บทสรุปผู้บริหาร

ข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมทนทานสารกำจัดวัชพืชและต้านทานหนอนเจาะรากข้าวโพด สายพันธุ์ MON88017 ที่เกิดจากวิธีการถ่ายทอดพันธุกรรมด้วยเทคนิคการรวม DNA (recombinant DNA techniques) เพื่อให้ได้ลักษณะทนทานต่อสารกำจัดวัชพืช ในกลุ่ม Roundup® ร่วมกับลักษณะการต้านทานต่อหนอนที่ทำลายระบบราก (corn rootworm, CRW; Coleoptera, *Diabrotica* sp.) ซึ่งลักษณะทั้ง 2 จะได้จากยีนที่ควบคุมการผลิตโปรตีน 5- enolpyruvylshikimate- 3-phosphate synthase ที่ได้จากยีน *cp4epsps* ของเชื้อจุลินทรีย์ *Agrobacterium* sp. สายพันธุ์ CP4 ที่ส่งผลให้ต้านทานต่อสารไกลโฟเซต (glyphosate) ที่เป็นสารออกฤทธิ์ในยากำจัดวัชพืชกลุ่ม Roundup® สำหรับยีนที่ช่วยให้ต้านทานต่อหนอนทำลายระบบรากได้จากยีน *cry3Bb1 ที่*ควบคุมการสร้างโปรตีน Cry3Bb1 ซึ่งได้จากเชื้อ *Bacillus thuringiensis* subspecies *kumamotoensis* โดยยีนทั้ง 2 ชนิดนี้ จัดในกลุ่มของยีนที่ผ่านการประเมินความปลอดภัยและได้รับอนุญาตให้ใช้ในการพัฒนาพืชดัดแปลงพันธุกรรมหลายชนิด และพืชเหล่านั้นได้มีการปลูกในเชิงการค้าในหลายประเทศแล้ว กรณีของข้าวโพด MON88017 จึงเป็นการนำยีน 2 ยีนมารวมกันเพื่อให้ได้พืชดัดแปลงพันธุกรรมที่มีลักษณะเด่น 2 ประการ คือ ทั้งทนทานต่อสารกำจัดวัชพืช และต้านทานต่อหนอนทำลายรากข้าวโพดร่วมกัน เพื่อเป็นการแก้ปัญหาให้กับเกษตรกรผู้ปลูกข้าวโพด

ข้อมูลด้านชีววิทยาระดับโมเลกุลของข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON88017 พบว่า จำนวนยีนที่ข้าวโพดได้รับจากการถ่ายฝากด้วยเชื้อ *Agrobacterium tumerfaciens* ผ่าน T-DNA ของพลาสมิด PV-ZMIR39 จะมีเฉพาะยีน *cry3Bb1* กับ *cp4epsps* เพียง 1 ชุด ซึ่งเมื่อทดสอบลักษณะการกระจายตัวของยีนด้วยวิธี Chi square analysis พบว่าการกระจายตัวของยีนเป็นไปตามกฎของเมนเดล ในแบบของการกระจายตัวของยีนเดี่ยวที่พบใน Nuclear DNA เมื่อวิเคราะห์ genomic DNA ของข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON88017 ด้วยวิธี Southern Blot analysis เพื่อดูการทำงานของยีน และการคงอยู่ของชิ้นส่วนยีนอื่นในพลาสมิด PV-ZMIR39 ร่วมกับการใช้การวิเคราะห์ด้วย PCR พบว่าในข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON88017 มีเฉพาะส่วนของยีน *cry3Bb1* กับ *cp4epsps* เพียงชุดเดียว กับมีส่วนช่วงรอยต่อของ T-DNA ขนาดเล็กมากประมาณ 13 kb ที่ตัดได้ด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ *Sca* I โดยไม่มีส่วนอื่นๆ ของพลาสมิดปนเข้ามาด้วย ปริมาณเฉลี่ยของโปรตีน Cry3Bb1 กับ CP4EPSPS ในข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON88017 ในช่วงการปลูกทั้งฤดูจากแปลงทดลอง 3 แห่ง ใช้วิธีตรวจสอบด้วยวิธี ELISA พบว่ามีช่วงปริมาณโปรตีนต่อน้ำหนักแห้ง ดังนี้ Cry3Bb1 ในใบ 220-570 μg/g ละอองเรณู 25 μg/g ไหมข้าวโพด 380 μg/g ข้าวโพดทั้งต้น 220-500 μg/g ราก 100-370 μg/g ส่วนของพืชที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ 95 μg/g เมล็ด 15 μg/g และ ซังและตอซัง 88 μg/g ส่วนโปรตีน CP4EPSPS พบในใบ 150-220 μg/g ละอองเรณู 390 μg/g ส่วนของพืชที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ 57 μg/g ราก 70-150 μg/g และ เมล็ด 5.8 μg/g นอกจากนี้พบว่าปริมาณโปรตีนทั้ง 2 ชนิดจะต่ำลงตามอายุของพืชที่เพิ่มขึ้น

การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON88017 เปรียบเทียบกับข้าวโพดปกติ ด้วยวิธีมาตรฐาน AOAC, AOCS, AACC, USDA และวิธีการอื่นจากเอกสารอ้างอิงที่ผ่านการตีพิมพ์ (Published literature) ร่วมกับการวิเคราะห์ข้อมูลใช้วิธีการทางสถิติแบบ mixed model analysis of variance เปรียบเทียบข้อมูลองค์ประกอบระหว่างสายพันธุ์ทดสอบและสายพันธุ์ควบคุม รวมทั้งสิ้น 248 คู่เปรียบ ที่ 5% level of significance ($p<0.05$) ไม่พบความแตกต่างจากข้าวโพดปกติเว้นแต่ ปริมาณ vitamin B_1 ในข้าวโพดสายพันธุ์ MON88017 มีค่าต่ำกว่าสายพันธุ์ควบคุมจากการปลูกในทุกพื้นที่ทดลอง โดยมีความแตกต่างอยู่ในช่วง 20-30% และมีค่าต่ำกว่า commercial range เล็กน้อย แต่ยังอยู่ใน 99% tolerance interval

การประเมินข้อมูลทางด้านพิษวิทยาทั้งแบบเฉียบพลันและแบบกึ่งเรื้อรัง เพื่อดูความเป็นพิษ ความสามารถในการก่อมะเร็ง ความสามารถในการทำให้เกิดการกลายพันธุ์รวมทั้งลักษณะอื่นๆ ทางด้านการก่อพิษ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในหนูทดลอง ซึ่งวิเคราะห์โดยการใช้ Risk assessment พบว่า hazard quotient (HQ) ของโปรตีน CP4EPSPS และ Cry3Bb1 ใน ข้าวโพด MON88017 ที่อาจปนกับข้าวโพดสำหรับการบริโภคของมนุษย์ มีค่าน้อยกว่า 1 แสดงว่าการนำข้าวโพด MON88017 ที่มีโปรตีน CP4EPSPS และ Cry 3Bb1 มาใช้บริโภคเป็นอาหารมีความปลอดภัย และมีความเสี่ยงต่ำที่จะเกิดอาการเป็นพิษจากการบริโภค แต่อย่างไรก็ตามความปลอดภัยจะต้องถูกประเมินใหม่ถ้ามีข้อมูลเพิ่มเติม

การประเมินความปลอดภัยด้านการก่อภูมิแพ้ ไม่มีดัชนีที่แสดงว่าข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรม MON88017 จะก่อให้เกิดภูมิแพ้ในประชากรคนไทย ทั้งนี้เนื่องจาก ยีนที่ใช้ในการดัดแปลงพันธุกรรมเป็นยีนที่ได้จากแบคทีเรีย ซึ่งไม่มีประวัติการก่อภูมิแพ้โดยโปรตีนที่ผลิตจากแบคทีเรียชนิดนี้ ดังนั้นมีความเสี่ยงต่ำมากที่โปรตีนที่ได้จากยีน *cp4epsps* และ *cry3Bb1* จะกระตุ้นให้เกิดการแพ้ในคน นอกจากนี้โปรตีน CP4EPSPS และ Cry3Bb1 ยังถูกย่อยได้หมดอย่างรวดเร็วในระบบทางเดินอาหาร จึงมีโอกาสน้อยมากที่ โปรตีน CP4EPSPS และ Cry3Bb1 จะไปกระตุ้นภูมิคุ้มกันของระบบทางเดินอาหารจนก่อให้เกิดปฏิกิริยาแพ้ในคน

จากข้อมูลประกอบการประเมินความปลอดภัยและข้อมูลวิทยาศาสตร์ในปัจจุบัน สรุปได้ว่า ข้าวโพดดัดแปลงพันธุกรรมทนทานสารกำจัดวัชพืชและต้านทานหนอนเจาะรากข้าวโพด สายพันธุ์ MON88017 ไม่มีความแตกต่างไปจากข้าวโพดสายพันธุ์คู่เปรียบ (conventional counterpart) ทั้งด้านลักษณะกายภาพ (morphology) ด้านโภชนาการ (nutrition) ด้านการก่อพิษ (toxicity) และด้านการก่อภูมิแพ้ (allergenicity)

