

基因轉殖作物花粉流佈測量技術的原理、方法與趨勢*

陳烈夫**、呂秀英***、魏夢麗***、呂椿棠***

*行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2224 號

**行政院農業委員會農業試驗所農場管理組助理研究員

***行政院農業委員會農業試驗所農藝組研究員、助理研究員及助理研究員

Principles, Methods and Trends of Measurement Technology for Pollen Flow in Transgenic Crops

Chan Lit-Fu, Hsiu-Ying Lu, Meng-Li Wei and Chun-Tang Lu

關鍵詞：基因轉殖作物；花粉流佈；基因流佈；花粉活性測定；分子標記；螢光染色；預測模式

Key words: Transgenic crops; Pollen flow; Gene flow; Pollen vitality detection; Molecular markers; Fluorescence dyeing; Prediction model

通訊地址：台中縣霧峰鄉中正路 189 號 農業試驗所

聯絡電話：04-23302301#125

Email: iying@wufeng.tari.gov.tw (呂秀英)

一、前言

基因轉殖作物生態環境風險評估之目的，是要透過適當的原則、程序與方法，評估基因轉殖作物與其產品在研究開發、種植利用與越境轉移等各階段過程中，可能對環境以至人類健康產生的不良影響，力求對這些風險提供可靠的定性與定量預測，並適時透過適當的機制以及與評估相適應的技術措施實行管理，使其風險降至最低程度。因此基因轉殖作物之生態風險評估是一項技術性很高的工作，需要有不同學科知識的專家參與(呂等，2002；Ellstrand, 2003；陳等，2004a, b)。Kjellsson 和 Simonsen(1994)以生態學的角度與概念，研提出基因轉殖作物生態風險評估流程圖與個別層次(包括基因與染色體層次、個體層次、種群層次、生態系統層次)之評估內容與方法，不同層次間所需要的背景資料與試驗數據，其評估重點各有不同亦各有所偏重。一般在受體作物方面，所要求的資料須包括有分類學、植物進化歷程、生活史特性、競爭能力(雜草化)、授粉與基因轉殖間之作用關係、繁殖方式、移植與棲息地之選擇等相關資料；而在環境安全方面，則包括有自然生態類型、繁殖傳播途徑及其他植物親和性等相關資料(Kjellsson and Simonsen, 1994；Kjellsson *et al.*, 1997)。這些資料基本上與基因流佈(gene flow)或花粉流佈(pollen flow)密切相關的就佔有多項，如作物間競爭能力(雜草化)、授粉與基因轉殖間之作用關係、繁殖方式、繁殖傳播途徑及其他植物親和性等均與花粉流佈有關。研究花粉流佈是基因轉殖作物田間釋放生態安全性評估的重要內容。早在半個世紀以前，植物育種學家就進行了有關如何保護作物不受外來花粉污染之研究，其主要是以外來花粉與保護作物雜交的頻率(有性生殖)來確定授粉隔離距離(Wright, 1943)，而現今主要的農作物大都進行了授粉隔離距離之研究，然而，授粉距離受諸多因素之影響，故引用在基因轉殖作物安全性時仍需作進一步的驗證。現階段由於分子生物技術之改進，利用螢光顯微或分子標記等相關技術，可精確地測量基因轉殖作物花粉流佈情形，此項關鍵性技術可提供最直接的證據，並可作為評估生態風險指標之一(Stone *et al.*, 1995；Dale, 2002；Messeguer,

2003)。因此，本文主要的目的是針對基因轉殖作物花粉流佈測量技術之原理、方法與趨勢，作一整體性的論述與分析，文中並加以強調花粉流佈之資料量化評估及模式化的重要性，藉以提供生態環境風險評估之參考依據。

