

# 基改作物檢驗技術開發及應用

楊藹華<sup>1</sup>、李文立<sup>2</sup>、陳國憲<sup>3</sup>、陳子婷<sup>3</sup>、沈翰祖<sup>4</sup>

## 摘要

面對來自國內外基改作物的衝擊，為確保傳統農作物栽培不受基改作物污染，建立我國基因轉殖作物檢測與監測體系，進行進口及本省玉米、番茄種子種苗檢測，此外，以國內自行研究發展的基改作物，抗輪點病毒病（papaya ring spot virus, PRSV）之基因轉殖木瓜與台農 2 號非基因轉殖木瓜為檢監測驗材料，期建立基因轉殖木瓜檢測平台。木瓜檢監測平台則結合國內學研單位，包括：農委會農糧署、種苗改良繁殖場、桃園區農業改良場、台南區農業改良場、花蓮區農業改良場、農業試驗所鳳山分所、中興大學等建立之「基因轉殖植物檢測監測小組」聯合檢測機制國內試驗研究機構，發展準確快速的檢測技術；未來基因改造作物的衝擊已勢不可免，確實執行相關管理法規、建立快速準確的檢測技術、明確區隔傳統與基改作物，以保護傳統農業、建立雙贏。

## 前言

人類應用育種技術改良生物特性，其最初目的，就是餵養全球人口，雖然在過去十年來，農作物單位面積的生產量明顯增加許多，但是面對未來愈來愈多的人口、水資源的減少以及土地利用的限制，2007 年 ISAAA (International Service for the Acquisition of Agribiotech Applications) 年度報告指出全球每人可耕作地之面積自 1966 年 0.45 公頃，預估至 2050 年將減至 0.15 公頃，減少三分之二，然而人口數則自 1999 年的 60 億人，預估至 2050 年全球將有 90 億人口，且其中之 90% 的人口生活在南半球，而這些大多數為農民和無地農業人口，甚至認為將有 8~13 億人口飽受飢餓、營養不良，因此全球農作物的生產力將倍受考驗。自 1983 年以來，利用生物技術以生產農業與人類有用之生物，即成為一種新興的科技，藉由基因重組之技術，將一特定基因片段轉入另一特定細胞中，改變細胞特性或遺傳物質，以符合人類之慾望；「GMO」這個名詞是這十年來在傳播媒體上經常可以被聽見或看到的，「GMO」到底是什麼呢？就是「基因改造生物體 (genetically modified organism, GMO)」，根據聯合國農糧組織/世界衛生組織 (FAO/WHO) 食品標準委員會 (Codex) 及歐盟法規之定義係指一遺傳物質被改變的生物，其改變的方式是透過基因操作技術，而不是以自然增殖及或自然重組的方式產生。其

<sup>1</sup> 行政院農業委員會台南區農業改良場研究員

<sup>2</sup> 行政院農業委員會農業試驗所鳳山分所助理研究員

<sup>3</sup> 行政院農業委員會台南區農業改良場助理研究員

<sup>4</sup> 行政院農業委員會種苗改良繁殖場副研究員

中針對農作物部份稱為「基因改造作物」(簡稱基改作物)、「轉基因作物」或「基因轉殖作物」等。1994 年第一個基改作物番茄上市後，開啟許多基改作物的研發，近十年來基因轉殖發展快速，給予生物技術無窮的希望，將抗蟲、抗病或耐殺草劑等基因轉殖至作物已普遍被應用。目前全球已有百種以上的基改作物品系，涵蓋的作物種類有數十種，其中以大豆、玉米、油菜、番茄、棉花為大宗，而黃豆是目前全世界基改作物栽培面積最多的作物，其次為玉米。依據 ISAAA 統計截至 2007 年全球種植基因改造作物面積達 1.143 億公頃，較 2006 年成長 12% (相當於 1.280 億公頃)，而種植面積超過 10 萬公頃的國家就有 13 個，其中美國、阿根廷、巴西、加拿大、印度、中國大陸為主要栽培國家，單單美國基改作物種植面積高達 5,770 萬公頃；然而面對大量出現的基因轉殖作物，如何有效管理是為目前當務之急。在各種基因轉殖作物商品化或國外之基改作物進入國內市場前，必須事先建立有效的評估系統及管理計畫，盡量降低基因轉殖作物可能造成之影響，除了對生態系統及消費意願之影響以外，某些重點外銷作物，例如木瓜，如未能妥善管理勢必對我國農產品國際形象及行銷造成影響。因此必須建立一套完整之檢驗系統，能快速檢測監測國內所種植之基改作物，保護傳統作物產業並維持國人健康及環境生態之完整性。

