การพัฒนาพันธุ์กุหลาบสีน้ำเงินและมะเขือเทศสีม่วงโดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรม

ปรีย์กมล กลั่นฤทธิ์[a]

The Development of "Blue Rose" and "Purple Tomato" by Genetic Engineering Techniques

Preekamol Klanrit[a]

[a]ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

[a]Department of Biotechnology, Faculty of Technology, Khon Kaen University, Mueng, Khon Kaen, 40002, Thailand.

*Corresponding Author. E-mail address: kpreek@kku.ac.th (P. Klanrit)

Received 20 May 2010; accepted 15 August 2010

บทสรุป

แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) จัดเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารสีธรรมชาติที่พืชสังเคราะห์ขึ้น พบในดอกไม้และผลไม้ที่มีสีเหลืองอ่อน น้ำเงิน ม่วง แดง ทำให้มีสีสันสวยงาม ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวช่วยในการแพร่พันธุ์พืช โดยอาศัยแมลงและสัตว์ชนิดต่าง ๆ นอกจากนี้ Anthocyanins ยังมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็งได้อีกด้วยซึ่งจัดว่ามีประโยชน์อย่างยิ่งต่อสุขภาพของมนุษย์ จากคุณสมบัติข้างต้นจึงทำให้มีงานวิจัยเพื่อพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ พืชให้สามารถสร้างและสะสมสารในกลุ่ม Flavonoids โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Anthocyanins ได้ บทความปริทัศน์นี้นำเสนอการประยุกต์ใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมเพื่อพัฒนาพันธุ์ "กุหลาบสีม่วงน้ำเงิน" และ "มะเขือเทศสีม่วง" ซึ่งมีหลักการที่คล้ายคลึงกันโดยเริ่มจากกระบวนการโคลนยีนที่เกี่ยวข้องในการสร้างเอนไซม์ที่รับผิดชอบการสร้างสารสีม่วงน้ำเงิน (Delphinidin-based anthocyanins) ซึ่งอาจเป็นกลุ่มยีนที่ทำหน้าที่ร่วมกันและแหล่งของยีนอาจมาจากพืชต่างชนิดกัน จากนั้นจะเป็นกระบวนการส่งถ่ายยีนเข้าสู่พืช การคัดเลือกพืชที่ได้รับการส่งถ่ายยีนและในขั้นสุดท้ายได้ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมต้นใหม่ต่อไป

คำสำคัญ: กุหลาบสีน้ำเงิน มะเขือเทศสีม่วง พันธุวิศวกรรม แอนโทไซยานิน

Summary

Anthocyanins are members of a flavonoid class of natural pigments synthesized by plants, which are responsible for most light yellow, blue, purple or red colors found in many flowers and fruits. This attractive characteristic contributes to seed dispersal by a variety of insects and animals. In addition, anthocyanins have antioxidant and anti-cancer properties, which are considered potential health benefits for human. According to the previously mentioned characteristics, more researches have been focused on plant improvements to be able to synthesize flavonoids especially anthocyanins. This review presents the applications of genetic engineering to create a novel purple/blue rose and purple tomato, which are based on similar concepts. The process begins with the cloning of genes encoding the enzymes responsible for the synthesis of delphinidin-based anthocyanins, which can be groups of genes working together, and the origins of the genes can come from different plant species. Then, the sets of genes have to be transformed into the plants, selection of transgenic lines, and finally the plant tissue culture is employed to regenerate the whole new genetically modified plants.

Keywords: Blue rose, Purple tomato, Genetic engineering, Anthocyanins

บทนำ

แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) เป็นสารสีที่พบในธรรมชาติ ถูกจัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) สารกลุ่มนี้มีประโยชน์ต่อพืชหลายประการ เช่น เพิ่มสีสันให้กับดอก ผล และใบของพืชซึ่งมีส่วนช่วยในการแพร่พันธุ์พืชโดยอาศัยแมลงและสัตว์ต่าง ๆ มีคุณสมบัติในการป้องกันเซลล์พืชจากรังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet, UV) และจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิดได้ (Anti-microbial) นอกจากนี้สารในกลุ่ม Flavonoids ยังมีบทบาทที่สำคัญทางโภชนาการและสุขภาพของมนุษย์เนื่องจากมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและมะเร็งบางชนิด (Antioxidant and anti-cancer) (Koes et al., 1994; Rice-Evans et al., 1997; Harborne and Williams, 2000) ปัจจุบันได้มีการค้นพบสารในกลุ่ม Flavonoids มากกว่า 6,000 ชนิดและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากคุณสมบัติดังได้กล่าวข้างต้น ทำให้มีการศึกษาวิถีการสังเคราะห์สารในกลุ่มนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Anthocyanins มากยิ่งขึ้น Anthocyanins พบในดอก ผล และใบของพืชผักชนิดต่าง ๆ เช่น ดอกอัญชัน สตรอเบอรี่ เชอรี่ องุ่น กระเจี๊ยบ กะหล่ำปลีสีม่วง เป็นต้น เป็นสารสีที่ละลายน้ำและสะสมอยู่ในแวคิวโอล (Vacuole) ของเซลล์พืชมีสีที่หลากหลายไม่ว่าจะเป็นสีเหลืองอ่อน น้ำเงิน ม่วง แดง จึงนิยมใช้เป็นสีผสมอาหารหรือสีย้อม ทั้งจากคุณสมบัติเรื่องสีและการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต้านมะเร็ง ทำให้นักวิจัยสนใจและมีการศึกษาเชิงลึกเกี่ยวกับ

การสังเคราะห์สาร Anthocyanins ในพืชมากมาย ซึ่งอาจแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มแรกสนใจการพัฒนาพันธุ์พืชดอกเศรษฐกิจให้สามารถสร้างสาร Anthocyanins ในโทนสีใหม่ที่ต้องการได้ ซึ่งจะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับไม้ดอกไม้ประดับ เช่น ดอกกุหลาบ ดอกคาร์เนชั่น (Katsumoto et al., 2007; บริษัท Florigene) ส่วนกลุ่ม หลังจะสนใจการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของพืชเศรษฐกิจ เช่น ข้าว มะเขือเทศ มันฝรั่ง เป็นต้น โดยเน้นให้พืชดังกล่าวสามารถสร้างและสะสมสาร Anthocyanins ในเมล็ดหรือผลได้ (Reddy et al., 2007; Schijlen et al., 2004)

