# บทที่ 4
# ผลการศึกษาและวิเคราะห์ผล

1. **<u>การนำเทคนิคการตรวจสอบพืชจำลองพันธุ์มาประยุกต์ใช้โดยการปรับสารเคมีให้อยู่ในรูปชุดตรวจสอบอย่างง่าย</u>**

พืชจำลองพันธุ์ที่ผ่านการทดสอบและอนุญาตให้จำหน่ายเป็นการค้าในปัจจุบันมี 8 ชนิด เรียงลำดับตามปริมาณสายพันธุ์ของพืชดังกล่าวที่ดำเนินการทดสอบจากมากไปน้อยได้ดังนี้ ข้าวโพด, มันฝรั่ง, เรพสีด, ถั่วเหลือง, มะเขือเทศ, ฝ้าย, ยาสูบและบีท (OCED, 2000) พืชจำลองพันธุ์กลุ่มดังกล่าวใช้โครงสร้างยีนส่วนควบคุม 35S เป็นหลัก ยกเว้นข้าวโพดซึ่งมีโครงสร้างยีนควบคุมแตกต่างกันในแต่ละ event โดยพบว่า 6 ใน 7 มียีนส่วนควบคุมเป็น 35S โปรโมเตอร์ ส่วน event ที่เหลือใช้ส่วนควบคุมที่ต่างออกไป สำหรับชนิดพืชจำลองพันธุ์ที่มีการนำมาปลูกทดสอบในประเทศไทยมีทั้งหมด 16 รายการ (ภาคผนวก ข.) มาจากพืช 6 ชนิด ได้แก่ ฝ้าย, ข้าวโพด, มะเขือเทศ, พืชตระกูลแตง, ข้าวขาวดอกมะลิ และมะละกอ ซึ่งพืชจำลองพันธุ์ทั้ง 16 รายการที่นำมาทดสอบในประเทศไทยมีโครงสร้างของยีนส่วนควบคุมทั้งหมดเป็น 35S โปรโมเตอร์ และยีนเป้าหมาย ได้แก่ ยีน PG , Cry 1A, ยีนโปรตีนเปลือกหุ้ม และ EPSPS เป็นต้น

ผลการตรวจตรวจสอบโครงสร้างของชุดยีนที่พบในถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ทั้งจากฐานข้อมูลและข้อมูลสิทธิบัตร ชี้ให้เห็นว่า ถั่วเหลืองทุก event มีส่วนควบคุมหลักเป็น 35S โปรโมเตอร์

35S โปรโมเตอร์ที่ใช้ในพืชจำลองพันธุ์ในปัจจุบันได้จากโปรโมเตอร์ของ35Sโปรตีนจาก CaMV ซึ่งจะพบหลากสายพันธุ์ในธรรมชาติ การตรวจสอบบริเวณที่คู่ไพรเมอร์เข้าจับตัวความคล้ายคลึงกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ ณ.บริเวณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ การเปลี่ยนแปลงของหมู่เบสทั้งในรูป Transition และ Transversion จึงเป็นสิ่งที่จำเป็นก่อนการตัดสินใจนำคู่ไพรเมอร์ดังกล่าวมาประยุกต์ใช้

การตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์เปรียบเทียบระหว่าง 35S promotor ที่มีรายงานใน gene bank และรายงานโครงสร้างของยีนในพืชจำลองพันธุ์โดยเฉพาะถั่วเหลืองที่จำหน่ายเป็นการค้าพบว่าคู่ primer ที่นำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณ 35S promotor โดย ปิยะศักดิ์ ขอุ่มพฤกษ์, 2533 มีความเฉพาะเจาะจงกับโปรโมเตอร์ทั้งส่วนที่เป็นบริเวณโปรโมเตอร์รวมและส่วนแกนหลักของโปรโมเตอร์ ตำแหน่งที่ไพรเมอร์ก่อตัวเป็นบริเวณที่ลำดับนิวคลิโอไทด์มีสัดส่วนที่เหมือนกัน (homology) สูง และมี GC content ที่เหมาะสม มีความถี่ของเบสอะดีนีนและไทมีน หรือไซโตซีนและกวานิดีนที่ซ้ำกันไม่สูงเกินไป

นำมาใช้เป็น PCR Primer ในการศึกษา และติดตามการไหลของยีนจากพืชจำลองพันธุ์ จำนวน 2 ชุด คือ 5'-GCTCCTACAAATGCCATCA-3' และ 5'-GATAGTGGGATTGTGCGTCA-3' ดังภาพที่ 5 ในบริเวณที่ขีดเส้นใต้ เมื่อนำคู่ PCR Primer ดังกล่าวมาใช้ในการทำ PCR จะได้ผลผลิต

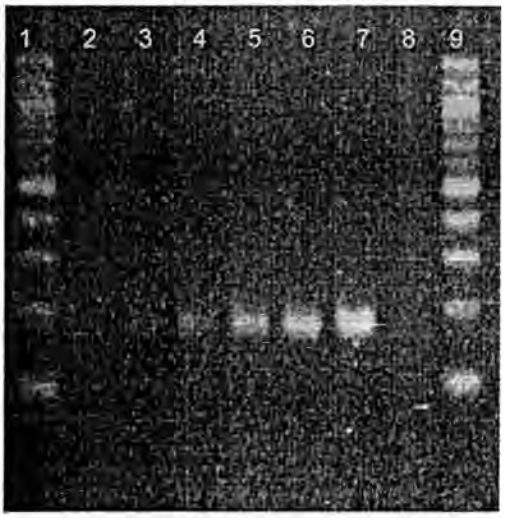
ของ PCR ยาว 195 คู่เบส มีลำดับเบสเรียงตั้งแต่จุดเริ่มต้นของเบสในชุด Primer ที่1 ถึง ชุด Primer ที่ 2 ดังปรากฏในภาพที่ 5

```
                                1060        1070        1080        1090        1100
05361          >  1051 CTATCTGTCA CTTCATCGAA AGGACAGTAG AAAAGGAAGG TGGCTCCTAC  1100
09031          >  1051 CTATCTGTCA CTTCATCGAA AGGACAGTAG AAAAGGAAGG TGGCTCCTAC  1100
01754          >  1051 CTATCTGTCA CTTCATCGAA AGGACAGTAG AAAAGGAAGG TGGCTCCTAC  1100
35S STD        >   152 CTATCTGTCA CTTCATCGAA AGGACAGTAG AAAAGGAAGA TTGCTCCTAC   201
---------- ------------------------------------------------------------------
Consensus          1051 CTATCTGTCA CTTCATCGAA AGGACAGTAG AAAAGGAAGG TGGCTCCTAC  1100

                                1110        1120        1130        1140        1150
05361          >  1101 AAATGCCATC ATTGCGATAA AGGAAAGGCT ATCATTCAAG A?TGCCTCTG  1150
09031          >  1101 AAATGCCATC ATTGCGATAA AGGAAAGGCT ATCATTCAAG A?TGCCTCTG  1150
01754          >  1101 AAATGCCATC ATTGCGATAA AGGAAAGGCT ATCATTCAAG A?TGCCTCTG  1150
35S STD        >   202 AAATGCCATC ATTGCGATAA AGGAAAGGCT ATCGTTCAAG AATGCCTCTA   251
---------- ------------------------------------------------------------------
Consensus          1101 AAATGCCATC ATTGCGATAA AGGAAAGGCT ATCATTCAAG AATGCCTCTG  1150

                                1160        1170        1180        1190        1200
05361          >  1151 CCGACAGTGG TCCCAAAGAT GGACCCCCAC CCACGAGGAG CATCGTGGAA  1200
09031          >  1151 CCGACAGTGG TCCCAAAGAC GGACCCCCAC CCACGAGGAG CATCGTGGAA  1200
01754          >  1151 CCGACAGCGG TCCCAAAGAT GGACCCCCAC CCACGAGGAG CATCGTGGAA  1200
35S STD        >   252 CCGACAGTGG TCCCAAAGAT GGACCCCCAC CCACGAGGAA CATCGTGGAA   301
---------- ------------------------------------------------------------------
Consensus          1151 CCGACAGTGG TCCCAAAGAT GGACCCCCAC CCACGAGGAG CATCGTGGAA  1200

                                1210        1220        1230        1240        1250
05361          >  1201 AAAGAAGACG TTCCAACCAC GCCTTCAAAG CAAGTGGATT GATGTGACAT  1250
09031          >  1201 AAAGAAGACG TTCCAACCAC GTCTTCAAAG CAAGTGGATT GATGTGACAT  1250
01754          >  1201 AAAGAAGACG TTCCAACCAC GTCTTCAAAG CAAGTGGATT GATGTGACAT  1250
35S STD        >   302 AAAGAAGACG TTCCAACCAC GTCTTCAAAG CAAGTGGATT GATGTGATAT   351
---------- ------------------------------------------------------------------
Consensus          1201 AAAGAAGACG TTCCAACCAC GTCTTCAAAG CAAGTGGATT GATGTGACAT  1250

                                1260        1270        1280        1290        1300
05361          >  1251 CTCCACTGAC GTAAGGGATG ACGCACAATC CCACTATCCT TCGCAAGACC  1300
09031          >  1251 CTCCATTGAC GTAAGGGATG ACGCACAATC CCACTATCCT TCGCAAGACC  1300
01754          >  1251 CTCCACTGAC GTAAGGGATG ACGCACAATC CCACTATCCT TCGCAAGACC  1300
35S STD        >   352 CTCCACTGAC GTAAGGGATG ACGCACAATC CCACTATCCG TCGCAAGACC   401
---------- ------------------------------------------------------------------
Consensus          1251 CTCCACTGAC GTAAGGGATG ACGCACAATC CCACTATCCT TCGCAAGACC  1300

                                1310        1320        1330        1340        1350
05361          >  1301 CTTCCTCTAT ATAAGGAAGT TCATTTCATT TGGAGAGGAC ACGCTGAAAT  1350
09031          >  1301 CTTCCTCTAT ATAAGGAAGT TCATTTCATT TGGAGAGGAC ACGCTGAAAT  1350
01754          >  1301 CTTCCTCTAT ATAAGGAAGT CCATTTCATT TGGAGAGGAC ACGCTGAAAT  1350
35S STD        >   402 CTTCGTCTAT ATAAGGAAGT TCATTTCATT TGGAGAGGAC ?CTC?GAGGG   451
---------- ------------------------------------------------------------------
Consensus          1301 CTTCCTCTAT ATAAGGAAGT TCATTTCATT TGGAGAGGAC ACGCTGAAAT  1350

                                1360        1370        1380        1390        1400
05361          >  1351 CACCA?GT?C TCTCTCTATA AATCT???AT C?TCTC????T CT?CTATAAC  1400
09031          >  1351 CACCA?GT?C TCTCTCTATA AATCT???AT C?TCTC????T CT?CTATAAC  1400
01754          >  1351 CACCA?GT?C TCTCTCTATA AATCT???AT C?TCTC????T CT?CTATAAC  1400
35S STD        >   452 C?CCATGGGC GAGCTCGGTA CC?CGGGGAT CCTCTAGAGT CCGC?A?AAT   501
---------- ------------------------------------------------------------------
Consensus          1351 CACCATGTGC TCTCTCTATA AATCTGGGAT CCTCTCGAGT CTGCTATAAC  1400

                                1410        1420        1430        1440        1450
05361          >  1401 CATG?G....                                              1450
09031          >  1401 CATG?G....                                              1450
01754          >  1401 CATG?G....                                              1450
35S STD        >   502 CACCAG....                                              551
---------- ------------------------------------------------------------------
Consensus          1401 CATGAG                                                 1450
```

ภาพที่5 แสดงผลการตรวจสอบสภาพความเหมือนของช่วงลำดับเบสที่มีความเหมาะสม

สำหรับใช้เป็นคู่ไพรเมอร์ในการตรวจสอบพืชจำลองพันธุ์ที่มียีนควบคุมเป็น 35S โปรโมเตอร์บริเวณที่ขีดเส้นใต้เป็นบริเวณอ้างอิงในการเลือกใช้คู่ไพรเมอร์

คู่ PCR primer ดังกล่าวจะถูกนำมาเตรียมให้อยู่ในรูปชุดน้ำยา สำหรับ 20 reaction โดยแบ่งส่วนประกอบออกเป็น 2 ส่วนคือ ชุด Core kit และส่วนของเอ็นไซม์ การใช้งานให้เกิดปฏิกิริยาใน 1 หลอดทดลอง ทำโดยดูด Core kit และเอนไซม์ *Taq* ผสมให้เข้ากันตามสัดส่วนที่กำหนดแล้วปิเปตแยกลงในหลอด PCR แล้วจึงเติม DNA template จำนวน 2 µl / 1 หลอดปฏิกิริยา ชุดน้ำยาที่ได้ให้ความสะดวก ลดระยะเวลาและปัญหาการปนเปื้อนของสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมองค์ประกอบของ PCR ได้อย่างมาก เมื่อนำมาทำการทดสอบดีเอ็นเอมาตรฐาน และดีเอ็นเอที่สกัดได้จากแหล่งต่างๆ พบว่าได้ผลเป็นที่น่าพอใจ สามารถใช้ติดตามการไหลของยีนจากพืชจำลองพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ความไว (sensitivity) ในการตรวจจับของชุดน้ำยาดังกล่าวเป็นดังภาพที่ 6

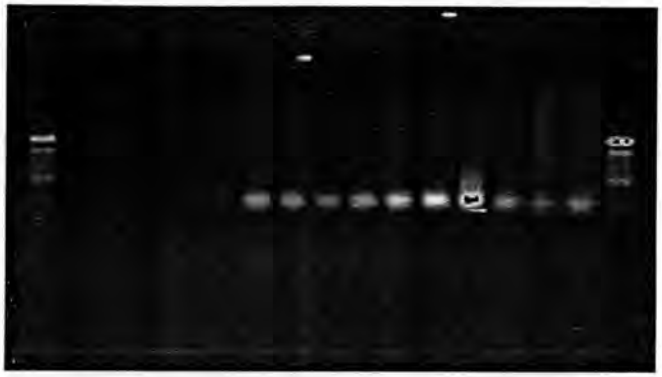



ภาพที่ 6 แสดงความไว (sensitivity) ในการทดสอบโดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ที่นำมาใช้

รายละเอียดของแต่ละช่องเจลเรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ Marker100bp.Ladder, Negative control, 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4% และ 0.5% ของ Soybean standard reference material (Fluka), Negative control, Marker100bp.Ladder

จากภาพแสดงให้เห็นประสิทธิภาพในการทดสอบ DNA template มีความไวของระดับการตรวจในระดับ 0.1% ของ standard reference material

ผลการทดสอบพืชจำลองพันธุ์จากตัวอย่างถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่สุ่มเก็บในเขตภาคเหนือแสดงในภาพที่ 7




ภาพที่ 7 ผลการทดลองเพิ่มปริมาณดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ เมื่อใช้คู่ไพรเมอร์ที่มีการศึกษามาก่อนมาตรวจสอบกับดีเอ็นเอจากตัวอย่างในเขตภาคเหนือ วิเคราะห์บน Agarose gel 1 เปอร์เซ็นต์ รายละเอียดของแต่ละช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ ดีเอนเอมาตรฐาน 100 base pair ladder, negative control, ถั่วเหลืองตัวอย่างจำนวน 13 ตัวอย่าง, positive control และ ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder

## 2. <u>ความเป็นไปได้ในการปนพันธุ์ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์สู่ระบบการผลิต</u>

พื้นที่ศึกษาการแพร่กระจาย การสำรวจข้อมูล และ เก็บตัวอย่างถั่วเหลืองแสดงในภาพที่ 6 โดยสำรวจข้อมูลในพื้นที่ปลูกถั่วเหลืองในเขตจังหวัด นครสวรรค์ สุโขทัย กำแพงเพชร พิษณุโลก เพชรบูรณ์ เชียงใหม่ และ เลย และสุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองมาตรวจสอบจาก หน่วยราชการ เกษตรกร รถสีเปลือกถั่วเหลือง ร้านค้าเมล็ดพันธุ์ ตลาดสด และร้านรับซื้อผลผลิตทางการเกษตร ในพื้นที่จังหวัด นครสวรรค์ สุโขทัย เชียงใหม่ และ เลย

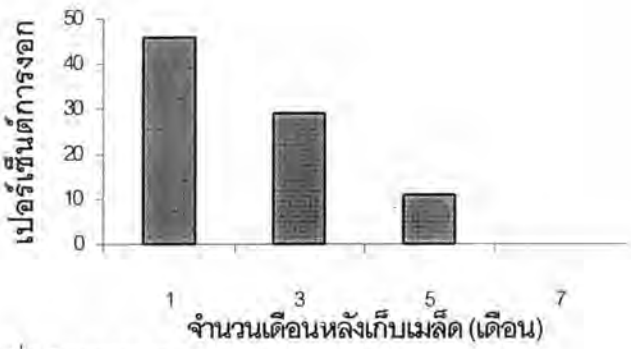
ภาพที่ 8 แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างและพื้นที่การสำรวจการแพร่กระจายของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

<u>เปอร์เซ็นต์การงอกของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ตรวจพบในท้องตลาด</u>

เปอร์เซ็นต์การงอกของถั่วเหลืองที่สุ่มเลือกมาจากตลาดจำนวน 4 ตัวอย่าง ที่มีลักษณะทางกายภาพของเมล็ดไม่แตกต่างกันในแต่ละตัวอย่าง คือ เมล็ดมีขนาดใกล้เคียงกัน ลักษณะรูปทรงเหมือนกัน สีตาของเมล็ดมีสีเดียวกัน และตรวจสอบแล้วว่าเป็นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ มีความงอก ณ. วันที่เก็บตัวอย่างจากพื้นที่มาทำการตรวจสอบมีค่าแปรผันตั้งแต่ 20.8, 34.7, 45.83 และ 70.8 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ตัวอย่างเปอร์เซ็นต์การงอกของถั่วเหลืองจากการสุ่มเก็บจากตลาดสินค้าบริโภคที่ผ่านการตรวจสอบแล้วว่าเป็นถั่วเหลืองดัดแปลงพันธุกรรมเป็นดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การงอกของถั่วเหลืองที่ตรวจสอบแล้วว่าเป็นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ตามระยะเวลาต่างๆนับจากการซื้อเมล็ดถั่วเหลืองจากตลาดสามย่าน

| เดือน | จำนวนเมล็ด | จำนวนที่งอก | เปอร์เซ็นต์การงอก |
|---|---|---|---|
| 1 | 72 | 33 | 45.83 |
| 3 | 72 | 21 | 29.16 |
| 5 | 72 | 8 | 11.11 |
| 7 | 72 | 0 | 0 |




ทดลองเมื่อ มิถุนายน 2543

ภาพที่ 9 เปอร์เซ็นต์การงอกของถั่วเหลืองจากตลาดสามย่าน ณ.ระยะเวลาต่างๆหลังการซื้อเมล็ดโดยถั่วเหลืองทั้งหมดเป็นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

<u>การศึกษาการปนพันธุ์ของถั่วเหลืองในท้องตลาด</u>

จากข้อมูลผลการตรวจสอบเมล็ดถั่วเหลืองที่ได้การสุ่มเก็บตัวอย่างจากท้องที่ต่างๆทั้ง 2 ครั้ง ประกอบกับผลของการทดลองนำเมล็ดถั่วจากพื้นที่ต่างๆ ที่ตรวจสอบพบว่ามีการปนพันธุ์ของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์และมีลักษณะทางกายภาพของเมล็ดที่สม่ำเสมอมาตรวจสอบความงอกแสดงให้เห็นว่ามีการปนพันธุ์ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในผลผลิตถั่วเหลืองที่วางขายอยู่ตามตลาด ร้านรับซื้อผลผลิตทางการเกษตร และในเมล็ดพันธุ์ของเกษตรกรในบางพื้นที่ และถั่วเหลืองดังกล่าวยังมีความสามารถในการงอกเป็นต้นพืชได้