Executive summary

The genetically modified MON88017 corn has been developed by the use of recombinant DNA techniques in order to combine the Roundup® family resistant and the corn rootworm (CRW, Coleoptera, *Diabrotica* sp.) resistant characters. These two characters are controlled by the genes producing the following proteins: 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase protein from *Agrobacterium* sp. strain CP4 (CP4EPSPS) which confers tolerance to glyphosate, the active ingredient in Roundup agricultural herbicides, and a modified *Bacillus thuringiensis* subspecies *kumamotoensis* Cry3Bb1 protein that selectively controls CRW species. These two genes have previously reviewed the safety use and were allowed to be applied in the development of many genetically modified crops which have been already commercially grown in many countries. In the MON 8071 case, the combination of the herbicide resistant and the corn rootworm characters has been aimed to solve the growers' problems.

Molecular characterization of MON88017 have revealed that only single copy of the *cp4epsps* and *cry3Bb1* gene expression cassettes was introduced in the MON88017 through the Agrobacterium-mediated transformation of corn cells with plasmid vector PV-ZMIR39. The Chi square analysis of the segregation pattern, according to Mendelian genetics, was consistent with a single site of insertion into the maize nuclear DNA. Genomic DNA from MON88017 was analyzed by Southern blotting to determine the intactness of both expression cassettes, and the presence or absence of plasmid backbone sequences. The organization of the elements within the insert in MON88017 was further confirmed using PCR analysis and sequencing of the insert. Only one copy of the T-DNA at a single integration locus on an approximately 13 kb *Sca* I restriction fragment and *cry3Bb1* and *cp4epsps* genes without additional elements from the transformation vector PV-ZMIR39 are found. The levels of the MON88017 Cry3Bb1 and CP4EPSPS proteins were estimated using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In tissues harvested throughout the growing season of three filed locations, mean Cry3Bb1 levels ranged from 220-570 μg/g DW in leaf, 25 μg/g DW in pollen, 38 μg/g DW in silk, 220-500 μg/g DW in the whole plant, 100-370 μg/g DW in root, 95 μg/g DW in forage, 15 μg/g DW in grain and 88 μg/g DW stover. Mean CP4EPSPS protein ranged from 150-220 μg/g DW in leaf, 390 μg/g DW in pollen, 57 μg/g DW in forage, 70-150 μg/g DW in forage root, and 5.8 μg/g DW in grain. In general, levels of the MON88017 Cry3Bb1 and CP4EPSPS proteins declined over the growing season.

Nutritional value evaluation of MON88017 was compared with the normal maize using standard analyzing methods of AOAC, AACC, USDA and the other publishing literatures techniques using the mixed model analysis of variance. The statistics of the data set of 248 comparison data show no difference at 5% level of significance ($p < 0.05$), no difference was found except the vitamin B_1 level in the MON88017 was lower than the control line in every planting sites at 20-30% as well as slightly lower than the commercial range. However, the value was still within the 99% tolerance interval.

Information of toxicology evaluation of MON88017 was obtained from the acute and sub-chronic toxicity tests using rats in order to get the possible toxicity effects such as: toxic, carcinogenicity, mutagenicity and other toxicological effects. Results from the risk assessment revealed that the hazard quotient (HQ) of Cry3Bb1 protein of MON88017 if find in the food is less than 1. Therefore, the Cry3Bb1 protein of MON88017 under the normal consumption level could be safely used as food. However, the risk assessment should be addressed if the information changed.

Information on the allergenecity assessment showed that no indicator of MON88017 could be allergenic to the Thai population due to the genes used in the transformation event (*cry3Bb1* and *cp4epsps* genes) were obtained from the bacteria with no historical evidence of causing any allergy from the produced proteins. Thus, very low risk of the Cry3Bb1 and CP4EPSPS proteins could activate the immune system in the human being. Moreover, the Cry3Bb1 and CP4EPSPS proteins were rapidly digested in the human digestive system so very low chance of these protein to stimulate the immune system in the gastrointestinal tract and cause the allergy to the human.

According to data analysis from safety assessment studies and currently available scientific, it can be concluded that MON88017 corn is substantially equivalent to its conventional counterpart in terms of morphology, nutrition, toxicity and allergenicity.