดีเอ็นเอพาหะ (vector) เป็นตัวรับชิ้นส่วนของยีนที่ต้องการศึกษา ภายหลังจากนำดีเอ็นเอผสมเข้าสู่เซลล์อาศัย จะทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนของยีนที่ต้องการได้ ดีเอ็นเอพาหะที่นิยมกันอย่างแพร่หลายคือ พลาสมิดดีเอ็นเอ (plasmid DNA) มีขนาดเล็ก รูปร่างกลม สามารถจำลองตัวเอง (safe-replication) ได้ และพบอยู่เป็นอิสระไม่รวมกับโครโมโซมของแบคทีเรียในธรรมชาติพลาสมิดเหล่านี้มีคุณสมบัติบางประการ เช่น ทำให้แบคทีเรียสามารถต้านทานสารปฏิชีวนะหรือต้านทานโลหะหนัก

3. การตัดต่อยีนหรือดีเอ็นเอที่สนใจเข้าสู่ดีเอ็นเอพาหะ

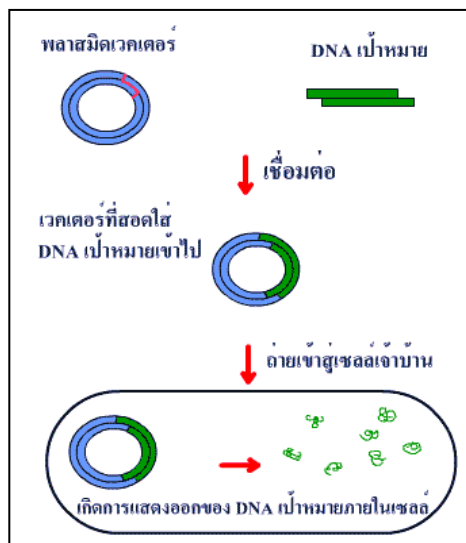
ทำการตัดพลาสมิดและดีเอ็นเอที่ต้องการศึกษาคด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดเดียวกัน จากนั้นจึงเชื่อมต่อดีเอ็นเอที่ต้องการเข้ากับพลาสมิดโดยใช้เอนไซม์ DNA ligase หรือเอนไซม์ชนิดอื่น ๆ เช่น Topoisomerase หลังจากทำการเชื่อมต่อไปแล้วจะได้ดีเอ็นเอสายผสมเพื่อใช้ต่อไป

4. การนำดีเอ็นเอสายผสมเข้าสู่เซลล์อาศัย (host)

วิธีนำดีเอ็นเอสายผสมเข้าสู่เซลล์อาศัย เรียกว่า transformation ซึ่งกระทำได้โดยนำแบคทีเรีย *Escherichia coli* (*E. coli*) ใส่ในสารละลายที่มีไอออนของแคลเซียมในปริมาณสูง จากนั้นนำแบคทีเรียเหล่านี้ผสมกับ พลาสมิดดีเอ็นเอสายผสม ซึ่งจะทำให้ดีเอ็นเอที่อยู่ในพลาสมิดจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ของแบคทีเรียได้ หรือ อาจใช้วิธี electroporation ซึ่งเป็นการใช้กระแส ไฟฟ้าทำให้เกิดรูพรุนเพียงชั่วคราวที่ผนังเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งจะทำให้ดีเอ็นเอภายนอกสามารถเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียได้ หลังจากพลาสมิดดีเอ็นเอสายผสมเข้าสู่แบคทีเรีย จะเพิ่มปริมาณไปพร้อมๆกับการเจริญของแบคทีเรีย ชิ้นส่วนยีนที่สอดแทรกในพลาสมิดก็จะเพิ่มปริมาณมากขึ้นตามไปด้วย

5. การเพาะเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียที่มีดีเอ็นเอสายผสม

ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียบนจานเพาะเชื้อที่มีวุ้นและส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ยาปฏิชีวนะ และสารอื่นๆ ซึ่งใช้ในการคัดเลือกเซลล์แบคทีเรียที่มีดีเอ็นเอสายผสม โดยสามารถดูได้จากสีของโคโลนีหรือกลุ่มของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนยาปฏิชีวนะทำหน้าที่ในการคัดเลือกเซลล์แบคทีเรียที่มีพลาสมิด เพราะแบคทีเรียที่มีพลาสมิดเท่านั้นจึงจะสามารถเจริญบนอาหารที่มียาปฏิชีวนะได้ เนื่องจากการแสดงออกของยีนต้านทานยาปฏิชีวนะในพลาสมิด ซึ่งขั้นตอนต่างๆ แสดงไว้ในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การโคลนยีนในแบคทีเรียโดยใช้พลาสมิดเป็นเวกเตอร์

จาก <http://www.il.mahidol.ac.th/e-media/dna/chapter/images/editable/chap4.gif>

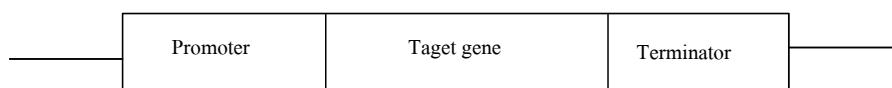
6. การคัดเลือกและตรวจสอบเซลล์แบคทีเรียที่มีดีเอ็นเอสายผสม

หลังจากได้เพาะเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียที่มีดีเอ็นเอสายผสมสามารถทำการคัดเลือกด้วยวิธีอื่นๆต่อไป เช่น คัดเลือกจากพีโนไทป์ เพื่อตรวจสอบว่ายีนหรือดีเอ็นเอที่โคลนได้นั้นมีความถูกต้องตามที่ต้องการหรือไม่ ได้รับชิ้นส่วนที่สมบูรณ์และมีการแสดงออกของยีนได้หรือไม่ โดยในขั้นตอนนี้จะมีการสกัดแยกชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการวิเคราะห์ให้บริสุทธิ์ก่อน แล้วจึงดำเนินการตรวจสอบในขั้นตอนนี้และวิธีต่างๆ คือ การตรวจสอบลักษณะทั่วไปของชิ้นดีเอ็นเอ เป็นการเปรียบเทียบหาขนาดของดีเอ็นเอที่สอดแทรกอยู่ในเวกเตอร์ โดยทำให้โมเลกุลของ recombinant DNA เป็นเส้นตรงก่อนโดยการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ แล้วจึงทำอิเล็กโตรโฟรีซิส เปรียบเทียบขนาดกับดีเอ็นเอที่ทราบขนาดแล้วเพื่อใช้ในการหาขนาดของดีเอ็นเอที่สอดแทรกในเวกเตอร์ ซึ่งจะหาได้จากขนาดที่หาได้ครั้งใหม่ลบด้วยขนาดของเวกเตอร์ที่ใช้ หรืออาจจะทำการตรวจสอบด้วยวิธีอื่นเช่น ทางอิมมูเคมี วิธีนิวคลีอิกไฮบริดเซชัน เทคนิคพีซีอาร์ (polymerase chain reaction, PCR)

7. การเตรียมพาหะส่งถ่ายยีนเข้าสู่พืช

พาหะที่ใช้ในการถ่ายยีนเข้าสู่พืช คือ พลาสมิดที่เรียกว่า plant vector ซึ่งมีคุณสมบัติในการขนถ่ายหรือโยกย้ายยีนเข้าสู่เซลล์พืชและช่วยให้ยีนมีกิจกรรม หรือแสดงออกได้ในพืช เช่น สร้างอาร์เอ็นเอส่งข่าว (messenger RNA, mRNA) หรือผลิตโปรตีนได้ โครงสร้างที่สำคัญของ plant vector มี 1-2 ชุด ขึ้นกับวิธีการถ่ายยีน ได้แก่

1) ชุดโครงสร้างยีนเป้าหมายที่ต้องการถ่ายยีนเข้าสู่พืช เพื่อสร้างลักษณะใหม่ให้กับพืช ซึ่งต้องจัดทำให้เป็นโครงสร้างที่เหมาะสมสำหรับการแสดงออกในพืช โดยจะต้องประกอบด้วย promoter และ terminator ที่ควบคุมการลอกรหัสจากยีนเป็น mRNA (transcription) และแปลรหัสดังกล่าวเป็นโปรตีน (translation) ดีเอ็นเอที่เป็นส่วนของ promoter , target gene และ terminator บนพลาสมิดพาหะ จะเรียงตัวกันเป็นลำดับ ดังภาพที่ 2

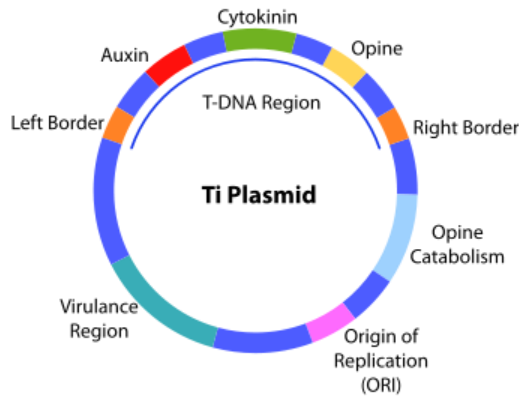


ภาพที่ 2 ภาพจำลองโครงสร้างยีนที่ต้องการถ่ายเข้าสู่พืช (chimeric construct)

2) ชุดโครงสร้างยีนบน plant vector ที่เกี่ยวข้องกับการส่งถ่ายยีนให้กับโครโมโซมพืชด้วยอะโกรแบคทีเรีย ซึ่งเรียกว่า Transfer DNA หรือ T-DNA เป็นชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ได้จากพลาสมิดของเชื้อแบคทีเรีย *Agrobacterium tumefaciens* ที่เรียกย่อๆ ว่า Ti plasmid (Tumor-inducing plasmid) เชื้ออะโกรแบคทีเรียเป็นเชื้อสาเหตุโรครากพืชมที่มี Ti plasmid อยู่ภายในเซลล์จึงสามารถส่งถ่ายดีเอ็นเอจากพลาสมิดเข้าไปสอดแทรกในดีเอ็นเอของโครโมโซมพืชด้วยกระบวนการเฉพาะตัวที่เกิดจากการทำงานของยีนใน Ti plasmid ดังกล่าว แล้วทำให้พืชมีลักษณะเปลี่ยนไปจากเดิม โดยเกิดการสังเคราะห์สารพิษที่ทำให้เซลล์พืชเจริญเติบโตปกติและเกิดเป็นปุ่มปม (gall) ขึ้นตามส่วนต่างๆ ของพืช ยีนและดีเอ็นเอที่ทำงานร่วมกันในการถ่ายยีนเข้าสู่พืชของเชื้ออะโกรแบคทีเรีย

การนำ T-DNA มาใช้ถ่ายยีนสู่พืช จะต้องตัดเอา Oncogenes (ONC gene) ออกจาก T-DNA (Disarmed Ti plasmid) ส่วนที่นำมาใช้ ได้แก่ ดีเอ็นเอสายสั้นๆ สองส่วนที่อยู่ขนานข้าง ONC gene ซึ่งเรียกว่า right border (RB) และ left border (LB) มีขนาดความยาวข้างละ 25 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเมื่อตัดต่อเอาชิ้นส่วนดีเอ็นเอใดๆ ที่ต้องการ (studied gene/target gene) เข้าไปไว้ในบริเวณระหว่าง RB และ LB ดีเอ็นเอชิ้นนั้นก็จะถูกถ่ายเข้าไปสอดแทรกในโครโมโซมพืชได้แบบสุ่ม (random) ด้วยเหตุนี้โครงสร้างพลาสมิดชนิด plant vector จึงไม่ทำให้เซลล์พืชผิดปกติ เนื่องจากปราศจาก ONC gene แต่ดีเอ็นเอหรือยีนที่เข้ามาแทนที่ ONC gene จะถูกตัดต่อไว้ในพลาสมิดพาหะ เรียกว่า plant vector โดยอาจเพิ่มยีนที่ควบคุมลักษณะอื่นๆ นอกเหนือจากยีนที่ควบคุมพันธุกรรมใหม่ของพืช เช่น เพิ่ม selectable maker หรือ screenable marker เข้าไปใน plant vector ด้วยพลาสมิดพาหะ (plant vector) จะเป็นตัวที่ช่วยนำยีนไปสู่เป้าหมายที่ต้องการที่ใช้ในการถ่ายยีนโดยใช้เชื้อ

อะไอร์แบคทีเรีย จะประกอบด้วยชุดโครงสร้างของ target gene, screenable marker และ selectable marker และชุดโครงสร้างของ T-DNA ส่วน plant vector ที่ใช้ในการถ่ายยีนด้วยวิธี electroporation และ bombardment ไม่จำเป็นต้องมีชุดโครงสร้าง T-DNA



ภาพที่ 3 แสดงชุดโครงสร้างของ Ti-plasmid

ยีนคัดเลือกที่ใช้ construct สำหรับการถ่ายยีนเข้าพืช

Antibiotics ยีนต้านสารปฏิชีวนะที่นำมาใช้ในพืชมีหลายยีนด้วยกัน เช่น neomycin phosphotransferase II (NPT II) เป็นยีนที่ทำให้พืชต้านทาน Kanamycin gentichin, ส่วน hygromycin phosphotransferase พืชจะต้านสารปฏิชีวนะพวก hygromycin เป็นยีนคัดเลือกที่นิยมใช้ในการถ่ายยีนเข้าสู่พืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น กล้วยไม้ ข้าว เป็นต้น

3) การคัดเลือกยีนแบบ marker free การคัดเลือกชนิดนี้จะใช้ยีนที่ผลิตฮอร์โมนพืชที่ได้จากอะไอร์แบคทีเรีย คือ IPT (Isopentyl transferase) และ site specific recombination integration จากยีสต์ *Saccharomyces rouxii* ซึ่งช่วยในการถ่ายยีน ตอนแรกยีนทั้งหมดจะเข้าไปในโครโมโซมของพืชและผลิตสารที่เป็น hormone พืช ทำให้พืชเกิดการแบ่งตัวเป็นยอดกระจุก (shooty) เมื่อพืชเจริญเติบโตจะมีการเกิด site specific recombination ระหว่างยีน IPT พืชที่ได้จะมี marker ติดอยู่เหลือเฉพาะที่เราต้องการจะถ่ายเข้าไปเท่านั้น ซึ่งระบบการถ่ายยีนแบบนี้กำลังได้รับความสนใจมากขึ้น แต่ยังคงต้องปรับปรุงระบบการเกิด recombination ซึ่งยังมีประสิทธิภาพต่ำ Nippon industry ได้มีการพัฒนาใช้ GST-27 ซึ่งเป็น inducible promoter ใช้ในการยับยั้ง Rint ซึ่งสามารถควบคุมได้ว่าจะให้เกิด recombination เวลาใดก็ได้โดยชักนำด้วยสาร safener การสร้าง construct เพื่อการถ่ายยีนเข้าในเวกเตอร์นี้ค่อนข้างซับซ้อนเพราะว่ามี restriction sites จำกัดและขนาดเวกเตอร์มีขนาดใหญ่ ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพการ transform เข้าแบคทีเรียลดลง

8. การเตรียมเนื้อเยื่อพืชสำหรับถ่ายยีน

ในการคัดเลือกเนื้อเยื่อพืชที่นำมาถ่ายยีน (explants) จำเป็นต้องมีการทดสอบทดลองเพาะเลี้ยงส่วนต่างๆ หรือเซลล์ต่างๆ ของพืช ที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นต้นพืชที่ติดดอกออกผลได้ดี ข้อควรคำนึงในการคัดเลือก explants ได้แก่

- 1) สามารถเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณได้อย่างต่อเนื่อง
- 2) มีอัตราการเจริญ และพัฒนาเป็นต้นพืชได้ในเวลาไม่นานนัก

explants ที่นำมาใช้ในการถ่ายยีนได้ ได้แก่ ใบเลี้ยงของต้นกล้าพืช ต้นอ่อน รากพืช คัพภะ ใบจริง ละอองเกสร โปรโตพลาสต์ แคลลัสและเซลล์แขวนลอย สำหรับพืชใบเลี้ยงคู่ใช้ explants ได้หลายชนิดดังกล่าวแล้ว แต่พืชใบเลี้ยงเดี่ยวนิยมใช้ คัพภะ โปรโตพลาสต์ แคลลัสและเซลล์แขวนลอย

9. การถ่ายยีนเข้าสู่พืช

การถ่ายยีนเข้าสู่พืช มีหลายวิธี วิธีหลักที่นิยมใช้ในปัจจุบัน มี 2 วิธีการดังนี้

1) การถ่ายฝากยีนโดยใช้เครื่องยิง (microprojectile bombardment หรือ particle gun หรือ biolistic A technique)

วิธีนี้ใช้อุปกรณ์ที่มีแรงดันของก๊าซฮีเลียมในการขับเคลื่อนอนุภาคโลหะที่เคลือบผิวภายนอกไว้ด้วยดีเอ็นเอที่จะถ่ายเข้าสู่พืช แต่กระบวนการภายในเซลล์เพื่อโยกย้ายดีเอ็นเอเข้าไปสอดแทรกในโครโมโซมพืชนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด วิธีการที่ใช้ขับเคลื่อนอนุภาคมีชื่อเรียกต่างกันตามกลไกในการขับเคลื่อน ได้แก่ วิธี microprojectile และอีกแบบหนึ่ง เรียกว่า transfer impulse หรือ Biolistic การถ่ายยีนจะเกิดขึ้นเมื่ออนุภาคโลหะขนาด 1-4 ไมครอน มีแรงขับเคลื่อนที่ทำให้เกิดความเร็วประมาณ 300-600 เมตร/วินาที และสามารถผ่านทะลุผนังเซลล์พืชเข้าไปได้ กลไกทั้ง 2 แบบสามารถนำมาใช้กับเซลล์ได้หลายชนิดทั้งพืช สัตว์ สาหร่ายเซลล์เดียวสีเขียว และยีสต์ สำหรับพืชใช้ได้กับชิ้นส่วนพืชที่อยู่ในสภาพเซลล์แขวนลอย แคลลัส เอ็มบริโอ เจนิคแคลลัส คัพภะ ต้นอ่อน และใบเลี้ยงคู่แรกของต้นกล้า ใช้ได้กับพืชใบเลี้ยงคู่ทั่วไป เช่น ฝ้าย มะละกอ ยาสูบ ถั่ว และพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ซึ่งการถ่ายยีนในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวโดยวิธีใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรีย มักจะไม่ค่อยประสบความสำเร็จ

2) วิธีการถ่ายยีนเข้าสู่พืชโดยใช้เชื้ออะโกรแบคทีเรีย

อะโกรแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมลบซึ่งอยู่ในดิน สามารถเข้าสู่ต้นพืชได้บริเวณที่มีบาดแผล ทำให้เกิดเป็นปุ่มปม (tumour) หรือก้อนเนื้อตรงจุดนั้น เรียกว่า crown gall เมื่อนำเนื้อเยื่อบริเวณที่เป็นปุ่มปมนั้นมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ จะสามารถคงสภาพเช่นเดิมอยู่ได้ คือ เจริญเติบโตได้เร็วและโตได้ไม่จำกัดในสภาพแคลลัส โดยไม่ต้องใส่สารควบคุมการเจริญเติบโตชนิดใด แม้ว่าจำจัดแบคทีเรียออกไปแล้วก็ตาม แต่จะไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นที่สมบูรณ์ เนื้อเยื่อดังกล่าวนี้จะสร้างสารพวกอโปีน (opine) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของกรดอะมิโนที่พบได้ไม่บ่อยนัก สารอโปีนที่เซลล์สร้างขึ้นขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่เข้าบุกรุกพืช ที่พบมากคือออกโทปีน (octopine) และ โนपालีน (nopaline) สารอโปีนที่เซลล์พืชสร้างขึ้นจะเป็นอาหารของอะโกรแบคทีเรียนั้นอีกต่อหนึ่ง

กลไกการส่งถ่ายยีนโดยรวมคล้ายกับการส่งถ่ายพลาสมิดในการจับคู่ conjugation ของแบคทีเรีย กระบวนการส่งถ่ายกระตุ้นโดยสารประกอบ phenolic จากพืช ได้แก่ acetosyringone (AS) ซึ่งพืชปล่อยออกมาจากบาดแผล และการส่งถ่ายจะควบคุมโดยยีน *chv* ซึ่งอยู่บนโครโมโซมของแบคทีเรีย และ *vir gene* ที่อยู่บนพลาสมิด Ti โดย T-DNA จะถูกตัดโดยเอนไซม์ซึ่งเป็นผลผลิตของยีน *Vir D* ที่ขอบเขตทั้งสองข้าง แล้วจึงส่งถ่ายเข้าสู่เซลล์พืชในแบบดีเอ็นเอสายเดี่ยว ทิศทางการ