การสอบถาม นักวิชาการเกษตร เจ้าหน้าที่การเกษตร และ เกษตรกรในท้องที่ ทำให้ทราบว่าเกษตรกรในพื้นที่ภาคกลางตอนบนและภาคเหนือนิยมปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60 สจ.4 และสจ.5 ตามลำดับ ลักษณะการปลูกถั่วเหลืองในแต่ละท้องที่จะมีลักษณะคล้ายกัน โดยใช้เครื่องหยอดเมล็ด ระยะห่างหลุมละ 8 ซ.ม. เกษตรกรหยอดเมล็ดถี่และใช้เมล็ดมากกว่าทางการแนะนำ ทำให้ความต้องการเมล็ดพันธุ์ในการปลูกมีสูงกว่าที่หน่วยราชการจะผลิตได้ในแต่ละปี ต้นตอเมล็ดพันธุ์ส่วนใหญ่ซื้อจากพ่อค้าและเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมักมีปัญหาปนเปื้อนพันธุ์อื่นๆ อันเนื่องจากขณะผลิตเมล็ดพันธุ์ แปลงปลูกไม่เป็นตามหลักวิชาการ เจ้าหน้าที่ไม่กำกับดูแลอย่างใกล้ชิด ทำให้เกิดการผสมข้ามต้นได้มากกว่าปกติ ประกอบกับพ่อค้าเมล็ดพันธุ์บางรายนำถั่วเหลืองพันธุ์อื่นจากทั้งในและต่างประเทศมาเจือปนในเมล็ดพันธุ์ ข้อมูลในปี 2543 พบว่าการปลูกน้อยลงมากเนื่องจากปัญหาต้นทุนสูง ถั่วที่ผลิตได้มีราคาแพงกว่าถั่วนำเข้าจึงขายผลผลิตไม่ได้ ปัญหาการกดราคารับซื้อ เมล็ดคละขนาดไม่สวยเหมือนถั่วนอก ปัญหาความชื้นสูง โรค ต้องใช้สารเคมีต่าง ๆ ปัจจุบันการปลูกถั่วเหลืองของไทยมี 2 ช่วง โดยช่วงหลักคือ ช่วงฤดูฝนมักจะใช้เป็นการบำรุงดิน (ปุ๋ยพืชสด) วัตถุประสงค์ของการปลูกถั่วฤดูร้อนเพื่อ ขายส่งโรงงานน้ำมันเป็นหลัก และใช้บริโภคอื่น ๆ รวมถึงการผลิตเมล็ดพันธุ์ให้หน่วยงานราชการ

<u>ข้อมูลการปลูก</u>

การสัมภาษณ์ผู้เชี่ยวชาญพืชน้ำมันของกรมวิชาการเกษตรเมื่อวันที่ 26 กันยายน 2543 ได้ข้อมูลว่า ปัจจุบันยังไม่มีการขออนุญาตทำการปลูกทดสอบถั่วเหลืองจำลองพันธุ์และหากมีการนำเมล็ดถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่มีปนเข้ามาในรูปวัตถุดิบของอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันพืชมาปลูก จะมีปัญหาอัตราการงอกต่ำ การปลูกถั่วเหลืองดังกล่าวในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย ต้นถั่วจะไม่เจริญเติบโตจนถึงขั้นสมบูรณ์เต็มที่เนื่องจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไม่ได้พัฒนามาสำหรับปลูกในภูมิภาคที่มีช่วงวันอย่างประเทศไทย ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ของอเมริกาจะปลูกในช่วงวันยาวประมาณ 18 ชั่วโมง ในขณะที่ช่วงวันที่ยาวที่สุดของประเทศไทยอยู่ที่ประมาณ 15 ชั่วโมงในช่วงเดือนมิถุนายน ดังนั้นถ้ามีการลักลอบนำพันธุ์ถั่วดังกล่าวเข้ามาปลูกจะไม่คุ้มทุน ต้นเล็กไม่เจริญเติบโตเต็มที่ ออกดอกเร็ว และให้ฝักที่

ไม่สมบูรณ์ ไม่น่าจะเป็นที่นิยมของเกษตรกร แต่หากนำเข้ามาเพื่อปรับปรุงผสมกับถั่วเหลืองของไทย อาจจะประสพความสำเร็จ

เกษตรกรผู้ปลูกถั่วเหลืองรายหนึ่งในจังหวัดเชียงใหม่ซึ่งมีตัวอย่างของเมล็ดถั่วเหลืองที่นำเข้าจากสหรัฐอเมริกาซึ่งเมื่อนำมาตรวจสอบแล้วเป็นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ได้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับที่มาของเมล็ดถั่วเหลืองและแปลงปลูกถั่วเหลืองนำเข้าจากต่างประเทศว่า ช่วงปี พ.ศ. 2541-ปัจจุบัน มีบริษัทเอกชนทางการเกษตรของไทยรายหนึ่งนำเข้าเมล็ดถั่วเหลืองจากประเทศสหรัฐอเมริกามาทำการทดลองส่งเสริมให้ชาวเขา และ เกษตรกรในพื้นที่ห่างไกลของจังหวัดเชียงใหม่ โดยปลูกในขนาดแปลงละไม่เกิน 1 ไร่ จำนวนประมาณ 4 – 5 แปลง โดยแต่ละแปลงที่ปลูกอยู่ในเขตอำเภอเดียวกันแต่อยู่กระจายห่างกัน โดยไม่ได้แจ้งรายละเอียดเกี่ยวกับพันธุ์ถั่วเหลืองให้ผู้ปลูกทราบ แต่มีการประกันราคาผลผลิตขั้งทั้งฝักขณะยังมีสีเขียวสดที่กิโลกรัมละ 18 บาท โดยถั่วดังกล่าวจะมีการทดลองปลูกในช่วงวันที่ค่อนข้างยาวและเป็นช่วงนอกฤดูปลูกถั่วเหลืองของไทย ระยะปลูก 20 x 20 ตารางเซนติเมตร หรือ 30 x 20 เซนติเมตร ปลูกหลุมละ 3 เมล็ด ในช่วงปลายเดือนเมษายน ถึงต้นเดือนกรกฎาคม ของแต่ละปี มีการทดลองในทำนองเดียวกันราว 2 ปีแล้ว โดยก่อนหยอดเมล็ด 7 วัน มีการใช้สารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสทกำจัดวัชพืชในบริเวณแปลงปลูก ข้อมูลจากเกษตรกรพบว่าลักษณะต้นใหญ่ ต้นสูงราว 65 ซม. เมล็ดสมบูรณ์ ฝักใหญ่ ตลอดช่วงการปลูกจนเก็บเกี่ยวไม่ต้องใช้สารเคมีอื่นใดในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชอื่นๆ อีกเลย การปลูกอยู่ในความควบคุมของเจ้าหน้าที่ของบริษัทอย่างเข้มงวดตลอด โดยเจ้าหน้าที่จะมาดูทุก 2 สัปดาห์ตอนเก็บเกี่ยว จะเก็บผลผลิตหมด โดยถอนต้นไปทั้งต้น ในขณะฝักเขียว

<u>การศึกษาการปนพันธุ์ของถั่วเหลืองในแปลงปลูกในสภาพธรรมชาติ</u>

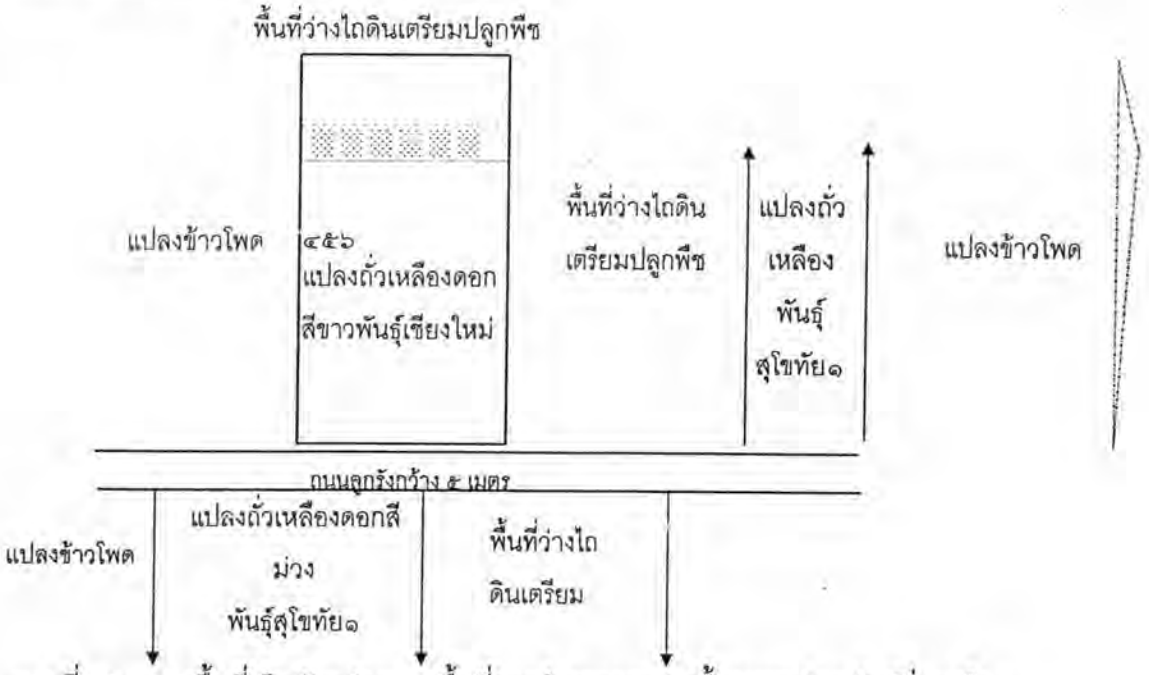
การสุ่มเลือกแปลงถั่วเหลืองของเกษตรกรจำนวน 1 แปลง ในพื้นที่ จ.นครสวรรค์ ที่ใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 จากส่วนราชการในการปลูก ศึกษาการปนเปื้อนของพันธุ์ถั่วเหลืองในแปลงปลูกอย่างง่าย โดยอาศัยความแตกต่างของสีดอกถั่วเหลืองในการศึกษา

แปลงศึกษาปลูกถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ตลอดช่วง 10 ปีที่ผ่านมา ในแต่ละปีจะปลูกถั่วเหลืองช่วงเดือนมิถุนายน-ตุลาคม หลังจากการปลูกถั่วเหลืองจะพักแปลงโดย ไถดินทิ้งช่วงไว้ระยะหนึ่งเพื่อปลูกทานตะวันต่อไป ในช่วงที่ศึกษาบริเวณข้างเคียงในช่วงเดือนมิถุนายน-ตุลาคม ปลูกถั่วเหลืองพันธุ์สจ.5 พันธุ์สุโขทัย ข้าวโพด และงาดำแดง พันธุ์ถั่วเหลืองที่ใช้ปลูกนำมาจากกรมส่งเสริมการเกษตรเป็นหลัก มีเพียงส่วนน้อยที่ซื้อจากพ่อค้าเมล็ดพันธุ์ในจังหวัดกำแพงเพชร

ในพื้นที่อำเภอตาคลี เกษตรกรจะใช้เมล็ดพันธุ์ 15-20 กก./ไร่ คิดเป็น 2 เท่าของคำแนะนำของหน่วยงานราชการ ปลูกโดยใช้เครื่องหยอดเมล็ดระยะห่างระหว่างแถวปลูก 20 ซม. ระยะระหว่างหลุมปลูก 10 ซม.(ปลูกถี่เพื่อลดการเกิดวัชพืชและแก้ปัญหาอัตราความงอก) ในสภาวะปกติถั่วเหลืองที่ปลูก

ในพื้นที่แถบนี้ให้ผลผลิตเฉลี่ย 300-350 กก./ไร่ และมีราคาผลผลิตอยู่ในช่วง 8-10 บาท/กก. วัตถุประสงค์หลักในการปลูกเพื่อขายให้โรงงานหีบน้ำมัน และมีส่วนหนึ่งที่ทำเมล็ดพันธุ์ส่งขายหน่วยราชการ

ในช่วง 3-5 ปีที่ผ่านมา อัตราการปนพันธุ์สูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ สำหรับแปลงที่เก็บตัวอย่างเจ้าของแปลงบอกว่ามีการปนเอนประมาณ 7-10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับบริเวณดังกล่าว จากพื้นที่จำนวน 12 ไร่ ได้ผลผลิตทั้งหมด 4.2 ตัน รูปร่างลักษณะของแปลงเก็บตัวอย่างและสภาพบริเวณข้างเคียงโดยรอบ ณ.ปัจจุบันเป็น ดังภาพที่ 10




ภาพที่ 10 แสดงพื้นที่เก็บตัวอย่างและพื้นที่การสำรวจการปนเปื้อนระหว่างพันธุ์ถั่วเหลือง

จากการตรวจสอบการปนพันธุ์ในแปลงถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ดอกสีขาว ขนาดแปลง 456 x 55 ตารางเมตร โดยสุ่ม 30 แปลงย่อย ขนาด 2x2 ตารางเมตร โดยตรวจสอบการปนพันธุ์อยู่ระหว่างเมล็ดพันธุ์ โดยดูจากสีดอก พบว่าจาก 30 แปลงย่อยที่สำรวจ พบการปนพันธุ์ของถั่วเหลืองกลุ่มดอกสีม่วงจำนวน 15 แปลงย่อย โดยเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนที่พบอยู่ในช่วงระหว่าง 0.41 ถึง 11.79 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อรวมค่าจากการสำรวจทั้ง 30 แปลงย่อยพบว่าจากต้นถั่วทั้งหมด 6,454 ต้น เป็นกลุ่มดอกสีขาว 6,347 ต้น และเป็นกลุ่มดอกสีม่วง จำนวน 107 ต้นเมื่อนำมาเทียบดูเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของทั้งแปลงพบว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนอยู่ที่ 1.61 เปอร์เซ็นต์

ข้อมูลส่วนที่ได้จากเจ้าของร้านรวบรวมและค้าเมล็ดพันธุ์ในจังหวัดเพชรบูรณ์ระบุเกี่ยวกับแปลงปลูกถั่วเหลืองนำเข้าจากต่างประเทศว่าในปี พ.ศ. 2542 มีการปลูกในภาคกลาง คือ จ.สระแก้ว และปราจีนบุรี โดยถั่วเหลืองที่มาจากต่างประเทศที่ปลูกในพื้นที่ดังกล่าวมีทั้งชนิดเมล็ดกลมโต และเมล็ดทรงเดียวกับถั่วเหลืองเชียงใหม่ 60 แต่เมล็ดโตกว่า แต่เนื่องจากการถั่วเหลืองดังกล่าวให้ต้นถั่ว

เหลืองที่มีขนาดเล็ก ต้นเตี้ย และมีโรคแมลงเช่นเดียวกับถั่วเหลืองของไทย ประกอบกับผลผลิตต่ำมาก เกษตรกรผู้ปลูกขาดทุนสูงจึงเลิกการผลิตไป

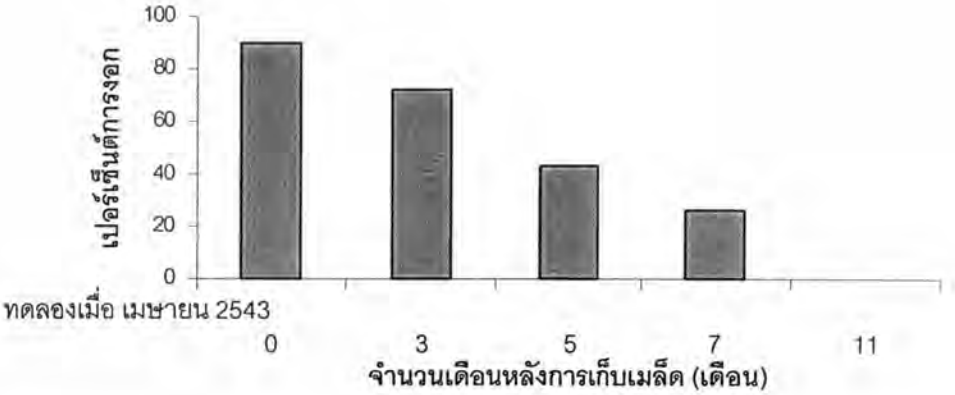
**ข้อมูลผลผลิตถั่วเหลืองจำลองพันธุ์แปลงเกษตรกร**

ผลผลิตที่ได้จากเมล็ดพันธุ์ 1 kg ได้ผลผลิตราว 105 kg (ซั่งทั้งฝัก) ดอกถั่วสีขาว อายุเก็บเกี่ยว 2 เดือน เมล็ดค่อนข้ามกลมโต ต่างจากเมล็ดถั่วเหลืองของไทย เมื่อเก็บตัวอย่างถั่วเหลืองมาวิเคราะห์โดยสกัดดีเอ็นเอทำ PCR และ run gel electrophoresis พบว่าเป็นถั่วจำลองพันธุ์แต่ไม่ทราบชนิดที่แน่ชัด

แปลงที่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของให้ทำการศึกษา เป็นแปลงของเกษตรกรรายหนึ่งในจังหวัดเชียงใหม่ที่ได้รับเมล็ดถั่วเหลืองจำลองพันธุ์จากเพื่อนเกษตรกรที่ปลูกให้บริษัทเอกชนรายหนึ่งในช่วงปลายเดือน เม.ย.43 – ต้นเดือน ต้นเดือน ก.ค.43 โดยเกษตรกรผู้ปลูกไม่ทราบว่าเป็นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ เกษตรกรรายนี้ทดลองนำมาปลูกเพื่อจะเก็บไว้ทำพันธุ์ในช่วงฤดูแล้งในปีถัดไปเนื่องจากเห็นว่าเมล็ดสวยขนาดใหญ่และขายได้ราคา พร้อมกันกับการปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 สำหรับขายผลผลิตใช้บริโภคภายในท้องถิ่น เดิมปลูกถั่วลิสงพันธุ์ สข.38 และ ไม่เคยปลูกถั่วเหลืองหรือถั่วเหลืองจำลองพันธุ์มาก่อนโดยลักษณะแปลงคล้ายกรปลูกแปลงผัก เป็นดินขนาด 20 X 3 เมตร ยกสูง 1 ฟุต ระยะห่างระหว่างหลุม 20 X 30 ซม. มีร่องน้ำระหว่างแถว เป็นดินกว้างประมาณ 1 ฟุต)เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในมือเกษตรกรรายหนึ่งใน จ.เชียงใหม่ พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงมากถึง 90 เปอร์เซ็นต์ ความงอกจะลดลงเร็วมาก หลังจาก 3 เดือนไปแล้ว ทั้งนี้เนื่องจากสภาพภูมิอากาศความชื้น และการเก็บรักษา ผลการสุ่มตรวจความงอกเป็นดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การงอกของถั่วเหลืองที่ผ่านการตรวจสอบแล้วว่าเป็นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ตามระยะเวลาต่างๆนับจากได้เมล็ดพันธุ์จากเกษตรกรผู้ปลูกใน จ.เชียงใหม่

| เดือน | จำนวนเมล็ด | จำนวนที่งอก | เปอร์เซ็นต์การงอก | หมายเหตุ |
|---|---|---|---|---|
| 0 | - | - | ≈ 90 | ข้อมูลจากเกษตรกร |
| 3 | 72 | 52 | 72.2 | |
| 5 | 164 | 71 | 43.29 | |
| 7 | 72 | 19 | 26.39 | |
| 11 | 70 | 0 | 0 | |




ภาพที่ 11 เปอร์เซ็นต์การงอกของถั่วเหลือง ตามระยะเวลาต่างๆนับจากได้เมล็ดพันธุ์จากเกษตรกรผู้ปลูกใน จ.เชียงใหม่ ถั่วเหลืองดังกล่าวผ่านการตรวจสอบแล้วว่าเป็นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

การสำรวจสุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองครั้งที่ 1 จากเกษตรกร ร้านค้าผลิตผลการเกษตร ร้านค้าเมล็ดพันธุ์ ตลาดสด และหน่วยงานราชการในพื้นที่จังหวัดสุโขทัย เชียงใหม่ และ กรุงเทพฯ ในระหว่างวันที่ 7-9 ม.ค. มาทำการสกัดดีเอ็นเอ แล้วตรวจจับขยายจำนวนชิ้นส่วนของดีเอนเอบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ พบว่าถั่วเหลืองตัวอย่างในช่องหมายเลข 2,3,4,6ถึง10 ให้ผลการตรวจเป็น positive ภาพที่ 12 ส่วนช่องหมายเลข 5,11ถึง14 ให้ผลเป็น negative

ภาพที่ 12 ผลการตรวจแถบดีเอ็นเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ที่ได้จากการตรวจสอบตัวแทนตัวอย่างถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่สุ่มเก็บตัวอย่างจากแหล่งผลิตเขตภาคเหนือ ( รูปเจลเอียงด้านซ้ายสูงกว่าด้านขวาเล็กน้อย )

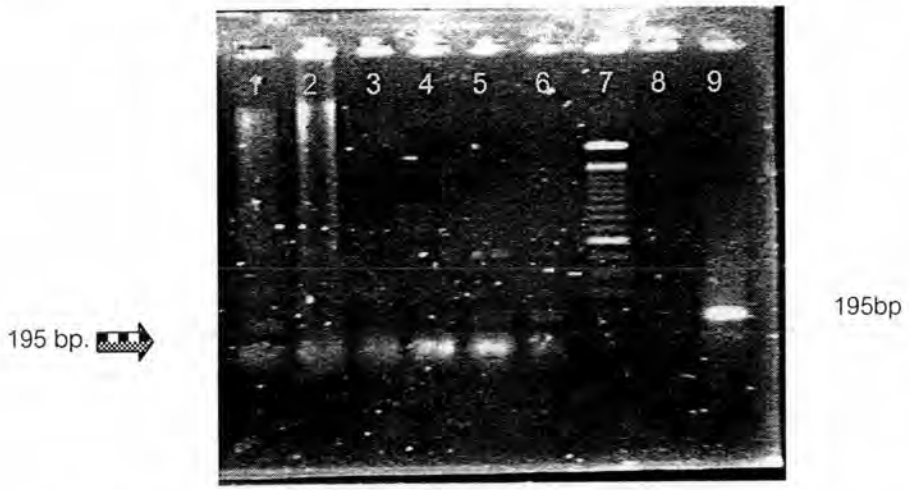
รายละเอียดของแต่ละช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder, ถั่วเหลืองตัวอย่างหมายเลข 1,2,3,5,6,7,8,9,10,12,13 และ 14 ,จำนวน 13 ตัวอย่าง, positive control 195 bp , negative control และ ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder

การสำรวจสุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองครั้งที่ 2 จากเกษตรกร ร้านค้าผลิตผลการเกษตร ร้านค้าเมล็ดพันธุ์ ตลาดสด และหน่วยงานราชการในพื้นที่จังหวัด เพชรบูรณ์ เลย เชียงใหม่ และ กรุงเทพฯ ในระหว่างวันที่ 13-16 พ.ค. 43 เป็นดังภาพที่ 13

พบว่าถั่วเหลืองตัวอย่างในช่องหมายเลข 7ถึง15 ให้ผลการตรวจเป็น positive ส่วนช่องหมายเลข 3ถึง6 ให้ผลเป็น negative

ภาพที่13 ผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ที่ได้ จากการตรวจสอบตัวแทนของตัวอย่างถั่วเหลืองที่สุ่มเก็บตัวอย่างในเขตภาคเหนือ

รายละเอียดของแต่ละช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, ถั่วเหลืองตัวอย่างหมายเลข 36,35,34,33,32,31,30,27,26,25,24,23,22 จำนวน 13 ตัวอย่าง, positive control 195 bp และ ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder




ภาพที่14 แสดงผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากถั่วเหลืองตัวอย่างหมายเลข 11, 37,38,39,15,16 เรียงลำดับจากซ้ายไปขวา ช่องที่ 7ถึง9 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp ( ช่อง 1,5 และ6 positive )

จากการสำรวจทั้ง 2 ครั้ง สามารถสรุปผลการตรวจได้ดังตารางที่ 5 และ6

ตารางที่ 5 ผลการสำรวจถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในเขตพื้นที่ภาคเหนือ และกทม. ครั้งที่ 1 ระหว่างวันที่ 7-9 ม.ค. 43

| ลำดับที่ | จังหวัด | ชนิดพันธุ์ | ผลการตรวจ | หมายเหตุ |
|---|---|---|---|---|
| 1 | สุโขทัย | ไม่ทราบ | + | |
| 2 | สุโขทัย | ไม่ทราบ | + | |
| 3 | สุโขทัย | ไม่ทราบ | + | |
| 4 | สุโขทัย | ไม่ทราบ | - | ส่งโรงงานน้ำมัน |
| 5 | สุโขทัย | สุโขทัย2 | + | |
| 6 | สุโขทัย | ไม่ทราบ | + | ส่งโรงงานน้ำมัน |
| 7 | สุโขทัย | ไม่ทราบ | + | |
| 8 | สุโขทัย | ไม่ทราบ | + | ทำน้ำเต้าหู้ |
| 9 | สุโขทัย | ไม่ทราบ | + | |
| 10 | สุโขทัย | ไม่ระบุ | - | |
| 11 | สุโขทัย | ไม่ทราบ | + | ถั่วคัดขนาดใช้บริโภค |
| 12 | สุโขทัย | ไม่ทราบ | - | ทำน้ำเต้าหู้ |
| 13 | สุโขทัย | ไม่ทราบ | - | |
| 14 | สุโขทัย | สจ.2 | - | |
| 15 | สุโขทัย | ไม่ระบุ | + | |
| 16 | เชียงใหม่ | เชียงใหม่60 | + | |
| 17 | เชียงใหม่ | สจ.5 | + | ทำน้ำเต้าหู้ |
| 18 | เชียงใหม่ | ตาแดง | + | |
| 19 | เชียงใหม่ | สจ.9 | + | |
| 20 | กรุงเทพฯ | ไม่ทราบ | - | |

ผลการสำรวจครั้งที่ 1 พบว่า ถั่วเหลืองในจังหวัดสุโขทัยมีการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ทั้งหมด 10 ตัวอย่างจากที่สุ่มเก็บมาตรวจทั้งหมด 15 ตัวอย่าง ถั่วเหลืองในจังหวัดเชียงใหม่มีการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ 4 ตัวอย่างจากที่สุ่มเก็บมาตรวจทั้งหมด 4 ตัวอย่าง ที่เหลืออีก 1 ตัวอย่างจากกรุงเทพมหานครตรวจไม่พบการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

ตารางที่ 6 ผลการสำรวจถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ครั้งที่ 2 ในเขตพื้นที่ภาคเหนือ และจังหวัดเลย ระหว่างวันที่ 13-16 พ.ค. 43

| ลำดับที่ | จังหวัด | ชนิดพันธุ์ | ผลตรวจ | หมายเหตุ |
|---|---|---|---|---|
| 21 | เพชรบูรณ์ | เชียงใหม่60 | + | |
| 22 | เพชรบูรณ์ | ผสม | + | |
| 23 | เพชรบูรณ์ | เชียงใหม่60 | + | |
| 24 | เพชรบูรณ์ | มข. | + | |
| 25 | เพชรบูรณ์ | สุโขทัย2 | + | |
| 26 | เพชรบูรณ์ | สจ. | + | |
| 27 | เพชรบูรณ์ | สจ. | + | |
| 28 | เพชรบูรณ์ | OCB | + | |
| 29 | เชียงใหม่ | GMOs | + | ชาวเขา |
| 30 | เลย | สจ.4, สจ.6 | + | |
| 31 | เลย | สจ. | + | รถรับจ้างสีเปลือกถั่ว |
| 32 | กรุงเทพฯ | ไม่ทราบ | + | |
| 33 | นครสวรรค์ | เชียงใหม่60 | - | แปลงเก็บข้อมูลครั้งที่1 |
| 34 | นครสวรรค์ | สุโทัย1 | - | |
| 35 | เชียงใหม่ | สจ.5 | - | แปลงศึกษา |
| 36 | เพชรบูรณ์ | เชียงใหม่60 | - | ผลิตเมล็ดพันธ์ให้กรมวิชาการฯ |
| 37 | เพชรบูรณ์ | เชียงใหม่2, สุโทัย36 | - | เมล็ดพันธุ์จากศูนย์มีการปนเปื้อน (กำลังปลูกอยู่ในแปลงสาธิต) |
| 38 | เพชรบูรณ์ | | - | รับจาก อ.หนองไผ่,อ.ท้าแพง, อ.สวรรคโลก |
| 39 | เลย | | - | ส่งกรุงเทพฯ |
| 40 | เลย | สจ. | - | |

ผลการสำรวจครั้งที่ 2 พบว่า ถั่วเหลืองในจังหวัดเพชรบูรณ์มีการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ทั้งหมด 8 ตัวอย่างจากที่สุ่มเก็บมาตรวจทั้งหมด 11 ตัวอย่าง ถั่วเหลืองในจังหวัดเลยมีการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ 2 ตัวอย่างจากที่สุ่มเก็บมาตรวจทั้งหมด 4 ตัวอย่าง ถั่วเหลืองในจังหวัดเชียงใหม่มีการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ 1 ตัวอย่างจากที่สุ่มเก็บมาตรวจทั้งหมด 2 ตัวอย่าง ถั่วเหลืองจากจังหวัด นครสวรรค์ 2 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ และอีก 1 ตัวอย่างจากกรุงเทพมหานคร มีการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและผลผลิตถั่วเหลืองระหว่างถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ กับพันธุ์ สจ .5

สภาพแปลงปลูกถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์เป็นดังภาพที่15

ภาพที่ 15 แสดงพื้นที่ปลูกถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา

จากการสำรวจคุณภาพของดินในพื้นที่ที่ปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ และ ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ต่าเฉลี่ย 10 จุดของแต่ละแปลงเป็นดังนี้ แปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง( pH 5.24 ) อุณหภูมิผิวดิน ( 38.07°C ) อุณหภูมิที่ความลึก 10 เซนติเมตร ( 30.4°C) แปลงปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ค่าความเป็นกรด-ด่าง( pH 5.32 ) อุณหภูมิผิวดิน ( 39.1°C ) อุณหภูมิที่ความลึก 10 เซนติเมตร ( 31.5°C) ตามลำดับ

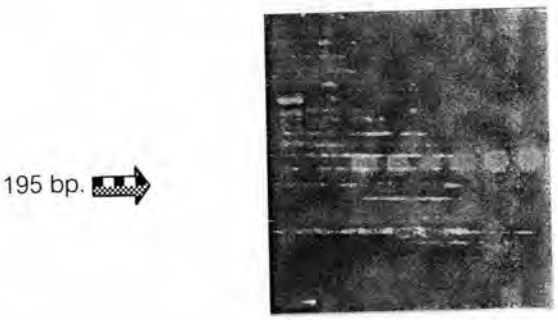
ก. ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ขณะออกดอก 24 ก.ย.43

ข. ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ขณะออกดอก 24 ก.ย.43

ภาพที่ 16 แสดงลักษณะต้นและดอกของถั่วเหลืองทั้ง 2 สายพันธุ์ ในแปลงปลูก จ. เชียงใหม่ ที่ใช้ในการศึกษา

ภาพที่ 17 แสดงความแตกต่างของผลผลิตถั่วเหลืองที่ปลูกในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึง ตุลาคม 2543 ( ซ้าย พันธุ์ สจ.4 , ขวา GMOs )

ผลการตรวจสอบเมล็ดและใบอ่อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์กับเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่ ปลูกในแปลงที่อนุญาตให้ทำการศึกษาเป็นดังภาพที่ 18




ภาพที่ 18 ผลการตรวจสอบความเป็นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ของต้นและเมล็ดถั่วเหลืองที่ได้จากเกษตรกรจังหวัดเชียงใหม่

รายละเอียดช่องเจลเรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp.ตัวอย่างดีเอ็นเอจากเมล็ด ตัวที่ 1 และ 2 ,ดีเอ็นเอจากใบอ่อนต้นถั่วเหลืองในแปลงศึกษา 3 ตัวอย่าง สรุปว่าเป็นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์จริง

ผลการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์กับพันธุ์สจ. เป็นดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงความสูงและน้ำหนักของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ และถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ที่ปลูกในบริเวณพื้นที่ จ.เชียงใหม่ ในช่วง เดือนสิงหาคม ถึง ตุลาคม 2543

| ลำดับที่ | ความสูงต้น ( ซ.ม. ) | | น้ำหนักผลผลิตเฉพาะเมล็ด ( กรัม ) | |
|---|---|---|---|---|
| | พันธุ์ GMO | พันธุ์ สจ.5 | พันธุ์ GMO | พันธุ์ สจ.5 |
| 1 | 13.2 | 49.5 | 0 | 12.92 |
| 2 | 27.5 | 45.7 | 1.66 | 8.46 |
| 3 | 22.5 | 51.2 | 0 | 20.28 |
| 4 | 31.8 | 47.3 | 6.24 | 7.57 |
| 5 | 27.5 | 45.6 | 2.42 | 12.09 |
| 6 | 19.4 | 43.1 | 0 | 8.13 |
| 7 | 27.2 | 50.8 | 4.37 | 14.15 |
| 8 | 23.7 | 40.9 | 2.13 | 7.06 |
| 9 | 27.4 | 46.4 | 0.34 | 10.64 |
| 10 | 25.4 | 32.8 | 0.39 | 5.23 |
| 11 | 29.0 | 38.5 | 2.81 | 6.20 |
| 12 | 26.8 | 43.6 | 2.83 | 9.50 |
| 13 | 24.3 | 29.3 | 0.71 | 3.70 |
| 14 | 21.4 | 42.4 | 1.82 | 10.06 |
| 15 | 19.2 | 44.7 | 0 | 13.06 |
| 16 | 26.0 | 34.4 | 4.14 | 5.64 |
| 17 | 27.5 | 47.5 | 3.41 | 13.01 |
| 18 | 15.3 | 50.2 | 0.08 | 19.38 |
| 19 | 34.9 | 48.7 | 6.37 | 14.15 |
| 20 | 24.1 | 29.5 | 0.53 | 4.37 |
| 21 | 13.2 | 31.6 | 0 | 4.64 |
| 22 | 24.5 | 46.2 | 1.28 | 11.72 |
| 23 | 23.7 | 43.6 | 0 | 8.59 |
| 24 | 31.2 | 44.6 | 3.67 | 11.87 |
| 25 | 29.0 | 50.3 | 3.15 | 15.94 |
| 26 | 27.9 | 46.7 | 4.08 | 10.53 |
| 27 | 23.7 | 41.2 | 4.09 | 7.27 |
| 28 | 27.0 | 41.5 | 2.45 | 9.41 |
| 29 | 21.4 | 48.4 | 1.09 | 13.64 |
| 30 | 27.5 | 45.8 | 5.62 | 11.82 |
| $\bar{x}$ | 24.77 | 43.40 | 2.19 | 10.38 |
| SD | 5.06 | 6.28 | 1.98 | 4.16 |

ตารางที่ 8 แสดงความสูงและน้ำหนักทั้งฝักของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ที่ปลูกในช่วงฤดูกาลที่ต่างกันในพื้นที่ จ.เชียงใหม่ (ซ้ายถั่วเหลืองพันธุ์ GMO ที่ปลูกในช่วงวันสั้น : ขวาถั่วเหลืองพันธุ์ GMO ที่ปลูกในช่วงวันยาว)

| ลำดับ | ถั่วเหลืองพันธุ์ GMO ที่ปลูกนอกฤดู | |
|---|---|---|
| | ความสูงต้น ( ซ.ม. ) | น้ำหนักผลผลิต/ต้น ชั่งทั้งฝัก (กรัม) |
| 1 | 13.2 | 0 |
| 2 | 27.5 | 3.64 |
| 3 | 22.5 | 0 |
| 4 | 31.8 | 10.67 |
| 5 | 27.5 | 5.24 |
| 6 | 19.4 | 0 |
| 7 | 27.2 | 7.70 |
| 8 | 23.7 | 4.77 |
| 9 | 27.4 | 1.06 |
| 10 | 25.4 | 1.13 |
| 11 | 29.0 | 5.03 |
| 12 | 26.8 | 6.41 |
| 13 | 24.3 | 1.89 |
| 14 | 21.4 | 3.98 |
| 15 | 19.2 | 0 |
| 16 | 26.0 | 8.29 |
| 17 | 27.5 | 8.75 |
| 18 | 15.3 | 0.36 |
| 19 | 34.9 | 10.87 |
| 20 | 24.1 | 1.51 |
| 21 | 13.2 | 0 |
| 22 | 24.5 | 2.96 |
| 23 | 23.7 | 0.33 |
| 24 | 31.2 | 6.64 |
| 25 | 29.0 | 5.89 |
| 26 | 27.9 | 7.29 |
| 27 | 23.7 | 6.49 |
| 28 | 27.0 | 5.06 |
| 29 | 21.4 | 2.63 |
| 30 | 27.5 | 9.70 |
| $\bar{x}$ | 24.77 | 4.28 |
| SD | 5.06 | 3.48 |

| ถั่วเหลืองพันธุ์ GMO ที่ปลูกในฤดู | |
|---|---|
| ความสูงต้นเฉลี่ย ( ซ.ม. ) | น้ำหนักผลผลิตเฉลี่ยต่อต้นชั่งทั้งฝัก ( กรัม ) |
| 65±3.25 | 29.81± 1.41 |

ดัดแปลงจากข้อมูลของเกษตรกรผู้ปลูก

ข้อมูลที่การเกษตรกรบอกเกี่ยวกับการปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ในจังหวัดเชียงใหม่ ในช่วงปลายเดือนเมษายน 2543-กลางเดือน กรกฎาคม 2543 มีดังนี้ ความสูงต้นถั่วเหลืองเฉลี่ย 65 เซนติเมตร ความสูงของต้นถั่วมีความสม่ำเสมอกัน น้ำหนักเมล็ดถั่วที่ปลูก 1 กิโลกรัม ได้ผลผลิต 105 กิโลกรัม ปลูกหลุมละ 3 เมล็ด ระยะห่าง 20x30 เซนติเมตร พื้นที่ระหว่าง 4 หลุม ปลูก เท่ากับ 600 ตารางเซนติเมตร ซึ่งสามารถหาความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่กับจำนวนหลุมปลูกได้เท่ากับ 2n+2เมื่อ n คือ จำนวนเท่าของพื้นที่ขนาด 20x30 ตร.ซม.

| จำนวนพื้นที่ขนาด 20x30 ตร.ซม. | จำนวนหลุมปลูก |
|---|---|
| 1 | 4 |
| 2 | 6 |
| 3 | 8 |
| n | 2n+2 |

เมล็ดถั่วเหลือง 100 เมล็ด มีน้ำหนักประมาณ 28.39 กรัม (ข้อมูลจากการชั่งน้ำหนัก)

∴ ถั่วเหลือง 1000 กรัม จะมีจำนวนเมล็ด เท่ากับ (1000*100)/ 28.39 = 3,522 เมล็ด

ใช้เมล็ดในการปลูก 3 เมล็ด ต่อ 1 หลุมปลูก

∴ 3522 เมล็ดปลูกได้ 3,522/3 = 1,174 หลุมปลูก

จากตารางข้างบน แสดงให้เห็นว่า 2n+2 หลุมปลูก ใช้พื้นที่จำนวน n เท่าของพื้นที่ขนาด (20x30) ตร.ซม.

∴ 1,174 หลุมปลูก จะใช้พื้นที่เท่ากับ (1,174-2)/2 = 586 เท่าของพื้นที่ขนาด 600 ตารางเซนติเมตร ∴ แปลงปลูกถั่วเหลืองดังกล่าวมีพื้นที่ = 351,600 ตารางเซนติเมตร ผลผลิตราคากิโลกรัมละ 18 บาท

ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบน้ำหนักผลผลิตของถั่วเหลือง สจ.5และถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

| ถั่วเหลือง | N | $\bar{X}$ | SD | SEM | $S_C$ | $SE_D$ | t |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| จำลองพันธุ์ | 30 | 2.1893 | 1.9843 | 0.3623 | 2.98 | 0.769 | 10.648 |
| สจ.5 | 30 | 10.3777 | 4.1578 | 0.7591 | | | |
| $t_{0.25/58}$ =2.0021 ∴ ค่า t ที่คำนวณได้มีค่า ≥ ค่า t ในตารางที่ p= 0.05 | | | | | | | |
| แสดงว่าน้ำหนักผลผลิตของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์กับถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ | | | | | | | |

ตารางที่ 10 แสดงการเปรียบเทียบความสูงของถั่วเหลือง สจ.5และถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

| ถั่วเหลือง | N | $\bar{X}$ | SD | SEM | $S_C$ | $SE_D$ | t |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| จำลองพันธุ์ | 30 | 24.7733 | 5.0580 | 0.9235 | 5.70 | 1.471 | 12.663 |
| สจ.5 | 30 | 43.4000 | 6.2781 | 1.1462 | | | |
| $t_{0.25/58}$ =2.0021 ∴ ค่า t ที่คำนวณได้มีค่า ≥ ค่า t ในตารางที่ p= 0.05 | | | | | | | |
| แสดงว่าความสูงของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์กับถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ | | | | | | | |

ตารางที่11 แสดงการเปรียบเทียบความสูงของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ปลูกในช่วงวันสั้นและวันยาว

| ถั่วเหลือง | N | $\bar{X}$ | SD | SEM | $S_C$ | $SE_D$ | t |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| วันยาว | 30 | 65 | 3.25 | 0.59 | 4.25 | 1.097 | 36.67 |
| วันสั้น | 30 | 24.77 | 5.06 | 0.92 | | | |
| $t_{0.25/58}$ =2.0021 ∴ ค่า t ที่คำนวณได้มีค่า ≥ ค่า t ในตารางที่ p= 0.05 | | | | | | | |
| แสดงว่าความสูงของต้นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ปลูกในช่วงวันยาวให้ผลผลิตแตกต่างจากต้นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ปลูกในช่วงวันสั้น อย่างมีนัยสำคัญ | | | | | | | |

ตารางที่12แสดงการเปรียบเทียบผลผลิตของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ปลูกในช่วงวันสั้นและวันยาว

| ถั่วเหลือง | N | $\bar{X}$ | SD | SEM | $S_C$ | $SE_D$ | t |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| วันยาว | 30 | 29.81 | 1.49 | 0.27 | 2.68 | 0.691 | 36.95 |
| วันสั้น | 30 | 4.28 | 3.48 | 0.64 | | | |
| $t_{0.25/58}$ =2.0021 ∴ ค่า t ที่คำนวณได้มีค่า ≥ ค่า t ในตารางที่ p= 0.05 | | | | | | | |
| แสดงว่าผลผลิตของต้นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ปลูกในช่วงวันยาวให้ผลผลิตแตกต่างจากต้นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ปลูกในช่วงวันสั้น อย่างมีนัยสำคัญ | | | | | | | |