ในสมัยก่อน หากต้องการให้พืชมีคุณลักษณะที่ดีตามที่ต้องการนั้น จะต้องใช้วิธีการผสมพันธุ์พืชแบบดั้งเดิม (Traditional plant breeding) ซึ่งต้องใช้เวลานานหลายปีกว่าจะผสมได้พันธุ์ที่ต้องการหรืออาจไม่ได้เลย แต่ในปัจจุบัน เนื่องจากมีข้อมูลเพิ่มมากขึ้นเกี่ยวกับสารพันธุกรรมหรือโครงสร้างและหน้าที่ของยีนที่ควบคุมคุณลักษณะต่าง ๆ ในต้นพืช รวมถึงเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมมากมาย เช่น การโคลนและส่งถ่ายยีนเข้าสู่พืชและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช จึงทำให้นักวิจัยสามารถสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่มีคุณลักษณะตามที่ต้องการได้โดยใช้เวลาไม่นานนัก บทความนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ผู้อ่านได้ทราบถึงความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมในการดัดแปลงพันธุกรรมพืชซึ่งโดยปกติไม่สามารถสร้างสาร Anthocyanins หรือสร้างได้น้อยให้สามารถสังเคราะห์สารชนิดนี้ได้โดยจะยกตัวอย่างการพัฒนาพันธุ์กุหลาบให้ดอกมีสีม่วงน้ำเงินและการดัดแปลงพันธุกรรมของมะเขือเทศให้สะสมสาร Anthocyanins ที่ผลหรือที่รู้จักกันในนาม “มะเขือเทศสีม่วง” โดยมากผู้วิจัยควรมีข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับชนิดของพืชที่ต้องการดัดแปลงพันธุกรรมหากต้องการให้พืชสังเคราะห์สาร Anthocyanins ชนิดใดควรที่จะต้องศึกษาวิถีการสังเคราะห์สารชนิดนั้นว่ามียีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ชนิดใดบ้าง ช่วงแรกจะเป็นขั้นตอนการโคลนยีน (Gene cloning) ที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ต่าง ๆ ซึ่งอาจมีมากกว่า 1 ชนิด จากนั้นผู้วิจัยต้องพัฒนาระบบการส่งถ่ายยีนเข้าสู่พืชที่ต้องการดัดแปลงพันธุกรรม (Plant transformation) ที่มีประสิทธิภาพประกอบกับการพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อผลิตพืชดัดแปลงพันธุกรรมต้นใหม่ต่อไป

หลักการและวิธีการสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรม

จากการที่นักวิทยาศาสตร์ได้ค้นพบโครงสร้างของดีเอ็นเอ มีการศึกษาทางด้านจีโนม (Genome) ของสิ่งมีชีวิตชนิดต่าง ๆ และถูกรวบรวมอยู่ในระบบฐานข้อมูล ค้นพบเอนไซม์ที่สามารถตัดดีเอ็นเอได้อย่างจำเพาะเจาะจง เพิ่มปริมาณและเชื่อมต่อดีเอ็นเอ หรือแม้กระทั่งค้นพบวิธีการส่งถ่ายดีเอ็นเอเข้าสู่เซลล์สิ่งมีชีวิตและข้อมูลอื่นที่เกี่ยวข้องอีกมากมาย ทำให้ในปัจจุบันได้มีการประยุกต์ใช้ “พันธุวิศวกรรม” ซึ่งเป็นการคัดเลือกสายพันธุ์โดยเจาะจงเลือกหน่วยพันธุกรรม (Gene) ที่ต้องการโดยตรง เพื่อพัฒนาสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมให้มีคุณลักษณะตามที่ต้องการได้ หากต้องการดัดแปลงพันธุกรรมพืชให้มีคุณลักษณะพิเศษบางอย่าง วิธีการทำและสิ่งที่ต้องคำนึงถึง มีดังต่อไปนี้

1. คุณลักษณะที่ต้องการ (Desired trait) เบื้องต้นควรทราบก่อนว่าต้องการดัดแปลงพืชให้มีคุณลักษณะอย่างไร จากนั้นจึงศึกษายีนที่ควบคุมการแสดงออกของคุณลักษณะนั้น ๆ เช่น ยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนบีที (Bt toxin) ซึ่งช่วยฆ่าแมลงที่มาทำลายพืช ยีนที่ควบคุมการสร้างสารทุติยภูมิสำคัญชนิดต่าง ๆ (Secondary metabolites) ที่มีประโยชน์ทางการแพทย์หรือในบทความนี้ ได้ยกตัวอย่างยีนที่ควบคุมการสร้างสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Anthocyanins ผู้อ่านสามารถสืบค้นข้อมูลของยีนที่สนใจจากระบบฐานข้อมูลออนไลน์ได้ เช่น National Center for Biotechnology Information (NCBI-ทวีปอเมริกาเหนือ) (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) DNA Data Bank of Japan (DDBJ-ทวีปเอเชีย) (http://www.ddbj.nig.ac.jp/) และ European Bioinformatics Institute and the Wellcome Trust Sanger Institute (Ensembl-ทวีปยุโรป) (http://www.ensembl.org/index.html)

2. ชุดยีนเป้าหมาย (Gene cassette/construct) คือชุดยีนควบคุมลักษณะที่ต้องการซึ่งจะถูกส่งถ่ายเข้าสู่โครโมโซมของเซลล์พืช ในปัจจุบันสามารถเพิ่มปริมาณยีนเป้าหมายได้อย่างจำเพาะเจาะจงในหลอดทดลองด้วยเทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุล เช่น การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase chain reaction, PCR) เป็นต้น ยีนเป้าหมายที่ได้ (อาจมีมากกว่า 1 ยีน) จะถูกตัดต่อเข้ากับพลาสมิดเพื่อสร้างโครงสร้างหลักสำคัญซึ่งประกอบด้วยส่วนควบคุมระดับและจังหวะการแสดงออกของยีน (Promoter) และส่วนควบคุมการสิ้นสุดของยีน (Terminator) นอกจากนี้ควรมียีนเครื่องหมาย (Selectable marker gene) เพื่อใช้ในการคัดเลือกภายหลังจากส่งถ่ายยีนเข้าสู่เซลล์พืช ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นยีนต้านทานสารปฏิชีวนะ (Antibiotics) ชนิดต่าง ๆ

3. การส่งถ่ายยีนเข้าสู่พืช (Plant transformation) เมื่อสร้าง Gene cassette ที่มีโครงสร้างสมบูรณ์แล้ว จะถูกนำเข้าสู่กระบวนการส่งถ่ายยีนเข้าสู่เซลล์พืช ซึ่งมีหลายวิธี แบ่งออกเป็น

3.1 วิธีทางกายภาพ (Physical transformation) หรือ Direct gene transfer methods เช่น การส่งถ่ายยีนโดยใช้สาร Polyethylene glycol (PEG) การส่งถ่ายยีนโดยใช้กระแสไฟฟ้า (Electroporation) การส่งถ่ายยีนโดยใช้เข็มฉีด (Microinjection) และการส่งถ่ายยีนโดยใช้เครื่องยิงอนุภาค (Particle gun/Particle bombardment/Biolistics) เป็นต้น ซึ่งวิธีหลังนี้จะเคลือบยีนด้วยอนุภาคทองคำหรือทังสเตน แล้วยิงอนุภาคเหล่านั้นเข้าสู่เซลล์พืช

3.2 วิธีทางชีวภาพ (Biological transformation) เน้นการใช้ *Agrobacterium* เป็นตัวช่วยเนื่องจากแบคทีเรียดังกล่าวมีกลุ่มยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนหลายชนิดซึ่งทำหน้าที่ในการส่งถ่ายยีนเข้าสู่เซลล์พืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ วิธีนี้มีชื่อว่า *Agrobacterium*-mediated transformation

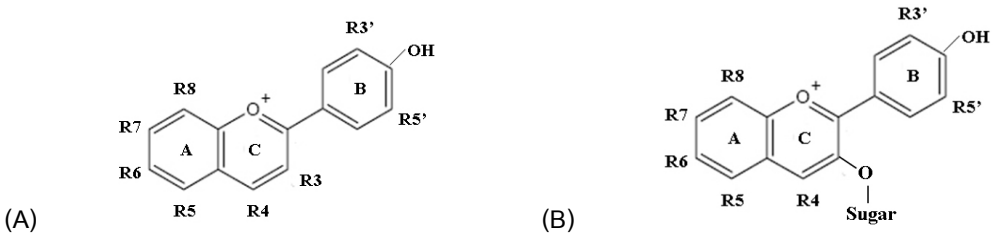
เป็นวิธีที่นิยมใช้และประสบความสำเร็จอย่างมากในปัจจุบัน (Newell, 2000; Slater et al., 2003)

4. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช (Plant tissue culture) ควรเตรียมระบบการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชที่เหมาะสมกับการส่งถ่ายยีนและการสร้างพืชต้นใหม่ หลังจากส่งถ่ายยีนแล้ว ต้องมีการคัดเลือกเนื้อเยื่อที่ได้รับชุดยีนเป้าหมาย โดยใช้เทคนิคทางชีววิทยาระดับโมเลกุลพร้อมทั้งประเมินและวิเคราะห์ผลการทดลองจนกระทั่งได้พืชดัดแปลงพันธุกรรม ระบบเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะเหมาะสมและประสบความสำเร็จหรือไม่ ขึ้นกับปัจจัยหลายประการ เช่น สูตรอาหาร ชนิดและความเข้มข้นของฮอร์โมนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นต้น

ที่กล่าวข้างต้นเป็นภาพรวมของการวางแผนการคิด อย่างไรก็ตาม หากต้องการสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมในแต่ละกรณี อาจมีรายละเอียดการทดลองปลีกย่อยในกระบวนการดัดแปลงพันธุกรรมพืช เช่น การโคลนยีน การสร้าง Gene cassette การส่งถ่ายยีนและการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเพื่อสร้างพืชต้นใหม่แตกต่างกันออกไป

โครงสร้างของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารสีธรรมชาติ (Natural pigment) และจัดเป็นสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ที่พบในพืช มีโครงสร้างพื้นฐานคือ C6-C3-C6 ซึ่งประกอบด้วยวงแหวน C (3C) ที่เชื่อมวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic rings, 6C) A และ B (รูปที่ 1) Flavonoids ถูกแบ่งเป็นกลุ่มย่อย เช่น ฟลาโวน (Flavones), ไอโซฟลาโวน (Isoflavones), ฟลาโวนอล (Flavonols), ฟลาวาโนน (Flavanones), ฟลาวานอล (Flavanols) และแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins) ตามโครงสร้างพื้นฐานของวงแหวน C ที่แตกต่างกัน (Tanaka et al., 2008) โดยมากโครงสร้างที่ไม่มีโมเลกุลของน้ำตาลมาเชื่อมต่อเรียกว่า แอนโทไซยานิดินหรือ Aglycone (รูปที่ 1A) ส่วน Anthocyanins (รูปที่ 1B) จะมีโมเลกุลของน้ำตาลเชื่อมต่อที่ตำแหน่งที่ 3 (R3) ด้วยพันธะเอสเทอร์ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลกลูโคส อย่างไรก็ตาม อาจพบน้ำตาลชนิดอื่นที่เชื่อมต่อที่ตำแหน่งนี้ได้ เช่น แรมโนส ฟรุกโตส กาแลคโตส อะราบิโนส เป็นต้น (Grotewold, 2006; Tanaka et al., 2008) ปัจจุบันได้มีการค้นพบ Anthocyanidins ทั้งหมดประมาณ 20 ชนิด แต่มีเพียง 6 ชนิดที่เป็นที่รู้จักและได้มีการศึกษาค้นคว้าเชิงลึก ได้แก่ Pelargonidin, Cyanidin, Delphinidin, Peonidin, Petunidin และ Malvidin ซึ่งแต่ละชนิดมีสีที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับจำนวนของ Hydroxyl group (-OH) และ/หรือ Methyl group ($-CH_3$) ณ ตำแหน่ง R3' และ R5' บนวงแหวน B (Tanaka et al., 2008; รูปที่ 1 และ 2)



รูปที่ 1 โครงสร้างพื้นฐานของแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidin, A) และแอนโทไซยานิน (Anthocyanin, B) (ดัดแปลงจาก Tanaka and Ohmiya, 2008 และ http://www.micro-ox.com/chem_antho.htm)

พืชสังเคราะห์สาร Anthocyanins ได้อย่างไร

วิถีการสังเคราะห์สาร Anthocyanin (Anthocyanin biosynthetic pathway) ในพืชมีความซับซ้อน แต่ยังคงมีการศึกษาเชิงลึกอย่างต่อเนื่อง (รูปที่ 2) Anthocyanins ถูกสังเคราะห์ในไซโทซอล (Cytosol) จากนั้นจะถูกลำเลียงไปเก็บไว้ที่ Vacuole ของเซลล์พืช (Tanaka and Ohmiya, 2008) วิถีการสังเคราะห์เริ่มจากกรดอะมิโน Phenylalanine ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็น Cinnamic acid, Coumaric acid และ 4-Coumaroyl-CoA โดยเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase (PAL), Cinnamate 4-hydroxylase (C4H) และ 4-Coumarate:CoA ligase (4CL) ตามลำดับ Chalcone synthase (CHS) เป็นเอนไซม์ที่กำหนดอัตราการเกิดปฏิกิริยา (Rate-limiting enzyme) การควบแน่น (Condensation) ระหว่าง 4-Coumaroyl-CoA 1 โมเลกุลและ Malonyl CoA 3 โมเลกุล เพื่อสังเคราะห์สารสีเหลืองที่มีชื่อว่า Naringenin chalcone พืชชั้นสูงส่วนใหญ่ไม่สะสมสาร Chalcone เนื่องจากมีเอนไซม์ Chalcone isomerase (CHI) ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนสารดังกล่าวให้เป็น Naringenin ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีสี (Colorless)ทันทีหากดอกกุหลาบสะสมสาร Anthocyanins โทนสีแดง (Cyanidin-based anthocyanins) แสดงว่าดอกกุหลาบนั้น มีเอนไซม์ที่สำคัญเพิ่มเติมจาก CHS และ CHI อย่างน้อย 4 ชนิดคือ Flavanone 3-hydroxylase (F3H), Flavonoid 3'-hydroxylase (F3'H), Dihydroflavonol 4-reductase (DFR) และ Anthocyanidin synthase (ANS) ตามลำดับ (รูปที่ 2) วิถีการสังเคราะห์สารในกลุ่ม Flavonoids/Anthocyanins มิได้มีเพียงเท่านี้แต่มีเอนไซม์อีกมากมายที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาต่าง ๆ เพื่อสังเคราะห์สารในกลุ่มนี้อีกหลายชนิดซึ่ง Schijlen et al., 2004 ได้รวบรวมข้อมูลของเอนไซม์สำคัญไว้อย่างละเอียด พร้อมทั้งอธิบายหลักการและกลไกการทำงานและการสังเคราะห์สารเชิงชีววิทยาระดับโมเลกุลไว้ด้วย

ปัจจัยที่มีผลต่อสีและความคงตัว (Color and stability) ของ Anthocyanins มีหลายชนิด เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง Anthocyanins จะมีสีแดงเมื่อมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ จะมีสีม่วงน้ำเงินเมื่อเป็นกลางและจะมีสีเขียว