### 玉米、番茄作物種子、種苗之檢測

目前全球已有百種以上的基改作物品系，涵蓋的作物種類有數十種，其中以大豆、玉米、油菜、番茄、棉花為大宗。黃豆是目前全世界基改作物栽培面積最多的作物，玉米次於。基改黃豆多為耐殺草劑品項，可大致區分為耐嘉磷塞 (Glyphosate) 型及耐固殺草 (Glufosinate)，基改玉米則有不同的抗蟲與耐殺草劑轉殖品項，大致可區分出 Event176、Bt11、MON810、T25/T14 等品系。然而台灣地區除了食品用途的穀類進口受到把關之外，做為種子、種苗用途進口的作物似未受到同樣的關注，這些也有可能夾雜著基因改造作物，其所造成的環境與食品安全上的衝擊更是值得進一步追蹤。國內之番茄種子有許多是種苗商或貿易商自國外進口，而國際間已命名之基改番茄有六種轉殖品項，包括 1345-4 (DNA Tech 公司)、351N (Agritope 公司)、5345 (Monsanto 公司)、8338 (Monsanto 公司)、B-Da-F (Zeneca 公司)、及 FLAVR SAVR (Calgene 公司)，主要之特性延緩果實成熟基因或抑制果實軟化基因；台灣進口的甜玉米及番茄種苗是否夾雜有這些基改個體？有賴建立快速準確的檢測體系來加以把關。由國內、國外種苗公司購得玉米 (甜玉米為主) 及番茄品種，或由試驗研究機關取得品種進行試驗，共計取得 21 個玉米品種、42 個番茄品種 (表 1)。

表 1. 供試之玉米及番茄品種

Table 1. Maize and tomato cultivars used in this study.

品種(玉米)	來源	品種(番茄)	來源	品種(番茄)	來源
H5	台灣農產	Bolzano	DeRuiters Seeds	玉豐	和生種苗
H10	台灣農產	Campari	Enza Zaden	朱蜜	農友種苗
Honey 236	台灣農產	Chapeau	DeRuiters Seeds	朱鳳	農友種苗
MADONA	台灣農產	CHT1312	AVRDC	朱麗	農友種苗
Shimmer	台灣農產	Clarance	DeRuiters Seeds	秀珠	農友種苗
台南 22 號	朴子分場	Daydream	Enza Zaden	明珠	農友種苗
金美 2 號	和生種子	DRK909	DeRuiters Seeds	金光	農友種苗
金蜜	朴子分場	Elstar	Enza Zaden	金剛二號	農友種苗
夏蜜	和生種子	FA189	福埠實業	金珠	農友種苗
華珍	朴子分場	Lemance	DeRuiters Seeds	金龍	和生種苗
黑美珍	農友種苗	Lovett	Enza Zaden	春光	農友種苗
蜜珍二號	農友種苗	Nectar	Enza Zaden	紅瑞	和生種苗
蜜珍三號	農友種苗	Salomee	Enza Zaden	紅慧	和生種苗
興農 506	朴子分場	Sensacion	Enza Zaden	夏津	農友種苗
興農好滋味	台灣農產	Sensei	Enza Zaden	貴女	農友種苗
雙色金華	和生種子	Sunstream	Enza Zaden	黃水晶	和生種苗
雙色金蜜	和生種子	Tarantino	Enza Zaden	農友 301	農友種苗
坂田	台灣農產	Temptation	Enza Zaden	翠紅	農友種苗
坂田 610	台灣農產	T-1306	福埠實業	嬌女	農友種苗
夏強	台南場	Y73	台南場	聯珠	農友種苗
PopCorn	超市	四季紅	農友種苗	麗君	農友種苗