ตารางที่ 13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของถั่วเหลืองและการเกิดปมราก

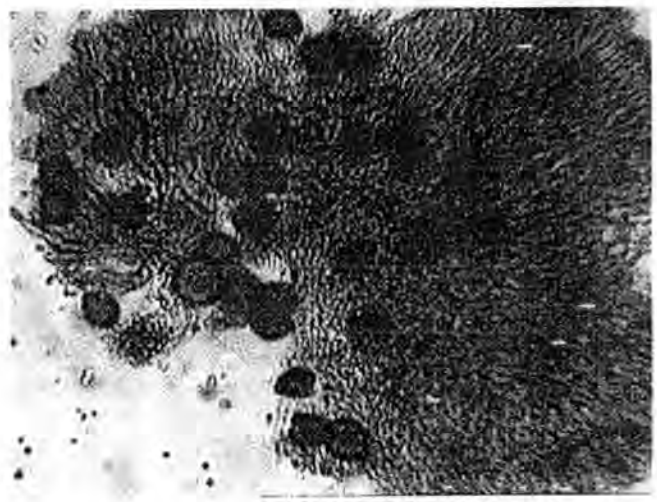
| | จำนวนต้นถั่วเหลือง ที่มีปมราก $\leq 50$ | จำนวนต้นถั่วเหลือง ที่มีปมราก $> 50$ | รวม |
|---|---|---|---|
| ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ | 30 a<br>E= (30 x 30 ) / 60 = 15 | 0 b<br>E= (30 x 30 ) / 60 = 15 | 30 |
| ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 | 0 c<br>E= (30 x 30 ) / 60 = 15 | 30 d<br>E= (30 x 30 ) / 60 = 15 | 30 |
| รวม | 30 | 30 | 60 |
| $\chi^2 = \sum[ \frac{(30-15)^2}{15} + \frac{(0-15)^2}{15} + \frac{(0-15)^2}{15} + \frac{(30-15)^2}{15} ] = 60$ | | | |
| $\chi^2_{\text{จากตารางสถิติที่ df=1}} = 5.024$ | | | |
| พันธุ์ของถั่วเหลืองมีความสัมพันธ์กับการเกิดปมรากอย่างมีนัยสำคัญ ที่ p= 0.05 | | | |

ภาพที่ 19 แสดงปมรากของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ปลูกในพื้นที่ จ.เชียงใหม่ ในช่วงเดือน สิงหาคม ถึง ตุลาคม 2543

**ความเป็นไปได้ของการเกิดการถ่ายทอดยีน**

**<u>การไหลเวียนของยีนผ่านทางการถ่ายละอองเรณูของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์</u>**

จากการตรวจสอบผลผลิตของถั่วเหลือง สจ.5 ที่ให้ผลบวกใน 3 ตัวอย่างจากผลผลิตที่สุ่มเก็บมาตรวจจำนวน 30 ต้น (ภาพที่ 21 และ 22) แสดงให้เห็นว่าการย้ายชิ้นส่วนของยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไปสู่พืชในตระกูลเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์ สามารถเกิดได้จากการที่ละอองเรณูของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ถูกลมหรือแมลงพาไปยังดอกของพืชชนิดเดียวกันต่างสายพันธุ์ หรือชนิดที่เป็นพืชป่า หรือวัชพืชที่มีความใกล้ชิดกันทางวิวัฒนาการ และสามารถผสมกันได้ตามธรรมชาติ ทั้งนี้โอกาสที่จะเกิดการผสมข้ามขึ้นอยู่กับ ลักษณะของพืชชนิดนั้นๆ สำหรับถั่วเหลืองซึ่งเป็นพืชผสมตัวเอง จากข้อมูลการผสมข้ามดอกจะมีค่าสูงสุดไม่เกิน 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนอกจากปัจจัยภายในของพืชเองแล้วสภาพแวดล้อมก็มีส่วนอย่างมากคือ ความชื้น อุณหภูมิ ความเร็วลม จำนวนแมลงในบริเวณแปลงปลูกที่มี ปฏิสัมพันธุ์กับพืชดังกล่าว ความชื้น และอุณหภูมิ มีผลโดยตรงต่อสภาพการมีชีวิตของละอองเรณู ส่วนความเร็วลมจะเกี่ยวข้องในแง่ของการนำพาไปได้เป็นระยะทางไกลเพียงใด ลักษณะของละอองเรณูถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ปลูกในพื้นที่ จ.เชียงใหม่ นอกฤดูกาลเพาะปลูกเป็นดังภาพที่ 20 และความมีชีวิตของละอองเรณูถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในแปลงจังหวัดเชียงใหม่ จะมีเสถียรภาพในช่วง 3 ถึง 4 ชั่วโมง และลดลงอย่างรวดเร็วจนมีค่าประมาณ 30-50 เปอร์เซ็นต์ในชั่วโมงที่ 6



ภาพที่ 20 ลักษณะของละอองเรณูถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ปลูกในพื้นที่ จ.เชียงใหม่ นอกฤดูกาลเพาะปลูก

จากการศึกษาพบว่าละอองเรณูของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์มีลักษณะดังภาพที่ 20 และสามารถมีชีวิตอยู่ในสภาพแวดล้อมโดยเฉลี่ยอยู่ที่ 6 ชั่วโมง จากการศึกษาพบว่าละอองเรณูของถั่วเหลืองนอกจากถูกนำพาโดยแมลงผสมเกสรแล้ว ยังสามารถนำพาไปโดยลมได้เป็นระยะทางไม่น้อยกว่า 125 เมตร ข้อมูลจำนวนละอองเรณูของถั่วเหลืองที่ถูกนำพาไปโดยลมในระยะทางต่างๆ แสดงไว้ในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 แสดงระยะทางที่ละอองเรณูถั่วเหลืองสามารถไปได้ด้วยลม

| ระยะ | จำนวนละอองเรณูถั่วเหลืองที่พบ |
|---|---|
| 0 | 56 |
| 25 | 87 |
| 50 | 25 |
| 75 | 108 |
| 100 | 39 |
| 125 | 172 |

**ความเป็นไปได้ในการถ่ายยีนออกสู่สิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศ**

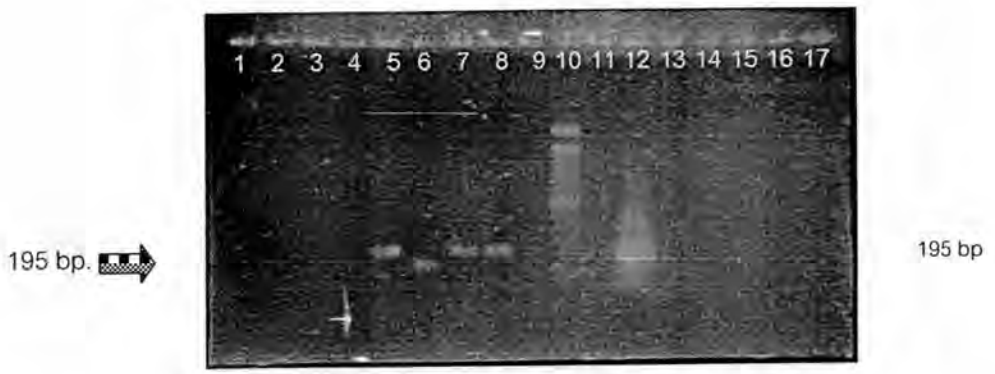
**<u>การไหลเวียนของยีนจากพืชจำลองพันธุ์ไปสู่พืช</u>**

- **การไหลเวียนของยีนจากพืชจำลองพันธุ์ไปสู่พืชชนิดเดียวกันต่างสายพันธุ์**

  ผลการตรวจสอบผลผลิตของถั่วเหลือง สจ.5 ที่อยู่ในแปลงข้างเคียงแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์เป็นดังภาพที่ 21

ภาพที่ 21 แสดงตัวอย่างผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากตัวอย่างผลผลิตถั่วเหลืองสจ.5 ต้นที่1- 14 รวม 14 ตัวอย่าง ช่องที่10,11,12 คือ 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp ตามลำดับ (ช่องที่ 7 และ 8 positive)

จากภาพที่ 21 ผลผลิตถั่วเหลือง สจ.5 ต้นหมายเลข 7 และ 8 ให้ผล POSITIVE จากการตรวจสอบที่ชัดเจน สำหรับชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ปรากฏในช่องเจลตัวอย่างที่เหลือยังสรุปไม่ได้ว่าเป็นส่วนของ35S โปรโมเตอร์ ที่ตรวจจับ เนื่องจากขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่ตรวจพบใหญ่กว่า 195 bp.




ภาพที 22 แสดงตัวอย่างผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากผลผลิตถั่วเหลืองสจ.5 ต้นที่15-28 รวม 14 ตัวอย่าง ช่องที่10,11,12 คือ 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp ตามลำดับ (ช่องเจลที่ 5,7และ8 positive)

จากภาพที่ 22 พบว่าผลผลิตถั่วเหลือง สจ.5 ในช่องเจลที่ 5, 7 และ 8 ให้ผล POSITIVE จากการตรวจสอบที่ชัดเจน ชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ปรากฏสรุปได้ว่าเป็นส่วนของ 35S โปรโมเตอร์ ที่ตรวจจับ เนื่องจากขนาดชิ้นดีเอ็นเอที่ตรวจพบมีขนาดตรงกับ positive control 195 bp. ส่วนชิ้นดีเอ็นเอที่ปรากฏในช่องที่ 6 ซึ่งมีขนาดเล็กกว่า 195 bp ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็นสิ่งใดต้องนำไปตรวจหาลำดับเบสอีกครั้งเพื่อยืนยันผล

จากการตรวจสอบพบว่าเกิดการย้ายชิ้นส่วนของยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไปสู่พืชในตระกูลเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์ ที่ไม่ใช่พืชจำลองพันธุ์ (ถั่วเหลืองพันธุ์สจ.5) พบว่ายีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์สามารถถ่ายทอดในรูปของละอองเกสรไปสู่ผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ที่ปลูกในบริเวณข้างเคียงห่างออกไประยะ 5 -10 เมตร โดยเกิดจากการผสมข้ามต้นจากแมลงและลมพาละอองเรณูของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไปสู่ต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ที่อยู่บริเวณข้างเคียง เมื่อสุ่มตัวอย่างเก็บผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 จำนวน 30 ต้นมาตรวจพบว่าผลผลิตจากต้นถั่วเหลืองดังกล่าวจำนวน 5 ต้น ได้รับการถ่ายทอดยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

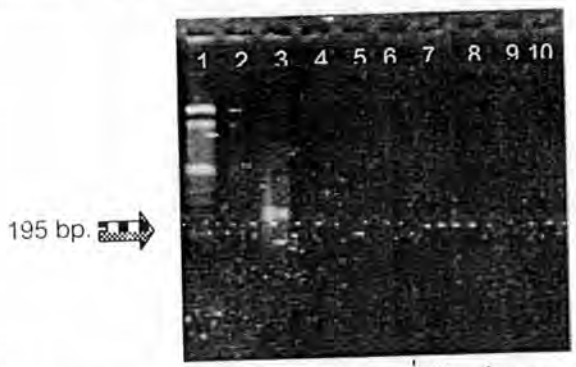
- **การไหลเวียนของยีนจากพืชจำลองพันธุ์ไปสู่วัชพืชในตระกูลเดียวกัน**

การตรวจสอบวัชพืชตระกูลถั่วที่พบในแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์เป็นดังภาพที่ 23 ผลการตรวจวัชพืชที่ใช้เก็บผลผลิตมาตรวจสอบไม่ใช่พืชจำลองพันธุ์ที่มีส่วนประกอบของ CaMV 35-S Promotor

ภาพที่ 23 ผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ35S โปรโมเตอร์ จากใบต้นถั่วลิสงและไมยราบที่ใช้ในการติดตามการไหลของยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไปสู่วัชพืชตระกูลถั่วและจุลชีพในปมรากวัชพืชตระกูลถั่ว

รายละเอียดของแต่ละช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ ช่อง 1 ใบถั่วลิสงต้นที่1-3, ช่อง 2 ใบถั่วลิสงต้นที่ 4-6, ช่องที่ 3 ใบถั่วลิสงต้นที่ 7-9, ช่อง 4 ใบและลำต้นไมยราบต้นที่ 1-4, ช่อง 5 ใบและลำต้นไมยราบต้นที่ 5-8, ช่องที่ 6-8 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp ตามลำดับ

ผลการตรวจสอบผลผลิตของถั่วลิสงที่พบในแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์เป็นดังภาพที่ 24




ภาพที่ 24 แสดงผลการตรวจสอบผลผลิตจากถั่วลิสงจำนวน 7 ต้น ที่พบในแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ด้วยการทำ Gel electrophoresis ตรวจหาแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์

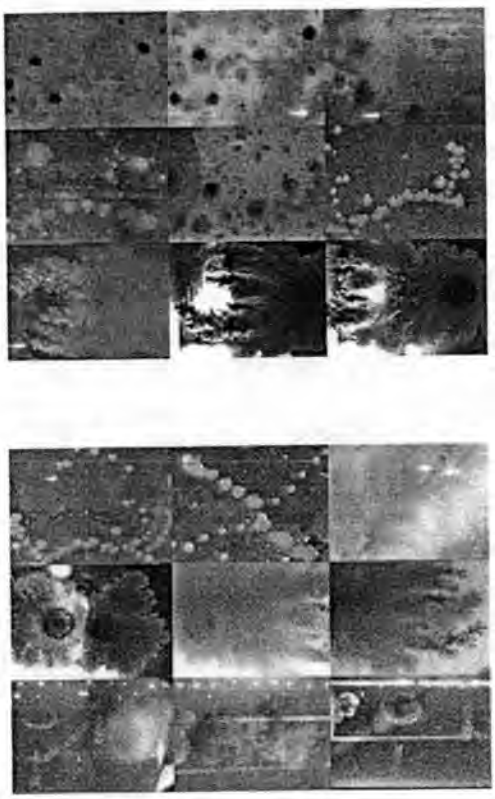
รายละเอียดของแต่ละช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp , ผลผลิตถั่วลิสงตัวอย่างหมายเลข 1,2,3,5,6และ7 ตามลำดับ

จากภาพแสดงให้เห็นว่าไม่พบการไหลของยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไปยังถั่วลิสงที่พบเป็นวัชพืชในแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ซึ่งเป็นพืชตระกูลเดียวกัน (ถั่วลิสงที่นำมาตรวจเลือกเฉพาะต้นที่ออกดอกในช่วงเดียวกับถั่วเหลืองจำลองพันธุ์) ผ่านทางการผสมข้ามต้น และแสดงให้เห็นว่าถั่วลิสงที่ถูกนำมาศึกษาเป็นพืชธรรมชาติไม่สามารถผสมข้ามกับถั่วเหลืองได้

**<u>การไหลเวียนของยีนจากพืชจำลองพันธุ์ ไปสู่จุลชีพในดิน และปมรากพืชตระกูลถั่ว</u>**

- **การไหลเวียนของยีนจากพืชจำลองพันธุ์ ไปสู่จุลชีพในดิน**

จากการศึกษาดินจำนวน 5 จุดในบริเวณแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ทั้งก่อนปลูก และขณะทำการปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ เมื่อนำดินดังกล่าวมาเลี้ยงในอาหารเหลว (Nutrient broth) และอาหารแข็ง (Nutrient Agar) ทำชุดละ 2 ซ้ำ รวมก่อนปลูก 10 ตัวอย่าง และหลังปลูกอีก 10 ตัวอย่าง พบจุลชีพในดินดังแสดงในภาพที่ 25



ภาพที่ 25 จุลินทรีย์จากดินแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

ตารางที่ 15 แสดงจำนวนชนิดเชื้อจุลชีพที่พบจากดินบริเวณรอบรากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ แยกตามลักษณะ Colony

| ลำดับ | กลุ่ม | จำนวนชนิดแยกตามลักษณะ colony | สี colony | หมายเหตุ |
|---|---|---|---|---|
| 1 | แบคทีเรีย | 4 | ขาว,ครีม,ชมพู,ส้ม | |
| 2 | รา | 5 | ขาว,ฟ้า,แดง,เขียว,ดำ | |
| 3 | แอคติโนมัยสีต | 1 | ส้ม | |
| 4 | ไรโซเบียม | 3 | แดง | จากปมราก ไมยราบ,ถั่วเหลือง และถั่วลิสง |

จากการสังเกตลักษณะภายนอกของจุลชีพในดินก่อนปลูก และขณะปลูก ไม่พบความแตกต่างของจุลชีพในดิน แต่จากการนำจุลชีพในดินก่อนปลูกมาเลี้ยงสกัดดีเอ็นเอจำนวน 10 ตัวอย่าง แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ไม่พบว่าจุลชีพในดินก่อนปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ จะไม่มีชิ้นส่วนดีเอ็นเอของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ดังภาพที่ 26

ภาพที่ 26 ผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ ของจุลชีพในดินบริเวณแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ และแปลงปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ก่อนการปลูกถั่วเหลืองดังกล่าว

รายละเอียดของแต่ละช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ ช่องที่ 1-10 จุลชีพในดินแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ก่อนปลูก จำนวน 10 ตัวอย่างจากดิน 5 จุด , ช่องที่ 14-17 จุลชีพในดินแปลงถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ก่อนปลูก จุดเก็บตัวอย่างดินที่ 1, 2, 3 และ(4+5) , ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp ,

ผลการตรวจจุลชีพในดินบริเวณแปลงถั่วเหลืองทั้ง 2 ชนิดที่ใช้ในการศึกษา ไม่พบการมีอยู่ของชิ้นส่วนดีเอ็นเอ 35S โปรโมเตอร์ ในดินบริเวณแปลงแปลงปลูกก่อนปลูกถั่วเหลืองดังกล่าว

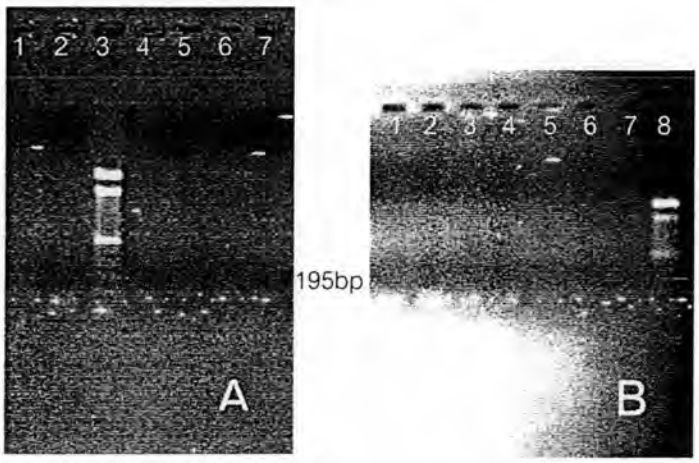
ส่วนผลการตรวจจุลชีพในดินขณะปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ พบว่าจุลชีพในดินจำนวน 9 ตัวอย่างจาก 10 ตัวอย่างของดินที่เก็บโดยสุ่ม 5 จุดในบริเวณรอบรากถั่วเหลือง มีชิ้นส่วนดีเอ็นเอของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ดังภาพที่ 27

ภาพที่ 27 ผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ ของจุลชีพในดินบริเวณรอบรากต้นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ในระยะถั่วเหลืองออกดอก (ช่อง 1,16 และ 17 ว่าง)

ผลการตรวจวิเคราะห์ ด้วยการ Run gel electrophoresis พบว่าจุลชีพในดินและเชื้อไรโซเบียมที่อยู่ในดินภายนอกปมถั่วเหลือง และจุลชีพอื่นๆที่อยู่ในดินบริเวณรอบรากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ มีโอกาสในการรับยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในบางตัวอย่างที่ตรวจสอบ สำหรับเชื้อจุลชีพในดินรอบรากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์จากการตรวจทั้งหมด 10 ตัวอย่าง พบว่าเชื้อจุลชีพจำนวน 9 ตัวอย่างสามารถรับเอาชิ้นส่วนสารพันธุกรรมของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

**การไหลเวียนของยีนจากพืชจำลองพันธุ์ไปสู่เชื้อ ไรโซเบียมในปมราก**

เมื่อนำปมรากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ และปมรากพืชตระกูลถั่วต่างๆที่พบในแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์มาตรวจสอบ พบว่ามีโอกาสที่เชื้อไรโซเบียมที่อยู่ในปมรากของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์และที่อยู่ในวัชพืชตระกูลถั่วที่พบในแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์มีการรับชิ้นส่วน DNA จากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์เข้าไปได้ด้วยเช่นกัน ผลการตรวจสอบบางส่วนแสดงดังภาพต่อไปนี้