ส่งถ่ายจะเริ่มจากขอบเขตทางขวา (RB) ไปเรื่อยๆ ส่วน RB นี้เป็นส่วนที่จำเป็นมากสำหรับการส่ง T-DNA ส่วนขอบเขตทางซ้าย (LB) ทำหน้าที่เป็นตัวกำหนดปลายของชิ้นดีเอ็นเอที่จะส่งเท่านั้น แม้ว่าจะไม่มีส่วน LB การส่ง T-strand ก็เกิดขึ้นได้ แต่จะมีขนาดไม่แน่นอนเพราะการตัดพันธะฟอสโฟ ไดเอสเทอร์ทางปลายจะเป็นแบบสุ่ม

ข้อสังเกตที่น่าสนใจ คือ ยีนที่อยู่ใน T-DNA ทั้งหมดนั้น เหมือนกับยีนของพืช แต่อยู่ใน พลาสมิดของแบคทีเรีย ยีนเหล่านี้มีโปรโมเตอร์ซึ่งเหมือนกับโปรโมเตอร์ของพืช และมีส่วน เทอร์มิเนเตอร์และตำแหน่งที่ใช้เติมเบส poly A ที่พบในยูคาริโอต โดยยีนเหล่านี้จะไม่มีการแสดงออก ในเซลล์ของอะโกรแบคทีเรียแต่แสดงออกในเซลล์ของพืชที่ได้รับ T-DNA เมื่อยีนเหล่านี้แสดงออกแล้ว มีผลไปเหนี่ยวนำให้ยีนในเซลล์แบคทีเรียทำงานได้และเป็นประโยชน์ต่อเซลล์แบคทีเรีย

ส่วนสำคัญที่ทำให้มีการส่ง T-DNA จากอะโกรแบคทีเรียไปยังพืช คือ ส่วนของ *vir* gene และตำแหน่ง RB และ LB ของ T-DNA ส่วนของยีนที่กำหนดการสร้างสารโอปินและฮอร์โมนพืชที่อยู่ใน ภายใน T-DNA นั้น ไม่มีหน้าที่ในการส่งถ่าย T-DNA แต่อย่างใด ดังนั้นการใช้ พลาสมิด Ti เป็น เวกเตอร์สำหรับถ่ายฝากยีนให้กับพืชจะทำโดยแทนที่ยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฮอร์โมนพืชและ สารโอปินด้วยยีนที่ต้องการ เมื่อมีการส่ง T-DNA เข้าไปในพืช พืชก็จะได้รับยีนที่สอดใส่ไว้แทน แต่เนื่องจากพลาสมิด Ti เป็นพลาสมิดที่มีขนาดใหญ่ประมาณ 200 กิโลเบส การเตรียมพลาสมิดและการตัดต่อยีนที่ต้องการเข้าไปในพลาสมิดทำได้ยาก พลาสมิดที่มีขนาดใหญ่มากนั้น โอกาสที่จะพบ ตำแหน่งจดจำของเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดใดๆ เพียง 1 ตำแหน่งเป็นไปได้ยากหรือแทบจะไม่มีเลย พบว่า *vir* gene มีผลต่อการส่งยีนที่อยู่ระหว่าง RB และ LB ได้โดยไม่จำเป็น ต้องมีตำแหน่งอยู่ใกล้ หรืออยู่บนพลาสมิดโมเลกุลเดียวกันกับส่วนของยีนที่อยู่ระหว่าง RB และ LB

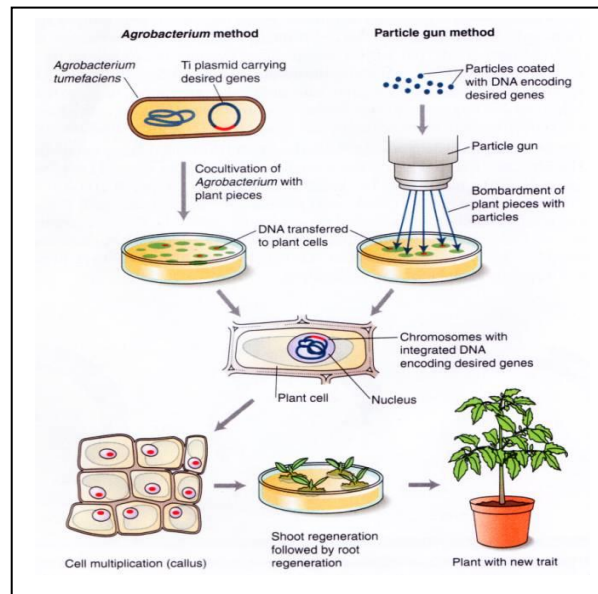
10. การตรวจสอบประสิทธิภาพการถ่ายยีน

เมื่อเซลล์พืชได้รับยีนหรือดีเอ็นเอจากภายนอกเข้าไปภายในเซลล์ภายในเวลา 24-48 ชั่วโมง สามารถตรวจสอบการแสดงออกของยีนหรือดีเอ็นเอที่อยู่ในเซลล์ได้ในแบบที่ เรียกว่า transient expression ซึ่งนิยมตรวจสอบจาก screenable marker เช่น ยีน uid A หรือ GUS, ยีน Green fluorescences protein (GFP) ซึ่งเป็นยีน jellyfish protein ของแมงกะพรุน หรือตรวจสอบโปรตีนที่เป็นผลผลิตจากยีนด้วยเทคนิคทางเซรัมวิทยา

11. การเพาะเลี้ยงและคัดเลือกเซลล์พืชที่ได้รับการถ่ายยีน

เซลล์พืชที่ได้รับการถ่ายยีนจะมี screenable marker บางชนิดที่แสดงออกได้ในเซลล์พืช และทำให้เซลล์ดังกล่าวเจริญได้บนอาหารเพาะเลี้ยงที่เติมสารบางชนิดที่สอดคล้องกับคุณสมบัติของ marker เช่น เจริญได้ในอาหารที่เติมสารปฏิชีวนะ กานามัยซิน ซึ่งเป็นผลมาจากยีน NPT II หรือ เจริญได้ในอาหารที่เติมสารเคมีกำจัดวัชพืช Bialaphos ซึ่งเป็นผลมาจากยีน bar เป็นต้น ปัจจุบัน มีการใช้ screenable marker ชนิดอื่นอีก เช่น ยีนควบคุมการใช้น้ำตาลบางชนิด เซลล์ที่เจริญได้จะ พัฒนาเป็นลำดับเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงที่ใช้ในการพัฒนาเซลล์และเนื้อเยื่อจนเป็นต้นพืชที่

สมบูรณ์ ระยะเวลาของการเพาะเลี้ยงขึ้นกับชนิดพืช ซึ่งมักจะใช้เวลาไม่น้อยกว่า 2-3 เดือน ซึ่งขั้นตอนต่างๆ ในการถ่ายยีนจนพัฒนาเป็นต้นพืช แสดงไว้ในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 การถ่ายยีนเข้าสู่พืช จาก <http://www.viewzone.com/morgellons.large.jpg>

13. การตรวจสอบต้นพืชดัดแปลงพันธุกรรม

ต้นพืชที่พัฒนามาจากเซลล์และเนื้อเยื่อที่ได้รับการถ่ายยีน จัดเป็น transgenic plant หรือพืชดัดแปลงพันธุกรรมรุ่นแรกที่ได้รับการถ่ายฝากยีน (R_0) การตรวจสอบทำได้ทั้งการใช้การวิเคราะห์ทางอณูชีววิทยาและชีววิทยา การวิเคราะห์และตรวจสอบว่าพืช R_0 แต่ละต้นมียีนเป้าหมายสอดแทรกอยู่ในโครโมโซมหรือไม่ นิยมทำโดยการสกัดดีเอ็นเอจากโครโมโซมของพืช แล้วย่อยดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ จากนั้นแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยเทคนิค gel electrophoresis แล้วใช้เทคนิค Southern transfer ย้ายดีเอ็นเอจากเจลไปสู่แผ่นเมมเบรน เพื่อตรวจสอบหาแถบดีเอ็นเอที่มียีน เป้าหมายอยู่โดยใช้ดีเอ็นเอตัวตรวจ (DNA probe) นอกจากนี้อาจตรวจหายีนเป้าหมายบนโครโมโซมพืชด้วยเทคนิคพีซีอาร์ (polymerase chain reaction, PCR) ได้อีกวิธีหนึ่ง ซึ่งวิธีนี้สามารถทำได้ในขณะที่พืชยังมีขนาดเล็ก

การตรวจสอบผลผลิตของยีนเป้าหมาย ในพืช R_0 ทำได้ จากการตรวจสอบอาร์เอ็นเอส่งข่าว (mRNA) ด้วยเทคนิค Northern hybridization หรือเทคนิค RT-PCR และทำได้โดยการตรวจสอบโปรตีนที่เป็นผลผลิตยีนด้วยเทคนิค ELISA และ Western blot analysis หรือตรวจหาเอนไซม์ที่เป็นผลผลิตของยีนด้วยเทคนิคทางชีวเคมี

ในกรณีที่ต้องการตรวจสอบคุณภาพของพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่ได้ว่ามีลักษณะทางพันธุกรรมเปลี่ยนไปตรงตามความประสงค์ อาจจำเป็นต้องใช้วิธีทดสอบทางชีววิทยา เช่น การตรวจดูความต้านทานโรค แมลงศัตรูพืช โดยการปลูกเชื้อสาเหตุโรคพืชให้กับพืชที่ได้รับการถ่ายยีนหรือให้แมลงดูกิน กัดกินพืชที่ได้รับการถ่ายยีน แล้วประเมินคุณภาพพืชที่ได้รับการถ่ายยีนว่าดีกว่าพืชที่ไม่ได้รับการถ่ายยีนหรือไม่อย่างไร

14. การตรวจสอบการถ่ายทอดพันธุกรรมจากพีชรุ่น R_0 ไปสู่รุ่น R_1 และ R_2

ใช้วิธีการทางอนุชีววิทยาเช่นเดียวกับการตรวจสอบพีชรุ่น R_0 รวมทั้งการทดสอบการกระจายตัวของยีนตามกฎของเมนเดล ซึ่งอาจตรวจสอบจาก screenable marker หรือ ตรวจสอบคุณภาพของพีชที่ได้รับการถ่ายยีน โดยที่พีชที่ได้รับการถ่ายยีนรุ่น R_1 และ R_2 จะต้องได้มาจากการผสมตัวเองของพีชรุ่น R_0 และ R_1 ตามลำดับ

15. การทดสอบความปลอดภัยทางชีวภาพ

เมื่อได้พีชดัดแปลงพันธุกรรมแล้ว ขั้นตอนที่สำคัญอีกขั้นตอนหนึ่งคือการทดสอบความปลอดภัยทางชีวภาพ ซึ่งจะต้องมีการทดสอบทั้งในสภาพโรงเรือนและสภาพไร่นา ก่อนที่จะนำพีชดัดแปลงพันธุกรรมไปปลูกขยายต่อไป

16. ตัวอย่างพีชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม

พีชดัดแปลงพันธุกรรมที่ถูกสร้างขึ้นมาเกือบทั้งหมดก็เพื่อตอบสนองต่อปัญหาหลักของเกษตรกรที่ต้องเผชิญในแต่ละปี ส่วนใหญ่ ได้แก่ ปัญหาในเรื่องการทำลายพืชผลของแมลง โรคพืช และจากรบกวนของวัชพืช การดัดแปลงพันธุกรรมจึงมุ่งการแก้ปัญหาหลักๆ ของพีชนั้น ตามลักษณะของปัญหาหรือความต้องการที่จะนำไปใช้ดังนี้

1) พืชต้านทานแมลง (insect resistant crops) ปัจจุบันพีชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อให้สามารถต้านทานแมลงได้มีอยู่ประมาณ 22 % ของพีชดัดแปลงพันธุกรรมทั้งหมด โดยเทคนิคที่ใช้ในการผลิตพืชดังกล่าวส่วนใหญ่เป็นเทคนิคการถ่ายฝากยีนบีที (Bt) เข้าไปในพีช แล้วทำให้พีชนั้นๆ สามารถผลิตสารพิษ (endotoxin) ขึ้นมาต้านทานแมลงบางชนิดได้ เช่น

ฝ้ายบีที (Bt cotton) ของบริษัทมอนซานโต้ ในชื่อการค้า “บอลการ์ด” (BollGard) โดยการถ่ายฝากยีน cry 1A(c) จาก *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki (B.t.k.) และ “บอลการ์ด II” ซึ่งเพิ่มยีน cry 1A(b) ร่วมกับยีน cry 1A(c) เดิม ทำให้มีความต้านทานต่อการทำลายของหนอนยาสูบ หนอนเจาะสมอฝ้ายอเมริกัน หนอนเจาะสมอฝ้ายสีชมพู beet armyworm, fall armyworm และ หนอนคืบถั่วเหลือง (soybean looper)

ข้าวโพด (Bt corn) ปัญหาสำคัญในการผลิตข้าวโพดคือเรื่องของโรคแมลงศัตรูพืช แมลงศัตรูข้าวโพด เช่น หนอนเจาะลำต้นข้าวโพด ทั้ง European corn borer และ Asian corn borer หนอนเจาะฝักข้าวโพด (corn earworm) และหนอนเจาะรากข้าวโพด (corn rootworm) ดังนั้นหน่วยงานต่างของรัฐและเอกชนในต่างประเทศ จึงให้ความสำคัญในการค้นคว้าและพัฒนาอย่างกว้างขวางจนได้ข้าวโพดบีทีหลายชนิด และมีชื่อการค้าแตกต่างกัน ยีนบีทีที่ใช้มีอยู่ด้วยกัน 3 ชนิด คือ cry 1A(b), cry 1A(c) และ cry 9C ซึ่งยีนทั้ง 3 ชนิดนี้สามารถสร้างโปรตีนที่เป็นพิษต่อแมลงศัตรูข้าวโพด นอกจากนี้ยังมีบีทีอีกชนิดหนึ่งคือ cry 3B(b) สามารถป้องกันการทำลายของหนอนเจาะรากข้าวโพดได้

2) พืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช (herbicide resistant crops)

สารกำจัดวัชพืชที่เกี่ยวข้องกับพืชดัดแปลงพันธุกรรมในปัจจุบันที่สำคัญมี 2 ชนิด คือ ไกลโฟเสต (glyphosate) ซึ่งมีชื่อการค้าว่า ราวด์อัฟ (Roundup) และกลูโฟซิเนต (glufosinate) ซึ่งมีชื่อการค้าว่า บาสต้า (Basta) พืชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมให้ต้านทานต่อสารไกลโฟเสต และมีการปลูกเป็นการค้าแล้วที่สำคัญมี 3 ชนิด คือ ถั่วเหลือง ข้าวโพด และฝ้าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งถั่วเหลืองนั้น มีการปลูกแล้วในพื้นที่มากกว่า 200 ล้านไร่ พืชที่ต้านทานสารไกลโฟเสตมักมีชื่อนำทางการค้าว่า RR เช่น RR corn, RRsoybean และ RRcotton เป็นต้น คำว่า RR มาจากคำว่า Roundup Ready ซึ่ง Roundup ราวด์อัฟ ก็คือชื่อทางการค้าของไกลโฟเสตของบริษัทมอนซานโตนั่นเอง สำหรับแหล่งของยีนที่ใช้ก็มาจากแหล่งต่างๆ กัน เช่น ข้าวโพด NK 603 ซึ่งต้านทานสารราวด์อัฟ ใช้ยีน EPSPS ที่ได้มาจากแบคทีเรียในดินชื่อ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ CP4 9308 ดัดแปลงจนได้ดีเอ็นเอที่มีขนาด 9308 คู่เบส แล้วฝากถ่ายเข้าสู่เซลล์ข้าวโพด

นอกจากจะได้รับการดัดแปลงเพื่อใส่ยีนที่พึงประสงค์ยีนใดยีนหนึ่งแล้ว ยังได้มีการนำเอายีนที่ต้องการใส่ไว้ในพืชเดียวกัน ซึ่งยีนที่ใส่เข้าไปมีมากกว่าหนึ่งนี้เรียกว่า stacked genes ที่ได้รับความนิยมมากคือการใส่ยีนต้านทานแมลงกับยีนต้านทานสารกำจัดวัชพืชไว้ในต้นเดียวกันดังตัวอย่างต่อไปนี้

- ข้าวโพด BT 11 มีชื่อการค้าว่า YieldGard/Syngenta Liberty Link ใส่ยีน cry 1A (b) เพื่อป้องกันหนอนเจาะลำต้นกับยีนต้านทานสารกำจัดวัชพืช
- ข้าวโพด Cry 1F มีชื่อการค้าว่า Dow Herculex I ใส่ยีน cry 1F เพื่อป้องกันหนอนหลายชนิดกับยีนต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลูโฟซิเนต
- ข้าวโพด Mon810+NK 603 มีชื่อการค้าว่า YieldGard/Roundup Ready ใส่ยีน cry 1A (b) สำหรับป้องกันหนอนเจาะลำต้นกับยีนต้านทานสารกำจัดวัชพืชราวด์อัฟ
- ข้าวโพด Mon810+T25 มีชื่อการค้าว่า YieldGard/Aventis Liberty Link ใส่ยีน cry 1A (b) และยีนต้านสารกลูโฟซิเนต

3) พืชต้านทานโรค (disease resistant crops)

ในกรณีของโรคพืชที่เกิดจากเชื้อไวรัส ได้มีการนำความรู้ด้านพันธุวิศวกรรมมาช่วยในการสร้างพันธุ์ต้านทานขึ้น และประสบความสำเร็จในหลายพืช เช่น

พืชในสกุลแตงหลายชนิดได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม เพื่อให้ต้านทานต่อโรคที่สำคัญ เช่น zucchini yellow mosaic virus (ZYMV), watermelon mottle virus (MWV) และ cucumber mosaic virus (CMV)

มะละกอดัดแปลงพันธุกรรมให้ต้านทานโรค papaya ringspot virus (PRSV) มหาวิทยาลัยคอร์เนลล์ ได้สร้างมะละกอดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อให้ต้านทานโรค PRSV ได้เป็นผลสำเร็จ และได้เผยแพร่ให้เกษตรกรได้ใช้ในปี ค.ศ. 1998 ภายใต้ชื่อการค้าว่า “SunUp” และ “Rainbow”

มันฝรั่ง ได้รับการถ่ายยีนที่ทำให้ต้านทานต่อโรค potato leaf roll virus (PLRV) และ potato virus Y (PVY) เข้าไปในมันฝรั่งปีที่ที่มีชื่อการค้าว่า “NewLeaf” ของบริษัทมอนซานโต

ซึ่งมันฝรั่ง NewLeaf นี้เป็นมันฝรั่งดัดแปลงพันธุกรรมให้สามารถต้านทานแมลงด้วงปีกแข็ง Colorado potato beetle ได้การใส่ยีนที่ต้านทานไวรัสเพิ่มเข้าไป จึงทำให้มันฝรั่งนี้ต้านทานทั้งแมลงและโรค จึงเรียกมันฝรั่งที่ต้านทานโรคทั้งสองนี้ว่า “NewLeaf Plus” สำหรับพันธุ์ “NewLeaf Y” เป็นพันธุ์ที่ต้านทาน PVY นอกจากนี้ยังมีพันธุ์มะเขือเทศ ต้านทานโรค tomato yellow leaf curl virus (TYLCV) โดยการฝากถ่ายยีนผ่านอะโกรแบคทีเรีย และพริกก็มีการพัฒนาพันธุ์ใหม่ขึ้นมาเพื่อให้สามารถต้านทานต่อโรค chili vein-banding mottle virus (CVbMV)

4) ข้าวมีวิตามินเอสูง (Golden rice)

สายพันธุ์ Golden rice เป็นผลงานของ Dr. Ingo Potrykus แห่ง Swiss Federal institute of Technology ในเมืองซูริก ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ร่วมกับ Dr. Peter Beyer แห่งมหาวิทยาลัย Freiberg ในประเทศเยอรมันนีในปี ค.ศ. 2000 โดยการถ่ายฝากยีนจำนวนสองยีนจากต้นแคพพอดิล และยีนอีกหนึ่งยีนจากแบคทีเรีย *Erwinia uredovora* เข้าไปในจีโนมข้าวเป็นผลสำเร็จทำให้ข้าวสามารถสร้างสารเบต้าแคโรทีนได้