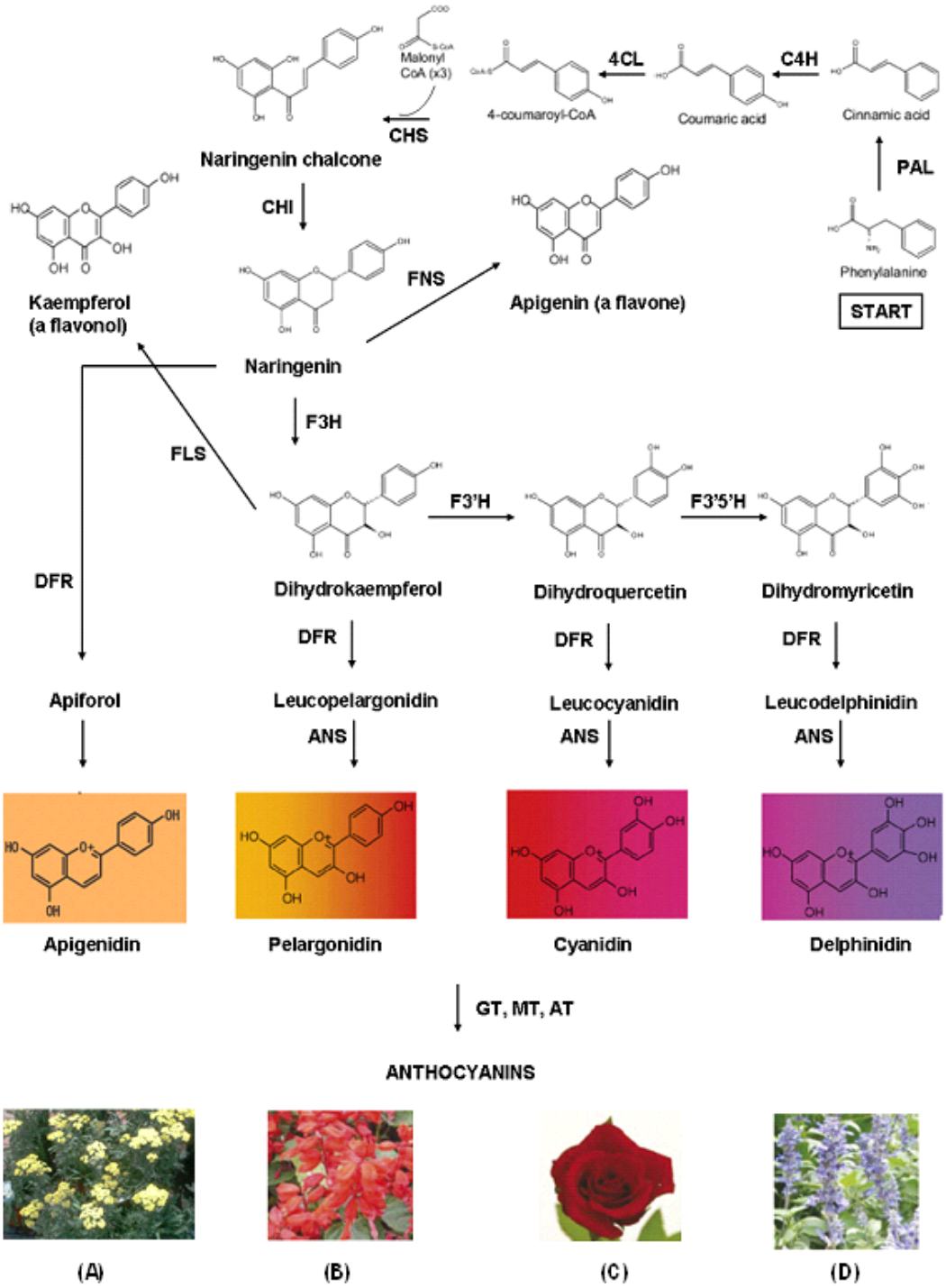
หรือเหลืองเมื่อมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูง ดังนั้นค่า pH ใน Vacuole ที่แตกต่างกันส่งผลให้พืชแต่ละชนิด ที่สะสมสาร Anthocyanins มีสีที่แตกต่างกันออกไป นอกจากนี้อุณหภูมิ แสง Co-pigment เช่น Flavones, Flavonols และ Metal ions เช่น Al^{3+} Fe^{3+} ล้วนมีผลต่อสีและความคงตัวของ Anthocyanins โดยอุณหภูมิที่สูงและแสงที่มากเกินไป สามารถทำลายโมเลกุลของ Anthocyanins ได้ ส่วนโมเลกุลของน้ำตาล Co-pigment และ Metal ions ช่วยให้โมเลกุลของ Anthocyanins มีความคงตัวมากขึ้น (Grotewold, 2006)

พันธุวิศวกรรมกับการปรับปรุงพันธุ์พืช

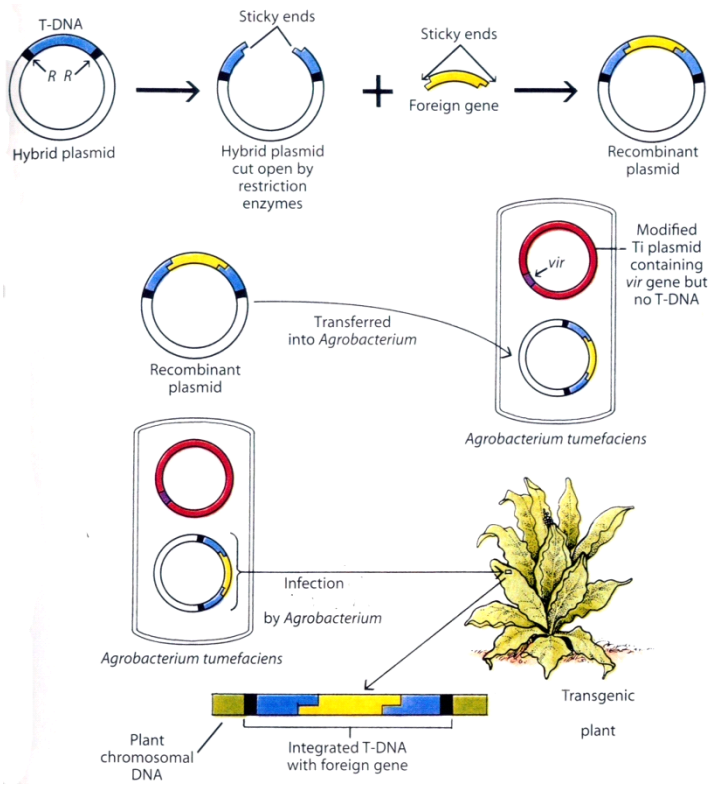
การปรับปรุงพันธุ์พืชในอดีต โดยทั่วไปใช้เทคนิคการผสมพันธุ์พืช (Plant breeding) เพื่อให้ได้คุณลักษณะของต้นพืชตามต้องการ อย่างไรก็ตามการผสมพันธุ์พืชโดยวิธีดั้งเดิมนั้นใช้เวลาค่อนข้างนานและในบางกรณีเทคนิคดังกล่าวไม่สามารถกระทำได้ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปัจจัยทางพันธุกรรมภายในต้นพืชชนิดนั้น ๆ นักวิจัยจึงได้คิดค้นและพัฒนาพืชดัดแปลงพันธุกรรม (Genetically Modified Plants; GM Plants) โดยใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมและชีววิทยาระดับโมเลกุลมาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในระยะแรกจะเป็นการพัฒนาพันธุ์พืชโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร เช่น การพัฒนาพืชเศรษฐกิจให้สามารถต้านทานศัตรูพืช เช่น แมลงต่าง ๆ หรือโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา แบคทีเรีย หรือไวรัสได้ หากพืชสามารถต้านทานโรคดังกล่าวได้ จะทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น (http://www.gmo-compass.org/eng/agri_biotechnology/breeding_aims/148.disease_resistant_crops.html) ในระยะต่อมานักวิจัยได้พัฒนาพันธุ์พืชเพื่อปรับปรุงคุณภาพ ผลผลิตการเกษตร เช่น การพัฒนาพันธุ์ข้าวให้สามารถสะสมสารเบต้าแคโรทีนและธาตุเหล็กได้ (Paine et al., 2005) การยืดอายุการเก็บรักษาผักและผลไม้โดยลดหรือยับยั้งการทำงานของยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอทิลีน (Tanaka et al., 2005) เป็นต้น ในส่วนของไม้ดอกไม้ประดับที่มีมูลค่าสูงเพื่อการส่งออกได้มีการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมเพื่อช่วยในการปรับปรุงพันธุ์ด้วย เช่น การยืดอายุการปักแจกันของดอกไม้ ซึ่งใช้หลักการเดียวกันกับการยืดอายุการเก็บรักษาผักและผลไม้และที่กำลังเป็นที่สนใจอย่างมาก คือการเปลี่ยนสีของดอกไม้ให้มีสีตามที่ต้องการ ดังนั้นบทความปริทัศน์นี้จะนำเสนอตัวอย่างของการประยุกต์ใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมเพื่อสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมให้สามารถสร้างและสะสมสาร Anthocyanins โดยยกตัวอย่างพืชดอกและพืชเศรษฐกิจ ได้แก่ กุหลาบและมะเขือเทศ