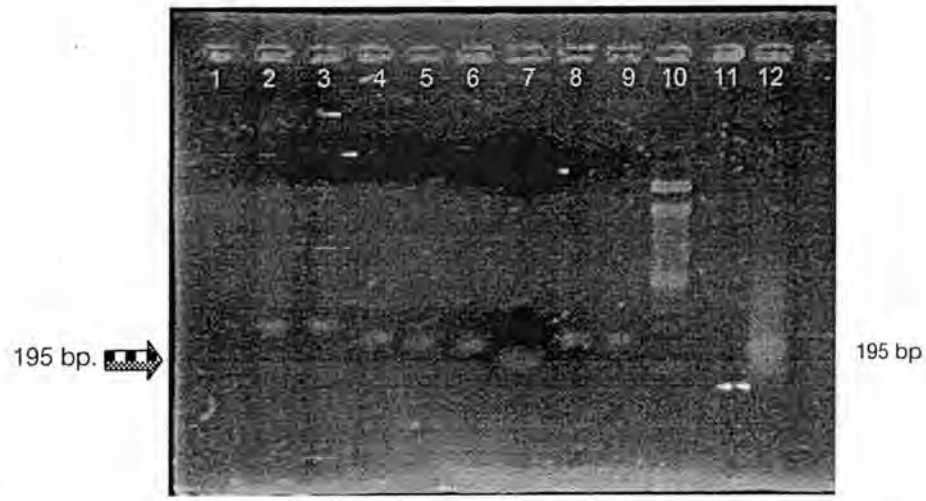



ภาพที่ 28 แสดงตัวอย่างผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากไรโซเบียมปมรากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์จำนวน 11 ตัวอย่าง

ผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากเชื้อไรโซเบียมปมรากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์บางส่วนที่แสดงในภาพที่ 28 รายละเอียดมีดังนี้

รูปA ช่อง1-2 คือไรโซเบียมต้น 7, 11 (ให้ผล Negative) ช่องที่ 3 ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder, ช่อง 4 คือ positive control 195 bp , ช่องที่ 5-7 คือไรโซเบียมต้น 1-3 (ให้ผล positive ทุกตัวอย่าง)

รูป B ช่อง1 คือ positive control 195 bp, ช่อง 2-7 คือไรโซเบียมต้น 4-6, และ 8-10 เรียงลำดับจากซ้ายไปขวา (ให้ผล positive ทุกตัวอย่าง),ช่องที่ 8 คือ ดีเอ็นเอมาตรฐาน 100 bp ladder

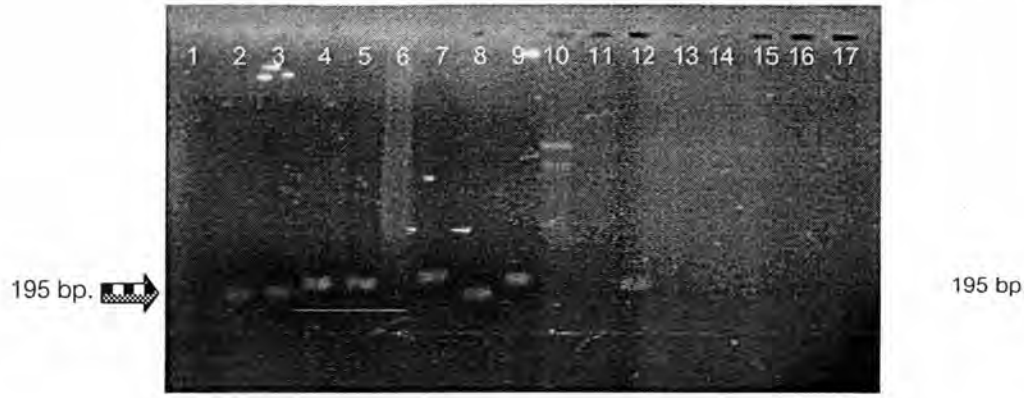



ภาพที 29 แสดงตัวอย่างผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากไรโซเบียมปมรากถั่วลิสงจำนวน 9 ตัวอย่าง

รายละเอียดแต่ละช่องเจลเป็นดังนี้ ช่องที่ 1-9 คือ เชื้อไรโซเบียมในปมรากถั่วลิสงต้นที่ 1-9, ช่องที่10-12 คือ ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp เรียงลำดับจากซ้ายไปขวา( ช่องที่ 7 positive)

จากภาพที่ 29 พบ 1 ตัวอย่างของเชื้อไรโซเบียมในถั่วลิสงธรรมชาติที่เป็นวัชพืชในแปลงถั่วที่มีชิ้นส่วนดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ ของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

แต่จากการตรวจสอบทั้งหมด 14 ตัวอย่าง พบ 4 ตัวอย่างของเชื้อไรโซเบียมในถั่วลิสงที่มีชิ้นส่วนดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ ของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ เนื่องจากปรากฏชิ้นดีเอ็นเอขนาด 195 คู่เบสที่สังเคราะห์ขึ้นจากบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ ซึ่งนิยมใช้เป็นโปรโมเตอร์สำหรับการนำยีนเข้าสู่พืช หรืออีกนัยหนึ่งก็คือพบส่วนของดีเอ็นเอที่ใช้ในการสร้าง GMOs




ภาพที 30 แสดงตัวอย่างผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากไรโซเบียมปมรากไมยราบ (ตรวจจริง 16 ตัวอย่าง)

รายละเอียดของช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวา เป็นดังนี้ ช่องที่1-8 คือ ตัวอย่างเชื้อไรโซเบียมจำนวน 8 ตัวอย่าง ช่องที่ 10ถึง12 คือ ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, posiiive control 195 bp ช่องที่ 13 ถึง 17 คือ ตัวอย่างเชื้อไรโซเบียมจำนวน 5 ตัวอย่าง ( ช่อง 4,5 ให้ผล positive )

ภาพที 31 แสดงตัวอย่างผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จาก ไรโซเบียมปมรากถั่วสจ.5 แปลงข้างเคียงแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ (ช่องที่ 9 Positive)

รายละเอียดของแต่ละช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp , ไรโซเบียมปมรากถั่วสจ.5 จำนวน 8 ตัวอย่าง และ ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder

จากภาพที่ 31 พบ 1 ตัวอย่างของเชื้อไรโซเบียมในปมรากถั่วเหลือง สจ.5 ที่ปลูกอยู่ในแปลงข้างเคียง ที่มีชิ้นส่วนดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ ของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

การตรวจสอบทั้งหมด 10 ตัวอย่าง พบ 1 ตัวอย่างของเชื้อไรโซเบียมในถั่วลิสงที่มีชิ้นส่วนดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ ของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

โดยจากการศึกษาเชื้อจากปมของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ถั่วเหลือง สจ.5 ไมยราบ และถั่วลิสงที่เป็นวัชพืชในแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ได้ข้อมูลดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 แสดงผลการไหลออกของยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไปสู่จุลชีพในรากพืชตระกูลถั่ว

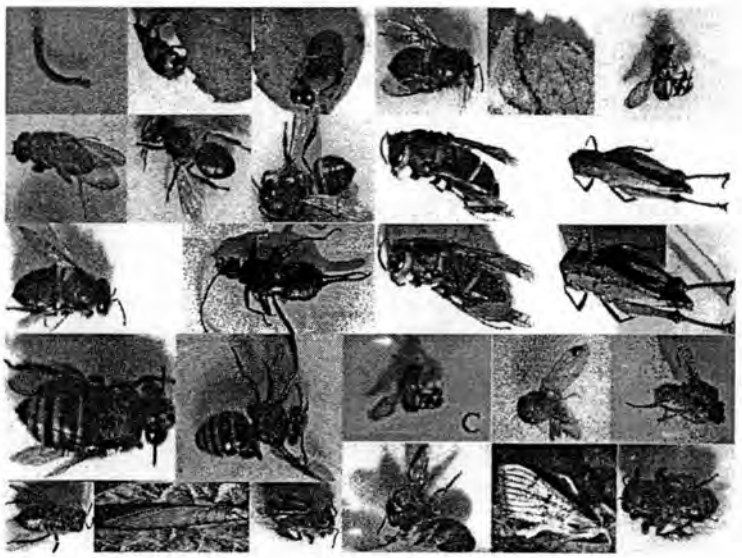
| เชื้อจากปม | จำนวนตัวอย่างสายของปมรากที่สุ่มออกมาทำการศึกษา | จำนวนเชื้อจุลชีพที่ได้จากปมราก ( หลอด ) | จำนวนกลุ่มจุลชีพที่ได้จากปมรากตัวอย่างที่ปรากฏชิ้นส่วนสารพันธุกรรมของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ | จำนวนกลุ่มจุลชีพที่ได้จากปมรากตัวอย่างที่ไม่ปรากฏชิ้นส่วนสารพันธุกรรมของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ |
|---|---|---|---|---|
| ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ | 12 | 12 | 9 | 3 |
| ถั่วเหลือง สจ.5 | 10 | 10 | 1 | 9 |
| ไมยราบ | 16 | 16 | 5 | 11 |
| ถั่วลิสง | 14 | 14 | 4 | 10 |
| หมายเหตุ : ไรโซเบียมของไมยราบจัดอยู่ในกลุ่มเจริญเร็ว<br>ไรโซเบียมของ ถั่วเหลือง และ ถั่วลิสง อยู่ในกลุ่มเจริญช้า | | | | |

ภาพที่ 32 แสดงปมรากของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ (ซ้าย และ กลาง) และปมรากของถั่วลิสง(ขวา)ที่เป็นวัชพืชในแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

ภาพที่ 33 แสดงลักษณะของเชื้อไรโซเบียมจากปมรากถั่วเหลือง

**<u>การไหลเวียนของยีนของพืชจำลองพันธุ์ไปสู่จุลชีพในลำไส้แมลงกลุ่มผสมเกสร</u>**

การสำรวจในบริเวณแปลงปลูกถั่วเหลือง จ.เชียงใหม่ พบแมลงที่เข้ามามีส่วนเกี่ยวข้องกับต้นถั่วเหลืองจำนวนหลายชนิด บางส่วนของแมลงที่พบในพื้นที่ดังแสดงให้เห็นในภาพที่ 34 ส่วนแมลงที่พบการเริ่มวงชีวิตบนต้นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ดังภาพที่ 35

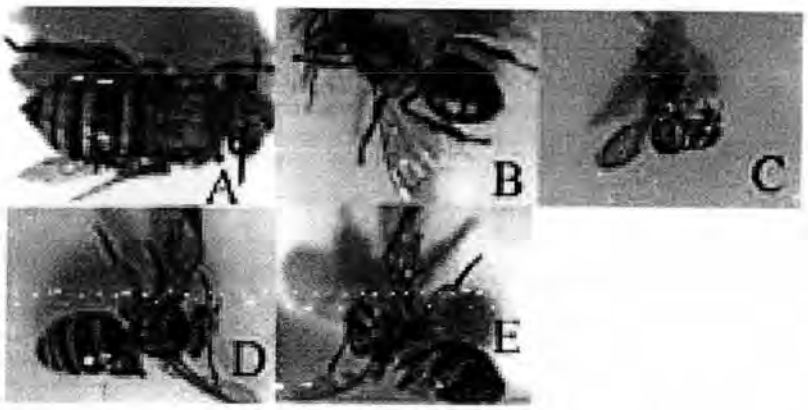


ภาพที่ 34 แสดงตัวอย่างแมลงที่พบในบริเวณแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

ภาพที่ 35 แสดงแมลงที่พบการเริ่มวงชีวิตบนต้นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

ตารางที่ 17 แสดงรายชื่อแมลงบางชนิดที่พบในบริเวณแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

| ลำดับ | ชื่อ | ชื่อวิทยาศาสตร์ | ชนิดที่นำมาศึกษาจุลชีพในลำไส้ | หมายเหตุ |
|---|---|---|---|---|
| 1 | ผึ้งโพรง | *Apis cerana* | ✓ | |
| 2 | ผึ้งมิ้ม | *Apis florea* | ✓ | |
| 3 | ผึ้งหลวง | *Apis dorsata* | ✓ | |
| 4 | ชันโรง | *Trigona spp.* | ✓ | |
| 5 | ต่อรัง | แมลงในอันดับ hymenoptera | ✓ | |
| 6 | ด้วงเต่า | *Epilachna vigintioctopunctata Fab.* | | |
| 7 | แมลงวันผลไม้ ( fly) | แมลงในอันดับ Diptera | ✓ | |
| 8 | แมลงภู่ (carpenter bee) | แมลงในวงศ์ Apoidae | ✓ | ภาพที่ A |
| 9 | Unknown pollinator1 | แมลงในอันดับ hymenoptera | ✓ | ภาพที่ D |
| 10 | แตน (flies) | แมลงในอันดับ hymenoptera | ✓ | ภาพที่ B |
| 11 | หมาร่า | แมลงในวงศ์ Sphecoidea | ✓ | ภาพที่ C |
| 12 | Unknown pollinator2 | แมลงในอันดับ hymenoptera | ✓ | ภาพที่ E |
| 13 | ผีเสื้อกลางวันไม่ทราบชนิด | แมลงในอันดับ Lepidoptera | ✓ | |
| 14 | หนอนม้วนใบ | *Cacoecia micaceana Walk.* | | |
| 15 | หนอนคืบข้าวโพด | *Phytometra chalcites Esp.* | | |
| 16 | แมลงหวี่ | - | | |
| 17 | ตั๊กแตนหนวดสั้น | แมลงในอันดับย่อย Caelifera | ✓ | |
| 18 | แมลงหางหนีบ | - | - | |




ภาพที่ 36 แสดงแมลงผสมเกสรบางชนิดที่จับได้จากแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในจ.เชียงใหม่

เมื่อนำตั๊กแตน และแมลงช่วยผสมเกสรที่จับได้จากบริเวณแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ และแปลงถั่วเหลือง สจ.5 ที่อยู่ติดกัน ได้แก่ ผึ้งมิ้ม ชันโรง ผึ้งหลวง ผึ้งโพรง ตัวต่อ และผีเสื้อ และ แมลงไม่ทราบชนิดอีก 5 ชนิด นำมาผ่าท้องตัดลำไส้มาเลี้ยงเพื่อแยกเอาเชื้อจุลชีพจากลำไส้ของแมลงดังกล่าวมาเพิ่มจำนวนในอาหารเหลว (LB) (ชันโรง,ผึ้งมิ้ม,ผึ้งหลวง,แมลงunk1,2,แตน, หมาร่า ไม่สามารถเลี้ยงเพิ่มจำนวนจุลชีพในลำไส้ได้) แล้วทำการสกัด DNA และตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR ได้ผลดังต่อไปนี้

ภาพที่ 37 แสดงตัวอย่างผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากจุลชีพในลำไส้ตัวอย่างแมลงจากแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ และแปลงถั่วเหลืองสจ.5 (ช่อง 5 positive)

รายละเอียดของแต่ละช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ จุลชีพในลำไส้ตัวอย่างแมลงจำนวน 14 ตัวอย่าง, ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp ช่องหมายเลข 1-3 คือ จุลชีพลำไส้แมลงที่จับได้จากแปลงถั่วเหลืองสจ.5 ที่อยู่ข้างแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ รายละเอียดดังนี้ ช่อง1 ต่อรัง, 2-3 ผึ้งโพรง,4-7แมลงภู่,8-11ผึ้งโพรง, หมายเลข 12-14 คือ ผึ้งโพรงที่จับได้จากแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

ภาพที่ 38 แสดงตัวอย่างผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากจุลชีพในลำไส้ตัวอย่างแมลงจากแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ จ.เชียงใหม่ (ช่อง6,7 และ 9-12 positive) รายละเอียดดังนี้ ผึ้งโพรง 9 ตัวอย่าง,ผีเสื้อ1 ตัวอย่าง และตั๊กแตน 2 ตัวอย่าง ตามลำดับ (ช่อง 15,16 ว่าง)

รายละเอียดของแต่ละช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ จุลชีพในลำไส้ตัวอย่างแมลงจำนวน 12 ตัวอย่าง ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp และผลผลิตถั่วเหลืองพันธุ์สจ.5ที่อยู่ใกล้กับแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

พบว่าจุลชีพจากลำไส้แมลงที่จับได้จากแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์และแปลงข้างเคียง จำนวน 42 ตัวอย่าง สามารถเลี้ยงจุลชีพจากลำไส้ได้ 26 ตัวอย่าง (อีก 16 ตัวอย่างเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 14 วันไม่เห็นการเปลี่ยนแปลง) และผลตรวจสอบพบว่าจุลชีพจากลำไส้แมลงที่จับได้จากแปลงถั่ว สจ.5 จำนวน 3 ตัวอย่าง ไม่พบชิ้นส่วน DNA จากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในแมลง 2 ชนิด คือ ต่อ และผึ้งโพรง ส่วนจุลชีพจากลำไส้แมลงที่จับได้จากแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ จำนวน 23 ตัวอย่าง พบชิ้นส่วน DNA ของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ 7 ตัวอย่าง ได้แก่จุลชีพลำไส้ของผึ้งโพรง ผีเสื้อ และตั๊กแตน เนื่องจากการทดลองที่วางแผนไว้เป็นการตรวจสอบเชิงคุณภาพเท่านั้น จึงไม่สามารถคำนวณค่าในเชิงสถิติ เพื่อหาโอกาสในการถ่ายทอดยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไปสู่จุลชีพในลำไส้แมลงที่เกี่ยวข้องกับต้นถั่วเหลืองดังกล่าวได้ในเชิงปริมาณ

ตารางที่18 แสดงผลการไหลออกของยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ต่อแมลงในกลุ่มผสมเกสรที่เกี่ยวข้องกับละอองเรณูและน้ำหวานจากดอกของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในสภาพธรรมชาติ

| กลุ่มแมลงช่วยผสมเกสร | จำนวนแมลงฯตัวอย่างที่สุ่มจับมาทำการศึกษา ( ตัว ) | จำนวนหลอดที่ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพจากลำไส้แมลงฯตัวอย่าง | จำนวนเชื้อจุลชีพที่ได้จากลำไส้แมลงฯตัวอย่าง ( หลอด ) | จำนวนกลุ่มจุลชีพที่ได้จากลำไส้แมลงฯตัวอย่างที่ปรากฏชิ้นส่วนสารพันธุกรรมของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ | จำนวนกลุ่มจุลชีพที่ได้จากลำไส้แมลงฯตัวอย่างที่ไม่ปรากฏชิ้นส่วนสารพันธุกรรมของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ |
|---|---|---|---|---|---|
| กลุ่มที่ 1 | 27 | 4 | 23 | 7 | 16 |
| กลุ่มที่ 2 | 15 | 12 | 3 | 0 | 3 |
| รวม | 42 | 16 | 26 | 7 | 19 |

หมายเหตุ : กลุ่มแมลงช่วยผสมเกสรที่นำมาตรวจสอบจับในช่วงเวลาที่แปลงถั่วเหลืองที่ปลูกทดลองอยู่ในช่วงออกดอกพร้อมกัน (24 กันยายน 2543)

กลุ่มแมลงช่วยผสมเกสรกลุ่มที่ 1 หมายถึง แมลงช่วยผสมเกสรที่จับได้ในแปลงปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

กลุ่มแมลงช่วยผสมเกสรกลุ่มที่ 2 หมายถึง แมลงช่วยผสมเกสรที่จับได้ในแปลงปลูกถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.4

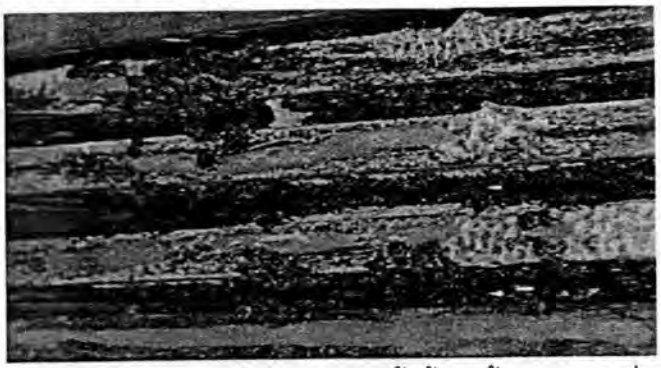
กลุ่มจุลชีพแต่ละกลุ่มมาจากเชื้อจุลชีพในลำไส้แมลงแต่ละตัวที่ตรวจ

การเลี้ยงเชื้อจุลชีพจากชิ้นส่วนลำไส้แมลงในอาหารเหลว LB แต่ละหลอดมาจากลำไส้ของแมลงแต่ละตัว

* ชิ้นส่วนลำไส้ของแมลงฯบางตัวอย่างเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว LB ไม่ปรากฏมีเชื้อจุลชีพเกิดขึ้น