5) มะเขือเทศสุกช้า (delayed ripening tomato)

ในการควบคุมการสุกแก่ของผลไม้มีการใช้อาร์เอ็นเอสายแอนติเซนส์ของยีน ACC synthase หรือ ACC oxidase และ อาร์เอ็นเอสายแอนติเซนส์ของยีน polygalacturonase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยให้ผลไม้อ่อนนุ่ม ถ่ายฝากเข้าไปในมะเขือเทศ ซึ่งวิธีดังกล่าวทำให้ผลไม้ที่สุกมีเนื้อแน่น ไม่อ่อนนิ่มสามารถขนส่งไปในที่ต่างๆ ได้ โดยไม่มีการชอกช้ำก่อนถึงมือผู้บริโภค มะเขือเทศสุกช้าได้รับการพัฒนาจนสามารถนำมาเผยแพร่ได้ภายใต้ชื่อเครื่องหมายการค้าว่า “Flavr-Savr[®]” ของบริษัทกาลยีน (Calgene) แห่งสหรัฐอเมริกา และนับได้ว่าเป็นพืชดัดแปลงพันธุกรรมในลำดับแรกๆ ที่มีการอนุญาตให้จำหน่ายได้ แต่เป็นที่น่าเสียดายที่มะเขือเทศพันธุ์ดังกล่าวนี้ไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค

6) พืชที่มีลักษณะพึงประสงค์เฉพาะอย่าง (desired characteristic of plant)

ปัจจุบันได้มีการค้นคว้าและพัฒนาในพืชหลายชนิด เพื่อให้พืชเหล่านั้นมีลักษณะตรงกับความต้องการโดยอาศัยเทคนิคสมัยใหม่ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ เช่น การพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดเพื่อให้สามารถสกัดเอาเส้นใยที่มีความเหนียวมากๆ หรือเส้นใยที่เมื่อนำมาข้อมด้วยวิธีการพิเศษ สามารถเปลี่ยนสีได้ตามลักษณะของสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไป หรือสารสกัดจากพืชที่สามารถนำมาใช้ผลิตพลาสติกได้ รวมทั้งสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ เพื่อช่วยลดปัญหาภาวะของสิ่งแวดล้อม ข้าวสายพันธุ์ที่มีธาตุเหล็กสูงนับว่าเป็นสายพันธุ์ที่มีความต้องการอย่างยิ่งไม่น้อยไปกว่าสายพันธุ์ที่มีวิตามินเอสูง การขาดธาตุเหล็กในอาหารนับว่าเป็นปัญหาใหญ่ของคนในแทบทุกประเทศ โดยเฉพาะในสตรีมีครรภ์ การขาดธาตุเหล็กจะทำให้เป็นโรคโลหิตจาง เนื่องจากธาตุนี้เป็นส่วนประกอบสำคัญของเม็ดเลือดแดง เป็นต้น

บทที่ 2

การประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชดัดแปลงพันธุกรรม

1. การประเมินความปลอดภัยด้านอาหาร

การพิจารณาความปลอดภัยของอาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม

ในการพิจารณาความปลอดภัยของอาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมต้องคำนึงถึงข้อมูลพื้นฐานทางด้านวิทยาศาสตร์ ดังนี้

1. ข้อมูลเกี่ยวกับการดัดแปลงทางพันธุกรรม เช่น เจ้าบ้าน ผู้ให้ พาหะ และสารพันธุกรรมที่ใช้ดัดแปลง
2. ข้อมูลเกี่ยวกับผลผลิตที่ได้จากการดัดแปลงทางพันธุกรรม เช่น สิ่งมีชีวิตที่ได้รับการดัดแปลงทางพันธุกรรม และการนำไปใช้เป็นอาหาร
3. ข้อมูลเกี่ยวกับ Dietary exposure
4. ข้อมูลด้านโภชนาการ
5. ข้อมูลด้านความปลอดภัย เช่น ความเป็นพิษ และการก่อให้เกิดภูมิแพ้

1) ข้อมูลเกี่ยวกับการดัดแปลงทางพันธุกรรม

ในการพิจารณาความปลอดภัยของอาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมจำเป็นต้องทราบข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ของสารพันธุกรรมที่ใช้ในการดัดแปลง ผู้ให้ พาหะและเจ้าบ้านซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญที่จะช่วยสนับสนุนในการพิจารณาความปลอดภัยซึ่งรายละเอียดสามารถสรุปได้ดังนี้

1.1 เจ้าบ้าน ต้องทราบข้อมูล

- 1.1.1 การจำแนกชนิดทางอนุกรมวิธาน
- 1.1.2 ชื่อวิทยาศาสตร์
- 1.1.3 ประวัติการใช้เพื่อเป็นอาหารหรือแหล่งของอาหาร
- 1.1.4 ประวัติการสร้างสารพิษ
- 1.1.5 ประวัติการก่อภูมิแพ้
- 1.1.6 ประวัติการก่อให้เกิดโรค
- 1.1.7 การปรากฏของสารต้านโภชนาการ

1.2 พาหะ ต้องทราบข้อมูล

- 1.2.1 แหล่งที่มา
- 1.2.2 ลักษณะเฉพาะของ DNA ได้แก่
 - น้ำหนักโมเลกุล
 - บริเวณที่ถูกตัดโดย restriction enzyme
 - ความเสถียร

- ลำดับเบส
- แหล่งที่มา
- 1.2.2 ลักษณะเฉพาะของ selectable marker gene เช่น ความต้านทานยาปฏิชีวนะ
- 1.2.3 ความสามารถในการถูกถ่ายทอด
- 1.2.4 ความเฉพาะเจาะจงต่อ host
- 1.2.5 วิธีการตรวจสอบลักษณะที่ปรากฏ
- 1.2.6 วิธีการและบริเวณที่มีการตัดต่อยีน
- 1.3 ผู้ให้ ต้องทราบข้อมูล
 - 1.3.1 การจำแนกชนิดทางอนุกรมวิธาน
 - 1.3.2 ชื่อวิทยาศาสตร์
 - 1.3.4 ประวัติการใช้เพื่อเป็นอาหารหรือแหล่งของอาหาร
 - 1.3.5 ประวัติการสร้างสารพิษ
 - 1.3.6 ประวัติการก่อภูมิแพ้
 - 1.3.7 ประวัติการก่อให้เกิดโรค
- 1.4 สารพันธุกรรมที่ใช้ในการตัดแปลง ต้องทราบข้อมูล
 - 1.4.1 โครงสร้าง
 - Promoter gene
 - Terminator gene
 - Inserted base sequence
 - 1.4.2 ลักษณะเฉพาะ
 - หน้าที่
 - บริเวณที่ถูกตัดโดยเอนไซม์
 - น้ำหนักโมเลกุล
 - ลำดับเบสอันตรายที่เหลืออยู่
 - 1.4.3 ความบริสุทธิ์
 - 1.4.4 ความเสถียรของสารพันธุกรรมในเจ้าบ้าน
 - 1.4.5 จำนวนดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้น
 - 1.4.6 ตำแหน่ง, เวลา และปริมาณที่แสดงออก
 - 1.4.7 การแสดงออกของ external open reading frame
 - 1.4.8 ลักษณะของ selectable maker
 - โครงสร้าง
 - หน้าที่ของ gene
 - กลไกการแสดงออกของความต้านทาน

- วิธีการพิสูจน์และตรวจสอบปริมาณ
- 1.4.9 วิธีการตัดต่อยีนและตำแหน่งที่เข้าร่วมในหน่วยพันธุกรรมของเจ้าบ้าน
- 1.4.10 ความเป็นไปได้ในการเคลื่อนย้ายของสารพันธุกรรมที่ใส่เข้าไป
- 1.4.11 การควบคุมการแสดงออก
 - ยีนที่สอดใส่เข้าไปถูกควบคุมใน host อย่างไร, กลไกการควบคุม
 - ความเสถียรในการควบคุมและการแสดงออก
 - กรณีที่เป็นการดัดแปลงสารพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตเดิม ต้องพิจารณาการควบคุม target gene ด้วย

นอกเหนือจากข้อมูลเกี่ยวกับการดัดแปลงทางพันธุกรรมแล้ว จำเป็นต้องพิจารณาข้อมูลเกี่ยวกับผลผลิตที่ได้จากการดัดแปลงทางพันธุกรรม เพื่อให้สามารถประเมินความปลอดภัยได้อย่างมีประสิทธิภาพ

2) ข้อมูลเกี่ยวกับผลผลิตที่ได้จากการดัดแปลงพันธุกรรม ที่จำเป็นต่อการพิจารณา ได้แก่

2.1 สิ่งมีชีวิตที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม ต้องทราบข้อมูล

- 2.1.1 คุณสมบัติทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตที่ได้รับการดัดแปลงทางพันธุกรรม
- 2.1.2 การแสดงออกเปรียบเทียบกับก่อนได้รับการดัดแปลง ต้องทราบ
 - รายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะใหม่ที่แสดงออกมา
 - หากมีการสร้างโปรตีนชนิดใหม่ ต้องมีรายละเอียดเกี่ยวกับลักษณะเฉพาะ หน้าที่ และความเหมือนกับสารตัวเดิม
 - หากไม่มีการสร้างโปรตีนตัวใหม่ขึ้นมา ต้องแสดงถึงความเฉพาะเจาะจงของผลที่เกิดขึ้น
 - ข้อมูลการแสดงออกของ non-target gene
- 2.1.3 ความเป็นไปได้ในการก่อให้เกิดโรค
- 2.1.4 กลไกการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์
- 2.1.5 การเปลี่ยนแปลงของระบบ metabolism อันเนื่องมาจากการดัดแปลงทางพันธุกรรม
- 2.1.6 ความเป็นพิษ การก่อให้เกิดภูมิแพ้ และการปรากฏของสาร antinutrient
- 2.1.7 การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบหลักทางเคมี เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน กรดไขมัน กรดอะมิโน วิตามิน เกลือแร่

ในกรณีของพืชดัดแปลงพันธุกรรม อาจต้องพิจารณาเพิ่มเติม ดังนี้

- 2.1.8 กลไกการออกฤทธิ์ของสารฆ่าแมลง
- 2.1.9 กลไกการออกฤทธิ์ของยาปราบวัชพืช
- 2.1.10 กลไกการทนทานเชื้อโรคของพืช
- 2.1.11 กลไกการทนทานต่อสภาพแวดล้อม
- 2.1.12 ข้อมูลการสะสมของสารพิษและสารฆ่าแมลงในพืช

2.1.13 ข้อมูลของการเปลี่ยนแปลงของรูปแบบ metabolites ในพืช

2.2 การนำมาใช้เพื่อเป็นอาหาร ต้องทราบข้อมูล

กรณีที่เป็นจุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรม และนำมาใช้เป็นส่วนประกอบหรือเป็นอาหารโดยตรง ต้องพิจารณา

2.2.1 รายละเอียดของผลิตภัณฑ์ วัตถุประสงค์ในการใช้ แผนภูมิการผลิต, วิธีการควบคุมและประกันคุณภาพ

2.2.2 ลักษณะการเจริญเติบโตและรูปแบบ metabolites จากจุลินทรีย์ที่พบในอาหาร ข้อมูลการเปลี่ยนแปลง

2.2.3 ของส่วนประกอบของอาหาร สารใหม่ ๆ ที่เกิดขึ้นจะต้องได้รับการวิเคราะห์ และศึกษาคุณสมบัติ

2.2.4 ผลวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบสารโภชนาการหลักและสารอื่น ๆ เช่น สารพิษ

2.2.5 ข้อมูลเกี่ยวกับการยอมรับเพื่อการบริโภคในประเทศอื่น

กรณีที่เป็นผลิตผลจากจุลินทรีย์ดัดแปลงพันธุกรรม ผลผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารนี้ จะต้องผ่านการประเมินการนำไปใช้ในอาหารตามกฎหมายของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ก่อน ในส่วนของการใช้วิธีดัดแปลงสารพันธุกรรมเพื่อผลิตวัตถุดิบนี้ จะต้องพิจารณาเพิ่มเติมดังต่อไปนี้

2.2.6 วิธีดัดแปลงทางพันธุกรรม

2.2.7 ประวัติของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้

2.2.8 คุณลักษณะของสารเคมีและระดับการบริโภค หรือ exposure

กรณีที่เป็นพืชดัดแปลงพันธุกรรม และนำมาใช้เป็นส่วนประกอบหรือเป็นอาหารโดยตรง ต้องพิจารณา

2.2.9 รายละเอียดของผลิตภัณฑ์ วัตถุประสงค์ในการใช้ แผนภูมิการผลิต, วิธีการควบคุมและประกันคุณภาพ

2.2.10 ข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบ การเปลี่ยนแปลงของส่วนประกอบ และสารประกอบของพืชดัดแปลงพันธุกรรมและสายพันธุ์เดิม โดยเฉพาะสารเคมีหลัก สารอาหาร และสารพิษ

กรณีที่เป็นผลิตผลจากพืชดัดแปลงพันธุกรรม ผลผลิตจากพืชที่ใช้เป็นวัตถุดิบในอาหารนี้ จะต้องผ่านการประเมินการนำไปใช้ในอาหารตามกฎหมายของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ก่อน ในส่วนของการใช้วิธีดัดแปลงสารพันธุกรรมเพื่อผลิตวัตถุดิบนี้ จะต้องพิจารณาเพิ่มเติมดังต่อไปนี้

2.2.11 วิธีการดัดแปลงสารพันธุกรรม

2.2.12 ประวัติการใช้พืชเป็นอาหาร

2.2.13 คุณลักษณะของสารเคมีและระดับการบริโภค หรือ exposure

2.3 ข้อมูลเกี่ยวกับ dietary exposure

ข้อมูลของสัดส่วนการบริโภคของอาหารที่ขออนุญาต จะเป็นตัวชี้บ่งถึงระดับการทดสอบทางด้านพิษวิทยาและทางโภชนาการที่ต้องดำเนินการ ในการพิสูจน์ความปลอดภัย นอกจากนี้ข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณและสัดส่วนของสิ่งมีชีวิตดัดแปลงสารพันธุกรรมที่ใช้ในอาหารจะเป็นประโยชน์ต่อการประมาณ overall dietary exposure ตลอดจนสามารถคาดการณ์ถึงรูปแบบการใช้และปริมาณการบริโภคได้ เพื่อช่วยในการประเมินความปลอดภัย

2.4 ข้อมูลทางด้านโภชนาการ

ข้อมูลนี้มีความจำเป็นต่อการประเมินคุณค่าทางอาหาร ตลอดจนผลกระทบต่อผู้บริโภค โดยที่ผู้บริโภคจะต้องไม่ได้รับอันตรายจากการบริโภคอาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม ข้อมูลที่จำเป็นต่อการพิจารณา ได้แก่

2.4.1 ส่วนประกอบของสารอาหาร จะต้องมีการวิเคราะห์หา proximate analysis เช่น

- เถ้า ความชื้น โปรตีนทั้งหมด ไขมันทั้งหมด และคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด
- ปริมาณของ true protein และ non-protein ตลอดจน amino acid profile
- ส่วนประกอบของ Total lipid ทั้งในแง่คุณภาพและปริมาณ เช่น saponification, non saponification, fatty, acid profile, phospholipid, sterol, cyclic fatty acid, fatty acid ที่เป็นพิษ
- ส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรต เช่น sugar, chitin, tannin, non-starch polysaccharide, lignin
- สัดส่วนและปริมาณของวิตามิน
- การปรากฏของสาร anti-nutrient
- ความคงตัวของสารอาหารในระหว่างการเก็บ

2.4.2 สารอาหารที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ได้ (Nutrient bioavailability) ในกรณีที่อาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมนั้นเป็นอาหารหลักในการบริโภคของคนไทยจะต้องมีการศึกษาในสัตว์ทดลอง เพื่อประเมินความปลอดภัยทางโภชนาการด้วย

2.5 ข้อมูลทางด้านความปลอดภัย

ในกรณีสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม มีการแสดงออกที่แตกต่างไปจากสิ่งมีชีวิตธรรมชาติ จำเป็นต้องพิจารณาเกี่ยวกับความปลอดภัยของสารพันธุกรรมใหม่, โปรตีนใหม่ สารต้านโภชนาการ (anti-nutrient) และปฏิกิริยาของเอนไซม์ว่ามีความเป็นไปได้ในการเป็นสารพิษ หรือก่อให้เกิดภูมิแพ้ ใดๆ โดยต้องพิจารณาข้อมูล ดังนี้

2.5.1 สารพันธุกรรมใหม่ โปรตีนใหม่และปฏิกิริยาของเอนไซม์ จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับ

- โครงสร้าง หน้าที่
- ลำดับของกรดอะมิโน
- ความทนทานต่อสภาพกรดและน้ำย่อยสลายโปรตีน

2.5.2 การเป็นสารต้านโภชนาการ จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับ

- ชนิดของสารต้านโภชนาการ
- ความเป็นพิษของสารต้านโภชนาการ
- การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของความเป็นพิษของสารต้านโภชนาการ

2.5.3 การทดสอบสารพิษวิทยาและการก่อให้เกิดภูมิแพ้ จะใช้การประเมินสารประกอบเดี่ยว ๆ หรือสารผสม เพื่อเป็นข้อมูลสนับสนุนในการกำหนดค่า Acceptable Daily Intake (ADI) ของสารนั้น ๆ โดยจะพิจารณาว่าสารนั้นมีความเป็นไปได้ในการก่อให้เกิดผลเสียต่อผู้บริโภคในระบบใดบ้าง เช่น genotoxic, ระบบสืบพันธุ์, tetratogenic และผลเสียดังกล่าวเป็นแบบระยะสั้น เรื้อรัง หรือมะเร็ง

2.5.4 ข้อมูลสนับสนุนทางเภสัชศาสตร์ เช่น กลไกการดูดซึม กลไกการกระจาย และกลไกการขับออกมา

2.5.6 เมื่อนำอาหารนั้นมาทดสอบกับสัตว์ทดลอง จะต้องคำนึงถึงปริมาณที่เหมาะสม ตลอดจนคุณค่าทางโภชนาการต่อสัตว์ทดลองด้วย

การประเมินความปลอดภัยของอาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม

ในการประเมินความปลอดภัยของอาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม จำเป็นต้องอาศัยข้อมูลดังกล่าวในบทที่ 3 เป็นพื้นฐานสำคัญ เพื่อเป็นแนวทางในการตัดสินใจว่าอาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม จะมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคเพียงใด ทั้งนี้สิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมหรืออาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม จำเป็นต้องได้รับการเปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิตหรืออาหารจากธรรมชาติ โดยอาศัยหลักของความเทียบเท่า (substantial equivalence) ในด้านต่าง ๆ เช่น ลักษณะที่ปรากฏ, องค์ประกอบต่าง ๆ คุณสมบัติใหม่ที่เกิดขึ้น ประวัติการใช้เป็นอาหาร และผลกระทบอื่น ๆ ซึ่งข้อมูลเหล่านี้เป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยสนับสนุนในด้านความปลอดภัยต่อการบริโภคมากยิ่งขึ้น

1) **คุณลักษณะที่แสดงออก** ของสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม ต้องได้รับการเปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิตสายพันธุ์เดิมที่ไม่ได้มีการดัดแปลงพันธุกรรม ในด้านต่าง ๆ ดังนี้

- 1.1) สัณฐานวิทยา
- 1.2) การเจริญเติบโต
- 1.3) สรีรวิทยา
- 1.4) การขยายพันธุ์
- 1.5) ผลผลิต
- 1.6) การก่อให้เกิดโรค

2) **องค์ประกอบของสารต่าง ๆ** ของสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม ต้องได้รับการเปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิต สายพันธุ์เดิมที่ไม่ได้มีการดัดแปลงพันธุกรรม ในด้านต่าง ๆ ดังนี้

- 2.1) สารอาหารหลักสำคัญๆ เช่น ไชมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต
- 2.2) สารอาหารรองสำคัญๆ เช่น เกลือแร่ วิตามิน

- 2.3) สารประกอบที่เป็นสารพิษอาจมีผลต่อสุขภาพ
- 2.4) สารที่ก่อให้เกิดภูมิแพ้และสารต้านโภชนาการ (anti-nutrient)

3) **ข้อมูลการใช้เป็นอาหาร** ของสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม ต้องได้รับการเปรียบเทียบกับสิ่งมีชีวิตสายพันธุ์เดิมที่ไม่ได้มีการดัดแปลงพันธุกรรม ในด้านต่าง ๆ ดังนี้