二、基因流佈與花粉流佈的理論基礎

基因流佈係指物種與物種或不同生物群體之間遺傳物質的轉移，可藉由花粉、種子或無性繁殖體相互導入基因所引起。因此，可將基因流佈定義為基因從一群體之基因庫轉移至另一群體之基因庫，而這種轉移是自然群體中遺傳結構的主要決定因素(Cresswell, 2003；Messeguer, 2003)。不同作物有不同的授粉模式與種子傳播模式，兩者都可作為基因轉殖逃逸的載體(Tufto *et al.*, 1997；Meagher *et al.*, 2003)。但需明確指出的是基因流佈並不是專屬於基因轉殖作物所特有的，而是生物界常見的現象，也是生物進化的推動力之一(Kjellsson and Simonsen, 1994；Dale and Irwin, 1995；Kjellsson *et al.*, 1997；Ellstrand, 2003)。

由於目前大多數基因轉殖作物的培育採用組成型啟動子，使得外源目的基因在所有組織和器官中均有表達，因此基因轉殖作物透過花粉流佈將其修飾基因轉移到近緣種中是基因流佈的主要模式，無論是風媒、水媒甚至以生物為媒介(蟲媒)之花粉流佈，都是一種動態的過程，且型態分佈一般多屬於尖峰分布(leptokurtic distribution) (Cresswell, 2003)。廣義而言，雜交可以定義為遺傳上不同個體之間的雜交，這些不同個體可以是一個到數個基因的差異，也可以是很多基因的差異，有時甚至在遺傳上有極大的差異(如種間雜交)。物種內的雜交非常普遍，而物種間的雜交有時也會發生。理論上只要大量種植基因轉殖作物，而且附近存在與該作物有性親和的近緣種或野生種時，就會透過花粉傳播給這些近緣植物，產生基因轉殖作物與這些近緣植物的雜種。而雜種在當代的基因組中，有一半遺傳物質來自於基因轉殖作物，另一半來自近緣植物。如果這些雜種具有稔性並能產生後代，就有可能透過與近緣種或野生種連續回交(backcross)，外源基因在近緣

物種或野生種群體中固定，其轉入基因頻率有下降之理論趨勢，如圖 1 所示(曾，2004)。

但植物個體間的雜交和基因流佈受到生物及環境諸多因素的影響(Bhatia and Mitra, 2003；Ellstrand, 2003)，茲加以整理並分述如下：

(一) 花粉源之大小：作物間或作物與野生物種間的授粉作用與花粉源有關。例如，

Klein *et al.* (2003)利用模型估算不同空間設計之玉米花粉傳播模式，顯示出從一玉米田向另一玉米田授粉之頻率取決於兩玉米田之大小。

(二) 授粉之受體與載體：在花粉傳播範圍內是否存在與花粉源作物雜交親和的其

他栽培品種、地方品種、野生種及相關雜草作為基因流佈的花粉受體。授粉模式為自花或異花授粉，亦影響著基因流佈的程度。花粉既可透過風力及空氣流動作為載體進行傳播，也可透過昆蟲進行傳播，如油菜等作物的花粉，可以透過風媒或蟲媒傳播到很遠的距離。由於天氣可以影響授粉昆蟲的習性及風媒授粉的花粉移動，因此不同作物、不同日期其花粉傳播情況不同，進而授粉情況也顯著不同。

(三) 環境因素：花粉傳播受到天氣、當地環境和物理隔離之影響甚鉅。氣候之影

響如溫度、相對濕度、光照、風、雨等，尤其在開花期花粉維持活性的時間內，風力大小對花粉的傳播距離具有重要的影響。當地環境如植物冠層、周圍植被與地形等，亦影響花粉傳播模式；風速與空氣流動受地形的影響，並可能進而影響花粉從花粉源到受體植物之移動。物理隔離如樹木與圍籬，可透過減少空氣流動，而對花粉產生過濾作用，減少兩側作物間之花粉流佈，特別是密集的灌木叢、草地、樹木的葉子可以捕獲各種隨空氣流動的粒子，包括花粉在內。相關野生種與雜草之授粉途徑所影響的重要環境因素不盡相同，如風媒主要受到風向與風速及由此決定之花粉傳播距離的影響，蟲媒花粉源與花粉受體植物則與同種蜜源授粉昆蟲之移動距離有關，水媒花粉源則受到流體動力學之碰撞機率影響其授粉效率。