หลักการ แนวคิดและขั้นตอนการดัดแปลงพันธุกรรมของดอกกุหลาบและมะเขือเทศให้มีสีม่วงน้ำเงินนั้นคล้ายคลึงกันโดยต้องศึกษาวิถีการสังเคราะห์สาร Anthocyanins อย่างละเอียด (รูปที่ 2) อย่างไรก็ตาม การสร้าง Gene cassette ของแต่ละกลุ่มวิจัยอาจแตกต่างกันทั้งชนิดของ Promoter, Terminator, Marker gene และพลาสมิด วิธีการส่งถ่ายยีนเข้าสู่พืชที่รายงานคือ *Agrobacterium*-mediated transformation ซึ่ง *Agrobacterium tumefaciens* เป็นแบคทีเรียแกรมลบอยู่ในดิน มีพลาสมิดดีเอ็นเอที่เรียกว่า Ti plasmid (Tumor-inducing plasmid) โดยธรรมชาติแล้ว แบคทีเรียชนิดนี้มีความสามารถในการส่งถ่ายดีเอ็นเอบางส่วน (Transferred DNA หรือ T-DNA) เข้าสู่เซลล์พืช ชิ้นส่วนของ T-DNA ที่ถูกส่งถ่ายเข้าสู่เซลล์พืชประกอบด้วยด้วยยีนที่กำหนดการสังเคราะห์สารโอปีน (Opine synthesis gene) ซึ่งจะเป็นแหล่งอาหารให้กับแบคทีเรีย และยีนที่กำหนดการสร้างฮอร์โมนออกซินและไซโตไคนิน (Oncogene) เมื่อ T-DNA แทรกตัว (Integrate) อยู่ในโครโซมพืชทำให้เซลล์พืชแบ่งตัวและขยายขนาดอย่างรวดเร็วและเกิดเป็นโรคปุ่มปม (Crown gall disease) (Slater et al., 2003)

ปัจจุบันได้มีการประยุกต์ใช้กลไกทางธรรมชาติดังกล่าวเพื่อส่งถ่ายยีนเป้าหมายเข้าสู่เซลล์พืช (รูปที่ 3) อย่างไรก็ตามเพื่อป้องกันการเกิดโรคปุ่มปมในพืช ได้มีการตัดยีนส่วนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างฮอร์โมนออกซินและไซโตไคนินออกและเชื่อมต่อชุดยีนเป้าหมายเข้าไปแทน การส่งถ่ายยีนด้วย *Agrobacterium* อาศัยระบบ Binary vector ซึ่งประกอบไปด้วย Vector 2 ชนิด ได้แก่ Vector ที่มีชุดยีนเป้าหมายทั้งหมด และ Vector ที่มีกลุ่มยีนที่ช่วยในกระบวนการส่งถ่ายยีน (*Virulence* or *Vir* genes หรือ Helper plasmid) Vector ที่มีชุดยีนเป้าหมายจะถูกส่งถ่ายเข้าสู่ *Agrobacterium tumefaciens* สายพันธุ์ที่มี Helper plasmid อยู่แล้ว จากนั้นเมื่อระบบการส่งถ่ายยีนได้รับการกระตุ้นด้วยสารประกอบ Phenolic เช่น Acetosyringone *Agrobacterium* จะเริ่มกระบวนการส่งถ่ายยีนเป้าหมายจนกระทั่งสามารถแทรกเข้าไปอยู่ในโครโมโซมของกุหลาบและมะเขือเทศได้ (Raven et al., 1999; Slater et al., 2003) ชนิดของเนื้อเยื่อ (Explant) ที่ใช้ในกระบวนการส่งถ่ายยีนแตกต่างกันไป สามารถใช้ชิ้นส่วนใดของพืชก็ได้ แต่ในกรณีนี้ใช้ Callus และใบของพืช ส่วนรายละเอียดของยีนเป้าหมาย Promoter และ Terminator ที่จะถูกส่งถ่ายเข้าสู่เซลล์พืชจะกล่าวถัดไปในหัวข้อ “กุหลาบสีน้ำเงิน” และ “มะเขือเทศสีม่วง”



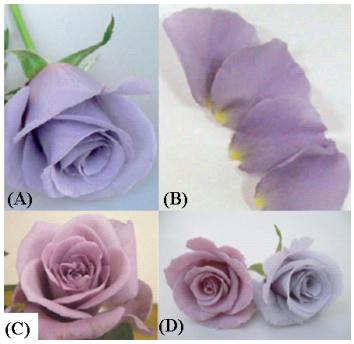
รูปที่ 2 วิถีการสังเคราะห์สารในกลุ่ม Flavonoids/Anthocyanins และตัวอย่างดอกไม้ที่สะสมสาร Anthocyanins และสีที่ปรากฏ (A) Yarrow (B) Salvia (C) Rose และ (D) Lavender อักษรย่อ : PAL,Phenylalanine ammonia lyase; C4H, Cinnamate 4-hydroxylase; 4CL, 4-Coumarate :CoA ligase; CHS, Chalcone synthase; CHI, Chalcone isomerase; F3H, Flavanone 3-hydroxylase; F3'H, Flavonoid 3'-hydroxy lase; F3'5'H, Flavonoid 3',5'-hydroxylase; DFR, Dihydroflavonol 4-reductase; ANS, Anthocyanidin synthase; FNS, Flavone synthase; FLS, Flavonol synthase; GT, Glucosyltransferases; MT, Methyltransferases; AT, Acyltransferases (ดัดแปลงจาก Tanaka et al., 2008; Tanaka and Ohmiya, 2008 และ Ballester et al., 2010)



รูปที่ 3 *Agrobacterium*-mediated transformation โดยระบบ Binary vector (Raven et al., 1999)