- 3.1) ประวัติการใช้บริโภค
- 3.2) การแพร่กระจายในธรรมชาติ
- 3.3) กลุ่มผู้บริโภคและสัดส่วนการบริโภคในแต่ละวัน
- 3.4) วิธีการและขั้นตอนการผลิตเพื่อใช้เป็นอาหาร
- 3.5) และผลกระทบต่อปริมาณของสารพิษ

4) **ความเป็นไปได้ในการเป็นสารพิษและสารก่อภูมิแพ้** สารพันธุกรรมหรือโปรตีนจากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม ต้องได้รับการเปรียบเทียบกับสารพิษหรือสารก่อภูมิแพ้ที่มีรายงานไว้

จากการเปรียบเทียบโดยใช้หลักการของความเทียบเท่า สามารถจัดระดับความปลอดภัยของอาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม ออกเป็น 3 ระดับ คือ

ความปลอดภัยระดับที่ 1 ถ้าสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม/อาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมมีความเทียบเท่าทุกอย่างกับสิ่งมีชีวิต/อาหารที่มาจากธรรมชาติซึ่งได้รับการยอมรับว่ามีความปลอดภัยแล้ว สามารถสรุปได้ว่าสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม/อาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมนั้นมีความปลอดภัยต่อการบริโภค และไม่จำเป็นต้องพิจารณาความปลอดภัยด้านอื่น ๆ เพิ่มเติม

ความปลอดภัยระดับที่ 2 ถ้าสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม/อาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมมีความเทียบเท่ากับอาหารที่มาจากธรรมชาติ ยกเว้นมีความแตกต่างอย่างเฉพาะเจาะจง อันเนื่องมาจากการดัดแปลงพันธุกรรม จำเป็นต้องพิจารณาความปลอดภัยเพิ่มเติม โดยจะเน้นถึงความแตกต่างอย่างเฉพาะเจาะจงนั้น เพื่อให้สามารถสรุปได้ว่าสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม/อาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมมีความปลอดภัยต่อการบริโภค

ความปลอดภัยระดับที่ 3 ถ้าสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม/อาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมไม่มีความเทียบเท่าหรือมีความแตกต่างอย่างสิ้นเชิงกับสิ่งมีชีวิต/อาหารที่มาจากธรรมชาติ หรือเป็นชนิดใหม่ที่ไม่เคยมีมาก่อนและไม่สามารถหาสิ่งมีชีวิต/อาหารจากธรรมชาติมาเป็นตัวเปรียบเทียบได้ อาหารกลุ่มนี้จะต้องผ่านการตรวจสอบความปลอดภัยอย่างครบถ้วน รวมทั้งการทดสอบความเป็นพิษและการก่อให้เกิดภูมิแพ้ในคนและสัตว์ด้วย

2. การประเมินความปลอดภัยด้านสิ่งแวดล้อม

หลักการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชดัดแปลงพันธุกรรม

ความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชดัดแปลงพันธุกรรม ที่พัฒนาขึ้นโดยเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ ซึ่งคำนึงถึงความปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม รวมทั้งความปลอดภัยต่อความหลากหลายทางชีวภาพ และสุขอนามัยของมนุษย์ อันเกิดจากการวิจัยและพัฒนา การเคลื่อนย้าย การจัดการและการใช้ประโยชน์พืชที่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม ในการตัดสินใจใช้ประโยชน์จากพืชดัดแปลงพันธุกรรมนั้น ต้องดำเนินการวิเคราะห์ความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชดัดแปลงพันธุกรรมอย่างรอบคอบซึ่งประกอบด้วยองค์ประกอบ 3 ส่วน ได้แก่

1. การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment) เป็นการประเมินที่อยู่บนพื้นฐานของข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ เพื่อประเมินว่าพืชดัดแปลงพันธุกรรมนั้น สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยไม่เพิ่มความเสี่ยงที่จะส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และต่อสุขอนามัยของมนุษย์ การทดลองทางวิทยาศาสตร์เพื่อประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพเริ่มจากการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพภายใต้สภาพที่ปิดมิดชิด เป็นการประเมินสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมในขั้นต้นว่าจะมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมภายนอกหรือไม่ หากประเมินในขั้นตอนนี้แล้วพบว่ามีความปลอดภัยทางชีวภาพเพียงพอจึงจะดำเนินการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพในแปลงทดลองที่มีการควบคุมกำกับดูแลอย่างเคร่งครัด เช่น การสร้างรั้ว การให้สารเคมีควบคุม หรือใช้วิธีการอื่น เช่น การใช้ถุงคลุมช่อดอกของพืช หรือการปลูกแยกให้ห่างจากพืชอื่นๆ เป็นต้น เพื่อรวบรวมข้อมูลด้านความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่มีปฏิสัมพันธ์กับสิ่งแวดล้อม และหากประเมินในขั้นตอนนี้แล้วพบว่ามีความปลอดภัยทางชีวภาพเพียงพอจึงจะดำเนินการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชดัดแปลงพันธุกรรมในสภาพไร่ หมายความว่าในรูปแบบเดียวกันกับที่เกษตรกรจะนำไปปลูกในอนาคต ทั้งนี้ จะนำข้อมูลความปลอดภัยทางชีวภาพทั้งหมดมาพิจารณาร่วมกับข้อมูลทางด้านเศรษฐกิจและสังคมก่อนการอนุญาตให้ปลดปล่อยพืชดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อเพาะปลูกและใช้ประโยชน์ทางการค้า

2. การจัดการความเสี่ยง (Risk management) เป็นการพิจารณาวิธีการบริหารจัดการเพื่อลดความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นในระหว่างการดำเนินการทดลอง การขนส่ง หรือการใช้พืชดัดแปลงพันธุกรรมให้เหลือน้อยที่สุด การประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพในขั้นตอนนี้สามารถนำไปสู่วิธีการบริหารจัดการความเสี่ยงว่าจะสามารถจัดการได้หรือไม่ และจัดการอย่างไร จึงจะไม่ให้เกิดผลกระทบต่อความปลอดภัยทางชีวภาพ งานทดลองวิจัยพืชดัดแปลงพันธุกรรมจะดำเนินการตามแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการดำเนินงานด้านเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่หรือพันธุวิศวกรรม จัดทำโดยคณะกรรมการกลางด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ซึ่งมีเนื้อหาครอบคลุมขอบเขตของงานวิจัยที่เกี่ยวกับการดัดแปลงพันธุกรรมของชีววินทรีย์ต่างๆ ตลอดจนถึงการสร้างพันธุ์พืชโดยพันธุวิศวกรรม การผลิตวัคซีน การผลิตเป็นการค้า และการปลดปล่อยชีววินทรีย์ต่างๆ พืช สัตว์ และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการดัดแปลงพันธุกรรมไปสู่สภาพแวดล้อม ซึ่งผู้ปฏิบัติงานวิจัย

จะดำเนินการภายใต้การกำกับดูแลของคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพระดับสถาบัน สำหรับ
กรมวิชาการเกษตรได้แต่งตั้งคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร
เพื่อกำกับดูแลพืชตัดแปลงพันธุกรรมของกรมวิชาการเกษตร

3. การสื่อสารความเสี่ยง (Risk communication) เป็นการให้ข้อมูลของพืชตัดแปลง
พันธุกรรมรวมทั้งข่าวสารในเรื่องของการประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพและการจัดการความเสี่ยงแก่
สาธารณชนที่เกี่ยวข้องได้รับทราบและสามารถพิจารณาตัดสินใจเลือกใช้ประโยชน์จากพืชตัดแปลง
พันธุกรรมได้อย่างถูกต้องบนพื้นฐานข้อเท็จจริง

การประเมินความเสี่ยงจัดเป็นกลไกหรือกระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญที่สุดในการพิจารณา
การปลดปล่อยสิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรมสู่สิ่งแวดล้อม หรือการผลิตออกจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ การ
ประเมินความเสี่ยงเป็นการรวบรวมและการแจกแจงข้อมูลที่มีแนวโน้ม หรือความน่าจะเป็นที่ก่อให้เกิด
อันตรายจากกระบวนการวิจัยและพัฒนาสิ่งมีชีวิตหรือผลิตภัณฑ์นั้นๆ โดยทั่วไปในการประเมินความเสี่ยง
จะให้ความสำคัญที่ลักษณะของสิ่งมีชีวิตที่มีการตัดแปลงพันธุกรรม มากกว่าเทคนิคและกระบวนการที่ใช้
สร้างสิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรม และ/หรือผลิตภัณฑ์ หลักเกณฑ์ที่ใช้ในการประเมินความเสี่ยงอัน
เนื่องมาจากสิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรม มีดังนี้

1. ผลอันเนื่องมาจากสิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรมต่อสิ่งแวดล้อม

1.1 ลักษณะของสิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรม และสิ่งแวดล้อมที่จะปลดปล่อยสิ่งมีชีวิต
ตัดแปลงพันธุกรรม

1.2 ความเป็นไปได้ในการควบคุมสิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรม และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ใน
สิ่งแวดล้อมนั้นๆ

1.3 ความเป็นไปได้ของการดำรงชีวิตอยู่ของสิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรม และการ
แพร่กระจายไปยังสิ่งแวดล้อมแหล่งอื่นๆ

1.4 มีความเสี่ยงต่อมนุษย์ในสิ่งแวดล้อมนั้นๆ หรือไม่

2. รายละเอียดของสิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรม

2.1 ต้องระบุรายละเอียดของสิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรม รวมทั้งพันธุ์พ่อแม่เดิม (parental
type) ของสิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรม เช่น

- ชื่อ (ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ ฯลฯ)

- สิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรมถูกพันธุกรรมถูกพัฒนามาจากพันธุ์ดั้งเดิมพันธุ์ใด

- พาหะ (vector) ที่ใช้ในการถ่ายทอดสารพันธุกรรมเป็นแบบใด ได้มาจากสิ่งมีชีวิต
ชนิดใด

2.2 ชิ้นส่วนของสารพันธุกรรมที่ถ่ายทอด สามารถควบคุมการสร้างสารพันธุกรรมได้หรือไม่
มีผลิตภัณฑ์ได้หรือไม่

3. วัตถุประสงค์ในการใช้สิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม

ต้องระบุให้ชัดเจน ถึงวัตถุประสงค์ในการประยุกต์ใช้สิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมและมีแผนการจะทำการผลิตหรือปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมหรือไม่

4. การพิจารณาผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่อาจเกิดขึ้น

ในบางครั้ง อาจสามารถแจกแจงการประเมินความเสี่ยง จากความสัมพันธ์ระหว่างส่วนที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงหรืออันตราย (hazard component) กับระดับความเสี่ยงที่ได้มาจากการวิเคราะห์ (degree of scrutiny required) ได้ โดยแบ่งเหตุที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงหรืออันตราย ดังนี้

4.1 องค์ประกอบของชิ้นส่วนสารพันธุกรรมที่ใส่เข้าไป รวมทั้งพาหะด้วย

4.2 ลักษณะที่ปรากฏภายนอก (phenotype) ของสิ่งมีชีวิตที่มีการดัดแปลงพันธุกรรม รวมถึงความคงที่ในการแสดงออก

4.3 ผลต่อสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตอื่นๆ รวมทั้งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น การเกิดพิษ ภูมิแพ้ หรือการก่อโรค

4.4 สิ่งมีชีวิตพันธุ์ดั้งเดิม (parent organisms or wild type) ก่อนที่จะนำมาทำเป็นสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม

หลักการประเมินความปลอดภัยด้านสิ่งแวดล้อมของพืชดัดแปลงพันธุกรรม

ในปี 1993 The Organization of Economic Cooperation and Development (OECD) ได้กำหนดหลักการในการผลิตพืชดัดแปลงพันธุกรรมในระดับการผลิตขนาดใหญ่ (larger-scale production) และ การทำการค้า (commercialization) ว่าความปลอดภัยจากเทคโนโลยีชีวภาพ จะต้องมีการวิเคราะห์และจัดการความเสี่ยงหรือความปลอดภัย การวิเคราะห์ความเสี่ยงจะจำแนกตามความอันตราย เมื่อจำแนกความอันตรายได้แล้วก็จะประเมินความเสี่ยงต่อไป ซึ่งการประเมินความเสี่ยงของพืชดัดแปลงพันธุกรรมนั้นจะต้องอยู่บนพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์และควรพิจารณาเป็นกรณีไป (case-by-case) ภายใต้หลักการ ดังนี้

1. หลักความใกล้ชิด (Familiarity) โดยพิจารณาจากข้อมูล ได้แก่

- ลักษณะทางชีววิทยา เช่น ความสัมพันธ์ทางด้านอนุกรมวิธาน ต้นกำเนิดและความหลากหลายทางพันธุกรรม กระบวนการสืบพันธุ์ หน้าที่ทางนิเวศวิทยา โรคและแมลงทั่วไปของพืช เป็นต้น
- ลักษณะใหม่ที่ใส่เข้าไปในพืชดัดแปลงพันธุกรรม
- ระบบการผลิตพืช

2. หลักความเทียบเท่า (Substantial Equivalence) โดยจะพิจารณาความเทียบเท่าของพืชดัดแปลงพันธุกรรมกับคู่เปรียบเทียบได้แก่พืชพันธุ์ดั้งเดิมที่ไม่ได้รับการดัดแปลงพันธุกรรม (conventional counterpart)

3. หลักการพิจารณาความปลอดภัย (Safety Considerations) จะทำการประเมินความปลอดภัยด้านสิ่งแวดล้อมของพืชดัดแปลงพันธุกรรม โดยการจำแนกและการประเมินความเสี่ยงที่เกี่ยวข้องกับการปลดปล่อยและการเพาะปลูกพืชดัดแปลงพันธุกรรม โดยการพิจารณาเปรียบเทียบกับพืชเดิมที่มีประวัติการใช้อย่างปลอดภัย รวมถึงสิ่งที่เป็นประเด็นความกังวลต่างๆ

การประเมินความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชดัดแปลงพันธุกรรมมีประเด็นความกังวลที่จำเป็นต้องพิจารณา ได้แก่

- การเคลื่อนย้ายยีนไปยังพืชที่มีความใกล้ชิด (สามารถผสมข้ามชนิดพันธุ์กันได้และลูกที่ได้สามารถมีชีวิตรอด) ในการประเมินศักยภาพในการผสมข้าม ในกรณีนี้สิ่งที่จำเป็นต้องรู้คือ ชีววิทยาด้านการสืบพันธุ์ของพืชและการผสมข้ามระหว่างพืชที่มีสายพันธุ์ใกล้ชิดกัน รวมทั้งผลกระทบของลักษณะที่แสดงออกในพืชชนิดพันธุ์อื่น ข้อมูลดังกล่าวอาจจะได้จากการตรวจเอกสาร หรือจากการสำรวจพืช

- การเคลื่อนย้ายยีนไปยังสิ่งมีชีวิตอื่นที่ไม่ใกล้ชิด (การเคลื่อนย้ายที่ไม่ได้เกิดจากการผสมพันธุ์หรือที่เกิดขึ้นระหว่างสิ่งมีชีวิตต่างชนิดกัน โดยเฉพาะความเป็นไปได้ที่จะมีการเคลื่อนย้ายยีนระหว่างพืชกับแบคทีเรีย)

- ศักยภาพที่จะเป็นวัชพืช (เป็นการวัดความสามารถของพืชที่จะคงอยู่ในระบบนิเวศโดยเฉพาะความสามารถที่จะไปแทนที่ชนิดพันธุ์อื่น) โดยจะทำการตรวจสอบในลักษณะต่อไปนี้คือ การกระจายของเมล็ดพันธุ์ การพักตัวของเมล็ดพันธุ์ การงอกของเมล็ด/การอยู่รอด ความสามารถในการแข่งขัน ลักษณะทางการเกษตรอื่นๆ และความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมทางกายภาพ เช่น ความแล้ง เป็นต้น

- ผลกระทบทางลบที่อาจเกิดขึ้นภายหลังและต่อสิ่งมีชีวิตที่มีชีพาหมาย เป็นการพิจารณาผลที่จะเกิดขึ้นอย่างไม่ตั้งใจ หากมีการปลดปล่อยพืชดัดแปลงพันธุกรรมสู่สิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อการปฏิบัติทางการเกษตรที่มีอยู่และระบบนิเวศทางการเกษตร ซึ่งเป็นการพิจารณาถึงศักยภาพที่จะเกิดผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นภายหลังหรือผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตที่มีชีพาหมาย

บทที่ 3

ขั้นตอนการทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมก่อนการปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อม

การศึกษาทดลองเพื่อตรวจสอบความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม

แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมระดับห้องปฏิบัติการ/โรงเรือน

พืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมซึ่งเป็นสิ่งต้องห้ามตามพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ.2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542 เมื่อได้รับอนุญาตแล้วจึงนำมาในราชอาณาจักรได้ โดยต้องทำการปลูกเพื่อตรวจสอบความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosafety) ว่าจะไม่มีผลในทางลบต่อทรัพยากรชีวภาพ มนุษย์ สัตว์ และสิ่งแวดล้อม ภายในโรงเรือนที่ปิดมิดชิดอย่างน้อย 1 ฤดูการปลูก (cropping season) หากผลการตรวจสอบปรากฏว่า มีความปลอดภัยทางชีวภาพไม่น้อยกว่าเงื่อนไขที่กำหนด จึงจะอนุญาตให้ทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป หรือนำไปใช้เพื่อการวิจัยอื่นๆ

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมภาคสนามขนาดเล็ก

พืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมเมื่อผ่านการศึกษาดทดลองในห้องปฏิบัติการและ/หรือห้องปฏิบัติการและคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ได้พิจารณาแล้ว เห็นสมควรอนุญาตให้ดำเนินการทดลองในขั้นตอนต่อไปจึงจะเริ่มการทดลองในแปลงทดลองได้ การทดลองในขั้นตอนนี้ ต้องดำเนินการไม่น้อยกว่า 1 ฤดูปลูก

ขั้นตอนที่ 3 การทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมภาคสนามขนาดใหญ่

เมื่อได้ผ่านการทดลองในขั้นตอนที่ 1 และที่ 2 แล้ว หากผู้นำเข้าพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม มีความประสงค์ที่จะนำพืชที่ได้ผ่านการทดสอบความปลอดภัยทางชีวภาพเข้ามาในราชอาณาจักรเพื่อจำหน่ายจ่ายแจกต้องดำเนินการศึกษาดทดลองในสภาพไร่ก่อน ซึ่งการทดลองในขั้นตอนนี้ต้องดำเนินการไม่น้อยกว่า 2 ท้องที่ หรือ 2 ฤดูปลูก

ทั้งนี้การดำเนินงานทดลองจะเริ่มดำเนินงาน จากขั้นตอนใดขึ้นอยู่กับข้อมูลที่เสนอ เพื่อให้คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร พิจารณาตัดสิน

เงื่อนไขการศึกษาทดลองตรวจสอบและมาตรการป้องกันและควบคุมความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม

ประกอบด้วยการศึกษาดทดลอง 3 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 การทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมระดับห้องปฏิบัติการ/โรงเรือน

1. สภาพโรงเรือนและ/หรือห้องปฏิบัติการ ต้องผ่านการตรวจสอบและรับรองจากคณะทำงานตรวจสอบความปลอดภัยทางชีวภาพภาคสนามของกรมวิชาการเกษตรก่อนดำเนินการทดลองทุกครั้ง

1.1 สภาพโรงเรือน

1.1.1 โรงเรือนทดลองต้องมีสภาพปิดมิดชิด พื้นเป็นคอนกรีต ผนังและหลังคาเป็นมุ้งลวดตาข่าย ขนาดละเอียดไม่น้อยกว่า 30 เมช (mesh : thirty gauge 30/32 mesh wire gauge) หรือโรงเรือนกระจก ตามที่คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กำหนดตามความเหมาะสมของชนิดพืช โรงเรือนต้องมีระบบป้องกันหนู แมลง หรือสัตว์อื่นๆ ทุกชนิดไม่ให้เข้าไปได้มีการป้องกันไม่ให้ละอองเกสรของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมออกไปภายนอกได้ และห้ามนำพืชหรือชิ้นส่วนของพืชที่ใช้ทดลองออกไปจากโรงเรือนทดลองโดยเด็ดขาด

