

夏威夷基因轉殖木瓜 產業現況

農試所鳳山分所 李文立
種苗場 沈翰祖 鍾文全
台南場 楊藹華

一、前言

基因轉殖作物之栽培在近年來急速增加，根據ISAAA（International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications）2007年之統計資料顯示，全世界栽培基因轉殖作物之耕地面積已達一億四千三百七十萬公頃。基因轉殖生物及其產品對生態環境與人體健康可能產生的衝擊，廣泛的受到世界各國關切並重視。APEC各經濟體均訂有基因轉殖生物與其產製品之相關管理法規，並針對基因轉殖之植物種苗及相關農產品建構檢測及監測平台。根據台灣新修訂之種苗法及相關管理法規，有關基因轉殖作物在上市前須進行生物安全評估，上市後，產品須標示外，亦須接受主管機關監控，以維護國內生態環境之安全。但是在執行上，目前僅及於轉殖作物風險評估作業，有關基因轉殖作物種苗檢測技術自2003年起才開始由種苗場及農試所等單位針對重要可能進口作物開發檢測技術。

現階段國內完成基因轉殖作物田間試驗階段者為「抗輪點病毒」木瓜，正在田間試驗階段者有七項，包括稻米（生產豬乳鐵蛋白及高效能植酸素二項）、馬鈴薯（生產高效能植酸素）、青花菜（抗老化）、番茄（抗胡瓜嵌紋病毒）、赤椗（木質素生合成基因）、木瓜（雙重抗木瓜輪點病毒及木瓜畸葉嵌紋病毒）。此外，基因改造玉米及大豆已為衛生署公告許可上市品項，產品原料雖以大宗穀物途徑進口，但也可能流入田間種植。為國內基因轉殖植物之生物安全管理，並了解其或因運輸過程之不當散出或被以非核准目的用途使用之可能情形，有必要儘早建立國內基因轉殖植物檢測流程及田間監測體系。而夏威夷地區為全球基因轉殖木瓜研究與生產重鎮，其研究成果與實際運行情形備受各國相關研究人員之重視，本文就夏威夷地區之基因轉殖木瓜生產與研究近況作一論述。

二、夏威夷基因轉殖木瓜產業現況

夏威夷木瓜栽培區域原本在歐胡島(Oahu island)，因為1950年代木瓜輪

作者：李助理研究員文立
連絡電話：07-7310191-206

點病毒(PRSV)危害而漸漸將產業移至大島(夏威夷島)(Big island, Hawaii island), 1992年以後, 輪點病毒侵入大島的Puna產區, 嚴重危害夏威夷木瓜產業, 幸好1998年後, 基因轉殖木瓜通過審查, 得以在夏威夷地區進行經濟規模栽培, 不僅解救了夏威夷木瓜產業, 也使全球木瓜產業進入生技時代。目前主要生產區域在大島(Big island)(佔90%以上), 其他島嶼如歐胡島(Oahu island)、茂宜島(Maui island)、可愛島(Kauai island)及莫洛凱島(Molokai island)均有零星栽培。依照美國農部的統計資料顯示, 夏威夷州木瓜栽培面積在2007年為2,105英畝(852公頃), 總產量約2981萬英磅(113,489公噸), 產值1,267萬美元(約4億5千萬台幣), 主要栽培品種為‘Rainbow’(53%)、‘Kapoho Solo’(30%)、‘Sunrise’(9%)及其他品種(8%)。其中‘Rainbow’為基因轉殖木瓜, 依照美國及加拿大之規定, 可以直接銷售至此兩個地區而無須任何標示。日本市場則正在協議且已經完成多項日方要求之研究數據, 根據美國農部太平洋灣農業研究中心(The United States Pacific Basin Agricultural Research Center, USDA)主任, Dr. Dennis Gonsalves表示, 日本農林水產省(Ministry of Agriculture Fisheries and Forestry)已於2002年12月通過夏威夷基因轉殖木瓜的進口審查, 預計2008年將會通過厚生省(Ministry of Health Labor and Welfare)審查, 首次銷售基因轉殖木瓜至日本市場。

夏威夷基因轉殖木瓜於1986年開始進行相關研究, 1991年研發出抗PRSV的品系Line 55-1。該品系以‘Sunset’品種進行基因轉殖而得, 後來命名為‘SunUp’, 屬紅色果肉品種。因為夏威夷木瓜生產者較喜歡黃