### 一、殺草劑耐藥性篩檢

在玉米的殺草劑耐藥性篩檢中，21 個供試的甜玉米品種，統一噴施殺草劑嘉磷塞及固殺草後，均完全枯萎死亡，僅進口的飼料玉米中出現耐藥性植株而存活（圖 1），顯示其中含有轉殖殺草劑耐性基因的轉殖玉米個體；耐性植株的比例，分別為耐嘉磷塞者約有 60%、耐固殺草者約有 10%，但此數據為單一批取得之進口飼料玉米的結果，不能代表全部之進口飼料玉米，因為國內學者亦曾就進口穀物進行檢測，發現飼料玉米中對殺草劑固殺草具耐藥性者佔極大部分；而國際間對於基因轉殖玉米的統計亦顯示，以對殺草劑固殺草、嘉磷塞之耐藥性是基因轉殖玉米之大宗。測試廣泛種植之國內甜玉米品種中，尚未發現有基因轉殖之玉米進入國內，但由於玉米之花粉極容易隨風飄散，未來或可能有遭到基因轉殖玉米花粉污染之一般玉米進入國內，必須持續加強監測。

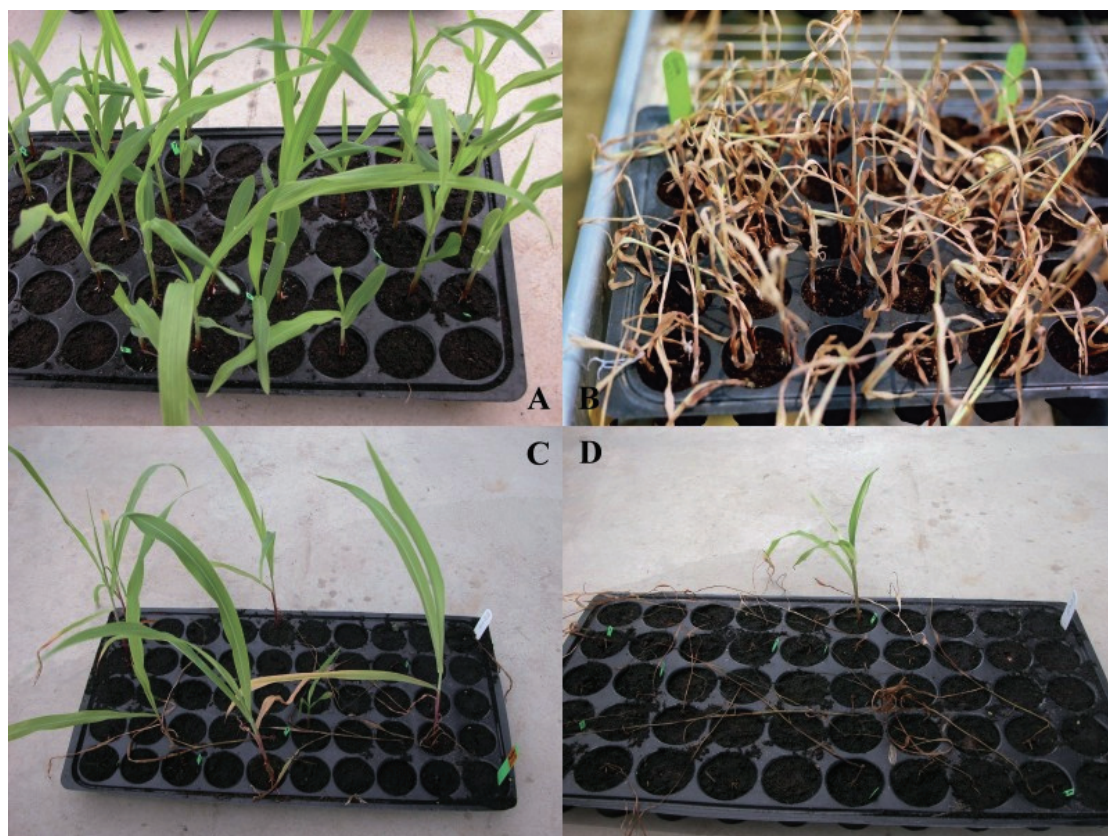


圖 1. 玉米殺草劑耐藥性篩檢。(A)以育苗盤培育玉米植株，進行殺草劑噴施試驗。(B)非基因轉殖玉米噴施殺草劑後枯萎死亡；部份進口飼料玉米於噴施殺草劑(C)嘉磷塞 (Glyphosate)、及(D)固殺草 (Glufosinate) 後有耐藥型植株存活。

Fig. 1. Maize herbicide-tolerance detection. (A) Maize seedlings used in study. (B) Non-GM maize died after herbicide application. Some imported feed corn showed herbicide-tolerance after (C) glyphosate and (D) glufosinate application.