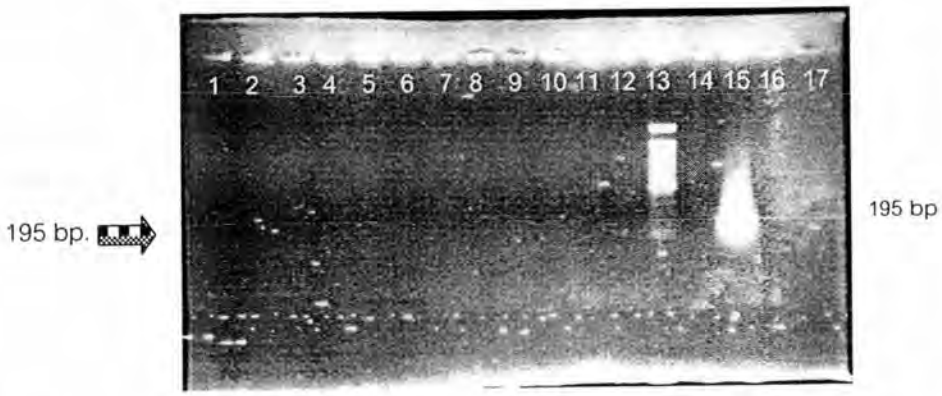
**ผลต่อผึ้งที่บริโภคถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ในสภาพทดลอง**

สำหรับการทดลองนำแป้งถั่วเหลืองจำลองพันธุ์มาผสมน้ำผึ้งเลี้ยงผึ้งโพรง ดังภาพที่ 39 ภายใต้สภาพแวดล้อม หน้าตึกชีววิทยา 1 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ดังภาพที่ 40 ทำการทดลองในระหว่างวันที่ 23 ส.ค.43 –29 ธ.ค. 43 ผลการศึกษาเป็นดังตารางที่ 19



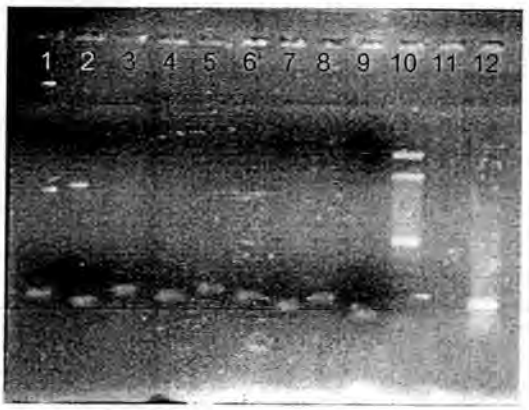
ภาพที่ 39 แสดงการให้อาหารแป้งถั่วเหลืองผสมน้ำผึ้งแก่ผึ้งโพรงไทย ที่ใช้ในการศึกษา

ภาพที่ 40 แสดงบริเวณสถานที่เลี้ยงผึ้งโพรงที่ใช้ในการศึกษา




ภาพที่ 41 แสดงตัวอย่างผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากจุลชีพในลำไส้ผึ้งโพรงกลุ่มที่1 และกลุ่มที่ 2 ที่ทดลองให้อาหารแป้งถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ เทียบกับกลุ่มแป้งถั่วเหลืองธรรมดา (Negative ทุกตัวอย่าง)

รายละเอียดของแต่ละช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ ตัวแทนจุลชีพลำไส้ผึ้งกลุ่ม1 ก่อนทำการทดลอง, ตัวแทนจุลชีพลำไส้ผึ้งกลุ่ม2 ก่อนทำการทดลอง, ตัวแทนจุลชีพลำไส้ผึ้งกลุ่ม2 หลังจากให้อาหาร 2เดือน,3เดือน,4เดือนตามลำดับ ,ช่องที่ 5ถึง11 คือผึ้งตัวอย่างกลุ่ม1 หมายเลข1-6 ระยะ2เดือน ช่องที่12คือผึ้งตัวอย่างกลุ่ม1 ระยะ2เดือน ชุดที่ใส่คานามัยซิน, ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp และตัวหนอนของผึ้งกลุ่มที่1 จำนวน 2 ตัวอย่างตามลำดับ




ภาพที่ 42 แสดงตัวอย่างผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากจุลชีพในลำไส้ผึ้งโพรงกลุ่มที่1 ที่ทดลองให้อาหารแป้งถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ 3 เดือน เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาดังนี้ จุลชีพลำไส้ผึ้งจำนวน 9 ตัวอย่าง, ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp ตามลำดับ ( ตัวอย่างในช่องที่ 2 และ7 ให้ผลPositive)

ภาพที่ 43 แสดงตัวอย่างผลการตรวจแถบดีเอนเอภายในบริเวณ 35S โปรโมเตอร์ จากจุลชีพในลำไส้ผึ้งโพรงกลุ่มที่1 ที่ทดลองให้อาหารแป้งถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ (5 และ 9 positive)

รายละเอียดของช่องเจลเรียงลำดับจากซ้ายไปขวาดังนี้ จุลชีพลำไส้ผึ้งหลังจากให้อาหาร,4 เดือน9 ตัวอย่าง, ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp,

ตัวหนอนของผึ้งจำนวน 2 ตัวอย่าง , ดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder และผลผลิตถั่วเหลืองสจ.5 จำนวน 2 ตัวอย่าง ตามลำดับ ( ช่องที่ 5 positive )

ตารางที่ 19 แสดงผลการไหลออกของยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไปสู่จุลชีพในลำไส้ผึ้งโพรง

| กลุ่มผึ้งโพรง | ระยะเวลาที่ทำการทดลองให้อาหาร ( เดือน ) | จำนวนผึ้งตัวอย่างที่สุ่มออกมาทำการศึกษา ( ตัว ) | จำนวนเชื้อจุลชีพที่ได้จากลำไส้ผึ้งตัวอย่าง ( หลอด ) | จำนวนกลุ่มจุลชีพที่ได้จากลำไส้ผึ้งตัวอย่างที่ปรากฏชิ้นส่วนสารพันธุกรรมของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ | จำนวนกลุ่มจุลชีพที่ได้จากลำไส้ผึ้งตัวอย่างที่ไม่ปรากฏชิ้นส่วนสารพันธุกรรมของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ |
|---|---|---|---|---|---|
| กลุ่มที่ 1 | 0 ก่อนให้อาหาร | 5 | 5 | 0 | 5 |
| | 2 | 7 | 7 | 1 | 6 |
| | 2**/* | 9 | 8 | 3 | 5 |
| | 3 | 9 | 9 | 2 | 7 |
| | 4 | 9 | 9 | 2 | 7 |
| รวม | 0-4 | 39 | 38 | 8 | 30 |
| กลุ่มที่ 2 | 0 ก่อนให้อาหาร | 5 | 5 | 0 | 5 |
| | 2 | 7 | 7 | 0 | 7 |
| | 2**/* | 5 | 0 | 0 | 0 |
| | 3 | 5 | 5 | 0 | 5 |
| | 4 | 5 | 5 | 0 | 5 |
| รวม | 0-4 | 27 | 22 | 0 | 22 |

หมายเหตุ : ผึ้งโพรงที่ใช้ในการทดลองทั้ง 2 รัง มีผึ้งราชินีที่มาจากรุ่นเดียวกันและแม่เดียวกัน

ผึ้งโพรงทั้ง 2 กลุ่มเลี้ยงแยกคนละรัง และสามารถออกหาอาหารจากภายนอกรังเลี้ยงได้

ผึ้งโพรงกลุ่มที่ 1 หมายถึง ผึ้งโพรงกลุ่มที่ให้แป้งบดจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ผสมกับน้ำผึ้งบริสุทธิ์

ผึ้งโพรงกลุ่มที่ 2 หมายถึง ผึ้งโพรงกลุ่มที่ให้แป้งบดจากถั่วเหลืองที่ไม่ใช่พืชจำลองพันธุ์ผสมน้ำผึ้ง

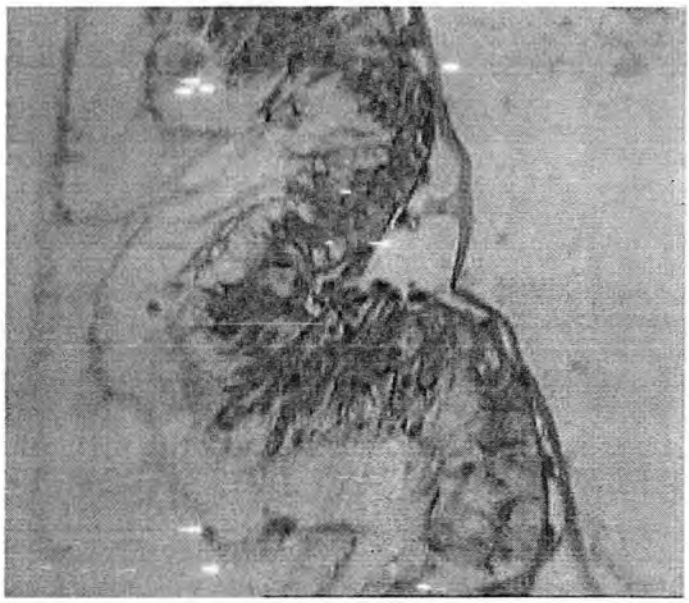
น้ำผึ้งที่ใช้ผสมอาหารสำหรับเลี้ยงผึ้งไม่มีส่วนผสมของพืชจำลองพันธุ์

กลุ่มจุลชีพแต่ละกลุ่มมาจากเชื้อจุลชีพในลำไส้ของผึ้งแต่ละตัวที่สุ่มจับมาตรวจ

การเลี้ยงเชื้อจุลชีพจากชิ้นส่วนลำไส้ของผึ้งโพรงในอาหารเหลว LB แต่หลอดมาจากลำไส้ของผึ้งแต่ละตัว

* ชิ้นส่วนลำไส้ของผึ้งโพรงบางตัวอย่างเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว LB ไม่ปรากฏมีเชื้อจุลชีพเกิดขึ้น

** เป็นชุดการทดลองที่เลี้ยงเชื้อจุลชีพจากชิ้นส่วนลำไส้ของผึ้งโพรงในอาหารเหลว LB ที่มีคานามัยซิน 20 ppm



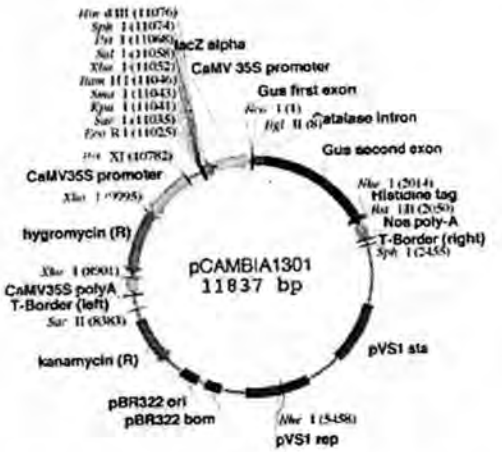
ก. ผึ้งชุดบริโภคถั่วเหลือง
จำลองพันธุ์

ข. ผึ้งชุดควบคุม

ภาพที่ 44 แสดงลักษณะเซลล์ลำไส้ผึ้ง (กำลังขยาย 400x) กลุ่มที่เลี้ยงด้วยแป้งถั่วเหลืองจำลองพันธุ์
เทียบกับกลุ่มที่เลี้ยงด้วยแป้งถั่วเหลืองธรรมดา

**การคงสภาพอยู่ของ DNA ในดินตัวอย่าง จำนวน 5 ชุดดิน**

จากการรดดินตัวอย่างทั้ง 5 ชุดดินของประเทศไทย ด้วยพลาสมิดดีเอ็นเอ Pcambia1301 (ภาพที่ 45 ) ที่สกัดจากเชื้อแบคทีเรีย (*Agrobacterium tumefaciences*)แล้ว ตรวจสอบความคงตัวของพลาสมิดดังกล่าวในชุดดินตัวอย่างทั้ง 5 ชุดของประเทศไทยทำการตรวจสอบทุก 7 วัน เป็นระยะเวลาทั้งสิ้น 140 วัน ได้ระยะเวลาที่ด้วยพลาสมิดดีเอ็นเอ Pcambia1301 สามารถคงเสถียรภาพอยู่ในดินตัวอย่างแต่ละชุดดินดังค่าในตารางที่ 23




ภาพที่ 45 แสดง พลาสมิดดีเอ็นเอที่ใช้ในขั้นตอนการตรวจสอบการคงสภาพอยู่ของดีเอ็นเอ ในดินทั้ง 5 ชุดดิน

ภาพที่ 46 แสดงลักษณะของชุดดินที่ใช้ในการศึกษา 1.ชุดดินกำแพงแสน 2. ชุดดินทรายมาบบอน 3. ชุดดินรังสิต 4.ชุดดินวาริน และ 5. ชุดดินชัยบาดาน เรียงลำดับจากขวาไปซ้าย

ภาพที่ 47 แสดงตัวอย่างผลการคงสภาพอยู่ของพลาสมิดดีเอ็นเอ ในดินทั้ง 5 ชุดดิน รายละเอียดของแต่ละช่องเจล เรียงลำดับจากซ้ายไปขวาเป็นดังนี้ ดินกำแพงแสน ดินทรายมาบบอน ดินรังสิต ดินวาริน และ ดินชัยบาดาน 5 ช่องแรกที่ระยะ112 ช่องที่ 6-10 ที่ระยะ 140 วัน เรียงลำดับ ดินดีเอนเอมาตรฐาน 100 bp ladder, negative control, positive control 195 bp (ช่อง2,4,6,8 และ9 ให้ผลPOSITIVE )

ผลการตรวจสอบพบว่าความมีชีวิตอยู่ของ plasmid pCAMBIA ในดิน พบว่าภายใต้สภาพแวดล้อมของกรุงเทพฯ plasmid pCAMBIA จากเชื้อแบคทีเรีย (*Agrobacterium tumefaciences*) มีความเสถียรอยู่ในชุดดินตัวอย่างของประเทศไทยทั้ง 5 ชุด ได้แก่ ชุดดินกำแพงแสน ชุดดินทรายมาบบอน ชุดดินรังสิต ชุดดินวาริน และชุดดินชัยบาดาน มีความแตกต่างกันดังตารางที่ 20

ตารางที่ 20 แสดงความมีชีวิตของพลาสมิดดีเอ็นเอ pCAMBIA 1301 จากเชื้อแบคทีเรีย (*Agrobacterium tumefaciences* ) ในชุดดินทั้ง 5 ชุด ภายใต้สภาพแวดล้อมของ กทม. ทำการศึกษาตั้งแต่วันที่ 4 มี.ค.43 จนครบ 140 วัน

| ชื่อชุดดิน | ลักษณะเนื้อดิน | จำนวนวันสิ้นสุดการตรวจพบชิ้นส่วนดีเอ็นเอในดินในแต่ละชุด/ซ้ำ | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | ชุดควบคุม* | ชุดที่1 | ชุดที่2 | ชุดที่3 |
| กำแพงแสน | ร่วนซุยสีน้ำตาลเข้ม | 0 | 140 | 140 | 140 |
| ทรายมาบบอน | เป็นทรายละเอียด สีขาว | 0 | 84 | 91 | 91 |
| รังสิต | สีน้ำตาลอ่อน เนื้อดินหยาบ | 0 | 112 | 112 | 140 |
| วาริน | สีน้ำตาลปนแดง เนื้อละเอียด | 0 | 140 | 140 | 140 |
| ชัยบาดาล | สีน้ำตาล เนื้อดินหยาบ | 0 | 84 | 84 | 91 |

ผลการตรวจสอบพบว่าการคงสภาพอยู่ของ plasmid pCAMBIA ในดิน ทั้ง 5 ชุดที่ศึกษาภายใต้สภาพแวดล้อมของกรุงเทพฯ plasmid pCAMBIA จากเชื้อแบคทีเรีย (*Agrobacterium*

*tumefaciences*) มีความเสถียรอยู่ในชุดดินตัวอย่างของประเทศไทยทั้ง 5 ชุด ได้แก่ ชุดดินกำแพงแสน ชุดดินทรายมาบบอน ชุดดินรังสิต ชุดดินวาริน และชุดดินชัยบาดาน ได้ไม่น้อยกว่า 84 วัน

## วิเคราะห์ผล

### การนำเทคนิคการตรวจสอบพืชจำลองพันธุ์มาประยุกต์ใช้โดยการปรับสารเคมีให้อยู่ในรูปชุดตรวจสอบอย่างง่าย

การตรวจสอบชนิดของพืชจำลองพันธุ์ที่ได้รับอนุญาตให้มีการผลิตเป็นการค้าและหมุนเวียนในท้องตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ และโครงสร้างของยีนที่เกี่ยวข้อง พบว่าพืชจำลองพันธุ์ส่วนใหญ่มีโครงสร้างของส่วนควบคุมการทำงานเป็น 35S promotor โดยเฉพาะในถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ การตรวจสอบชิ้นส่วนดีเอ็นเอ ณ บริเวณ 35S promotor ซึ่งพบในทุกผลิตภัณฑ์ของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่หมุนเวียนในตลาด สามารถบ่งบอกสถานะของตัวอย่างแต่ละตัวอย่างได้ว่า มีส่วนเกี่ยวข้องกับพืชจำลองพันธุ์หรือไม่ เมื่อทำการตรวจสอบระบบนิเวศในระบบการผลิตถั่วเหลืองพบว่า ในธรรมชาติส่วนของดีเอ็นเอบริเวณ 35S promotor จะปรากฏเฉพาะในไวรัสกลุ่ม caulimo virus เท่านั้น ซึ่งไวรัสชนิดนี้มีพืชเจ้าบ้าน (host plant) จำกัดในกลุ่มพืชผักสกุลกะหล่ำ บางส่วนของพืชสกุลแตง พืชจำพวกกล้วย สับปะรด และอ้อย ขณะที่ถั่วเหลืองจัดเป็น non-host (Schoelz, J.E. และ Bourque, J.E., 1999) และจะไม่พบในส่วนของ 35S promotor ในวัชพืชต่างสกุล ในแบคทีเรียหรือในแมลงธรรมชาติยกเว้นแมลงปากดูดจำพวกเพลี้ยที่อาศัยอยู่กับพืชที่สามารถติดเชื้อด้วยไวรัสชนิดดังกล่าว คู่ primer ที่รายงานในเทคนิคการปลูกดีเอ็นเอที่ได้จากพืชและอาหารดัดแปลงพันธุกรรม ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์, 2543 อาศัยความจำเพาะของ primer กับชิ้นดีเอ็นเอบริเวณ 35S promotor ซึ่งเดิมมีความเหมาะสมกับการตรวจเฉพาะเหตุการณ์ (event: แต่ละ line ของพืชจำลองพันธุ์ที่พัฒนาขึ้นจากการคัดเลือกและประเมินผล line ต่าง ๆ ที่ได้จากการถ่ายทอดยีนด้วยโครงสร้างเฉพาะในแต่ละครั้ง) ที่มีความเฉพาะกับถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ผลิตโดยบริษัทในต่างประเทศ จากการตรวจสอบความเหมือนของลำดับนิวคลิโอไทด์ พบว่าคู่ไพรเมอร์ที่เลือกใช้เปรียบเทียบกับข้อมูลลำดับนิวคลิโอไทด์ ณ บริเวณ promotor ชนิดเดียวกันที่ได้จากไวรัสต่างสายพันธุ์ พบว่าคู่ไพรเมอร์จะจับตัวกับดีเอ็นเอแม่แบบในช่วงที่ครอบคลุมบริเวณหลักของ 35S promotor รวมทั้งส่วนของแกนโปรโมเตอร์ ในบริเวณนี้ ส่วนของดีเอ็นเอมีความเหมือนกันสูงและอยู่ห่างจากบริเวณที่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งในรูปของ transition และ transversion อีกด้วย

จากการประเมินผลเบื้องต้น สรุปได้ว่า สามารถนำเทคนิคการตรวจสอบพืชจำลองพันธุ์ในอาหารมาประยุกต์ใช้โดยการปรับสารเคมีให้อยู่ในรูปชุดตรวจสอบอย่างง่ายเพื่อทดสอบสถานะ

และติดตามการถ่ายทอดยีนจากพืชจำลองพันธุ์ไปสู่สิ่งมีชีวิตอื่นในระบบ เมื่อใช้ถั่วเหลืองเป็นพืชศึกษาได้