ดอกกุหลาบสีน้ำเงิน

ปัจจุบันได้มีงานวิจัยเพื่อพัฒนาพันธุ์ไม้ดอกให้มีสีสันสวยงามอย่างแพร่หลาย (Floriculture) สีของดอกไม้ส่วนใหญ่เกิดจากการที่พืชชนิดนั้นสะสมสาร Anthocyanins (Katsumoto et al., 2007) เทคนิคการผสมพันธุ์พืชดอก (Traditional plant breeding) สามารถสร้างพืชดอกที่มีสีสวยงามแตกต่างกันไป แต่สิ่งที่ไม่สามารถทำได้โดยใช้เทคนิคดังกล่าวคือการผสมพันธุ์ดอกกุหลาบให้มีสีโทนม่วงน้ำเงิน เนื่องจากดอกกุหลาบไม่มียีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ Flavonoid 3',5'-hydroxylase (F3'5'H) ส่งผลให้ไม่สามารถสังเคราะห์ Delphinidin-based anthocyanins ซึ่งมีสีโทนม่วงน้ำเงินได้ (รูปที่ 2) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้นักวิจัยสนใจและประยุกต์ใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมในการสร้างกุหลาบสีน้ำเงินอย่างต่อเนื่อง นักวิทยาศาสตร์จากบริษัท Suntory ประเทศญี่ปุ่น และบริษัท Florigene ประเทศออสเตรเลียได้ร่วมมือกันทำวิจัยเพื่อผลิตกุหลาบสีม่วงน้ำเงินซึ่งประสบ ความสำเร็จครั้งแรกในปี พ.ศ. 2547 แต่ได้รับอนุญาตให้จำหน่ายออกสู่ตลาดเมื่อเดือนพฤศจิกายน 2552 มีชื่อทางการค้าว่า "SUNTORY Blue Rose APPLAUSE" (รูปที่ 4, B; http://www.suntory.com/news/2009/10592.html)



รูปที่ 4 ดอกกุหลาบสีน้ำเงิน (A, B)"SUNTORY Blue Rose APPLAUSE" (Katsumoto et al., 2007); (C) การเพิ่มการแสดงออกของยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ F3'5'H จากดอก Pansy; (D) การขัดขวางการทำงานของยีน *DFR* ในดอกกุหลาบพันธุ์ดั้งเดิมผนวกกับการเพิ่มการแสดงออกของยีน *DFR* จากดอก Iris และยีน *F3'5'H* จากดอก Pansy (Tanaka and Ohmiya, 2008)

การเปลี่ยนดอกกุหลาบให้เป็นสีโทนม่วงน้ำเงินโดยอาศัยเทคนิคทางพันธุวิศวกรรมนั้นสามารถทำได้หลายวิธีและต้องศึกษาวิถีการสังเคราะห์สาร Delphinidin-based anthocyanins อย่างละเอียด (รูปที่ 2) Tanaka and Ohmiya (2008) สามารถเปลี่ยนดอกกุหลาบซึ่งโดยปกติมีสีแดงให้เป็นสีม่วงได้โดยเพิ่มการแสดงออก (Overexpression) ของยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ F3'5'H จากดอก Pansy

(รูปที่ 4C) อีกแนวทางหนึ่งที่สามารถพัฒนาดอกกุหลาบให้มีสีม่วงน้ำเงินได้คือการขัดขวางการทำงานของยีน *DFR* ในดอกกุหลาบพันธุ์ดั้งเดิม (Knockdown of the endogenous DFR gene) ควบคู่กับการเพิ่มการแสดงออกของยีน *DFR* จากดอกไอริส (Iris) และยีน *F3'5'H* จากดอก Pansy ในเวลาเดียวกัน (รูปที่ 4D; Katsumoto et al., 2007) การยับยั้งการทำงานของ Endogenous *DFR* gene สามารถลดการสร้าง Cyanidin-based anthocyanins ซึ่งมีสีแดงชมพูและอาจมีส่วนช่วยให้มีการแสดงออกของสีโทนม่วงน้ำเงินโดยการทำงานของเอนไซม์ F3'5'H (จากดอก Pansy) และ DFR (จากดอก Iris) เด่นชัดยิ่งขึ้น การทำงานของทุกยีนในงานวิจัยนี้ถูกควบคุมโดยยีนสั่งการหรือ Promoter ที่มีชื่อว่า "Enhanced CaMV35S Promoter (E35S Pro.)" ซึ่งได้จาก Cauliflower Mosaic Virus เป็นยีนสั่งการที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมให้ยีนมีการแสดงออกในระดับที่สูง (High levels of gene expression)

มะเขือเทศสีม่วง (Purple tomato)

พืชผักผลไม้บางชนิดสามารถสร้างและสะสมสารในกลุ่ม Flavonoids ได้ เช่น หอมหัวใหญ่ บลูเบอรี่ และถั่วเหลือง ที่สามารถสร้างสาร Flavonols, Anthocyanins และ Isoflavonoids ตามลำดับ (Bovy et al., 2007) อย่างไรก็ตาม พืชบางชนิด เช่น มันฝรั่งและมะเขือเทศซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจ ไม่สามารถสังเคราะห์สารในกลุ่ม Flavonoids ได้ แต่เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีประโยชน์มากมายดังได้กล่าวแล้วข้างต้น ทำให้มีการวิจัยเพื่อพัฒนาพืชเศรษฐกิจให้สามารถสร้างสารดังกล่าวได้ ซึ่งมะเขือเทศเป็นพืชที่ได้รับความสนใจเพื่อให้สามารถสังเคราะห์สาร Anthocyanins มะเขือเทศโดยทั่วไปมีสีแดง ส่วนใหญ่เกิดจากการสะสมของสารไลโคปีน (Lycopene) ซึ่งเป็นสารสีแดงในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) มะเขือเทศสามารถสร้างสารในกลุ่ม Flavonoids (Chalcone) ได้บ้างแต่ในปริมาณที่น้อยมากและสะสมเฉพาะบริเวณผิว ไม่ใช่ส่วนเนื้อของมะเขือเทศ (Bovy et al., 2007) ดังนั้น จึงได้มีการพัฒนามะเขือเทศดัดแปลงพันธุกรรมให้สามารถสร้างสารในกลุ่ม Flavonoids โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Anthocyanins ในส่วนเนื้อมะเขือเทศ กระบวนการควบคุมการสังเคราะห์สารในกลุ่มนี้สามารถทำได้ 2 วิธี วิธีแรกคือควบคุมการทำงานของยีนโครงสร้าง (Structural genes) ที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ในวิถีการสังเคราะห์สาร (รูปที่ 2) ดังได้กล่าวไว้แล้วในการทำ "กุหลาบสีน้ำเงิน" ส่วนวิธีที่สองคือควบคุมการทำงานของยีนควบคุม (Regulatory genes) ซึ่งเป็นกลุ่มยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของ Structural genes อีกขั้นหนึ่ง (Gonzali et al., 2009) นักวิจัยบางกลุ่ม เช่น Muir et al., 2001 ประสบความสำเร็จในการทำให้มะเขือเทศสามารถสะสมสารในกลุ่ม Flavonoids ชนิด Flavonols เพิ่มขึ้นถึง 78 เท่าได้โดยเพิ่มการแสดงออกของยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ Chalcone isomerase (CHI) ซึ่งเป็นยีนโครงสร้างจากต้น Petunia และส่งถ่ายยีนเข้าสู่ต้นมะเขือเทศ นอกจากนี้ Butelli et al., 2008 ซึ่งเป็นกลุ่มนักวิจัยจากสถาบัน John Innes Centre ประเทศอังกฤษ ประสบความสำเร็จในการทำให้ผลมะเขือเทศทั้งผลสะสมสาร Anthocyanins ได้ (รูปที่ 5A, B) โดยการเพิ่มการแสดงออกของยีนควบคุมในกลุ่มที่เรียกว่า Transcription factors 2 ชนิดจากต้นลิ้นมังกร (Snapdragon, รูปที่ 5C) และส่งถ่ายยีนกลุ่มนี้เข้าสู่ต้นมะเขือเทศภายใต้การควบคุมของ Fruit-specific promoter ซึ่งเป็นยีนสั่งการที่จะบังคับให้ยีนกลุ่มนี้แสดงออกที่ผลของมะเขือเทศเท่านั้น จากผลการทดลองพบว่า มีการสะสมสาร Anthocyanins ซึ่งทำให้ส่วนของผิวและเนื้อมะเขือเทศเป็นสีม่วงทั้งหมด โดยมีปริมาณของ Anthocyanins อยู่ที่ประมาณ 3 mg g^{-1} ของน้ำหนักสด (Fresh weight) ซึ่งเป็นปริมาณสูงที่สุดเท่าที่มีรายงานในมะเขือเทศ