## 二、外源 DNA 序列之檢測

基因轉殖植物乃是科學家利用人為方式，將所需要的基因送入目標植物中表現，而在進行這樣的轉殖事件時，一些原本不屬於目標植物的基因或 DNA 序列就會進入植物基因組中，這樣的基因或 DNA 稱之為外源 DNA；因此檢測外源 DNA 序列亦成為基因轉殖植物檢測最重要而方便的技術。目前多數之基改品系均使用 CaMV 35S promoter 或 NOS terminator 來進行轉殖基因的調控，因此在轉殖植株中均會存在這樣的序列，利用針對 CaMV 35S promoter 或 NOS terminator 序列設計的專一性引子，便可檢測出是否為基因轉殖植物。在供試的 21 種甜玉米品種及 42 個番茄品種中，均未在 35S promoter 及 NOS terminator 的 PCR 檢測中出現預期的增幅 DNA 片段（表 2），只有在進口飼料玉米中分別檢測出 35S 的 195bp 及 NOS 的 180bp（圖 2、圖 3）。

隨著基因轉殖植物品項（transgenic events）愈來愈多，以及愈來愈多樣化，35S promoter 及 NOS terminator 的檢測將不敷需求，因此未來必須發展更專一性的檢測技術、涵蓋多樣化的調控序列的檢測技術、以及快速簡便的檢測方法，才能真正做到精確的監測工作。

## 三、基因轉殖木瓜之檢測

我國尚未正式核准基因改造作物的商業種植，台灣基因轉殖作物之研發均需經過生物安全評估，目前國內進行生物安全評估隔離試驗之作物包括 1 種馬鈴薯、3 個番茄品系、3 種水稻與基因轉殖木瓜 2 種等，為建立我國基因轉殖作物檢測與監測體系，以國內抗輪點病毒病（papaya ring spot virus, PRSV）之基因轉殖木瓜與台農 2 號非基因轉殖木瓜為試驗材料，以期建立基因轉殖木瓜檢測平台。本平台結合國內學研單位，包括：農委會農糧署、種苗改良繁殖場、桃園區農業改良場、台南區農業改良場、花蓮區農業改良場、農業試驗所鳳山分所、中興大學等建立之「基因轉殖植物檢測監測小組」聯合檢測機制。轉殖木瓜的檢測方式是利用聚合酵素鏈鎖反應法（PCR）配合電泳分析，檢測「抗輪點病毒病基因轉殖木瓜」（簡稱「單抗木瓜」），檢測方法依據包慧俊博士「木瓜輪點病毒鞘蛋白轉基因木瓜抗病性狀之研究」博士論文。先檢測作為內部對照之 Papain gene，PCR 增幅產物大小為 211 bp。其次檢測 *nptII* gene 與 *PRSV-CP* gene，以鑑定是否為基因轉殖木瓜，其 PCR 增幅產物大小分別為 1039 bp 與 840 bp。檢測「雙重抗木瓜輪點病毒及木瓜畸葉嵌紋病毒性狀基因轉殖木瓜」（簡稱「雙抗木瓜」），檢測核酸引子由國立中興大學葉錫東教授所提供。同上先檢測 Papain gene，再檢測 *nptII* gene。最後檢測轉殖目標片段 PRSV 與 PLDMV 鞘蛋白的基因（合稱為 *PY16-CP* gene），預期之 PCR 增幅產物為 1304 bp。確定為雙抗木瓜後，使進一步利用「雙重抗木瓜輪點病毒及木瓜畸葉嵌紋病毒性狀基因轉殖木瓜」三個品系（TPY10-4、TPY12-4、TPY14-1）不同的專一性的 PCR 引子鑑別之，TPY10-4 品

表 2. 供試之玉米及番茄品種經 PCR 檢測之結果

Table 2. PCR results of maize and tomato in 35S and NOS detection.