**การศึกษาเปอร์เซ็นต์การงอกของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ตรวจพบในท้องตลาด**

ในสภาพท้องตลาดซึ่งมักจะแบ่งถั่วเหลืองเป็นถุงขนาดเล็กและจะเก็บถั่วเหลืองในสภาพเปิด ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ทำให้เมล็ดเสื่อมความงอกอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ดี ข้อสังเกตประการหนึ่งคือ ในขั้นตอนการนำเข้าถั่วเหลืองจากสหรัฐอเมริกา ต้องผ่านขั้นตอนการเก็บรวบรวมเมล็ด การขนส่งสู่ท่าเรือ การตรวจลงตรา การขนส่งไปสู่ประเทศคู่ค้า การตรวจลงตรา และการขนส่ง ขั้นตอนเหล่านี้จะใช้เวลาไม่น้อยกว่า 3 เดือน แต่จากการสุ่มตรวจถั่วเหลืองในท้องตลาดแสดงให้เห็นว่าถั่วเหลืองนำเข้ายังคงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่สูงมาก เปอร์เซ็นต์การงอกในบางตัวอย่างจากตัวอย่างที่นำมาศึกษา แสดงให้เห็นว่าถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่นำมาสำหรับเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมน้ำมันน่าจะเกิดการลักลอบนำมาใช้ผิดวัตถุประสงค์ และถั่วเหลืองดังกล่าวยังคงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกอยู่เพียงพอที่จะนำไปทำเมล็ดพันธุ์สำหรับปลูก แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่พบในพื้นที่ต่างๆจะอยู่ที่เท่าใดเนื่องจากตัวอย่างที่พบมีไม่มากพอที่จะนำมาเป็นตัวแทนประชากรของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่คาดว่าจะมาจากการคัดเกรดเมล็ดถั่วเหลืองที่นำเข้ามาสำหรับแปรรูป ทั้งนี้ถั่วเหลืองที่ประเทศไทยนำเข้ามีความเสี่ยงสูงที่จะเป็นถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ เนื่องจากนำเข้าจากประเทศสหรัฐอเมริกาที่เป็นแหล่งต้นกำเนิด และผลิตถั่วเหลืองจำลองพันธุ์เป็นหลัก การตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของถั่วเหลืองที่นำเข้ามาในแต่ละครั้งจึงมีความสำคัญ ถ้าถั่วเหลืองนำเข้ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงก่อนปล่อยออกจากท่าเรือควรดำเนินการอบทำลายความงอก จะได้ลดการแพร่กระจายไปสู่ตลาดเมล็ดพันธุ์ภายในประเทศ ซึ่งเป็นการลดโอกาสการส่งถ่ายยีนจากการนำเมล็ดถั่วเหลืองจากการนำเข้าไปใช้ในการเพาะปลูก จะได้ไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตเมล็ดถั่วเหลืองที่ผลิตในประเทศ

การตรวจสอบพบว่าเมล็ดดังกล่าวมีความงอกในอัตราแปรผันระหว่าง 20-70 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับสภาพในการเก็บเมล็ดถั่วเหลืองและเมื่อตรวจสอบพบว่า เมล็ดถั่วเหลืองดังกล่าวปะปนด้วยถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ทำให้ระบุได้ว่าเป็นหรือมีการปะปนของถั่วเหลืองนำเข้าและสรุปต่อได้ว่า มีเมล็ดถั่วเหลืองนำเข้าที่ได้รับอนุญาตให้นำเข้าเพื่อผลิตในอุตสาหกรรมน้ำมันและอาหารสัตว์เล็ดลอดเข้าสู่วงจรอาหารที่อยู่นอกเหนือจากขอบเขตการอนุญาตให้นำเข้าเดิม

ผลการทดลองเหล่านี้ ชี้ให้เห็นโอกาสที่เมล็ดถั่วเหลืองจะเล็ดลอดเข้าสู่ระบบการผลิตถั่วเหลืองของเกษตรกรภายในประเทศได้ ทั้งนี้เนื่องจากเมล็ดที่หมุนเวียนในท้องตลาดมีคุณภาพที่ดี เมล็ดขนาดใหญ่ สะอาด และมีอัตราการงอกในบางกรณีเพียงพอที่จะนำมาใช้ปะปนกับพันธุ์ถั่วเหลืองได้

ผลการทดสอบเมล็ดที่ปะปนด้วยพืชจำลองพันธุ์พบว่า เมล็ดเหล่านั้นมีอัตราการงอกสูง ดังนั้นถ้าเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ยังคงหมุนเวียนอยู่ในระบบการผลิตจะทำให้อัตราการปนพันธุ์ขยายตัวมากขึ้นจนยากที่จะควบคุมดูแลได้

**การศึกษาการปนเปื้อนพันธุ์ของถั่วเหลืองในแปลงปลูก**

การนำเอาโมเดลการปนพันธุ์โดยดูจากความแตกต่างของสีดอกในธรรมชาติมาใช้ศึกษาการปนพันธุ์ในแปลงปลูกของเกษตรกรในธรรมชาติช่วยทำนายอัตราการปนพันธุ์ที่เกิดขึ้นในแปลงเกษตรกรได้ จากการศึกษาพบว่า ในสภาพธรรมชาติโอกาสที่เมล็ดจะเกิดการปนพันธุ์ได้จากการเลือกใช้เมล็ดปนพันธุ์จากแหล่งที่ไม่มีมาตรฐาน การปนพันธุ์เกิดขึ้นเนื่องจากการถ่ายละอองเรณูจากพันธุ์อื่นที่ปลูกข้างเคียงได้ ดังนั้นถ้าแปลงปลูกจริงมีการปนพันธุ์ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ โอกาสที่การปนพันธุ์จะขยายตัวให้อัตราที่สูงขึ้นมีอยู่สูง การระมัดระวังดูแลไม่ให้เกิดการปนพันธุ์ในลักษณะดังกล่าวจึงเป็นสิ่งที่ทำได้ยาก สีดอกที่ต่างกันคือ ขาว กับม่วง เพื่อบ่งบอกสภาพการของเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตในประเทศว่ามีการปนพันธุ์เป็นอย่างไร ค่าที่ได้เป็นค่าต่ำสุดของแปลงศึกษาเท่านั้น มิใช่เป็นการทดสอบการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ การศึกษาข้อมูลต่าง ๆ จากแปลงทดสอบจริงเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงในระดับประชากรของถั่วเหลืองที่มีการปะปนด้วยถั่วเหลืองจำลองพันธุ์นั้น เมื่อปลูกในลักษณะเดียวกับเกษตรกรเป็นสิ่งจำเป็น ทั้งนี้เพื่อใช้ทำนายโอกาสและนำข้อมูลเหล่านั้นมาแก้ไขไม่ให้ปัญหาการปนพันธุ์ไม่พึงประสงค์ขยายตัว ทั้งนี้จะต้องประเมินร่วมกับผลผลิตที่สุ่มเก็บมาจากพื้นที่ต่างๆอีกครั้ง นอกจากนี้การตรวจสอบควรเปลี่ยนไปใช้เทคนิคในเชิงปริมาณจึงจะแสดงให้เห็นภาพที่ชัดเจน การศึกษาขั้นต้นแสดงให้เห็นว่าเมล็ดพันธุ์ที่มาจากหน่วยราชการยังคงมีการปนพันธ์จากถั่วต่างสายพันธุ์ เนื่องจากเราไม่สามารถตรวจสอบความแตกต่างของถั่วเหลืองปกติกับถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ได้ด้วยตาเปล่า หากเมล็ดที่ปลูกในแปลงเดียวกันมีการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์แล้วโอกาศผสมข้าม และเกิดการสะสมของยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์เพิ่มขึ้นเป็นลำดับ และจะขยายตัวขึ้นถ้าเมล็ดดังกล่าวถูกนำไปใช้ในการทำเมล็ดพันธุ์ให้เกษตรกรใช้ในการปลูกฤดูกาลถัดไป นอกจากนี้การเกิดลูกผสมที่เกิดขึ้นมีลักษณะเด่นและผู้ปลูกไม่ทราบว่าเป็นลูกผสมของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ จนนำไปสู่การคัดเลือกนำมาผลิตเป็นพันธุ์ใหม่ในมือเกษตรกรโดยไม่เจตนา และเกษตรกรสามารถส่งผ่านเมล็ดพันธุ์ไปถึงเพื่อนเกษตรกรรายอื่นอย่างรวดเร็วจะส่งผลกระทบอย่างรุนแรงต่อระบบการผลิตและกระทบถึงผลิตภัณฑ์แปรรูปอุตสาหกรรมถั่วเหลืองของไทยอีกครั้ง

การป้องกันการนำเมล็ดถั่วเหลืองที่นำเข้าเพื่อการผลิตน้ำมันไปใช้ผิดประเภทจึงมีความจำเป็นเร่งด่วน เพื่อการแก้ไขการทะลักเข้าของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์เข้าสู่แปลงผลิตถั่วเหลืองภายในประเทศ สินค้าที่แปรรูปจากวัตถุดิบภายในประเทศจะได้ไม่ถูกกีดกันทางการค้า

จากตารางที่ 5 และ 6 แสดงให้เห็นว่ามีการปนพันธุ์ของเมล็ดถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ในตลาดทั้งในรูปเมล็ดที่ใช้ในการบริโภคบริโภคและเมล็ดพันธุ์ที่เกษตรกรใช้อยู่ โดยจากการสำรวจครั้งนี้มีจำนวนตัวอย่างทั้งสิ้น 40 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนเมล็ดจำลองพันธุ์ 26 ตัวอย่าง และอีก 1 ตัวอย่าง เป็นเมล็ดพันธุ์ของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ และพบการปนพันธุ์ในเมล็ดพันธุ์จากหน่วยราชการ การปนพันธุ์น่าจะเกิดจาก

- การลักลอบนำถั่วเหลืองนำเข้าไปปะปนกันเมล็ดเพื่อขายในราคาที่สูงขึ้น
- การลักลอบปลูกเพื่อหวังผลผลิตโดยเกษตรกรเอง
- การลักลอบนำเข้ามาทดสอบซึ่งผู้ที่อยู่ในข่ายที่ทำได้ได้แก่ ภาคเอกชน และหรือองค์กรสังกัดรัฐบาล

นอกจากนี้การที่หน่วยงานราชการที่รับผิดชอบการผลิตเมล็ดพันธุ์ไม่ได้ควบคุมดูแลการผลิตเมล็ดพันธุ์ที่หน่วยงานว่าจ้างเกษตรกรให้ผลิตให้อย่างมีประสิทธิภาพ ก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ตรวจพบการปนพันธุ์ขึ้น จะเห็นได้จาก แปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ที่ อ.หนองไผ่ ซึ่งมีขนาด 6 ไร่ ซึ่งเกษตรกรรายหนึ่งทำการผลิตให้กรมวิชาการเกษตร (พันธุ์เชียงใหม่ 60) ปลูกในช่วงเวลาเดียวกันกับที่เกษตรกรรายอื่นที่อยู่รอบข้างปลูกถั่วเหลืองพันธุ์อื่น ๆ โดยแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์นี้ปลูกในบริเวณที่แปลงโดยรอบมีการปนเปื้อนของถั่วเหลืองพันธุ์ต่างๆประมาณ 5-10 % ซึ่งไม่สามารถมั่นใจได้ว่าจะปลอดจากการปนพันธุ์กับถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

แม้ว่าเกษตรกรจะมีแหล่งเมล็ดพันธุ์ที่มีมาตรฐานจากหน่วยงานของรัฐ แต่ปริมาณเมล็ดพันธุ์ที่หน่วยงานของรัฐสามารถตอบสนองให้ได้มีจำนวนจำกัด ทำให้ไม่เพียงพอ การขาดแคลนเมล็ดพันธุ์จากทางราชการทำให้เกษตรกรส่วนใหญ่ต้องซื้อเมล็ดจากพ่อค้าเมล็ดพันธุ์ เป็นเหตุให้พ่อค้าบางรายเอาถั่วเหลืองจากต่างประเทศที่มีราคาถูกกว่าและเมล็ดสวยกว่ามาผสมปนในพันธุ์ถั่วเหลืองหลักที่ขาย ซึ่งถั่วเหลืองนำเข้าเป็นที่ทราบว่าจะมีบางส่วนที่เป็นถั่ว จำลองพันธุ์ ซึ่งเมื่อการปลูกในแปลงเดียวกันซึ่งปลูกต้นชิดติดกัน โอกาสผสมข้ามต้นหรือข้ามพันธุ์ก็สามารถเกิดขึ้นได้และเมื่อเกษตรกรเก็บพันธุ์ไว้ใช้ต่อไปการปนพันธุ์จะค่อยๆ ทำให้เกิดการสะสมของปริมาณยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์เข้าสู่ถั่วเหลืองพื้นเมืองได้ และจากแปลงทั่วไปก็สามารถข้ามไปสู่แปลงเมล็ดพันธุ์ของทางราชการที่อยู่ใกล้ชิด และปลูกในช่วงเวลาเดียวกันได้

จากผลการสำรวจที่พบว่ามีการแพร่กระจายของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์อยู่ในท้องถิ่นและถั่วเหลืองในมือเกษตรกร มีโอกาสปนเปื้อนด้วยถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ แหล่งผลิตทั้งสุโขทัยและเชียงใหม่ ต่างก็เป็นแหล่งที่มีการปลูกถั่วเหลืองในปริมาณมากของประเทศไทย การมีการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในพื้นที่ดังกล่าวทำให้ไม่สามารถรับประกันได้ว่าถั่วเหลืองของประเทศไทยปลอดจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ผลดังกล่าวอาจกระทบต่ออุตสาหกรรมที่ใช้เมล็ดถั่วเหลืองภายในประเทศเป็นวัตถุดิบ ดังนั้น การตรวจพบและทำลาย หรือแลกเปลี่ยนด้วยเมล็ดพันธุ์ปกติ

การเฝ้าระวัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการส่งผ่านเมล็ดพืชผ่านท้องที่หนึ่งไปยังอีกท้องที่หนึ่งจะช่วยลดระดับและอัตราการปนพันธุ์ลงได้

การปนพันธุ์ในธรรมชาติจะเกิดขึ้นด้วยอัตราไม่ต่ำกว่า 1-10 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากการนำพาโดยลม การผสมข้ามโดยแมลงช่วยผสมเกสร และการไม่รัดกุมในขณะทำการเขตกรรม ซึ่งรวมถึงการปะปนในเมล็ดพันธุ์ การใช้เครื่องแยกเมล็ดร่วมกัน การไม่แยกเก็บเมล็ดพันธุ์ออกจากกันขณะเก็บเกี่ยว ฯลฯ

ปกติเมล็ดถั่วเหลืองจำลองพันธุ์นำเข้าจะมีขนาดใหญ่กว่าเมล็ดพันธุ์ท้องถิ่นจึงสามารถใช้ขนาดเป็นตัวแยกเมล็ดทั้งสองชนิดออกจากกันได้ อย่างไรก็ดี จากการตรวจสอบเมล็ดที่มีการปนพันธุ์ด้วยถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ได้ พบว่ามีเมล็ดขนาดใกล้เคียงไม่สามารถแยกออกด้วยตาเปล่าได้ ดังนั้น มีความเป็นไปได้ที่เกิดการปนพันธุ์ในช่วงเริ่มต้นในวงจรการผลิตระยะแรก ๆ และมีการคัดเลือกโดยเจตนาหรือโดยบังเอิญ และนำมาผลิตในวงจรต่อเนื่องกันจนได้เมล็ดถั่วเหลืองที่ไม่ต่างกันดังกล่าว

เมื่อทำการสำรวจข้อมูลในแหล่งผลิตทำให้น่าเชื่อได้ว่าได้มีความพยายามในการลักลอบทดสอบหรือปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ขึ้นจริง ดังนั้น เพื่อเป็นการตรวจสอบยืนยัน จึงได้เก็บรวบรวมเมล็ดและเมล็ดพันธุ์ในมือของเกษตรกรจากแหล่งปลูกที่สำคัญ ๆ ขึ้น

**การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและผลผลิตถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ กับพันธุ์ สจ .5**

จากตารางที่ 7 แสดงให้เห็นว่าผลผลิตของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ และถั่วเหลืองพันธุ์สจ.5 ที่ปลูกในบริเวณ และช่วงเวลาเดียวกัน ในบริเวณพื้นที่ จ.เชียงใหม่ ช่วงเดือนสิงหาคม ถึง ตุลาคม 2543 ซึ่งเป็นฤดูฝน ช่วงวันสั้น ถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์มีการเจริญเติบโตในด้านความสูง และปริมาณผลผลิตที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยพบว่าถั่วเหลืองจำลองพันธุ์มีการเจริญเติบโต และให้ผลผลิตในปริมาณต่ำกว่าถั่วเหลืองพันธุ์สจ.5 อย่างมากสอดคล้องกับรายงานของสมศักดิ์ ศรีสมบุญ (2542) จากการศึกษาพบว่าบริเวณแปลงที่ทำการศึกษาไม่เคยปลูกถั่วเหลืองมาก่อน และเมื่อดูข้อมูลจากตารางที่ 8 จะพบว่าถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ปลูกในช่วงฤดูกาลที่ต่างกัน ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ปลูกในช่วงวันยาวจะให้ผลผลิตที่สูงกว่ามาก ทั้งนี้เนื่องจาก ถั่วเหลืองเป็นพืชวันสั้น ดังนั้นถ้าในฤดูกาลปลูกมีระยะเวลากลางวันสั้นจะกระตุ้นให้ถั่วเหลืองออกดอก สำหรับถั่วเหลืองพันธุ์สจ.5 เป็นถั่วที่พัฒนาในประเทศไทยช่วงวันดังกล่าวไม่เห็นผลมากนัก แต่ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ดังกล่าวซึ่งแหล่งกำเนิดอยู่ในประเทศสหรัฐอเมริกาซึ่งมีช่วงกลางวันยาวกว่าประเทศไทยมาก เมื่อนำมาปลูกในช่วงฤดูฝนของไทยจึงเจริญเติบโตไม่ได้เต็มที่ คือยังไม่ทันที่จะโตเต็มวัยก็ต้องออกดอก ทำให้ประสิทธิภาพในการเลี้ยงดูดอก และการติดฝักลดลงอย่างชัดเจน ผิดกับผลผลิตจากแปลงที่

ปลูกในช่วงปลายเดือน เม.ย.43 - ก.ค. 43 ฤดูกาลปลูกจึงมีความสำคัญมากต่อถั่วเหลืองจำลองพันธุ์

**ละอองเรณูของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์**

ทำให้ทราบได้ว่าละอองเรณูปลิวไปได้ด้วยลมในระยะไม่ต่ำกว่า 150 เมตร และมีอายุเฉลี่ยระหว่าง 6-8 ชั่วโมงทั้งนี้แล้วแต่สภาพแวดล้อมขณะทำการศึกษาด้วย ช่วงวันที่ทำการศึกษาเป็นช่วงฤดูฝนวันที่ทำการศึกษามีฝนตกตลอดเวลา อากาศเย็น ลมพัดตลอดเวลาและมีทิศทางไม่แน่นอน เนื่องจากเป็นหุบเขา อุณหภูมิสูงสุด 31 องศาเซลเซียส ต่ำสุด 24 องศาเซลเซียส และเนื่องจากพื้นที่ศึกษาอยู่ในเขตร้อน จะมีปริมาณแมลงที่ช่วยผสมเกสรมาก ทำให้การผสมข้ามโดยใช้แมลงเป็นตัวช่วย ก่อให้เกิดการถ่ายยีนในถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ได้มากขึ้นและระยะทางไกลขึ้น

## การทดลองเพื่อศึกษาโอกาสที่ยีนจะไหลเวียนของยีนจากพืชจำลองพันธุ์ออกสู่สิ่งแวดล้อมบางประการ

- **การไหลเวียนของยีนจากพืชจำลองพันธุ์ไปสู่วัชพืชในตระกูลเดียวกัน**

การถ่ายทอดยีนจากถั่วเหลืองดัดแปลงพันธุกรรมไปสู่วัชพืชที่มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมอาจทำให้เกิดปัญหาที่ไม่สามารถกำจัดได้โดยง่าย จากข้อมูลการสำรวจของ (Thavatchai and Maxwell,1994) ในฤดูกาลปลูกถั่วเหลืองในปี 1992-1993 แสดงให้เห็นว่าวัชพืชในบริเวณแปลงถั่วเหลืองหลักจาก 33 หมู่บ้านใน 7 จังหวัดของประเทศไทย จ.แม่ฮ่องสอน เชียงใหม่ ลำปาง สุโขทัย กำแพงเพชร อุตรดิตถ์ และเลย มีทั้งสิ้น 177 สปีร์ชีส์ แต่ทั้งนี้เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับข้อมูลชนิดพันธุ์ของถั่วเหลือง รวมทั้งวัชพืชในสกุลเดียวกับถั่วเหลือง และพืชป่าที่สามารถผสมข้ามกับถั่วเหลือง ในโลกเท่าที่สำรวจพบมี 2 ชนิดคือ *Glycine gracilis* และ *G. soja* (Herrman,1962) กระจายตัวอยู่ในแถบเอเชีย ออสเตรเลีย และพื้นที่ใกล้เคียง แต่จากการศึกษาเอกสารเกี่ยวกับวัชพืชในประเทศไทยพบว่าวัชพืชที่พบในแปลงถั่วเหลืองของประเทศไทยไม่มีชนิดใดที่มีความใกล้ชิดจนสามารถผสมข้ามกับถั่วเหลืองได้ ยกเว้นกรณีที่เกิดการผสมในระหว่างสายพันธุ์ของถั่วเหลืองเอง ดังนั้นถ้ามีการรับยีนจากพืชจำลองพันธุ์โดยการผสมข้ามแล้ว ตัวถั่วเหลืองดังกล่าวก็จะเป็นวัชพืชในช่วงฤดูการเพาะปลูกพืชชนิดอื่นและยังทำให้มีการปนเปื้อนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในพื้นที่ที่อยู่ในระยะที่ละอองเรณูถั่วเหลืองสามารถแพร่ไปถึงและยังคงสภาพความพร้อมในการผสมพันธุ์