รูปที่ 5 มะเขือเทศสีม่วงและต้นลิ้นมังกร (A) ต้นมะเขือเทศที่ไม่ได้ถูกส่งถ่ายยีน (i, ชุดควบคุม) และมะเขือเทศสีม่วงที่ถูกส่งถ่ายยีนในกลุ่ม Transcription factors (ii); (B) ผลมะเขือเทศสีแดงและสีม่วงที่ถูกแบ่งครึ่ง; (C) ต้นลิ้นมังกร (Snapdragon) ซึ่งเป็นแหล่งของยีนที่ถูกส่งถ่ายเข้าสู่ต้นมะเขือเทศ (Butelli et al., 2008; Gonzali et al., 2009)

บทสรุป

จากตัวอย่างข้างต้น จะเห็นได้ว่าการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมและชีววิทยาระดับโมเลกุลสามารถปรับปรุงพันธุ์พืชให้มีคุณสมบัติตามต้องการได้ ไม่ใช่เฉพาะพืชดอกเท่านั้น แต่ยังสามารถประยุกต์ใช้ความรู้และวิธีการดังกล่าวกับพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นได้ และไม่ใช่เฉพาะสารในกลุ่ม Flavonoids เพียงกลุ่มเดียวหากยังมีสารทุติยภูมิกลุ่มอื่นที่พืชสร้างขึ้นและมีประโยชน์มากมายต่อมนุษย์ทั้งในด้านอาหารและโภชนาการ และทางการแพทย์ เช่น สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) อัลคาลอยด์ (Alkaloids) และเทอพีนอยด์ (Terpenoids) เป็นต้น ซึ่งแต่ละชนิดมีวิถีการสังเคราะห์และยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์แตกต่างกัน ซึ่งผู้วิจัยควรศึกษาข้อมูลอย่างละเอียดก่อนที่จะทำวิจัยเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม

ในประเทศไทยได้มีการทำวิจัยทั้งในหน่วยงานภาครัฐ ศูนย์วิจัยและสถาบันการศึกษาต่าง ๆ ในการดัดแปลงพันธุกรรมสิ่งมีชีวิตไม่ว่าจะเป็นพืช สัตว์หรือจุลินทรีย์ หรือการ

สร้างผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรม เพื่อประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น ด้านการแพทย์ อุตสาหกรรม อาหาร สิ่งแวดล้อมและการเกษตร เป็นต้น อย่างไรก็ตาม หากเป็นงานวิจัยเกี่ยวกับการดัดแปลงพันธุกรรมดอกกุหลาบและมะเขือเทศให้มีสีม่วงน้ำเงินนั้น ผู้ริเริ่มจะเป็นนักวิจัยของหน่วยงานในประเทศญี่ปุ่น (Katsumoto et al., 2007; บริษัท Florigene) และประเทศอังกฤษ (Butelli et al., 2008) ตามลำดับ ตามที่ผู้เขียนได้ทบทวนวรรณกรรมยังไม่พบรายงานการวิจัยเพื่อดัดแปลงพันธุกรรมกุหลาบและมะเขือเทศให้สามารถสะสมสาร Anthocyanins ในประเทศไทย แต่อาจมีนักวิจัยไทยบางกลุ่มที่เล็งเห็นศักยภาพและทำงานวิจัยเกี่ยวกับสารในกลุ่ม Flavonoids และ/หรือมีการดำเนินงานแล้วแต่อาจจะดัดแปลงพันธุกรรมพืชดอกหรือพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นและยังไม่ได้เผยแพร่ผลงานวิจัย

ทิศทางงานวิจัยเรื่องพืชดัดแปลงพันธุกรรมในประเทศไทย คาดว่าจะมีการพัฒนาเป็นลำดับไป ซึ่งหลายหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนเล็งเห็นศักยภาพของงานวิจัยทางด้านพันธุวิศวกรรมกับการพัฒนาประเทศในหลายด้านดังได้กล่าวไว้ข้างต้น อย่างไรก็ตาม พืชดัดแปลงพันธุกรรมจะต้องผ่านการประเมินความปลอดภัยที่เข้มงวดหลายขั้นตอน ไม่ว่าจะเป็นทางด้านสุขอนามัยมนุษย์และด้านสิ่งแวดล้อม ก่อนที่จะถูกนำมาปลูกโดยเกษตรกรและบริโภคเป็นอาหาร ในประเทศไทยอนุญาตให้มีการทดลองเพื่อดัดแปลงพันธุกรรมพืชและทดสอบคุณลักษณะของพืชดัดแปลงพันธุกรรม แต่ต้องดำเนินการภายในห้องปฏิบัติการหรือระดับแปลงทดลองของหน่วยงานและยังไม่อนุญาตให้ปลูกและทดสอบพืชดัดแปลงพันธุกรรมในระดับไร่นา (Field trials) (http://www.naewna.com/news.asp?ID=90803)