(四) 花粉活性與競爭能力：花粉活力是雜交成功的先決因子，植物產生有活性花

粉能力與花粉維持活性的時間等生物因素，均會影響授粉的成功與否。若花粉活性差，其與受體植物產生的新鮮花粉的競爭能力就差。但不同植物的花粉活性差別很大，同時花粉活性受到環境因素如溫度、濕度的影響也很大。花粉一旦落在受體柱頭上，其沈積數量、花粉管之萌發生長情況和花粉管長度，甚至於花粉管能否到達胚囊並與卵子完成受精過程，都可能影響雜交成功率。

(五) 花期相遇程度：花粉供體與受體作物的花期必須有一定的重疊期，成熟花粉與受體柱頭在同一時間形成，才有較高的雜交率發生，若花期相遇程度不高，自花授粉作物已經自花授粉，則發生雜交的頻率就會相對降低。

(六) 作物遠緣雜交：雜交率與基因流佈頻率呈顯著的正相關，此說明了不同作物要求不同的隔離距離。如小麥是典型的自花授粉作物，雜交率小於2%，而油菜不但自交可稔且可蟲媒授粉，其花粉還可借助空氣流動而傳播到順風方向數公里之外，因此在自然條件下，油菜的基因流佈頻率遠大於小麥的基因流佈頻率。花粉源與花粉受體植物染色體之數目與大小，以及受精卵能否結實、雜種種子的活性及稔性，均影響基因流佈頻率。除此，不稔後代的多倍體化及重覆回交也可選擇出可稔的雜交種後代。

一般認為外源基因逃逸的發生必須滿足以下幾個條件：(1) 空間上，基因轉殖作物與非基因轉殖作物或其野生近緣種的分布區域重疊或相鄰生長；(2) 時間上，基因轉殖作物與非基因轉殖作物或其野生近緣種花期相遇，包括一年內之開花時段與一天內之開花授粉時間；(3) 栽培作物與相關野生近緣種在生物學上有一定的雜交親和性，且雜種後代能正常繁殖。因此，瞭解基因轉殖作物與非基因轉殖作物或其野生近緣種的地理分布、開花習性、親緣關係、基因流佈等資料，將有助於預測及控制生態風險(黃及郭，2000)。

三、測量基因轉殖作物花粉流佈的傳統方法

在研究基因轉殖作物之花粉傳播距離時，學者一般採用不同方向、不同距離上基因轉殖作物花粉與非基因轉殖作物雜交的頻率，來確定不同基因轉殖作物的授粉距離。當然，基因轉殖作物花粉流佈的測定方法可以是多種或多樣化的，包括親本（來源）分析、花粉計量與收集、花粉活性測定等(Kjellsson and Simonsen, 1994；Kjellsson *et al.*, 1997)。目前主要運用親本(來源)分析法，來研究基因轉殖作物花粉流佈。茲將各種研究方法簡述如下：

(一)親本(來源)分析：目的在分辨出特定基因型母株所產生的種子存有可能父本(即可能的花粉供體)之特性，用以鑒定基因流佈之存在。操作方法一般是先在試驗地中心設置一個基因轉殖作物試驗區，然後在其周圍種植非基因轉殖作物或其近緣種，最後於作物成熟期在不同方向的不同距離上取一定面積的樣品，或取一定數量的植株或種子果實，分析成熟種子或果實中基因轉殖存在的頻率，即可作為基因轉殖作物的授粉頻率(Kjellsson *et al.*, 1997)。