品種(玉米)	35S	NOS	品種(番茄)	35S	NOS	品種(番茄)	35S	NOS
H5	—	—	Bolzano	—	—	玉豐	—	—
H10	—	—	Campari	—	—	朱蜜	—	—
Honey 236	—	—	Chapeau	—	—	朱鳳	—	—
MADONA	—	—	CHT1312	—	—	朱麗	—	—
Shimmer	—	—	Clarance	—	—	秀珠	—	—
台南 22 號	—	—	Daydream	—	—	明珠	—	—
金美 2 號	—	—	DRK909	—	—	金光	—	—
金蜜	—	—	Elstar	—	—	金剛二號	—	—
夏蜜	—	—	FA189	—	—	金珠	—	—
華珍	—	—	Lemance	—	—	金龍	—	—
黑美珍	—	—	Lovett	—	—	春光	—	—
蜜珍二號	—	—	Nectar	—	—	紅瑞	—	—
蜜珍三號	—	—	Salomee	—	—	紅慧	—	—
興農 506	—	—	Sensacion	—	—	夏津	—	—
興農好滋味	—	—	Sensei	—	—	貴女	—	—
雙色金華	—	—	Sunstream	—	—	黃水晶	—	—
雙色金蜜	—	—	Tarantino	—	—	農友 301	—	—
坂田	—	—	Temptation	—	—	翠紅	—	—
坂田 610	—	—	T-1306	—	—	嬌女	—	—
夏強	—	—	Y73	—	—	聯珠	—	—
PopCorn	—	—	四季紅	—	—	麗君	—	—
FeedCorn	+	+	(進口飼料玉米)					

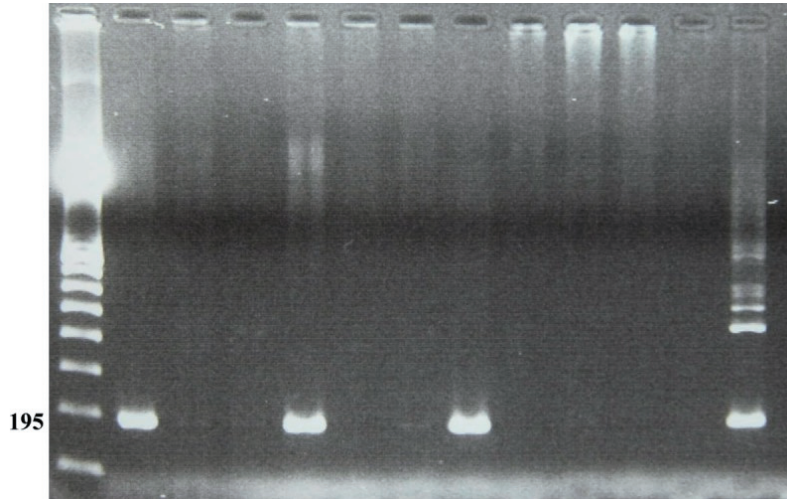


圖 2. 進口飼料玉米以 PCR 檢測 CaMV 35S 啟動子之結果  
Fig. 2. CaMV 35S promoter detection of imported feed corn by PCR.

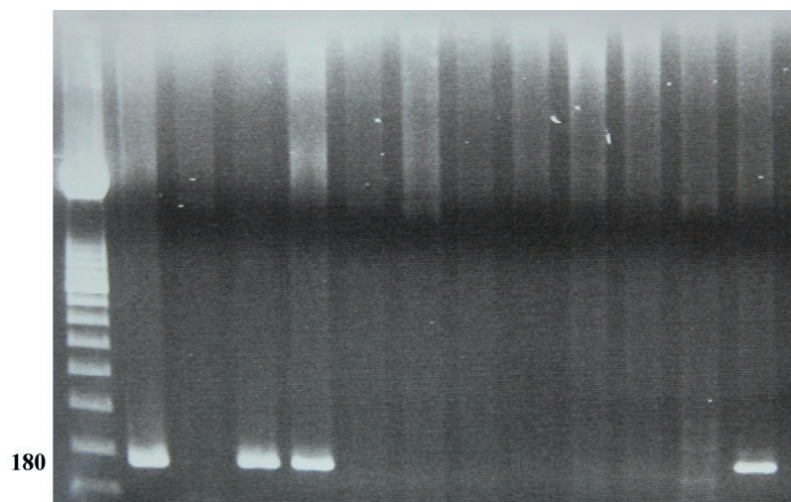


圖 3. 進口飼料玉米以 PCR 檢測 NOS 終止子之結果  
Fig. 3. NOS terminator detection of imported feed corn by PCR.