1.1.2 ประตูเข้าสู่โรงเรือนต้องติดป้ายบอกชนิดของพืช การทดลองและวิธีการดำเนินงาน รวมทั้งมีการบำรุงรักษาที่ดี มีชื่อผู้รับผิดชอบ พร้อมทั้งหมายเลขโทรศัพท์ที่สามารถติดต่อได้เมื่อมีเหตุฉุกเฉิน และติดป้าย “บุคคลที่ไม่เกี่ยวข้องห้ามเข้า”

1.1.3 โรงเรือนทดลองต้องอยู่ห่างจากโรงเรือนหรือแหล่งปลูกพืชอื่น ๆ ไม่น้อยกว่า 20 เมตร หรือระยะความปลอดภัยที่คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กำหนดตามความเหมาะสมของชนิดพืช

1.1.4 โรงเรือนต้องมีห้องโถงด้านหน้าก่อนทางเข้าและทางออกห้องโถงต้องมีแถบยางเหนียวป้องกันแมลงที่จะเข้า/ออกจากห้อง ยกเว้นโรงเรือนที่ปลูกติดกันกับตึกที่มีความควบคุมและป้องกันชีวภัยแล้ว ไม่จำเป็นต้องมีห้องโถงด้านหน้าดังกล่าว

1.1.5 มีเครื่องมือ อุปกรณ์สำหรับกำจัดพืชและวัสดุที่ใช้ในการทดลอง เช่น ตู้อบความร้อนสูงหรือเตาเผา (incubator)

1.1.6 โรงเรือนต้องล้อมรอบด้วยร่องน้ำ เพื่อป้องกันแมลงที่อาจเข้าไปภายในโรงเรือนได้ โดยร่องน้ำมีความกว้างไม่ต่ำกว่า 20 เซนติเมตร และมีน้ำหล่อตลอดเวลา

1.1.7 มีสถานที่เปลี่ยนรองเท้า สวมเสื้อคลุม และหมวกที่จัดเตรียมไว้ในห้องโถง พร้อมทั้งมีสถานที่สำหรับเดินจุ่มเท้าลงในน้ำยาฆ่าเชื้อให้ทั่วรองเท้าก่อนเข้าโรงเรือนและหลังจากออกจากโรงเรือน

ทั้งนี้ คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร จะเป็นผู้กำหนดลักษณะสภาพโรงเรือนตามความเหมาะสมในแต่ละพืช ที่ทำการทดสอบ

1.2 สภาพห้องทดลอง

1.2.1 ห้องปฏิบัติการต้องมีลักษณะถูกต้องตามมาตรฐานความปลอดภัยตามแนวทางปฏิบัติเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการทดลองทางพันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพระดับห้องปฏิบัติการ กำหนดโดยคณะกรรมการกำหนดมาตรการความปลอดภัยในการทำงานด้านพันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ หรือตามที่คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตรเห็นชอบ

1.2.2 ด้านหน้าประตูเข้าห้องปฏิบัติการต้องติดป้ายบอกเรื่องที่ว่าดำเนินการทดลองและติดป้าย “บุคคลที่ไม่เกี่ยวข้องห้ามเข้า”

2. การปฏิบัติการในโรงเรือนและ/หรือห้องปฏิบัติการ

คณะทำงานตรวจสอบความปลอดภัยทางชีวภาพภาคสนาม จะเป็นผู้กำหนดการปฏิบัติภายในโรงเรือนและ/หรือห้องปฏิบัติการตามความเหมาะสมในแต่ละพืช ดังนี้

2.1 โรงเรือนหรือห้องปฏิบัติการต้องได้รับการตรวจสอบเป็นประจำ เพื่อให้แน่ใจว่าระบบการควบคุมและป้องกันชีวภัยไม่บกพร่อง เครื่องกรองใยแก้ว รวมทั้งอุปกรณ์อื่น ๆ ต้องทำความสะอาดอย่างสม่ำเสมอ ในกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงหรือชำรุด นอกเหนือจากคณะทำงานตรวจสอบความปลอดภัยทางชีวภาพภาคสนามตรวจสอบแล้วต้องมีบันทึกไว้เป็นหลักฐานและแจ้งให้คณะทำงานตรวจสอบความปลอดภัยทางชีวภาพภาคสนามทราบ เพื่อตรวจสอบอีกครั้งหนึ่ง

2.2 ประตูทุกประตูที่เข้าสู่โรงเรือนหรือห้องปฏิบัติการต้องปิดล็อกได้

2.3 บุคคลที่ได้รับอนุญาตจากเท่านั้น ที่สามารถเข้า/ออกโรงเรือนหรือห้องปฏิบัติการได้ โดยบุคคลเหล่านี้ต้องได้รับการฝึกอบรม ให้ปฏิบัติตามระเบียบและวิธีดำเนินงานในโรงเรือนและ/หรือห้องปฏิบัติการมาแล้ว

2.4 ผู้ที่จะเข้าไปปฏิบัติงานภายในโรงเรือน ต้องทำความสะอาดมือให้สะอาด สวมรองเท้าป้องกัน (overshoes) สวมเสื้อคลุม (gown/boiler suit) และหมวกที่จัดเตรียมไว้ในห้องโถง พร้อมทั้งเดินจุ่มเท้าลงในน้ำยาฆ่าเชื้อโรคที่รองเท้าก่อนเข้าโรงเรือนและหลังออกจากโรงเรือน สิ่งสวมใส่เหล่านี้ต้องได้รับการซักล้างอย่างสม่ำเสมอ

2.5 ต้นพืชและสิ่งทดลองทุกชนิดในโรงเรือนหรือห้องปฏิบัติการต้องได้รับการปฏิบัติด้านความปลอดภัยคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตรเช่นเดียวกับพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม งานที่ไม่เกี่ยวข้องกับการทดลองพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม ห้ามดำเนินการในโรงเรือนหรือห้องปฏิบัติการนี้

2.6 ห้ามนำต้นพืชและสิ่งมีชีวิตที่ใช้ในการทดลองออกจากโรงเรือนและ/หรือห้องปฏิบัติการที่กำหนดไว้

2.7 สิ่งทดลองทุกชนิด เช่น ต้นพืช แมลง เนื้อเยื่อและของเสียจะต้องใส่ภาชนะปิดมิดชิดก่อนนำเข้าหรือออกจากโรงเรือน ของเสียจากพืช เนื้อเยื่อ ดินหรือดินเทียมและภาชนะต้องได้รับการฆ่าเชื้อหรือนำไปบดฆ่าเชื้ออย่างทั่วถึง ก่อนนำไปทิ้งหรือนำกลับไปใช้ใหม่

2.8 ถ้าไม่ทำให้ผลการทดลองเสียหายควรพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงทั่วทั้งต้นพืช โรงเรือนต้องได้รับการพ่นหรืออบด้วยสารป้องกันกำจัดแมลง และหนอย่างสม่ำเสมอ

2.9 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ให้ทำความสะอาดโรงเรือนหรือห้องปฏิบัติการและพ่นสารป้องกันกำจัดแมลงให้ทั่ว เศษซากพืช ผลผลิตและแมลงให้เผาทำลายทันที

ยกเว้น ในกรณีที่ต้องศึกษาทดลองเกี่ยวกับผลผลิต ก็ดำเนินการได้เฉพาะกรณีที่ได้ระบุอยู่ในแผนการทดลอง และได้รับอนุญาตให้ดำเนินการจากคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตรแล้ว

3. ข้อมูลที่ต้องศึกษาในโรงเรือนและ/หรือห้องปฏิบัติการ

3.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม เช่น ความสูง การเจริญเติบโต การแต่งกิ่ง ใบ ดอก ฯลฯ โดยเปรียบเทียบพืชพันธุ์ปกติเดิมที่ไม่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม และพันธุ์พืชแนะนำหรือพันธุ์รับรองในห้องอื่น

3.2 ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับระบบการสืบพันธุ์ เช่น ลักษณะดอก การบานของดอก การพัฒนาของเกสรตัวผู้และตัวเมีย การแพร่กระจายของละอองเกสรเปอร์เซ็นต์การผสม การติดเมล็ด ฯลฯ โดยเปรียบเทียบพืชพันธุ์ปกติเดิมที่ไม่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม และพันธุ์พืชแนะนำหรือพันธุ์รับรองในห้องอื่น

3.3 การผสมข้ามและการถ่ายทอดพันธุกรรมของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมกับพันธุ์พืชชนิดเดียวกันหรือพืชอื่น ๆ ในบริเวณใกล้เคียง

3.4 การเป็นวัชพืช และวิธีป้องกันกำจัดของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม ศึกษาการเจริญเติบโตการเกิดโรค แมลง และวิธีป้องกันกำจัด

3.5 ผลกระทบของพันธุ์พืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมต่อแมลงที่เป็นประโยชน์ เช่น ผีเสื้อ แมลงห้ำ แมลงเบียน ฯ ฯลฯ

3.6 ผลกระทบต่อจุลินทรีย์ในดิน โดยศึกษาวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ในดินปลูกพืช ระหว่างพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมกับพันธุ์พืชแนะนำหรือพันธุ์รับรองในห้องอื่น

3.7 ผลกระทบต่อสัตว์บางชนิด เช่น หนู กระต่าย

3.8 ผลกระทบต่อพืชและวัชพืชที่อยู่ข้างเคียงและพืชปลูกตามหลังพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม

3.9 การศึกษาด้านอื่น ๆ ตามความเหมาะสม

คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร จะเป็นผู้กำหนดข้อมูล และวิธีดำเนินการตามความเหมาะสมของแต่ละชนิดพืชและคุณสมบัติของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมนั้น ๆ

ขั้นตอนที่ 2 การทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมภาคสนามขนาดเล็ก

1. ลักษณะของแปลงทดลอง

1.1 สถานที่ดำเนินการทดลองควรเป็นพื้นที่อิสระ (isolate area) และพืชที่แปลงทดลองต้องเป็นพื้นที่ราบที่มีความสม่ำเสมอและไม่มีน้ำท่วม

1.2 ขนาดแปลงทดลองขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของแต่ละการทดลอง ในแต่ละพืชและต้องล้อมรั้วแสดงขอบเขตแปลงทดลองที่แน่นอน

1.3 แปลงทดสอบจะต้องอยู่ห่างจากแปลงพืชอื่น ๆ ตามแนวทางการทดสอบความปลอดภัยทางชีวภาพของแต่ละพืช และติดป้าย “ห้ามเข้า” ให้เห็นชัดเจนในระยะห่างไม่ต่ำกว่า 10 เมตร

2. วิธีดำเนินงานและข้อปฏิบัติในเรื่องความปลอดภัยทางชีวภาพ

2.1 ต้องปลูกพืชที่ไม่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมล้อมรอบพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม โดยมีจำนวนแถวตามที่กำหนดในแนวทางการทดลองของพืชแต่ละชนิด

2.2 จำนวนต้นต่อสิ่งทดลองในแต่ละซ้ำเพื่อการบันทึกข้อมูลต้องไม่น้อยกว่า 10 ต้น

2.3 ในกรณีแปลงทดลองอยู่ห่างไม่ถึงตามระยะที่กำหนด ถ้าจำเป็นต้องปลูกพืชชนิดเดียวกันในบริเวณใกล้เคียง ต้องปลูกก่อนหรือหลังการปลูกพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม ตามที่กำหนดในแนวทางการทดลองเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพไม่น้อยกว่า 3 สัปดาห์

2.4 ทำการกำจัดวัชพืชในแปลงทดลองด้วยสารเคมีหรือวิธีการอื่นใดที่เหมาะสมอย่างสม่ำเสมอ

2.5 จัดให้มีสถานที่กำจัดเศษซากพืชและ/หรือน้ำที่ใช้ในการทดลองในบริเวณแปลงทดลอง

2.6 เศษซากพืช วัชพืชและแมลงที่ตายอันเนื่องมาจากการทดลองให้ผู้รับผิดชอบการทดลองทำการกำจัดโดยการเผาทำลายในสถานที่ตามข้อ 2.5

2.7 ให้ชุดและเผาทำลายต้นพืชและชิ้นส่วนต่าง ๆ เมื่อเสร็จสิ้นแต่ละการทดลอง

2.8 ภายหลังจากเสร็จสิ้นการทดลอง ให้เผาต้นพืชทั้งหมด แล้วไถพรวนดินจากนั้นปล่อยพื้นที่ทิ้งไว้โดยไม่ปลูกพืชใดๆ อย่างน้อย 3 เดือน และติดตามตรวจสอบการงอกของเมล็ดพืชดังกล่าว หากพบเห็นให้ทำลายทันที

3. การบันทึกข้อมูลในแปลงทดลอง

ทำการการบันทึกข้อมูลต่าง ๆ ในพืชทุกพันธุ์ที่ใช้ทดลองตามลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

3.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม เช่น ความสูง การเจริญเติบโต การแตกกิ่ง ใบ ดอก ฯลฯ โดยเปรียบเทียบกับพันธุ์ปกติเดิมที่ไม่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม และพืชพันธุ์แนะนำหรือพันธุ์รับรองในท้องถิ่น

3.2 ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับระบบการสืบพันธุ์ เช่น ลักษณะดอก การบานของดอก การพัฒนาของเกสรตัวและเกสรตัวเมีย การแพร่กระจายของละอองเกสร ผู้เปอร์เซ็นต์การผสม การติดเมล็ด ฯลฯ โดยเปรียบเทียบกับพืชพันธุ์ปกติเดิมที่ไม่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม และพืชพันธุ์แนะนำหรือพันธุ์รับรองในท้องถิ่น

3.3 การผสมข้ามและการถ่ายทอดพันธุกรรมของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมกับพืชชนิดเดียวกันหรือพืชอื่น ๆ ในบริเวณใกล้เคียง

3.4 การเกิดโรค การทำลายของแมลง และการเป็นวัชพืช

3.5 ผลกระทบของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมต่อแมลงที่เป็นประโยชน์ เช่น ผึ้ง แมลงห้ำ แมลงเบียน ฯ ลฯ

3.6 ผลกระทบต่อจุลินทรีย์ในดิน

3.7 ผลกระทบต่อคน สัตว์ และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ

3.8 ผลกระทบต่อชีวิตและวัชพืชที่อยู่ข้างเคียง และพืชปลูกตามหลังพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม

3.9 การศึกษาด้านอื่นๆ ตามความเหมาะสม

คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตรจะเป็นผู้กำหนดข้อมูลและวิธีดำเนินการตามความเหมาะสมของแต่ละชนิดพืชและคุณสมบัติของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมนั้นๆ

ขั้นตอนที่ 3 การทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมภาคสนามขนาดใหญ่

1. ลักษณะของแปลงทดลอง

1.1 สถานที่ดำเนินการทดลองควรเป็นพื้นที่อิสระ (isolated area) และพื้นที่แปลงทดลองต้องเป็นพื้นที่ราบที่มีความสม่ำเสมอและไม่มีน้ำท่วม

1.2 ขนาดแปลงทดลองขึ้นกับความเหมาะสมของแต่ละการทดลอง ในแต่ละพืชและต้องล้อมรั้วแสดงขอบเขตแปลงทดลองที่แน่นอน

1.3 แปลงทดลองจะต้องอยู่ห่างจากแปลงพืชอื่น ๆ ตามแนวทางการทดลองความปลอดภัยทางชีวภาพของแต่ละพืช และติดป้าย “ห้ามเข้า” ให้เห็นชัดเจนในระยะห่างไม่ต่ำกว่า 10 เมตร

1.4 ดำเนินการไม่น้อยกว่า 2 ท้องที่ หรือ 2 ฤดูปลูก

1.5 จำนวนสถานที่ทำการทดลองและขนาดแปลงทดลองขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการทดลอง

2. วิธีดำเนินงานและข้อปฏิบัติในเรื่องความปลอดภัยทางชีวภาพ

2.1 ต้องปลูกพืชชนิดหรือพันธุ์เดิมที่ไม่ได้รับการตัดต่อพันธุกรรมล้อมรอบพืชตัดต่อสารพันธุกรรม โดยมีจำนวนแถวตามที่กำหนดในแนวทางการทดลองของแต่ละชนิดพืช

2.2 ในกรณีแปลงทดลองอยู่ห่างไม่ถึงตามระยะที่กำหนด ถ้าจำเป็นต้องปลูกพืชชนิดเดียวกันในบริเวณใกล้เคียง ต้องปลูกก่อนหรือหลังการปลูกพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม ตามที่กำหนดในแนวทางการทดลองเพื่อความปลอดภัยทางชีวภาพไม่น้อยกว่า 3 สัปดาห์

2.3 ทำการกำจัดวัชพืชในแปลงทดลองด้วยสารเคมีหรือวิธีการอื่นใดที่เหมาะสมอย่างสม่ำเสมอ

2.4 จัดให้มีสถานที่กำจัดเศษซากพืชและ/หรือน้ำที่ใช้ในการทดลองในบริเวณแปลงทดลอง

2.5 เศษซากพืช วัชพืชและแมลงที่ตายอันเนื่องมาจากการทดลองให้ผู้รับผิดชอบการทดลองทำการกำจัดโดยการเผาทำลายในสถานที่ตามข้อ 2.4

2.6 ให้ชุดและเผาทำลายต้นพืชและชิ้นส่วนต่าง ๆ ของต้นพืชเมื่อเสร็จสิ้นแต่ละการทดลอง

2.7 ภายหลังจากเสร็จสิ้นการทดลอง ให้เผาต้นพืชทั้งหมด แล้วไถพรวนดินจากนั้นปล่อยพื้นที่ทิ้งไว้โดยไม่ปลูกพืชใดๆ อย่างน้อย 3 เดือน และติดตามตรวจสอบการงอกของเมล็ดพืชดังกล่าว หากพบเห็นให้ทำลายทันที

3. การบันทึกข้อมูลในแปลงทดลอง

ทำการการบันทึกข้อมูลต่าง ๆ ในพืชทุกพันธุ์ที่ใช้ทดลองตามลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

3.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม เช่น ความสูง การเจริญเติบโต การแตกกิ่ง ใบ ดอก ฯลฯ โดยเปรียบเทียบกับพันธุ์ปกติเดิมที่ไม่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม และพืชพันธุ์แนะนำหรือพันธุ์รับรองในท้องถิ่น

3.2 ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับระบบการสืบพันธุ์ เช่น ลักษณะดอก การบานของดอก การพัฒนาของเกสรตัวและเกสรตัวเมีย การแพร่กระจายของละอองเกสร ผู้เปอร์เซ็นต์การผสม การติดเมล็ด ฯลฯ โดยเปรียบเทียบกับพืชพันธุ์ปกติเดิมที่ไม่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม และพืชพันธุ์แนะนำหรือพันธุ์รับรองในท้องถิ่น

3.3 การผสมข้ามและการถ่ายทอดพันธุกรรมของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมกับพันธุ์พืชชนิดเดียวกันหรือพืชอื่น ๆ ในบริเวณใกล้เคียง

3.4 การเกิดโรค การทำลายของแมลง และการเป็นวัชพืช

3.5 ผลกระทบของพันธุ์พืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมต่อแมลงที่เป็นประโยชน์ เช่น ผีเสื้อ แมลงห้ำ แมลงเบียน ๆ ฯลฯ

3.6 ผลกระทบต่อจุลินทรีย์ในดิน

3.7 ผลกระทบต่อคน สัตว์และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ

3.8 ผลกระทบต่อพืชและวัชพืชที่อยู่ข้างเคียง และพืชปลูกตามหลังพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรม

3.9 การศึกษาด้านอื่นๆ ตามความเหมาะสม

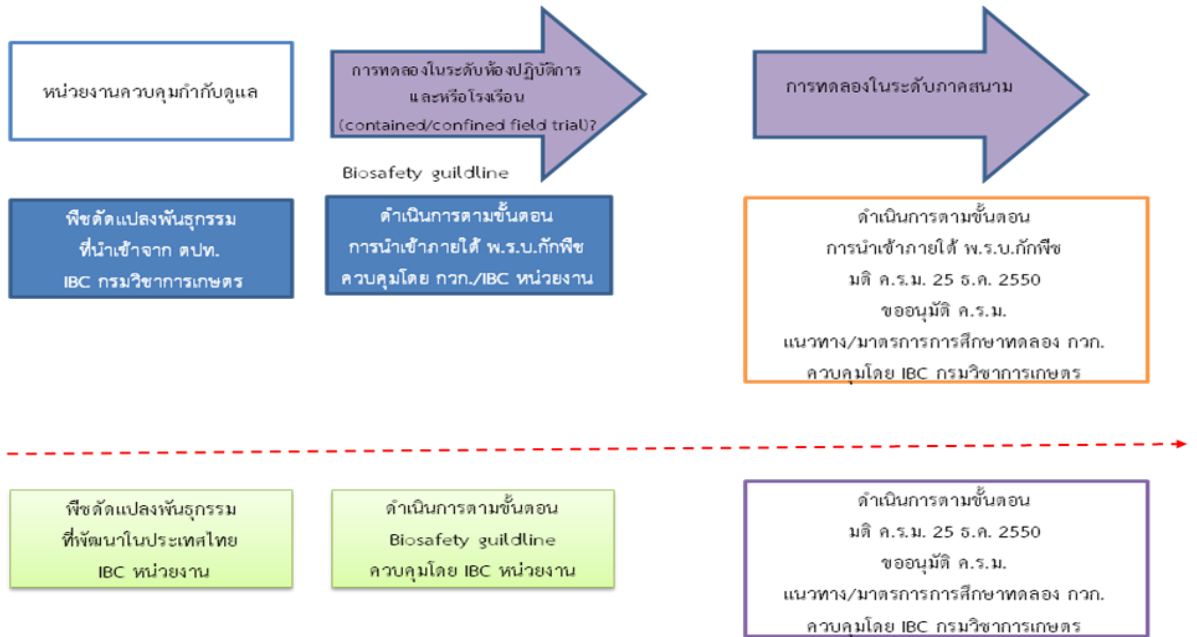
คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตรจะเป็นผู้กำหนดข้อมูลและวิธีดำเนินการตามความเหมาะสมของแต่ละชนิดพืชและคุณสมบัติของพืชที่ได้รับการตัดต่อสารพันธุกรรมนั้น ๆ

4. สรุปผล

4.1 สรุปผลการประเมินหลังการศึกษาทดลองและตรวจสอบความปลอดภัยทางชีวภาพทั้งในแปลงทดลอง (ขั้นตอนที่ 2) และในสภาพไร่ (ขั้นตอนที่ 3) แต่ละขั้นตอนอย่างน้อย 2 ครั้ง หรือ 2 ปี เสนอต่อคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพ ด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร

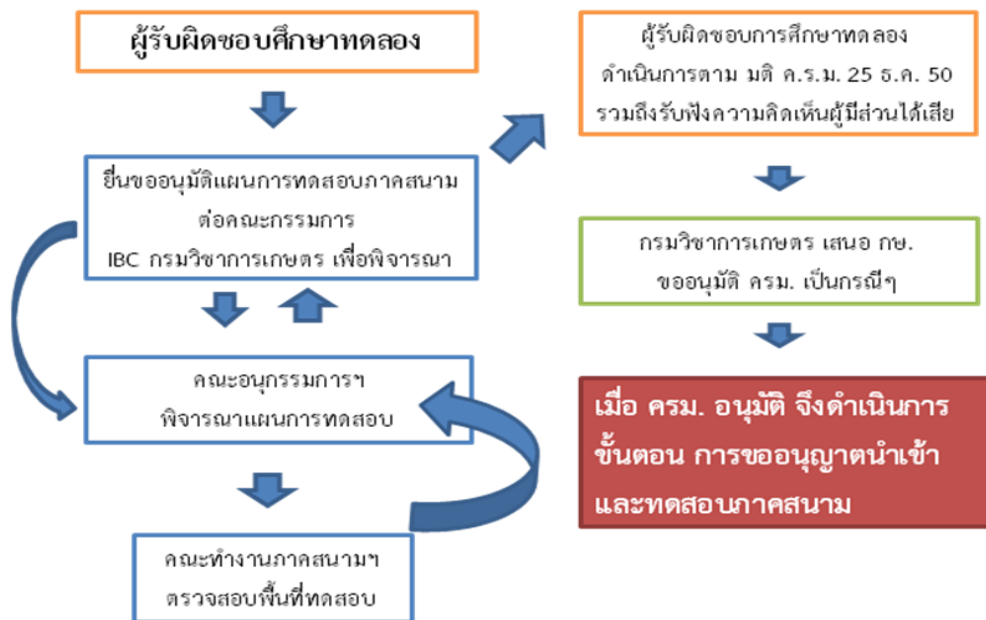
4.2 ติดตามตรวจสอบแปลงทดลองในสภาพไร่ (ขั้นตอนที่ 3) ควรแต่งตั้งนักวิชาการในศูนย์วิจัย/สถานีทดลองฯ ในพื้นที่นั้น ร่วมติดตามตรวจสอบความปลอดภัยในการดำเนินงาน

ขั้นตอนการดำเนินการ: ทดสอบความปลอดภัยทางชีวภาพพืชตัดแปลงพันธุกรรม



ภาพที่ 5 ขั้นตอนการดำเนินการ : ทดสอบความปลอดภัยทางชีวภาพพืชตัดแปลงพันธุกรรม

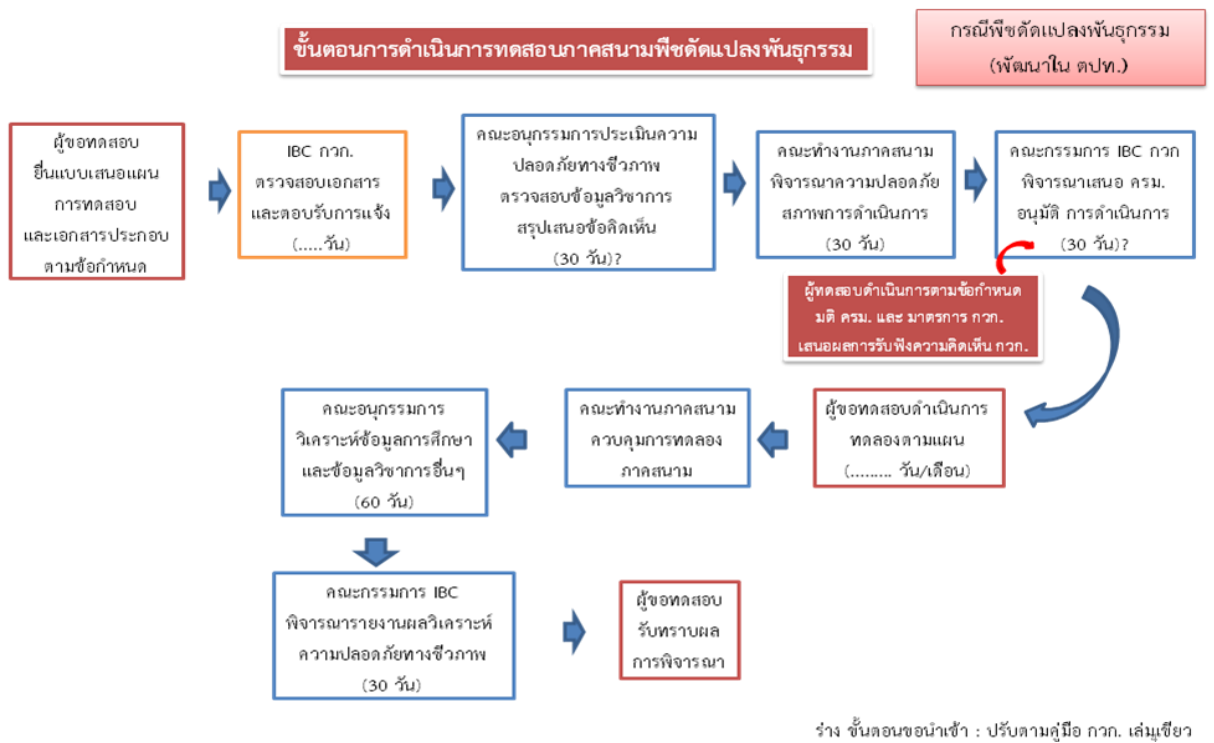
ขั้นตอนการดำเนินการทดสอบภาคสนามพืชตัดแปลงพันธุกรรม (ที่ดำเนินการปัจจุบัน กรณี NK603)



ภาพที่ 6 ขั้นตอนการดำเนินการ : ทดสอบภาคสนามพืชตัดแปลงพันธุกรรม กรณี NK603

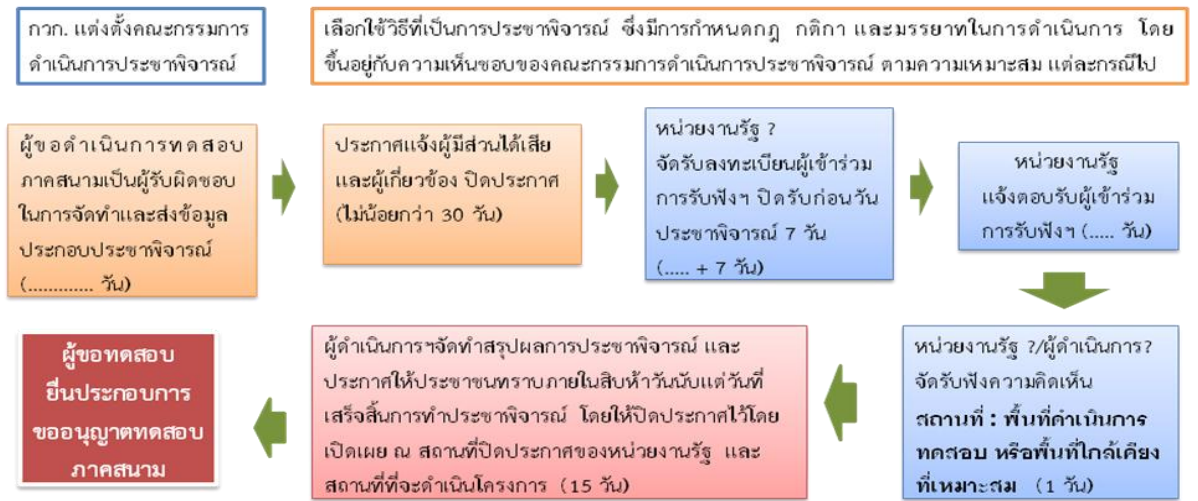


ภาพที่ 7 ขั้นตอนการดำเนินการ : ทดสอบภาคสนามพืชตัดแปลงพันธุกรรม กรณีนำเข้าจากต่างประเทศ



ภาพที่ 8 ขั้นตอนการดำเนินการ : ทดสอบภาคสนามพืชตัดแปลงพันธุกรรม กรณีพัฒนาในต่างประเทศ

ขั้นตอน: การรับฟังความคิดเห็น



5

ภาพที่ 9 ขั้นตอน : การรับฟังความคิดเห็น

บทที่ 4

ร่างมาตรการการกำกับดูแลงานทดสอบความเสี่ยงของพืชตัดแปลงพันธุกรรม ในแปลงทดลองของทางราชการ

บทนำ

สืบเนื่องจาก การประชุมคณะรัฐมนตรีเมื่อวันที่ 25 ธันวาคม 2550 พิจารณาเรื่อง การทดลองวิจัยพืชตัดแปลงพันธุกรรม ตามที่กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้นำเสนอ และคณะรัฐมนตรี ได้อนุมัติตามมติคณะกรรมการกักกันกรองเรื่องเสนอคณะรัฐมนตรี ครั้งที่ 2 ครั้งที่ 31/2550 เมื่อวันที่ 28 พฤศจิกายน 2550 ดังนี้

1. ให้สำนักเลขาธิการรัฐมนตรีเร่งรัดการดำเนินการร่างพระราชบัญญัติว่าด้วยความปลอดภัยทางชีวภาพของเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ พ.ศ. ตามขั้นตอน เพื่อให้มีความคืบหน้าและมีผล บังคับใช้เร็วที่สุด

2. ในระหว่างที่ร่างพระราชบัญญัติว่าด้วยความปลอดภัยทางชีวภาพสมัยใหม่ พ.ศ. ยังไม่ มีผลบังคับ เห็นควรดำเนินการ ดังนี้ ให้กระทรวงเกษตรและสหกรณ์รีบไปเตรียมความพร้อม ในการขยาย การทดลองวิจัยพืชตัดแปลงพันธุกรรม ออกไปในระดับแปลงทดลองของส่วนราชการ โดยให้ระบุพื้นที่และ ชนิดของพืชให้ชัดเจน รวมทั้งมาตรการในการควบคุมอย่างเข้มงวด พร้อมทั้งให้ไปศึกษาและประเมินผล กระทบต่อคุณภาพสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของประชาชนในพื้นที่ และบริเวณใกล้เคียงพื้นที่ที่จะทำการ ทดลอง ตลอดจนจัดให้มีกระบวนการรับฟังความคิดเห็นของประชาชนและผู้มีส่วนได้เสียและอื่นๆ ตาม บทบัญญัติของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทย พ.ศ. 2550 มาตรา 67 ก่อน ทั้งนี้ ในการศึกษา ควรมี การศึกษาโดยใช้กระบวนการแบบบูรณาการและการมีส่วนร่วม เพื่อให้ได้ข้อยุติเป็นความเห็นร่วมกัน แล้ว จึงเสนอคณะรัฐมนตรีอนุมัติในแต่ละพื้นที่ต่อไป

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ จึงดำเนินการเตรียมความพร้อมในการทดสอบ พืชตัดแปลงพันธุกรรม ออกไปในระดับแปลงทดลองของส่วนราชการ โดยได้จัดทำมาตรการกำกับดูแล งานทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมขึ้น โดยพิจารณานำสาระและองค์ประกอบสำคัญของร่าง พระราชบัญญัติว่าด้วยความปลอดภัยทางชีวภาพของเทคโนโลยีชีวภาพสมัยใหม่ พ.ศ. และหลักการ ทางวิทยาศาสตร์ ตลอดจนบทบัญญัติของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทย พ.ศ. 2550 มาตรา 67 มาใช้ เป็นแนวทางในการวางมาตรการเพื่อนำไปปฏิบัติได้อย่างเป็นรูปธรรม ต่อการดำเนินการทดสอบพืช ตัดแปลงพันธุกรรมในแปลงทดลองของส่วนราชการต่อไป ทั้งนี้ “แปลงทดลองของส่วนราชการ” ตาม มาตรการนี้ หมายถึง แปลงทดลองในพื้นที่ของหน่วยงานของรัฐ ทั้งที่เป็นส่วนราชการ เช่น สถานีวิจัย หรือสถานีทดลองต่างๆ ของกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ตลอดจนสถานีวิจัยต่างๆ ของ มหาวิทยาลัยและสถาบันอุดมศึกษาต่างๆ ของรัฐ และ หน่วยงานทางราชการของรัฐอื่นๆ เป็นต้น

1. มาตรการกำกับดูแลงานทดสอบความเสี่ยงของพืชตัดแปลงพันธุกรรมในแปลงทดลองของส่วนราชการ

ภาพรวมของมาตรการกำกับดูแลงานทดสอบความเสี่ยงพืชตัดแปลงพันธุกรรมภาคสนาม ในแปลงทดลองของส่วนราชการ ประกอบด้วยมาตรการ 4 ด้าน ได้แก่

1) มาตรการด้านกฎระเบียบ

1.1 ห้ามทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมในแปลงทดสอบภาคสนาม ยกเว้นแต่เมื่อได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ผู้ขออนุญาตทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมในแปลงทดลองของส่วนราชการ ต้องจัดทำและเสนอแผนการทดสอบ ประกอบด้วย ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่จะขออนุญาตทดสอบ แผนการป้องกันการแพร่ของยีนใหม่ที่ถ่ายฝากโดยการผสมข้าม แผนการป้องกันการคงอยู่ในสิ่งแวดล้อมต่อไปหลังการทดสอบ แผนการป้องกันการเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารของมนุษย์และสัตว์ แผนฉุกเฉินเพื่อแก้ไขกรณีอุบัติเหตุ และมาตรการควบคุมและลดความเสี่ยง ให้คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพระดับสถาบันที่จะทำการทดสอบพิจารณา ก่อนเสนอต่อคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร โดยใช้หลักเกณฑ์และขั้นตอนการปฏิบัติที่รัดกุม

เมื่อผู้ขอทำการทดสอบได้รับอนุญาตทำการทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมในแปลงทดลองของส่วนราชการแล้ว ถ้าต่อมา ผู้ทำการทดสอบไม่ปฏิบัติตามขั้นตอนและวิธีการที่กำหนดซึ่งเป็นเหตุให้เปลี่ยนแปลงไป หรือมีเหตุสำคัญเกี่ยวกับความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมหรือสุขภาพของมนุษย์ ให้คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร มีอำนาจสั่งห้ามการทดสอบหรือ สั่งให้แก้ไขเพิ่มเติมเงื่อนไขการทดสอบได้ ตามความจำเป็น

ในกรณีผู้ขอทำการทดสอบได้ปฏิบัติตามหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขโดยถูกต้องครบถ้วนแล้ว แต่หากมีข้อมูลและหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ในภายหลัง ที่บ่งชี้ว่าการทดสอบดังกล่าวอาจก่อให้เกิดอันตรายหรือความเสียหายต่อสิ่งแวดล้อมหรือสุขภาพของมนุษย์ คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร อาจมีคำสั่งให้ยกเลิกการทดสอบ ทั้งนี้ ต้องระบุเหตุผลของการยกเลิกการอนุญาตด้วย

1.2 หากมีการตรวจพบพืชตัดแปลงพันธุกรรมในแปลงเกษตรกรนอกพื้นที่แปลงทดสอบ กรมวิชาการเกษตรสามารถออกประกาศให้พื้นที่นั้นเป็นเขตควบคุมศัตรูพืชตามมาตรา 17 ของพระราชบัญญัติกักพืช พ.ศ. 2507 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติกักพืช (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2542

2) มาตรการด้านวิชาการ

2.1 สภาพแปลงทดสอบ จะต้องเป็นไปตามแนวปฏิบัติในบทที่ 3

2.2 คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร จะติดตามข้อมูลสถานการณ์เกี่ยวกับแนวทาง และ มาตรการควบคุมกำกับดูแลพืชตัดแปลงพันธุกรรมของประเทศต่างๆ เพื่อปรับปรุงมาตรการควบคุมและดูแลความปลอดภัยทางชีวภาพของพืชที่ทำการทดสอบให้เหมาะสมยิ่งขึ้นเป็นแต่ละกรณี

3) มาตรการด้านการบริหารจัดการ

3.1 คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพระดับสถาบัน ภายใต้ความรับผิดชอบของหน่วยงานที่มีงานวิจัยทดลองเกี่ยวกับพืชตัดแปลงพันธุกรรม จะต้องกำกับดูแลการดำเนินงานการวิจัย และทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมในแปลงทดลองของส่วนราชการที่กำหนดในพื้นที่ของตน ระยะเวลาการทดสอบ ชนิดของพืช โดยประสานงานกับคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร เพื่อให้การดำเนินงานวิจัยทดสอบ เป็นไปตามมาตรฐานทางวิชาการที่กำหนด

3.2 คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพระดับสถาบันจะต้องตรวจติดตามและ เฝ้าระวังพืชตัดแปลงพันธุกรรม ในบริเวณใกล้เคียงพื้นที่แปลงทดสอบและแปลงเกษตรกร โดยกำหนดรัศมีการตรวจสอบที่มากกว่าระยะทางการแพร่กระจายของละอองเกสรของพืชแต่ละชนิด เพื่อเฝ้าระวังไม่ให้เกิดการปนเปื้อนออกไปนอกพื้นที่การทดสอบ

4) มาตรการแก้ไขและการชดใช้ความเสียหาย

หากพบพืชตัดแปลงพันธุกรรมชนิดนั้นนอกแปลงทดสอบ ซึ่งอาจเกิดจากเหตุสุดวิสัย ให้แจ้งคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพทางด้านการเกษตร กรมวิชาการเกษตร พิจารณาดำเนินการทำลายพืชตัดแปลงพันธุกรรมดังกล่าวในบริเวณนั้น ให้มีมาตรการชดใช้ความเสียหายแก่เกษตรกรที่ได้รับผลกระทบ โดยใช้แนวทางตามมาตรการบรรเทาสาธารณภัยจากอุบัติเหตุ ที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์ หรือธรรมชาติ หรือ มาตรการอื่นที่กำหนดขึ้นเป็นการชั่วคราว

2. หลักการออกแบบแปลงวิจัยทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรม

การวิจัยทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรม จะต้องมีการประเมินความเสี่ยงตามระดับความปลอดภัยทางชีวภาพ ซึ่งโดยทั่วไปสามารถแบ่งออกเป็น 4 ระดับ ได้แก่ ระดับที่ 1 พืชตัดแปลงพันธุกรรมที่ไม่เป็นอันตราย ระดับที่ 2 พืชตัดแปลงพันธุกรรมที่มีระดับความเสี่ยงต่ำ ระดับที่ 3 พืชตัดแปลงพันธุกรรมที่มีความเสี่ยงระดับปานกลาง และ ระดับที่ 4 พืชตัดแปลงพันธุกรรมที่มีความเสี่ยงระดับสูง ซึ่งจะเป็นไปตามระดับความเสี่ยงของการวิจัยทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรม เป็นแต่ละกรณี ก่อนการวิจัยทดสอบทุกครั้ง

โดยทั่วไป การออกแบบแปลงวิจัยทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรม มีประเด็นที่จะต้อง พิจารณาตามระดับความเสี่ยงใน 3 ประเด็น ได้แก่

1) การป้องกันการแพร่กระจายของยีนใหม่ที่ถ่ายฝาก

โดยการแยกปลูกพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่ทำการทดสอบ ให้ห่างจากพืชอื่น เพื่อป้องกันการผสมข้าม ระหว่างพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่ทดสอบ กับพืชชนิดเดียวกันหรือพืชชนิดใกล้เคียง ที่มีการปลูกหรือมีปรากฏอยู่ในบริเวณใกล้เคียงแปลงทดสอบ ส่วนการกำหนดระยะทางที่พืชตัดแปลงพันธุกรรมต้องอยู่ห่างจากพืชอื่น จะต้องพิจารณาเรื่องต่างๆ ดังนี้

- พืชนั้นเป็นพืชผสมข้ามหรือพืชผสมตัวเอง
- กลไกในการแพร่กระจายเกสร โดยกระแสลม หรือแมลงพาหะ

- ช่วงเวลาการมีชีวิตของเกสร
- การมีปรากฏอยู่ของพืชชนิดใกล้เคียง ที่สามารถผสมข้ามได้
- การปฏิบัติในการเพาะปลูก เช่น ปลูกด้วยท่อนพันธุ์หรือปลูกด้วยเมล็ด

โดยทั่วไป ระยะที่ต้องแยกห่างจากพืชอื่นๆ (Isolation distance) จะใช้มาตรฐานจากการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชที่มีการรับรอง (certified seed) ซึ่งกำหนดขึ้นมาโดย The Association of Official Seed Certifying Agencies (AOSCA) ประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งเป็นที่ยอมรับกับมีการนำไปใช้กันทั่วโลก นอกจากนั้น เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพที่สูงขึ้นไปอีก จะต้องมีการติดตามตรวจสอบว่ามีพืชที่อาจผสมข้ามกันได้ มีปรากฏอยู่ในบริเวณใกล้เคียงหรือไม่ ถ้ามี จะต้องทำลาย ก่อนที่พืชชนิดนั้นจะออกดอก

จุดสำคัญที่จะต้องพิจารณาเป็นพิเศษ คือ การตัดแปลงพันธุกรรมนั้น ได้เปลี่ยนพื้นฐานชีววิทยาในการผสมพันธุ์หรือไม่ ถ้าไม่เปลี่ยน สามารถใช้การแยกออกจากพื้นที่ หรือการแยกโดดเดี่ยว (Isolation) ซึ่งเป็นมาตรฐานที่มีประสิทธิภาพที่สูงที่สุดได้

2) การป้องกันการคงอยู่ (Persistence) ในสิ่งแวดล้อม

การออกแบบแปลงทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรม จะต้องให้พืชตัดแปลงพันธุกรรม หรือพืชรุ่นลูก ไม่คงอยู่ในสิ่งแวดล้อมหลังเสร็จสิ้นการทดสอบ ดังนั้น เมื่อการทดสอบสิ้นสุดลง ส่วนของพืชที่จะเจริญเติบโตขึ้นเป็นต้นใหม่ได้ (Volunteer plant) ในฤดูปลูกถัดมา จะต้องถูกทำลายเพื่อป้องกันการคงอยู่ในสิ่งแวดล้อม ซึ่งอาจทำได้โดยการจำกัดการใช้พื้นที่หลังการเก็บเกี่ยว คือ ไม่ให้มีการปลูกพืชที่สามารถผสมข้ามกับพืชที่ทำการทดสอบได้ และต้องมีการติดตามเพื่อหาพืชที่ทำการทดสอบและทำลาย ก่อนการออกดอก ระยะเวลากำกัดการใช้พื้นที่ขึ้นกับชนิดพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งลักษณะการพักตัวของเมล็ด เช่น กรณีของข้าวโพดหรือฝ้าย อาจต้องจำกัดการใช้พื้นที่เป็นเวลา 1 ปี

3) การป้องกันการเข้าสู่เส้นทางการอาหารมนุษย์และสัตว์

การป้องกันการเข้าสู่เส้นทางการอาหารมนุษย์และสัตว์ เป็นสิ่งสำคัญยิ่งในการจัดการแปลงทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรม ซึ่งสามารถที่จะทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนี้

- ควบคุมการเคลื่อนย้ายชิ้นส่วนพืช เข้าและออกจากแปลงทดสอบ (การขนส่งและการทำความสะอาดเครื่องมือที่ใช้)
- การควบคุมสถานที่เก็บรักษาเมล็ดและวัสดุพืช
- การควบคุมการกำจัดส่วนที่เหลือ หรือส่วนเกินของวัสดุพืชในแปลงทดสอบ
- การควบคุมการเก็บเกี่ยวที่ผิดกฎหมาย

การปลูกทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรม มีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บข้อมูล ทั้งลักษณะทางด้านพฤติกรรม และศักยภาพการเกิดผลกระทบด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ เป็นการดำเนินงานภายใต้เงื่อนไขที่จะป้องกันการแพร่กระจายของเกสรหรือเมล็ดออกสู่สิ่งแวดล้อม ป้องกันการคงอยู่ของสิ่งมีชีวิตตัดแปลงพันธุกรรมรวมทั้งรุ่นลูกในสิ่งแวดล้อม และป้องกันไม่ให้พืชตัดแปลงพันธุกรรมหรือผลิตผล เข้าสู่เส้นทางการใช้เป็นอาหารมนุษย์และสัตว์ ดังนั้น การออกแบบแปลงทดสอบเพื่อใช้เป็นต้นแบบในการดำเนินงาน จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง

3. รูปแบบแปลงทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรมในแปลงทดลองของส่วนราชการ

3.1 ลักษณะของแปลงทดสอบ

3.1.1 สถานที่ดำเนินการทดสอบในแปลงทดลองของส่วนราชการ ควรเป็นพื้นที่แยกอิสระจากพื้นที่ทั่วไป (isolated area) โดยคำนึงถึงระบบนิเวศที่อยู่ใกล้เคียง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการประเมินความเสี่ยงต่อสิ่งแวดล้อม

3.1.2 พื้นที่แปลงทดสอบ ต้องเป็นพื้นที่ราบที่มีความสม่ำเสมอ และน้ำไม่ท่วม เป็นสถานที่ที่จะสามารถใช้ได้ในระยะยาว เนื่องจากมีข้อจำกัดในการใช้ที่ดินหลังการเก็บเกี่ยว

3.1.3 ขนาดแปลงทดสอบ จะขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของพืชตัดแปลงพันธุกรรมแต่ละชนิดในแต่ละการทดสอบ

3.1.4 จะต้องมีการล้อมรั้ว แสดงขอบเขตแปลงทดสอบที่แน่นอน ปักหลักถาวรทั้งสี่มุม ระบุขอบเขตที่ชัดเจนของแปลงทดสอบ เพื่อความสะดวกในการเข้าไปติดตามตรวจสอบ ระหว่างฤดูปลูกและหลังจากการเก็บเกี่ยว ควรระบุเป็นพิกัดทางภูมิศาสตร์ ถ้าเป็นไปได้ และ ติดป้าย “ห้ามเข้า” ให้เห็นชัดเจน ในระยะที่ไม่ต่ำกว่า 10 เมตร

3.1.5 แปลงทดสอบ จะต้องอยู่ห่างจากพืชชนิดเดียวกันหรือพืชชนิดใกล้เคียง ที่ผสมข้ามกันได้ อย่างน้อยตามระยะทาง ที่กำหนดของแต่ละพืชดังต่อไปนี้

- มะละกอ 720 เมตร (ภาพที่ 10)
- มะเขือเทศ 200 เมตร (ภาพที่ 11)
- ข้าวโพด 200 เมตร (ภาพที่ 12)

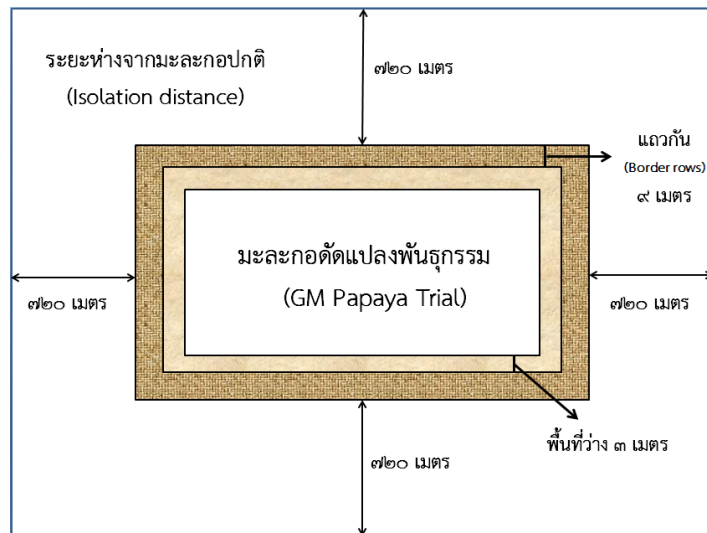
ถ้าพบว่ามีพืชชนิดเดียวกันในพื้นที่ทำการทดสอบ ในระยะทางดังกล่าว จะต้องกำจัด และทำให้ไม่มีชีวิต (Devitalization) ก่อนที่จะออกดอกหรือติดเมล็ด

3.1.6 ปลูกพืชชนิดเดียวกันที่ไม่มีการตัดแปลงพันธุกรรม เป็นแถวล้อมรอบแปลงทดสอบ โดยต้องมีอายุวันออกดอก ใกล้เคียงกับพืชตัดแปลงพันธุกรรมที่ทดสอบ ปลูกให้มีความหนาแน่นและมีการปฏิบัติดูแลเช่นเดียวกัน ผู้ดูแลแปลง จะต้องติดตามดูความงอกของต้นที่ปลูกในแถวล้อมรอบ ต้องปลูกซ่อมทันที ถ้ามีจำนวนต้นไม่พอเพียง มีการตรวจสอบ เพื่อยืนยันว่ามีพืชในแถวล้อมรอบ และพืชที่ทดสอบ ออกดอกพร้อมกัน ความกว้างของแถวล้อมรอบ อย่างน้อยตามขนาดที่กำหนดของแต่ละพืช คือ

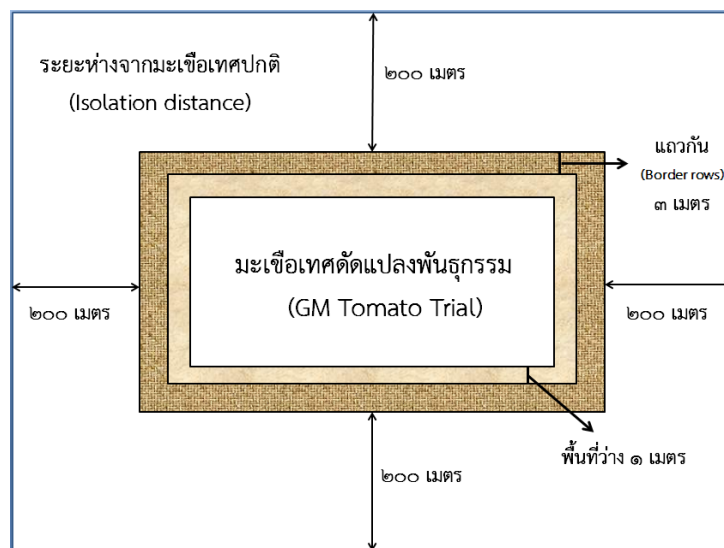
- มะละกอ 9.0 เมตร
- มะเขือเทศ 3.0 เมตร
- ข้าวโพด 9.0 เมตร

3.1.7 ระหว่างแถวล้อมรอบกับแปลงทดสอบ ให้มีช่องว่างที่มีความกว้างอย่างน้อยตามที่กำหนด สำหรับแต่ละพืชดังต่อไปนี้

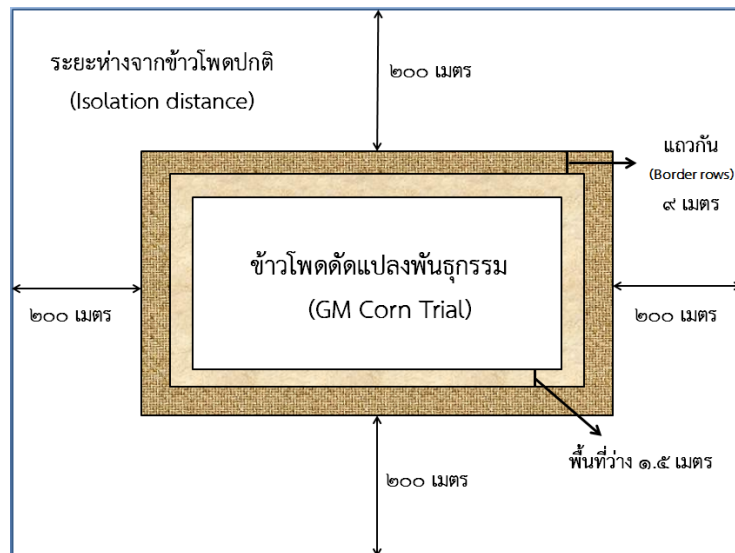
- มะละกอ 3.0 เมตร
- มะเขือเทศ 1.0 เมตร
- ข้าวโพด 1.5 เมตร



ภาพที่ 10 แปลงทดสอบมะละกอดัดแปลงพันธุกรรม



ภาพที่ 11 แปลงทดสอบมะเขือเทศดัดแปลงพันธุกรรม



ภาพที่ 12 แปลงทดสอบข้าวโพดตัดแปลงพันธุกรรม

3.2 การจัดทำแผนที่แปลง

3.2.1 เมื่อกำหนดสถานที่ทดสอบแล้ว ควรจัดทำแผนที่แปลงทดสอบ เพื่อใช้ประโยชน์ในการติดตามตรวจสอบ และ ประกอบการยื่นขออนุญาตทำการทดสอบ

3.2.2 เมื่อดำเนินการทดสอบ ทำการตรวจสอบข้อมูลในแผนที่ ให้ถูกต้อง และ ตรงตามการปฏิบัติจริง

3.2.3 แผนที่ควรมีผังแปลง และรายละเอียดดังต่อไปนี้

- สถานที่ตั้งของแปลงทดสอบ (ชื่อหน่วยงานราชการ/เมือง/จังหวัด)
- ระบุที่ตั้งและทิศในแผนที่ให้ชัดเจน
- ระบุขนาดของแปลงทดสอบ ที่แน่นอน ขอบเขตของแปลง ระยะห่างจากจุดสังเกต เพื่อความแม่นยำของพื้นที่แปลง และ การใช้พื้นที่โดยรอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ใกล้เคียงแปลงทดสอบ
- ชื่อเจ้าหน้าที่ความปลอดภัยทางชีวภาพ ผู้ดูแลแปลงทดสอบ และหมายเลขโทรศัพท์
- วันเดือนปีที่ปลูก
- พิกัดทางภูมิศาสตร์

3.3 การจัดการเพื่อป้องกันการผสมข้ามของพืชในแปลงทดสอบ

3.3.1 การเด็ดดอกทิ้ง

- ต้องทำการเด็ดดอกที่ไม่ใช้ทิ้ง ก่อนที่ดอกของพืชตัดแปลงพันธุกรรม จะปล่อยละอองเกสร
- ต้องมีการติดตามตรวจสอบอย่างเข้มงวด
- ในกรณีพบว่ามียอดบานเกิดขึ้น ต้องแจ้งให้เจ้าหน้าที่ฯ ผู้รับผิดชอบทราบทันที เพื่อประเมิน หรือ ปรับการใช้วิธีการใหม่

3.3.2 การใช้ถุงคลุม

- ต้องทำ ก่อนที่พีชตัดแปลงพันธุ์กรรม จะปล่อยละอองเกสร
- ต้องคลุมช่อดอก จนกว่าการปล่อยละอองเกสรจะเสร็จสิ้น
- ในกรณีที่พบว่าไม่มีการคลุมช่อดอก ต้องแจ้งให้เจ้าหน้าที่ฯ ผู้รับผิดชอบทราบทันที

เพื่อประเมินการใช้วิธีการใหม่

3.4 การทำความสะอาดเครื่องมือที่ใช้ในแปลงทดสอบ

3.4.1 ควรทำความสะอาดเครื่องมือที่ใช้ ให้ปราศจากชิ้นส่วนพีช ก่อนเข้าไปยังแปลงทดสอบโดยการทำความสะอาดด้วยใช้มือ แรงดันอากาศ หรือ น้ำฉีดแรงดันสูง

3.4.2 เครื่องมือทุกชนิด ที่ใช้ในการปลูกและดูแลรักษา ต้องทำความสะอาดในพื้นที่แปลงทดสอบ ก่อนขนย้ายออกจากแปลงทดสอบ

3.4.3 เสื้อผ้าและรองเท้าที่สวมใส่ จะต้องทำความสะอาด ให้ปราศจากเมล็ด เกสร หรือชิ้นส่วนอื่นๆ ของพีช ก่อนออกจากแปลงทดสอบ

3.5 การจัดการวัชพืชและเศษซากพีชในแปลงทดสอบ

3.5.1 ทำการกำจัดวัชพืชในแปลงทดสอบด้วยสารเคมีหรือวิธีการอื่นใดที่เหมาะสมอย่างสม่ำเสมอ

3.5.2 จัดให้มีสถานที่กำจัดเศษซากพีช ที่ใช้ในการทดสอบ ในบริเวณแปลงทดสอบ

3.5.3 ทำการกำจัดเศษซากพีช วัชพืช และ แมลงที่ตายอันเนื่องมาจากการทดสอบ โดยเผาทำลาย ภายในสถานที่ทดสอบ

3.5.4 ชิ้นส่วนพีชที่ไม่ได้นำมาใช้ในงานวิจัย เช่น เมล็ด ราก ต้น ใบ จะต้องทำลายให้ไม่มีชีวิตโดยวิธีให้ความร้อนแห้ง นึ่งด้วยไอน้ำ เเผา ผึ่งให้ลึก ฟนด้วยสารกำจัดวัชพืชหรือสารเคมีอื่น และควรทำในบริเวณแปลงทดสอบ

3.5.5 พีชที่ปลูกเป็นแถวล้อมรอบ ให้ปฏิบัติเช่นเดียวกับพีชที่ทดสอบ

3.6 การเก็บเกี่ยว

3.6.1 การเก็บเกี่ยวควรดำเนินการในพื้นที่ทดสอบ โดยไม่ให้วัสดุใดๆ จากพีชที่ทดสอบมาใช้เป็นอาหารมนุษย์และสัตว์ นอกจากจะได้รับอนุญาตจากผู้มีอำนาจหน้าที่

3.6.2 เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บเกี่ยว ต้องมีการทำความสะอาดให้ปราศจากชิ้นส่วนพีช ทั้งก่อนและหลังเสร็จสิ้นการเก็บเกี่ยว หากมีชิ้นส่วนพีชที่ตกค้างจากการทำความสะอาด จะต้องทำให้ไม่มีชีวิตโดยวิธีให้ความร้อนแห้ง นึ่งด้วยไอน้ำ เเผา ผึ่งให้ลึก ฟนด้วยสารกำจัดวัชพืช หรือ สารเคมีอื่นๆ

3.6.3 ในกรณีที่สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น น้ำท่วม ฝนแล้ง หรือมีพายุ ให้ยุติการทดสอบ

3.6.4 บันทึกและการรายงานทุกกิจกรรม ที่เกี่ยวข้องกับการเก็บเกี่ยวให้เป็นไปตามขั้นตอนมาตรฐานของแต่ละพีช

3.7 การขนส่งชิ้นส่วนพืชตัดแปลงพันธุกรรม

3.7.1 ถ้าจำเป็นต้องเคลื่อนย้ายชิ้นส่วนพืชออกจากแปลงทดสอบ เพื่อการวิเคราะห์ เก็บรักษา หรือกำจัดโดยทันที จะต้องระมัดระวังการเคลื่อนย้าย ให้เป็นไปอย่างเหมาะสม และแจ้งให้เจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบทราบ

3.7.2 ชิ้นส่วนที่เก็บเกี่ยวและขนส่ง ต้องดูแลรักษาอย่างดี ระหว่างการขนย้ายจากแปลงทดสอบ ไปสู่สถานที่รับปลายทาง เพื่อป้องกันการแพร่กระจายโดยอุบัติเหตุ

3.7.3 ชิ้นส่วนพืชตัดแปลงพันธุกรรม จะต้องบรรจุอยู่ในภาชนะที่มั่นคงแข็งแรง แยกออกจากชิ้นส่วนพืชปกติ ภาชนะบรรจุต้องสามารถป้องกันการสูญหายของชิ้นส่วนพืช ในระหว่างการขนส่งได้

3.7.4 ต้องติดฉลากภาชนะที่บรรจุชิ้นส่วนพืช ระบุข้อความที่อ่านได้อย่างชัดเจนบนด้านข้างของภาชนะบรรจุ รายละเอียดที่จะต้องระบุบนฉลากประกอบด้วย

- หมายเลขอนุญาตให้เคลื่อนย้ายภายในประเทศ (ถ้ามี)
- หมายเลขอนุญาตให้นำเข้า และ/หรือ ใบรับรองการปลอดโรคและแมลง (ถ้ามี)
- ชนิดและสายพันธุ์พืช
- ชนิดของชิ้นส่วนพืช (เช่น เมล็ด ตา หน่อ ต้นอ่อน หัว หรือ ทั้งต้น)
- การใช้สารเคมีกับชิ้นส่วนพืชทุกชนิด ที่อาจทำให้เกิดความกังวลต่อผู้ปฏิบัติงาน
- ปริมาณของชิ้นส่วนพืชที่จัดส่ง (น้ำหนักเมล็ดเป็นกรัม จำนวนหัว เป็นต้น)
- รายละเอียดของบุคคลที่จะติดต่อได้ ในกรณีที่เกิดการแพร่กระจายโดยอุบัติเหตุ

3.7.5 ภาชนะบรรจุต้องแข็งแรง และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอกได้ ระหว่างการขนส่ง

3.7.6 ภาชนะที่บรรจุชิ้นส่วนพืชตัดแปลงพันธุกรรมเพื่อการทดสอบ ถ้านำมาใช้ใหม่ ต้องทำความสะอาดก่อน ชิ้นส่วนพืชที่ตกค้างหลังจากการทำความสะอาดภาชนะ จะต้องทำให้ไม่มีชีวิต เช่น ใช้ความร้อนแห้ง ใช้ไอน้ำร้อน บด เผา หรือใช้สารเคมี หรือทำลายภาชนะบรรจุโดยการใช้หม้อนึ่งอัตโนมัติ เผา หรือฝึ้งในระบบทิ้งขยะ

3.7.7 ต้องมีการบันทึกการเคลื่อนย้าย ระหว่างสถานที่เก็บรักษาและแปลงทดสอบ ซึ่งอาจมีการตรวจสอบโดยผู้กำกับดูแล เพื่อให้เกิดความมั่นใจในระบบสำหรับติดตามการเคลื่อนย้าย ผู้รับชิ้นส่วนจะต้องยืนยันว่าได้รับภาชนะบรรจุที่ไม่ฉีกขาด และไม่มีชิ้นส่วนใดของภาชนะบรรจุเสียหาย

3.8 การเก็บรักษาพืชตัดแปลงพันธุกรรม

3.8.1 การเก็บรักษาพืชตัดแปลงพันธุกรรม ต้องแยกจากการทดสอบอื่นหรือชิ้นส่วนพืชปกติ และควรเป็นสถานที่ปิดมิดชิด มีกุญแจประตูเข้า-ออก การเข้ามาภายในสถานที่เก็บรักษา ต้องเป็นผู้ที่ได้รับอนุญาตเท่านั้น

3.8.2 ถ้ามีสถานที่เก็บรักษาเพียงแห่งเดียว แต่ต้องเก็บชิ้นส่วนพืชตัดแปลงพันธุกรรมหลายรายการ แต่ละรายการ จะต้องแยกออกจากกันชัดเจน ในถุงพลาสติกที่ปิดปากถุงและติดฉลาก

3.8.3 ควรมีการติดป้ายในบริเวณสถานที่เก็บรักษา ระบุว่าเก็บรักษาขึ้นส่วนพืชตัดแปลงพันธุกรรมเพื่อการทดสอบ โดยติดไว้บริเวณทางเข้า และเข้าได้เฉพาะผู้ได้รับอนุญาตเท่านั้น

3.8.4 สถานที่เก็บรักษา จะต้องทำความสะอาดก่อนที่จะเก็บขึ้นส่วนพืชเหล่านั้น

3.8.5 ควรจัดทำบัญชีขึ้นส่วนพืชในสถานที่เก็บรักษา เพื่อติดตามการเคลื่อนย้าย และป้องกันการเคลื่อนย้ายโดยไม่ได้รับอนุญาต

3.8.6 ควรมีการตรวจสอบสถานที่เก็บรักษาเป็นประจำ และ มีบันทึกการเข้า-ออก

3.9 การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว

3.9.1 ภายหลังจากเสร็จสิ้นการทดสอบ ต้องทำลายความมีชีวิตของพืชทั้งหมด และกำจัดด้วยวิธีการที่เหมาะสม ซึ่งโดยทั่วไปคือการฝังหรือเผาที่แปลงทดสอบ แล้วไถกลบ ต่อจากนั้นปล่อยทิ้งไว้โดยไม่มีการปลูกพืชใดๆ อย่างน้อย 3 เดือน และติดตามตรวจสอบการงอกของเมล็ดพืชดังกล่าว หากพบเห็น ให้ทำลายโดยทันที

3.9.2 แปลงทดสอบ จะต้องได้รับการดูแล และต้องไม่อนุญาตให้ปลูกพืชชนิดเดียวกันหรือชนิดใกล้เคียงกับพืชในการทดสอบที่ผ่านมา เพราะจะทำให้การติดตามพืชรุ่นต่อไป ยากยิ่งขึ้น

3.9.3 หากเกิดการผสมข้ามระหว่างการทดสอบ ต้องติดตามค้นหา และทำลายพืชต้องห้ามที่อยู่ในระยะห่างที่กำหนดไว้รอบแปลง

4. การบันทึกและรายงานการดำเนินงานแปลงทดสอบพืชตัดแปลงพันธุกรรม

4.1 ผู้ดำเนินการทดสอบ จะต้องบันทึกการดำเนินงานทดสอบ และการจัดการต่างๆ เป็นเอกสารกำกับ และ ปรับปรุงให้เป็นปัจจุบันเสมอ เพื่อให้ง่ายต่อการตรวจสอบ ข้อมูลที่มีอยู่ในเอกสารใช้ในการพิจารณาว่า ผู้ดำเนินการทดสอบ ได้ทำตามข้อกำหนดและเงื่อนไขหรือไม่

4.2 ผู้ตรวจสอบ สามารถร้องขอตรวจสอบเอกสารกำกับได้ตลอดเวลา

4.3 ผู้ดำเนินการทดสอบ จะต้องมีสมุดจดบันทึกการทดสอบแยกของแต่ละแปลง โดยสิ่งที่จะต้องบันทึกประกอบด้วย

- ข้อมูลทั่วไป เช่น หมายเลขแปลงทดสอบ ชนิดพืช ตำแหน่งพื้นที่แปลง ค่าพิกัดทางภูมิศาสตร์ วันปลูก ชื่อผู้ทำการทดสอบ วิธีที่ใช้ในการป้องกันการผสมข้าม ระยะแยกห่างที่ใช้ (เมตร)

- วิธีที่ใช้ในการเคลื่อนย้ายขึ้นส่วนพืช เช่น เมล็ดที่จะนำไปปลูก เมล็ดที่เก็บเกี่ยว เป็นต้น

- วันที่เคลื่อนย้าย สถานที่ต้นทางและปลายทางของการเคลื่อนย้าย

- การกำจัดหรือการเก็บรักษาขึ้นส่วนพืชส่วนเกินจากการปลูก โดยบันทึกปริมาณที่เหลือปริมาณที่กำจัด วิธีที่ใช้ในการกำจัด และ/หรือ เก็บรักษา วันที่กำจัด สถานที่กำจัด ชนิดและปริมาณของขึ้นส่วนพืชที่เก็บรักษา

- การทำความสะอาดเครื่องมือที่เกี่ยวข้องกับการปลูก การเก็บเกี่ยว และ เครื่องมือที่ใช้ในการทำลายแปลงทดสอบ โดยบันทึกวันที่ใช้ และวันที่ทำความสะอาดเครื่องมือ ทำความสะอาดเครื่องมือดังกล่าวอย่างไร และสถานที่ที่ทำความสะอาดเครื่องมือ

- บันทึกการติดตามตรวจสอบแปลงทดสอบ แอวกที่ปลูกล้อมรอบ และพื้นที่ระหว่างแปลงทดสอบกับแอวกที่ปลูกล้อมรอบ เพื่อค้นหาพืชชนิดเดียวกัน หรือชนิดใกล้เคียงกับพืชที่ทำการทดสอบ บันทึกแต่ละกิจกรรมที่ดำเนินการ วันที่ตรวจสอบ วันที่กำจัดพืชชนิดเดียวกันหรือพืชชนิดใกล้เคียงนั้น วิธีการกำจัด และ สถานที่กำจัด

- บันทึกปัญหาที่พบในการปฏิบัติ ตามข้อกำหนดและเงื่อนไข การปฏิบัติเพื่อแก้ไขปัญหาและวันที่ทำการแก้ไข

- บันทึกการกำจัด และ/หรือ การเก็บรักษาเมล็ด และ/หรือ ชิ้นส่วนพืชที่ได้จากการเก็บเกี่ยว รวมถึงชิ้นส่วนจากแอวกที่ปลูกล้อมรอบ โดยบันทึกปริมาณที่เก็บเกี่ยว วันที่เก็บเกี่ยว วิธีการกำจัด และ/หรือ เก็บรักษา วันที่กำจัด ปริมาณที่กำจัด และ/หรือ เก็บรักษาสถานที่เก็บรักษาหรือกำจัด

- การกำจัดชิ้นส่วนพืชที่ตกค้าง และที่ไม่ได้เก็บเกี่ยวในแปลงทดสอบ โดยบันทึกวิธีการกำจัดวันที่กำจัด และ สถานที่กำจัด

- ผู้รับผิดชอบดำเนินการทดสอบ ต้องลงนามในบันทึกการปฏิบัติทุกขั้นตอน

5. การติดตามตรวจสอบ

5.1 การติดตามตรวจสอบระหว่างทำการทดสอบในแปลงทดลองของสวนราชการ

5.1.1 บุคลากรที่ทำการติดตามตรวจสอบ ควรเป็นเจ้าหน้าที่ที่ได้รับแต่งตั้งจากกรมวิชาการเกษตร หรือ จากคณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพระดับสถาบัน

5.1.2 ระยะเวลาในการเข้าติดตามตรวจสอบ ช่วงระยะที่สำคัญของแปลงทดสอบคือ ช่วงการปลูก การออกดอก การสร้างเมล็ด/ผล และช่วงการเก็บเกี่ยว

5.1.3 กระบวนการติดตามตรวจสอบ

- การสอบถาม การสังเกต การตรวจสอบเขตกันชน หรือความกว้างแปลงที่ปลูกล้อมรอบ การคำนวณระยะห่าง การจำแนกพืชชนิดใกล้เคียงในแปลงทดสอบ และในพื้นที่ระหว่างแปลงทดสอบกับแอวกล้อมรอบ การติดตามวิธีการกำจัดของเสีย และรายงานสิ่งที่พบ โดยการถ่ายภาพวิดีโอ บันทึกเสียง การวาดภาพ การนำตัวอย่างไปทดสอบ

- ถ้าพบว่า ไม่ได้ปฏิบัติตามแผนการดำเนินงานหรือมาตรการที่กำหนด ผู้ตรวจสอบต้องแจ้งให้ผู้ทดสอบดำเนินการแก้ไข เพื่อความปลอดภัยของมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

- กรณีที่ไม่ปฏิบัติตามแผนการดำเนินงานหรือมาตรการที่กำหนด ต้องจัดทำรายงานเหตุการณ์ที่เกิด การแก้ไข และกรอบเวลาในการปฏิบัติ หากจำเป็น ให้มีการสืบข้อเท็จจริงเพิ่มเติม

- ต้องมีการติดตามผล หลังการแจ้งให้แก้ไข ถ้ายังไม่ปฏิบัติ ให้คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพระดับสถาบัน พิจารณายุติการทดสอบ

- การติดตามตรวจสอบ ควรเริ่มตั้งแต่การปลูก และต่อเนื่องจนถึงการเก็บเกี่ยว เพื่อให้แน่ใจว่าการทดสอบอยู่ในความควบคุมตลอดฤดูการปลูก ซึ่งจะเป็นการตรวจสอบปัญหาต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้น และสามารถแก้ไขปัญหาได้ทันการ

- เมื่อเสร็จสิ้นการเก็บเกี่ยวหรือยุติการทดสอบ ควรติดตามตรวจสอบพื้นที่ให้เร็วที่สุดและต่อเนื่อง ไปถึงช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการงอก และการเจริญเติบโตของพืชรุ่นใหม่

6. การปฏิบัติในกรณีการปลดปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมโดยไม่เจตนาและกรณีเหตุฉุกเฉิน

6.1 ในกรณีที่มีเหตุฉุกเฉิน และมีการปลดปล่อยพืชตัดแปลงพันธุกรรมสู่สิ่งแวดล้อมโดยไม่เจตนา ผู้ประกอบกิจกรรมต้องแจ้งเหตุฉุกเฉินดังกล่าวให้ผู้กำกับดูแลทราบทันที และต้องให้ความร่วมมือ รวมถึงให้ข้อมูลที่จำเป็นแก่ผู้กำกับดูแล เพื่อแก้ไข บรรเทา หรือ ระบุความเสี่ยงหรืออันตรายที่เกิดขึ้น

6.2 เมื่อมีเหตุฉุกเฉิน และมีการปลดปล่อยพืชตัดแปลงพันธุกรรมสู่สิ่งแวดล้อมโดยไม่เจตนา จะต้องควบคุมสถานการณ์โดยทันที ต้องระบุสถานที่ที่เกิดการปลดปล่อย และต้องจัดการไม่ให้มีการปลดปล่อยเพิ่ม และ นำชิ้นส่วนพืชกลับคืนมาให้ได้มากที่สุด

6.3 การปฏิบัติเพื่อแก้ไขการปลดปล่อยพืชตัดแปลงพันธุกรรมสู่สิ่งแวดล้อมโดยไม่เจตนา จะต้องบันทึกเป็นเอกสาร

6.4 หลังจากได้ทำการแก้ไข ผู้เกี่ยวข้องจะต้องตรวจสอบสาเหตุ และเปลี่ยนแปลงการปฏิบัติในการจัดการ หรืออาจมีการอบรมเพิ่มเติม เพื่อป้องกันการเกิดเหตุซ้ำ

6.5 หากพบพืชตัดแปลงพันธุกรรมนอกแปลงทดสอบ ซึ่งเกิดจากเหตุสุดวิสัย และดำเนินการทำลายพืชตัดแปลงพันธุกรรมในบริเวณนั้นแล้ว ให้มีมาตรการเพื่อการชดเชยให้แก่เกษตรกรที่ได้รับผลกระทบ โดยใช้แนวทางตามมาตรการบรรเทาสาธารณภัยจากอุบัติเหตุที่เกิดจากการกระทำของมนุษย์หรือธรรมชาติ หรือ มาตรการอื่น ที่กำหนดขึ้นเป็นการชั่วคราว

บรรณานุกรม

- กรมวิชาการเกษตร. 2548. เอกสารวิชาการมะละกอ. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 82 หน้า.
- กลุ่มงานความมั่นคงทางชีวภาพ. 2557. Guidance on Risk Assessment of Living Modified Organisms แนวทางการประเมินความเสี่ยงของสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม. ฝ่ายความหลากหลายทางชีวภาพ สำนักนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. 97 หน้า
- กึ่งกาญจน์ พิษณุกุล. 2547. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าว. สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร. 115 หน้า
- กิตติพัฒน์ อุโฆษกิจ. 2549. พันธุศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์, สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ. 474 หน้า
- คณะกรรมการความปลอดภัยทางชีวภาพด้านการเกษตร. 2549. คู่มือการขออนุญาตนำเข้าและศึกษาทดลองพืชดัดแปลงพันธุกรรม. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. 64 หน้า
- คณะอนุกรรมการเพื่อความปลอดภัยด้านอาหาร ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ. 2544. แนวปฏิบัติสำหรับการประเมินความปลอดภัยของอาหารที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม. บริษัท พี.เอ. ลีฟวิ่ง จำกัด, กรุงเทพฯ. 25 หน้า
- เจษฎา เต็นดวงบริพันธ์. 2551. พีจีเอ็ม : คำถามแห่งศตวรรษ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ, ปทุมธานี. 76 หน้า.
- ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2543. พันธุศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 398 หน้า
- ปรินทร์ ชัยวิสุทธิทางกูร. 2544. จีเอ็มโอ. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์คุรุสภา ลาดพร้าว, กรุงเทพฯ. 256 หน้า
- พิสวรรณ เจริญสมบัติ. 2543. ยีนและการตัดต่อยีน. หน้า 9-13 ใน เอกสารประกอบการสัมมนาเชิงปฏิบัติการเรื่องพืชจำลองพันธุ์และผลิตภัณฑ์จีเอ็มโอ. หน่วยปฏิบัติการพันธุวิศวกรรมด้านพืช ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.
- พิสวรรณ เจริญสมบัติ. 2551. การถ่ายยีนเข้าสู่พืช. หน้า 27-36 ใน เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่องการถ่ายยีนเข้าสู่พืช ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

- มธุรา สิริจันทร์รัตน์. 2555. วิธีการตัดต่อยีน และการตรวจหา GMOs. สืบค้นจาก :
<http://digital.lib.kmutt.ac.th/magazine/issue3/article4.html> (กรกฎาคม 2555)
- ลือเกียรติ. 2555. จีเอ็มโอคือ อะไร. สืบค้นจาก : <http://www.asoke.info/09Communication/DharmaPublicize/Kid/k168/065.html> (กรกฎาคม 2555)
- วิภา หงษ์ตระกูล. 2549. เทคนิคพีซีอาร์และการประยุกต์ใช้. หน้า 53-71 ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรม เทคนิคชีวโมเลกุลทางด้านพืช. สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร.
- ศรีเมฆ ชาวโพรงพาง. 2549. เทคนิคการโคลนยีนเพื่อสร้างพืชตัดแต่งพันธุกรรม หน้า 33-54. ใน เอกสารประกอบการฝึกอบรม เทคนิคชีวโมเลกุลทางด้านพืช. สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ กรมวิชาการเกษตร.
- สมพร ประเสริฐสูงสกุล. 2552. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเกี่ยวกับการปรับปรุงพันธุ์พืช. สำนักพิมพ์โพธิ์เพชร, กรุงเทพฯ. 127 หน้า
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2543. พันธุวิศวกรรมเบื้องต้น. ภาควิชาพันธุศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 282 หน้า.
- สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทย. 2548. การโคลนยีน. หน้า (11-1) – (11-20) ใน สารานุกรมอณูพันธุศาสตร์. สมาคมพันธุศาสตร์แห่งประเทศไทยและสถาบันส่งเสริมการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.
- อรรธรณ ชัชวาลการพานิชย์. 2551. หลักการพื้นฐานของการแยกสกัดและการตัดต่อยีน. หน้า 1-12 ใน เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่องการถ่ายยีนเข้าสู่พืช ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
- Agbios. 2001. Principles and Practice of Environmental Safety Assessment of Transgenic Plants. Agriculture and Biotechnology Strategies, Canada. 147 p.
<http://it.doa.go.th/asianbionet/activities/vietnamOct2004/doc/16-esam.pdf>.
- Sensi, A. ; O. Brandenburg; K. Ghosh and A. Sonnino. 2011. The Risk Analysis Process: Risk Assessment. p. 24-37. In : Biosafety Resource Book Module C: Risk Analysis. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Wisner, R.N., D.E. Farnham and K. Wang. 2000. Genetically and non-Genetically Modified Crops, How they are created, Produced, and Marketed. Reprinted in Tokyo Agro-Forum Bulletin.