(二)花粉計量與收集：目的在測量空氣中的花粉數，可以用來估計花粉之產量，其數值可表示出某一區域中、特定時間內存在於空氣中的所有花粉濃度或花粉數，若配合花粉收集則可作為推測花粉遠距離移動模式之研究(Tufto *et al.*, 1997；Meagher *et al.*, 2003)。較簡單的操作方法是以設在離地面 10 公尺的花粉收集器來進行評估花粉長距離之移動，收集器可旋轉 360 度並配一裝置使其正對風向，其測量的基礎是以 24 小時內在每立方公尺的空氣中所收集到花粉粒的總量。花粉計量與收集雖是一種粗略且時時變動的估計值，但在時間序列之分析上具有實際的參考價值(Timmons *et al.*, 1995)。

(三)花粉活性測定：花粉活性影響著授粉之效果，研究花粉活性的一個直接的方法是實驗性授粉，而以種子或果實的形成作為花粉活性的測度。花粉活性的一般測定原理為(1)測定花粉之呼吸作用或其濾出液之化學電導率；(2)根據胞質之有無以及酶之活性進行染色測定；(3)根據脯胺酸含量的差異進行測定；(4)以形成有效種子之能力為基準進行測定；(5)用無機酸刺激花粉形成瞬時花粉管，根據此現象判斷花粉活性(Gelderen *et al.*, 1994)；而各種方

法會因作物不同其反應亦會有所差異(Khatun and Flowers, 1995; Lavigne *et al.*, 1998)。花粉活性測定的方法，通常可分為萌發測定與不萌發測定(化學染色法)兩種，而萌發測定又包括植物體內萌發(*in vivo*)及離體培養基萌發(*in vitro*)，茲分述如下：

1. 萌發測定：

- (1) 植物體內萌發：基本原理是根據花粉在柱頭上萌發率判斷其活性，即具有花粉管的花粉粒能被固定在柱頭上，並且不會被沖洗掉落，故可透過沖洗柱頭並比較沖洗前後柱頭上的花粉粒數目來推測其萌發率。但這種方式只是模擬自然狀態下的受精狀況，僅限於柱頭上測定，且僅適合於感受性柱頭，測定之結果可能偏低，另外柱頭之表面性質對所測試樣品有所限制(Moore and Webb, 1991)。
- (2) 離體培養基萌發：基本原理是根據花粉離體培養時之萌發率來判斷其活性，可完全定量，但需要在一定的溫度與培養條件下進行，各種培養基之配製與培養條件有差異時測定結果相差較大，於缺乏活性之生殖核時，若為受生殖核控制的花粉萌發仍可進行，花粉不萌發的情況下，也可能有受精與結實的功能(Rodriguez-Riano and Dafni, 2000; Tuinstra and Wedel, 2000; Wang *et al.*, 2004)。

2. 不萌發測定(化學染色法)：

- (1) TTC 測定法(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride test)：TTC 是一種氧化還原染劑，其基本原理是藉由花粉中呼吸酶之活躍情況，可反映出其活性之強弱，同時氧化還原染劑能在呼吸酶(respiratory enzyme)之作用下著色，因此可依據著色情況來判斷花粉之活性(Shivanna *et al.*, 1991)。
- (2) 螢光染劑反應測定法(fluorochrome reaction)：基本原理是螢光染劑本身不產生螢光、無極性，可自由透過完整的原生質膜，當此種染劑進入原生質後，即被酯酶作用(esterase reaction)而形成一種能產生螢光的極性物質(螢光素)，並且這種物質不能自由進出原生質膜，而只在細胞內累積，