จากภาพที่ 24 แสดงให้เห็นว่าไม่พบการถ่ายทอดยีนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์แต่อย่างไร จากตัวอย่างผลผลิตถั่วลิสงทั้ง 7 ตัวอย่างที่พบในบริเวณแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในการศึกษา เนื่องจากพืชทั้ง 2 ชนิดเป็นพืชต่างชนิด (Species) แม้ว่าจะอยู่ในสกุลเดียวกันก็ตาม จึงไม่สามารถผสมข้ามกันได้ แต่ทั้งนี้ไม่ใช่ว่าโอกาสการเกิดวัชพืชที่มีลักษณะเช่นเดียวกับถั่วเหลือง

จำลองพันธุ์ จะไม่มีในอนาคตถ้าในพื้นที่ดังกล่าวปลูกถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ชนิดเดียวกันต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน

ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา ถ้าเกิดกรณีการปนพันธุ์ถั่วเหลืองดังกล่าวกับพันธุ์ถั่วเหลืองในท้องถิ่น หรือเกิดการผสมข้ามกับแปลงถั่วเหลืองของไทยที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงจะมีโอกาสที่จะเพิ่มปริมาณยีนของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ได้มากกว่าปกติ เกิดเป็นถั่วเหลืองพันธุ์ไทยที่มียีนต้านทานสารกำจัดวัชพืช Glyphosate ประเทศไทยซึ่งอยู่ในเขตร้อน จะมีปริมาณแมลงที่ช่วยผสมเกสรมาก การผสมข้ามโดยใช้แมลงเป็นตัวช่วย ก่อให้เกิดการถ่ายยีนในถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ได้มากขึ้น นอกจากนี้พืชจำลองพันธุ์ยังอาจก่อให้เกิด การปรับตัวด้วยการเลียนแบบของวัชพืช ซึ่งทำให้วัชพืชปรับตัวให้มีลักษณะคล้ายกับพืชปลูกของมนุษย์ ในอดีตการเกิดวิวัฒนาการที่คู่ขนานกัน (Paralleled evolutionary enhances) ของพืช มีตัวอย่างจากการเกิดการวิวัฒนาการคู่ขนานของต้น Camelina กับต้น linum ซึ่งแต่เดิม Camelina Sativa ซึ่งอยู่ในตระกูล Brasicacae พืชนี้เป็นวัชพืชในไร่ต้นลินิน *Linum usitatissimum* อยู่ในตระกูล linaceae แต่ต่อมาได้ปรับตัวจนมีลักษณะคล้ายกันมากเกือบทุกอย่าง (เดือนใจ โก้สกุล 2533) วัชพืชในแปลงปลูกพืชจำลองพันธุ์จึงมีโอกาสเกิดการปรับตัวดังกล่าวได้เช่นกัน ในบางครั้งอาจปรับตัวเฉพาะด้านให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมที่มนุษย์สร้างขึ้นให้เหมาะสมกับพืชจำลองพันธุ์นั้นๆ ซึ่งจะก่อให้เกิดปัญหาวัชพืชที่ทนทานยากต่อการกำจัด และนอกจากนี้เมล็ดถั่วเหลืองต่างสายพันธุ์ที่อยู่ในแปลงใกล้เคียงหากได้รับยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์จากการผสมข้ามสายพันธุ์ และหากเมล็ดดังกล่าวตกค้างอยู่ในแปลงก็จะมีความสามารถในการเป็นวัชพืชในช่วงเวลาที่เกษตรกรใช้พื้นที่ดังกล่าวปลูกพืชชนิดอื่น ทำให้เกษตรกรไม่สามารถใช้ยากำจัดวัชพืชเพื่อทำลายถั่วเหลืองสายพันธุ์เดิมที่ได้รับยีนต้านทานจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ได้อีกต่อไป

สอดคล้องกับรายงานของ Zemetra, 1999 ที่รายงานถึงการถ่ายทอดยีนจากข้าวสาลีจำลองพันธุ์ไปยัง Jointed goat grass (*Aegilops cylindrica*) และทำให้ลูกผสมที่ได้มีความสามารถในการสืบพันธุ์จาก 2 เปอร์เซ็นต์เป็น 37 เปอร์เซ็นต์ หลังจากการผสมกลับเพียง 2 ครั้ง

- **การไหลเวียนของยีนจากพืชจำลองพันธุ์ ไปสู่จุลชีพในดิน**

พืชตระกูลถั่วเป็นพืชที่มีลักษณะพิเศษแตกต่างไปจากพืชชนิดอื่น คือจะมีปมที่บริเวณรากซึ่งเกิดจากเชื้อไรโซเบียม ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะเป็นแท่งยาว(rod-shaped) ไม่สร้างสปอร์ เคลื่อนไหวได้ด้วยตัวเอง ต้องการอากาศในการเจริญเติบโตและ สร้างกิจกรรมการตรึงไนโตรเจน จุลชีพนี้ที่มีบทบาทสำคัญต่อการเกษตรในภูมิภาคเขตร้อน ช่วยตรึงไนโตรเจนทางชีวภาพ สามารถเพิ่มหรือทดแทนไนโตรเจนให้กับดินโดยไม่ทำให้สภาพแวดล้อมเสื่อมโทรม และยังเป็นการลงทุนที่ต่ำ เมื่อไรโซเบียมเข้าสร้างปมที่บริเวณรากของพืชตระกูลถั่วจะมีคุณสมบัติพิเศษ

ในการตรึงก๊าซไนโตรเจน ($N_2$) ที่มีอยู่มากในอากาศ ซึ่งพืชไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ มาผ่านขบวนการเปลี่ยนก๊าซไนโตรเจนให้เป็นสารประกอบไนโตรเจนที่พืชตระกูลถั่วสามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตได้ ทั้งนี้ไรโซเบียมและพืชตระกูลถั่ว จำเป็นต้องมีความสัมพันธ์และมีการทำงานร่วมกันอย่างเหมาะสม โดยแต่ละฝ่ายจะอยู่กันแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (Symbiosis) ปัจจุบันได้มีการจำแนกชนิดของไรโซเบียมออกเป็น 2 จำพวกใหญ่ คือ พวกเจริญเติบโตเร็ว (Fast growers) ไรโซเบียมจำพวกนี้จะมีระยะเวลาในการแบ่งตัวเองจาก 1 เซลล์เป็น 2 เซลล์ (แบบ Binary fission) นานประมาณ 3-4 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในอาหารวุ้นจะเริ่มเห็นโคโลนีในระยะเวลาประมาณ 3-5 วัน ซึ่งแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มใหญ่ คือ

1. *Rhizobium meliloti* ได้แก่ ถั่วพวก อัลฟัลฟ่า (Medicago melitotus และ Trigonella)
2. *Rhizobium leguminosarum*

   *Biovar trifolii* ได้แก่ ถั่วพวก โคลเวอร์ (Trifolium)

   *Biovar phaseoli* ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วไลมา ถั่วปนิโต ถั่วแขก (Phaseolus)

   *Biovar viceae* ได้แก่ ถั่วลันเตา ถั่วปากอ้า ถั่วเลนส์ และถั่วหอม
3. *Rhizobium loti* ได้แก่ ถั่วพวก Lupinus บางชนิด, *Lotus anthyllis*, Ornithopus
4. *Rhizobium fredii* ได้แก่ ถั่วเหลืองบางพันธุ์ของต่างประเทศ

พวกเจริญเติบโตช้า (Slow growers) ไรโซเบียมจำพวกนี้มีระยะเวลาในการแบ่งตัวเองนานประมาณ 6-8 ชั่วโมง เมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารวุ้น จะเริ่มเห็นโคโลนีในระยะเวลาประมาณ 6-8 วัน เรียกไรโซเบียมในกลุ่มนี้ว่า "Bradyrhizobium"จำแนกออกได้ 2 กลุ่มใหญ่คือ

1. *Bradyrhizobium japonicum* ได้แก่ ถั่วเหลือง
2. *Bradyrhizobium* spp.จะจำแนกย่อยเป็น

   2.1 Vagna ได้แก่ ถั่วลิสง ถั่วเขียว ถั่วฝักยาว เป็นต้น

   2.2 Lupinus ได้แก่ Lupinus บางชนิด, *Lotus pedunculatus*

ได้มีการประเมินการตรึงไนโตรเจนของพืชตระกูลถั่วชนิดต่างๆ (FAO1984) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าว่าปริมาณของไนโตรเจนที่ไรโซเบียมตรึงได้นั้นจะเพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตของพืชตระกูลถั่วชนิดนั้นๆ โดยไม่จำเป็นที่จะต้องให้ปุ๋ยเคมีไนโตรเจนและถ้าหากสภาวะแวดล้อมต่างๆ เหมาะสม มีไรโซเบียมที่มีประสิทธิภาพสูงในการตรึงไนโตรเจนแล้ว นอกจากจะช่วยให้การเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วนั้นจะสูงด้วยแล้ว เมื่อทำการไถกลบพืชตระกูลถั่วนั้นๆ ลงสู่ดิน โดยเฉพาะพืชตระกูลถั่วที่ใช้เป็นปุ๋ยพืชสดก็จะย่อยสลายและปลดปล่อยไนโตรเจนสู่ดินเป็นประโยชน์ต่อพืชที่ปลูกตามต่อไป

เนื่องจากไรโซเบียมมีอยู่หลายชนิดแต่ละชนิดก็มีหลายสายพันธุ์ ไรโซเบียมแต่ละสายพันธุ์จะมีความเหมาะสมในการเข้าสร้างปมและตรึงไนโตรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพกับถั่วบางพันธุ์และบางชนิดเท่านั้น ดังนั้นในการที่ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ซึ่งมาจากประเทศอเมริกา และไม่เคยปลูกในพื้นที่ที่ทำการศึกษามาก่อนจะเจริญเติบโต และให้ผลผลิตได้นั้นจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องปรับตัวให้เข้ากับ สายพันธุ์ไรโซเบียมที่มีอยู่ในบริเวณพื้นที่ที่ทำการศึกษา ซึ่งอาจจะไม่มีความเหมาะสมกับชนิดของถั่วเหลืองนั้นๆก็เป็นได้ ดังจะเห็นได้จากการเกิดปมรากของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์มีปริมาณต่ำมากไม่ถึง 30 ปมในทั้ง 30 ต้นที่สุ่มมาตรวจ

ผลการตรวจวิเคราะห์ ด้วยการ Run gel electrophoresis พบว่าจุลชีพในดินและเชื้อไรโซเบียมที่อยู่ในดินภายนอกปมถั่วเหลือง และจุลชีพอื่นๆที่อยู่ในดินบริเวณรอบรากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ มีโอกาสในการรับยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ในสัดส่วน 9 จาก 10 ตัวอย่างที่ตรวจสอบ สำหรับเชื้อจุลชีพในดินรอบรากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์จากการตรวจ 10 ตัวอย่าง พบว่าเชื้อจุลชีพจำนวน 9 ตัวอย่างสามารถรับเอาชิ้นส่วนสารพันธุกรรมของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ จากข้อมูลในตารางที่ 16 แสดงให้เห็นว่าเชื้อไรโซเบียมจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ สามารถรับเอาชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ได้ในปริมาณสูง คือ พบชิ้นส่วนสารพันธุกรรมของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์จำนวน 9 ตัวอย่างจากที่นำมาตรวจ 12 ตัวอย่าง ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อดังกล่าวอาศัยอยู่กับถั่วเหลืองจำลองพันธุ์โดยตรงจึงมีโอกาสได้รับการถ่ายทอดชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ได้มากกว่าปกติ อีก 3 ตัวอย่างที่ตรวจไม่พบอาจเนื่องมาจากเชื้อที่ได้รับชิ้นส่วนดีเอ็นเออาจตายไปก่อนที่จะนำมาเลี้ยงขยายจำนวน เนื่องจากปมถั่วใช้เวลาเดินทาง 4 วันหลังการเก็บเกี่ยว และยังพบว่าเชื้อไรโซเบียมในพืชตระกูลถั่ว ได้แก่ ถั่วลิสง และ ไมยราบที่อยู่ในแปลงถั่วเหลืองจำลองพันธุ์บางตัวอย่างที่ตรวจ พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ นอกจากนี้ยังสามารถถ่ายทอดไปยังเชื้อไรโซเบียมในดิน และผ่านไปยังเชื้อไรโซเบียมในปมรากของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ที่ปลูกอยู่ในบริเวณเดียวในระยะ 5 – 10 เมตรได้ โดยตรวจพบ 1 จาก 10 ตัวอย่าง ทั้งนี้เนื่องจากเป็นช่วงฤดูฝน น้ำจึงสามารถนำพาเชื้อไรโซเบียมในดินไปยังบริเวณพื้นที่แปลงปลูกถั่วเหลือง พันธุ์ สจ. 5 ที่อยู่ข้างเคียงได้ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวบางส่วนสอดคล้องกับข้อมูลจาก สมศักดิ์ วังใน (2541) ที่อ้างถึงงานวิจัยของ Gerald ในปี 1971 ที่แสดงให้เห็นว่าเชื้อไรโซเบียมสามารถเกิดกระบวนการ Transformation DNA ในระหว่างไรโซเบียมกลุ่มเจริญเร็วกับเชื้อ *Agrobacterium tumefaciences* และไรโซเบียมกลุ่มเจริญเร็วเท่านั้น กระบวนการ Transformation DNA ดังกล่าวจะไม่เกิดขึ้นในกรณีระหว่างไรโซเบียมกลุ่มเจริญเร็วกับไรโซเบียมกลุ่มเจริญช้า

- **ผลต่อผึ้งที่บริโภคถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ ในสภาพทดลอง**

พบว่าหลังจากเลี้ยงผึ้งโพรงกลุ่มที่ 1 ที่ให้บริโภคถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ผสมน้ำผึ้งบริสุทธิ์ เป็นเวลา 2 เดือน แล้วสุ่มเก็บผึ้งมาตรวจสอบหาชิ้นส่วน DNA ของถั่วเหลืองจำลองพันธุ์จากจุลชีพในลำไส้ผึ้งโพรงจำนวน 7 ตัวอย่างมีจุลชีพที่มีชิ้นส่วน DNA จากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ 1 ตัวอย่าง และทำอีกกลุ่มที่ระยะเวลาเดียวกัน เมื่อสุ่มผึ้งมาทำการตรวจจำนวน 2 ตัว โดยผ่าลำไส้เลี้ยงจุลชีพในอาหารเหลวที่มีส่วนผสมยาปฏิชีวนะคานามัยซิน 20 ppm สามารถเลี้ยงเชื้อได้จำนวน 8 ตัวอย่าง และพบว่ามี 3 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบชิ้นส่วน DNA ของพืชจำลองพันธุ์ เมื่อขยายระยะเวลาในการเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าจุลชีพจากลำไส้ผึ้งจำนวน 9 ตัวอย่าง มี 2 ตัวอย่างที่มีชิ้นส่วน DNA ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์อยู่ และเมื่อขยายระยะเวลาในการเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน พบว่าจุลชีพจากลำไส้ผึ้งโพรงจำนวน 9 ตัวอย่าง มี 2 ตัวอย่างที่มีชิ้นส่วน DNA ถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ สรุปโดยรวมจุลชีพลำไส้ผึ้งโพรง กลุ่ม 1 จำนวน 38 ตัวอย่าง พบ 8 ตัวอย่างที่ให้ผล positive

ในขณะที่ผึ้งโพรงกลุ่มที่ 2 ที่บริโภคถั่วเหลืองธรรมดาผสมน้ำผึ้งบริสุทธิ์ ทั้ง 22 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ จากผลการทดลองดังกล่าวไม่ได้เป็นการบังคับให้ผึ้งทั้ง 2 กลุ่มบริโภค อาหารตามตำรับทดลอง ผึ้งโพรงทั้ง 2 รัง ยังคงสามารถบินออกหาอาหารตามปกติ แต่จากการเฝ้าสังเกตุพบว่า ผึ้งที่ยังไม่โตเต็มที่นิยมทานอาหารที่ให้ แทนการบินออกไปหาอาหาร ในขณะที่ตัวแก่ ส่วนมากจะออกหาอาหารนอกรัง การสุ่มเก็บผึ้งมาตรวจในแต่ละครั้งจะมีทั้งตัวอ่อน และตัวแก่ ในสัดส่วนใกล้เคียงกัน จากผลการตรวจสอบแสดงให้เห็นได้ว่าจุลชีพในลำไส้ผึ้งโพรงที่บริโภคถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ผสมน้ำผึ้งบริสุทธิ์ มีโอกาสรับเอาชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากพืชจำลองพันธุ์ได้ และเมื่อพิจารณาผลกระทบโดยตรงต่อลำไส้ผึ้งโพรงที่บริโภคถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ เทียบกับลำไส้ผึ้งโพรงที่บริโภคถั่วเหลืองธรรมดาในสภาพทดลอง เป็นดังภาพที่ 44 ไม่พบความแตกต่างระหว่างเซลล์ลำไส้ของผึ้งทั้ง 2 กลุ่ม ทั้งนี้อาจเนื่องจากผึ้งที่สุ่มมาตรวจไม่ได้บริโภคอาหารที่ให้อย่างต่อเนื่อง ระยะเวลาที่ใช้ศึกษา ขนาดกำลังขยายที่ใช้ในการตรวจดู และจำนวนผึ้งที่นำมาศึกษาไม่มากพอ จึงยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงของลำไส้ ในการทดลองแนวทางเดียวกันของ Lorenz, M.G. และ Wackernagel, W.(1994) ที่ศึกษาการถ่ายทอดดีเอ็นเอในระบบทางเดินอาหารพบว่า ดีเอ็นเอไม่ได้ย่อยสลายตัวอย่างรวดเร็วเหมือนอย่างที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหน้านี้ แต่จะสามารถคงตัวอยู่ได้ระยะหนึ่ง และถ่ายทอดดีเอ็นเอเข้าสู่แบคทีเรียในกระเพาะอาหารหรือเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่บริโภคพืชจำลองพันธุ์ได้

- **ความมีชีวิตอยู่ของ DNA ในดินตัวอย่าง จำนวน 5 ชุดดิน**

จากค่าในตารางที่ 23 แสดงให้เห็นว่าดินตัวอย่างทั้ง 5 ชุดดินของประเทศไทย ที่ถูกรดด้วยพลาสมิดดีเอ็นเอ Pcambia1301 ที่สกัดจากเชื้อแบคทีเรีย (*Agrobacterium tumefaciences*)

พลาสมิดดีเอ็นเอ Pcambia1301 สามารถคงสภาพอยู่ในดินตัวอย่างแต่ละชุดดินไม่น้อยกว่า 84 วัน ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าวิธีการสกัดไม่ได้สกัดเอาแต่ดีเอ็นเอที่ค้างอยู่ในอนุภาคดินออกมา แต่อาจรวมถึงดิเอ็นเอจากพลาสมิดPcambia1301 ที่ถูกรับเข้าไปในจุลชีพในดิน แล้วเพิ่มจำนวนขึ้นจากเชื้อจุลชีพในดินก็เป็นได้ จากผลดังกล่าวเมื่อนำไปรวมกับผลการศึกษาการไหลของยีนจากถั่วเหลืองจำลองพันธุ์ไปสู่จุลชีพในดิน สามารถกล่าวได้ว่ายิ่งมีระยะการค้างของดีเอ็นเออยู่ในดินนานเท่าใดโอกาสที่จุลชีพในดินจะรับเอาดีเอ็นเอดังกล่าวยิ่งมีมากขึ้น โดยปกติดีเอ็นเอจากเซลล์ของพืชจำลองพันธุ์ที่ตายจะย่อยสลายไม่หมดตามที่เคยมีรายงาน แต่จะยึดติดกันอนุภาคดินเหนียวได้เป็นระยะเวลาถึง 2 ปี ซึ่งสภาพดังกล่าวดีเอ็นเอยังมีโอกาสถ่ายทอดต่อไปยังจุลชีพในดินได้ ผลการศึกษาการถ่ายทอดยีนในธรรมชาติโดย Gebhard, F. และ Smalla, K. 1998 พบว่ายีนต้านทานยาปฏิชีวนะ kanamycin สามารถถ่ายทอดเข้าสู่แบคทีเรีย *Acinetobactcr* ได้