果肉的‘Kapoho Solo’品種, 因此利用‘SunUp’與‘Kapoho Solo’雜交產生F1種‘Rainbow’, 此雜交種果肉為黃色, 輪點病毒的抗病力較‘SunUp’弱, 若在萌芽後3個月後才感染輪點病毒則徵狀非常輕微, 因此‘Rainbow’成為目前夏威夷基因轉殖木瓜之主要栽培品種。其研發過程大要如下:

- 1937年首次在歐胡島發現PRSV。
- 1945年PRSV在歐胡島木瓜產區快速蔓延。
- 1978年開始進行PRSV之基礎研究工作。
- 1986年進行基因轉殖木瓜的研發工作。
- 1988年開始利用基因槍法進行基因轉殖木瓜研究。
- 1991年研發出抗PRSV的品系Line 55-1。
- 1992年在歐胡島進行田間試驗。
- 1992年Puna地區(夏威夷島)木瓜受PRSV嚴重危害。
- 1995年於Puna地區進行大規模田間試驗。
- 1997年基因轉殖木瓜通過USDA-APHIS, EPA, FDA等機構審查。
- 1998年基因轉殖木瓜獲得生產執照正式商業規模生產。
- 1999年Rainbow採收並銷售至美國本土。
- 2002年日本農林水產省通過‘Rainbow’木瓜銷日審查, 並向厚生省提出審查申請。
- 2003年加拿大允許‘Rainbow’木瓜進口。
- 2008年日本允許‘Rainbow’木瓜進口(預計)。

基因轉殖木瓜的出現, 雖然消除了夏威夷輪點病毒的嚴重危害, 卻有部分消費者對基因轉殖木瓜存有食用與環境安全的疑慮, 而主要外銷市場—日本仍禁止基因轉殖木瓜進口, 反GMO團體的壓力與基因轉殖木瓜污染非基因轉殖木

瓜田等問題，尚需要許多時間去溝通並以研究證實其對人體或環境的影響力。事實上，2007年底，筆者等人在夏威夷大學研習的這幾天中，因為綠色和平組織與夏威夷反GM人士推動終止夏威夷大學生物技術研究及禁止基因作物在夏威夷州生產，美國9位國會議員為此議題前往夏威夷大學瞭解生物技術研究與基因轉殖作物實際栽培情形。由於夏威夷州約有500公頃的木瓜園種植‘Rainbow’品種且目前也銷售非基因轉殖的‘Kapoho Solo’品種至日本市場，為了去除消費者對基因轉殖木瓜污染之疑慮，夏威夷對於外銷日本之木瓜採取單株檢測以確保不會因為銷售基因轉殖木瓜至日本而衍生國際貿易問題。採取單株檢測的方式雖然是最保險與萬全的方式，卻是耗費人力物力最多的一種方式，如何提高檢測效率，縮短檢測時間，降低檢測成本，是一個重要的議題，也是各國基因轉殖作物檢測之重要方向。

透過夏威夷大學Mr. Melvin S. Nishina的安排，Mr. Kenn Harada教導我們有關基因轉殖木瓜大量且快速的檢測方式（圖一、二）。一般進行基因轉殖作物檢測時最常採用之方式是PCR檢測法，利用轉入之外源基因片段作為檢測對象，這種方式需要萃取植物的DNA作為檢測之標的，雖然檢測方式較為敏感，可以偵測微量的轉基因作物，卻需要耗費較長的時間與較高的檢測成本，此方法是目前國際上較常被採用之檢測方式。另一個方法則是採用較容易產生誤差卻可大量進行且成本相對較低的檢測方法--GUS染色法，帶有GUS基因的轉殖木瓜葉片組織在染色後會產生藍色沈澱可以明顯區分基因轉殖與非基因轉殖木瓜。由於Rainbow木瓜所轉入之外源基因包含為了區別已經轉殖或未經過基因

轉殖的標誌基因，GUS基因，因此夏威夷大學發展GUS染色法作為快速檢測之標準檢測方式（圖三、四、五），此方式可以快速且大量的進行基因轉殖木瓜的篩檢，其操作流程如下：

1. 田間標定：進行田間取樣時必須對每一株植株進行編號，以方便檢測完成後可以確認每一株植株是否為轉基因植株，標定時以方格方式進行編號，例如1-1，1-2，1-3等代表第一行第1株，第2株，第3株等。2-1，2-2，2-3代表第二行第1株，第2株，第3株等，每一株均需同時在田間及記錄簿上標示清楚。