เรื่องสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมเป็นเรื่องที่แต่ละบุคคลมีความคิดเห็นที่แตกต่างกันออกไป ไม่ว่าจะเป็นข้อดีหรือข้อที่อาจจะก่อให้เกิดความวิตกกังวลโดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชดัดแปลงพันธุกรรมที่นำมาบริโภค ข้อจำกัดในการทำวิจัยเกี่ยวกับพืชดัดแปลงพันธุกรรม คือพืชดังกล่าวยังไม่เป็นที่ยอมรับในหลายประเทศ เช่นกลุ่ม Greenpeace http://www.greenpeace.org/international/campaigns/genetic-engineering) ในหลายประเทศที่อยู่ในทวีปยุโรปและในประเทศไทยด้วยเช่นกัน เนื่องจากอาจเกรงว่าวิธีการสร้างพืชดัดแปลงพันธุกรรมหรือการนำยีนจากสิ่งมีชีวิตหรือเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นส่งถ่ายเข้าสู่พืชอาจจะส่งผลเสียต่อมนุษย์หรือระบบนิเวศในธรรมชาติไม่ทางตรงก็ทางอ้อม หลายภาคส่วนอาจมีคำถามเกี่ยวกับความปลอดภัยและความเสี่ยงในการปลูกและบริโภคพืชดัดแปลงพันธุกรรม เช่น หากบริโภคพืชดัดแปลงพันธุกรรมแล้วจะเกิดผลเสียทางด้านสุขภาพต่อมนุษย์หรือไม่ทั้งในระยะสั้นและระยะยาวหรือหากพืชดัดแปลงพันธุกรรมถูกปล่อยออกสู่ธรรมชาติและไปผสมพันธุ์กับพืชสายพันธุ์ดั้งเดิม (Wild type) จะทำให้ไม่สามารถควบคุมลักษณะทางพันธุกรรมของต้นพืชชนิดนั้นหรือไม่ (Genetic pollution) หรือมีผลกระทบต่อพืชหรือ สิ่งมีชีวิตชนิดอื่นและความหลากหลายทางชีวภาพหรือไม่ ซึ่งอาจต้องนำคำถามดังกล่าวมาเป็นข้อคิดและนำมาพิจารณาร่วมกับปัจจัยอื่น ดังนั้นผู้อ่านควรใช้วิจารณญาณในการพิจารณาข้อดีและข้อด้อยของการพัฒนาพันธุ์พืชไม่ว่าจะเป็นการใช้วิธีผสมและคัดเลือกพันธุ์แบบดั้งเดิมหรือการใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมและชีววิทยาระดับโมเลกุลขณะเดียวกันต้องศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อให้เข้าใจและก้าวทันในเทคโนโลยีที่มีการปรับและเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลาและปรับใช้ให้เหมาะสมเป็นกรณีไป

เอกสารอ้างอิง

Ballester, A.R., Molthoff, J., de Vos, R., Hekkert, B.L., Orzaez, D., Fernandez-Moreno, J.P., Tripodi P., Grandillo, S., Martin, C., Heldens, J., Ykema, M., Granell, A. and Bovy, A. (2010) Biochemical and molecular analysis of pink tomatoes: Deregulated expression of the gene encoding transcription factor S1MYB12 leads to pink tomato fruit color. *Plant Physiology*, 152, 71-84.

Bovy, A., Schijlen, E. and Hall, R.D. (2007) Metabolic engineering of flavonoids in tomato (*Solanum lycopersicum*): the potential for metabolomics. *Metabolomics*, 3, 399-412.

Butelli, E., Titta, L., Giorgio, M., Mock, H.P., Matros, A., Peterek, S., Schijlen, E.G., Hall, R.D., Bovy, A.G., Luo, J. and Martin, C. (2008) Enrichment of tomato fruit with health-promoting anthocyanins by expression of select transcription factors. *Nature Biotechnology*, 26(11), 1301-1308.

Gonzali, S., Mazzucato, A. and Perata, P. (2009) Purple as a tomato: towards high anthocyanin tomatoes. *Trends in Plant Science*, 14(5), 237-241.

Grotewold E. (2006) Biochemistry of floral pigments. *The Annual Review of Plant Biology*, 57, 761-780.

Harborne, J.B. and Williams, C.A. (2000) Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.

Katsumoto, Y., Fukuchi-Mizutani, M., Fukui, Y., Brugliera, F., Holton, T.A., Karan, M., Nakamura, N., Yonekura-Sakakibara, K., Togami, J., Pigeaire, A., Tao, G.Q., Nehra, N.S., Lu, C.Y., Dyson, B.K., Tsuda, S., Ashikari, T., Kusumi, T., Mason, J.G. and

Tanaka, Y. (2007) Engineering of the rose flavonoid biosynthetic pathway successfully generated blue-hued flowers accumulating delphinidin. *Plant Cell Physiology*, 48, 1589-1600.

Koes, R.E., Quattrocchio, F. and Mol, J.N.M. (1994) The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *BioEssays*, 16, 123-132.

Muir, S.R., Collins, G.J., Robinson, S., Hughes, S., Bovy, S., De Vos, C.H., van Tunen, A.J. and Verhoeyen, M.E. (2001) Overexpression of petunia chalcone isomerase in tomato results in fruit containing increased levels of flavonols. *Nature Biotechnology*, 19, 470-474.

Newell, C.A.(2000) Plant transformation tech nology: developments and applications. *Molecular Biotechnology*, 16, 53-65.

Paine, J.A., Shipton, C.A., Chaggar, S., Howells, R.M., Kennedy, M.J., Vernon, G., Wright, S.Y., Hinchliffe, E. and Drake, R. (2005). Improving the nutritional value of golden rice through increased pro-vitamin A content. *Nature Biotechnology*, 23, 482-487.

Raven, P.H., Evert, R.F. and Eichhorn, S.E. (1999) *Biology of Plants* (6th ed.) New York, NY: W.H. Freeman and Company.

Reddy, A.M., Reddy, V.S., Scheffler, B.E., Wienand, U. And Reddy, A.R. (2007) Novel transgenic rice overexpressing anthocyanidin synthase accumulates a mixture of flavonoids leading to an increased antioxidant potential. *Metabolic Engineering*, 9, 95-111.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2, 2152-2159.

Schijlen, E.G.W.M., Ric de Vos, C.H., Van Tunen, A.J. and Bovy, A.G. (2004) Modification of flavonoid biosynthesis in crop plants. *Phytochemistry*, 65, 2631-2648.

Slater, A., Scott, N., and Fowler, M. (2003) *Plant Biotechnology: The genetic manipulation of plants.* New York, NY: Oxford University Press.

Tanaka, Y., Katsumoto, Y., Brugliera, F. and Mason, J. (2005) Genetic Engineering in Floriculture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 80, 1-24.

Tanaka, Y. and Ohmiya A. (2008) Seeing is believing: engineering anthocyanin and carotenoid biosynthetic pathways. *Current Opinion in Bio technology*, 19, 190-197.

Tanaka, Y., Sasaki N. and Ohmiya A. (2008) Biosynthesis of plant pigments: anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal*, 54, 733-749.

DNA Data Bank of Japan (DDBJ). [Online] [Cited 6 November 2010]. Available from: http://www.ddbj.nig.ac.jp/

European Bioinformatics Institute and the Wellcome Trust Sanger Institute (Ensembl). [Online] [Cited 6 November 2010]. Available from: (http://www.ensembl.org/index.html)

GMO Compass. 2010. Disease Resistance. [Online] [Cited 27 July 2010]. Available from http://www.gmo-compass.org/eng/agri_biotechnology/breeding_aims/148.disease_resistant_crops.html

Greenpeace. 2010. Say no to genetic engineering. [Online] [Cited 20 July 2010]. Available from:http://www.greenpeace.org/international/campaigns/genetic-engineering

National Center for Biotechnology Information (NCBI). [Online] [Cited 6 November 2010]. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/

StaVin. 2010. General anthocyanin structure. [Online] [Cited 17 April 2010]. Available from: http://www.micro-ox.com/chem_antho.htm

Suntory. 2010. Introducing "SUNTORY blue rose APPLAUSE" World's First* Blue Roses Available at Last. [Online] [Cited 20 July 2010]. Available from: http://www.suntory.com/news/2009/10592.html

หนังสือพิมพ์แนวหน้า, ข่าวเกษตร สิ่งแวดล้อม. 2551. เอกชนเซ็งขิงแก่ปัดวิจัย GMO ในไร่นา ไบโอเทคระดมสมองถกทิศทาง [Online] [Cited 6 November 2010]. Available from: http://www.naewna.com/news.asp?ID=90803