系之PCR 增幅產物大小為492 bp，TPY12-4品系之PCR 增幅產物大小為769 bp，TPY14-1品系之PCR 增幅產物大小為537 bp。

經多次測試已建立「抗輪點病毒病基因轉殖木瓜標準檢測監測模式」與「雙重抗木瓜輪點病毒及木瓜畸葉嵌紋病毒性狀基因轉殖木瓜標準檢測監測模式」，且通過農委會「基因轉殖植物審議委員會」審議，成為我國基因轉殖木瓜檢測標準。監測體系是由檢測監測小組各成員，進行全臺灣木瓜種苗取樣檢測，並根據各單檢測結果分析轉殖木瓜種苗之栽培現況並建立衛星定位座標資料庫，以達追蹤管控與監測之目的。

### 結語

國際間對基因改造作物反彈聲浪不斷，但基改作物的研發與種植面積仍大幅擴張，國內面對基因改造作物的衝擊已不可避免，我國為有效管理基因轉殖作物，已於植物品種及種苗法的架構下，制定基因轉殖植物田間試驗管理規範，管理基改作物進出口及相關試驗研究。有關基改作物之進出口管理，現階段將採行境內管理措施，針對較可能進口之基改作物，包括稻米、馬鈴薯、油菜、番茄、甜玉米及木瓜等作物，由相關試驗研究單位建立檢測平台，實際檢測種子或種苗是否為基改作物，並採取適當管理措施為目前積極進行之工作。未來並持續依此架構建立其他不同基改作物的檢測平台，確實執行管理法規、研發快速準確的檢測技術，簡化基因轉殖作物之檢測流程，提升檢測效率，確保基改作物與傳統作物之雙贏。

### 參考文獻

1. 包慧俊. 2000. 木瓜輪點病毒鞘蛋白轉基因木瓜抗病性狀之研究. 國立中興大學植物病理學研究所博士論文.
2. 林澤揚、蔡淑貞、葉錫東、王叔苑、施養志. 2001. GM-木瓜鑑別檢驗方法之探討與研究. 基因改造食品之檢測與管理研討會專刊 98-113頁. 行政院衛生署藥物食品檢驗局印. 台灣台北.
3. 沈翰祖、陳駿季、邱展台、羅致述、李文立、張隆仁、林新強、楊藹華、王雲平、陳富永、王啟正、方繼、郭寶錚、包慧俊. 2006. 基因轉殖作物檢測監測體系之建立. 農業生技產業季刊 5: 35-40.
4. 沈翰祖、孫永偉、陳駿季. 2007. 轉殖抗輪點病毒病鞘蛋白基因木瓜檢測能力之建立. 種苗科技專訊 60: 6-11.
5. 袁秋英、蔣慕琰. 2002. 進口大豆抗嘉磷塞殺草劑之測定及其基因特性之探討. 台灣農業化學與食品科學 40: 119-128.
6. 袁秋英、謝玉貞、蔣慕琰. 2003. 台灣市售飼料玉米抗固殺草基因特性及檢測



- 利用之探討. 植保會刊 45: 329-342.
7. 行政院衛生署藥物食品檢驗局基因改造食品檢驗專欄. 2009. <http://gmo.doh.gov.tw/>
  8. Bau, H. J., Y. H. Cheng, T. A. Yu, J. S. Yang, and S. D. Yeh. 2003. Broad-spectrum resistance to different geographic strains of papaya ringspot virus in coat protein gene transgenic papaya. *Phytopathology* 93: 112-120.
  9. Chiueh, L. C., Y.L. Chen, J. H. Yu, and D. Y. C. Shih. 2001. Detection of four types of genetically modified maize by polymerase chain reaction and immuno-kit methods. *J. Food Drug Anal.* 9: 50-57.
  10. Chiueh, L. C., Y. L. Chen, and D. Y. C. Shih. 2002. Study on the detection method of six varieties of genetically modified maize and processed foods. *J. Food Drug Anal.* 10: 25-33.
  11. GM database from AGBIOS. 2009. <http://64.26.159.139/dbase.php/>
  12. Lin, H. Y., L. C. Chiueh, and D.Y. C. Shih. 2000. Detection of genetically modified soybeans and maize by the polymerase chain reaction method. *J. Food Drug Anal.* 8: 200-207.
  13. Lin, H. Y., J. W. Chiang, and D. Y. C. Shih. 2001. Detection of genetically modified soybeans by PCR method and immunoassay kits. *J. Food Drug Anal.* 9: 160-166.