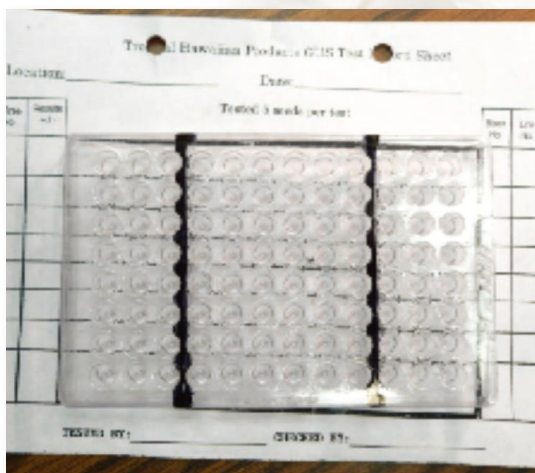
2. 取樣：取樣的部位以嫩葉為主，每株取樣約1克，放入已經標示之封口袋



圖一、夏威夷大學Manshardt（左二）、Pauli（右四）與Stephen（右二）三位教授講說如何設計田間試驗證明基因轉殖木瓜植株花粉散佈距離。



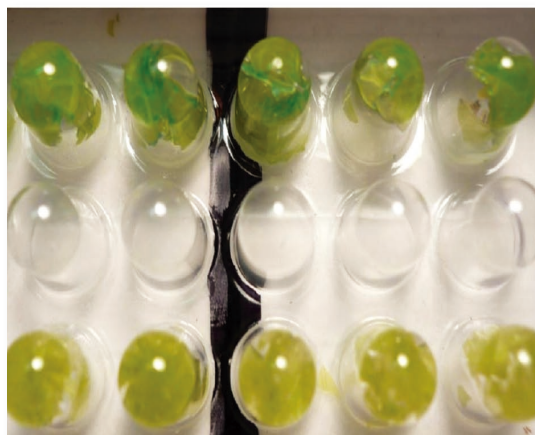
圖二、與Dr. Danies Gosavan（右二）及Mr. Melvin（左一）在太平洋灣研究中心會談後合影。



圖三、基因轉殖木瓜檢測方法，每一個96孔盤均事先黏貼好報表紙以方便記錄，每個樣品3重複。



圖四、基因轉殖木瓜Mr. Kenn示範快速檢測方法，於96孔盤滴入反應試劑，每個樣品3滴。



圖五、基因轉殖木瓜GUS快速檢測方法，上排為基因轉殖木瓜樣品，葉片組織經GUS染色後出現藍色條斑，下排為非基因轉殖木瓜樣品，不具藍色條斑。

中，放置於4°C冰箱中，攜回檢驗室進行檢測。

3. 檢測：以刀片將木瓜嫩葉將葉片切碎，無須太細碎，仔細將碎片移入檢驗盤中，每一樣品3重複。

4. 加入染劑：滴入已經調配好之GUS染劑（100mM phosphate buffer, 10mM Na₂EDTA, 0.5mM K₃Fe(CN)₆, 0.5mM K₄Fe(CN)₆, 0.1% Triton X-100, 10% MeOH, 0.3% x-gluc）3滴。

5. 保溫：以燈泡進行反應液與樣品之加溫與溫度保持，2小後檢視樣品是否呈現藍色，若呈現藍色則表示該樣品為基因轉殖木瓜。

6. 資料登錄：檢測結果必須進行記錄保存，若檢測結果為陽性反應（呈現藍色者）將會回到田間將該植株砍除，以避免不慎銷售至日本市場。

三、結語

夏威夷地區為全球商業化基因轉殖木瓜商業生產與研究重鎮，因此格外受到世界各地相關研究者之重視。根據夏威夷大學的研究，轉殖木瓜遺傳特性非常穩定，不易發生DNA斷裂或片段遺失的現象，甚至自然變異株也如此。因此，若是樣品針對NPTII、35S啟動子、CP基因或GUS基因的其中一項核酸檢測呈現陽性反應，就代表該樣品是轉殖植株。夏威夷設計利用GUS染色的快速檢測方式，是採由集貨場人員受訓後執行對果園的檢驗工作，其檢測密度為外銷果園逐株檢查，鑑於台灣亦進行基因轉殖木瓜的研究工作，我國亦應發展一套類似的快速檢驗方法，但由於我國的基因轉殖木瓜未帶有GUS基因，無法按照夏威夷模式進行檢測工作。尚需相關研究單位進一步研究，如何可以快速有效且費用低廉的檢測基因轉殖作物。