故可以根據花粉產生螢光的情況判斷花粉活性，該法可同時反映出酶的活性及質膜情況兩種指標(Song *et al.*, 2002)。

- (3) 無機酸測定法(non-organic acid)：基本原理是藉由酸性物質對花粉質膜具有刺激性作用，可使質膜變得非常脆弱，通透性也增大，以致大量地吸收氫離子，使內壓迅速升高並導致質膜膨脹，最後活性花粉的胞質內含物就會噴出，形成瞬時花粉管。此測定法中所使用之無機酸為硝酸及硫酸，而鹽酸不適用於此法(Shivanna *et al.*, 1991)。
- (4) *p*-苯二胺測定法(*p*-Phenylenediamine)：基本原理是透過檢測一種新的過氧化物酶的存在與否來判斷花粉活性，有活性之花粉會被完全染成黑色(Shivanna *et al.*, 1991)。
- (5) 螢光顯微鏡技術(fluorescence microscopy)：基本原理是以具螢光染料之水溶性苯胺藍(aniline blue)溶液，其可與花粉管之孢粉質外壁細胞層(sporopollenin)特異性結合，在 356nm 左右之紫外線激發下呈明亮的黃綠色，可判斷花粉粒在柱頭上的萌發以及花粉管在雌蕊組織中的生長情形，並可進行觀察及攝影記錄(Song *et al.*, 2004)。

嚴格來說，花粉計量與收集、活性測定(化學)等方法，並不能充分闡明花粉在該距離上的授粉能力，而僅能表示出花粉有效漂移距離的概念。由於基因流佈的發生是取決於花粉到達受體時的授粉活性與競爭能力，亦即包括受體柱頭對花粉的選擇性，故以其在競爭情形下花粉有效漂移距離的結果，較為真實地反映出基因轉殖作物於田間種植時可能發生的情況。

四、測量基因轉殖作物花粉流佈的標記新技術

在基因轉殖作物花粉流佈標記方面，花粉作為植物有性生殖過程中的雄性供體，其散佈範圍直接影響植物的交配模式與群體的遺傳結構，由於花粉的運動肉眼不易觀察，因此標記花粉運動的方法一直是授粉生物學中的關鍵技術。標記花

粉的方法隨著授粉生物學研究的進展不斷進步(Real, 1983; Richard, 1986; 黃及郭, 1999)。目前使用較多的花粉流佈標記方法是分子標記與螢光染色。儘管已有多種分子標記的技術被用來研究花粉的運動，包括同功酶(isozyme)、微衛星DNA(microsatellite DNA)、隨機複製多型性DNA(random amplified polymorphism DNA, RAPD)等，透過子代中檢測存在於親本群體中的非隨機分佈之基因來進行父本分析，即透過花粉攜帶的基因流佈估計花粉流佈，但由於授粉後事件如不親和性、胚胎或種子不稔等的存在，用分子標記進行子代分析的方法所檢測出結果可能低估了實際的花粉流佈(Austerlitz *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2004)。

而進行花粉粒的染色標記，不僅可觀測植物花粉散佈的距離與花粉的流向，而且可觀測花粉流佈之強度，這是用分子標記的方法所無法獲得的訊息。同時，運用花粉粒染色法標記花粉流佈，可直接觀察標記發生在自花、同株異花、異株異花之間的花粉運動，在野外操作時相當簡易(Neigel, 1997; Messeguer *et al.*, 2001; Austerlitz *et al.*, 2004)。

然而任何一種方法都有其侷限性，花粉粒染色法直接對花藥中的花粉粒染色，然後觀察柱頭的授粉情況，因此對有些花藥或柱頭深藏於花中的植物，操作起來比花藥柱頭顯露的花麻煩。另外，用染液給花粉粒染色時，有些植物如油茶等的花粉很容易黏附而不留置在花藥中，類似問題亟需採取新的解決方法。即使用螢光染色，也可能遇到操作麻煩的種類群組。而分子標記的方法不但可顯示授粉的遺傳結果，且避開了這些不利因素，但分子標記的方法檢測的是授粉的遺傳結果，所以不可避免地會遺漏了授粉過程中的一些重要訊息，如對自花與同株異花之間的授粉則無法加以鑑別。

某些測定方法的穩定性可能較差，尤其是染色反應效果較不理想，故有學者仍然認為測定花粉受精之有效性與種子形成比率較為精確，但必須注意的是，不形成種子並不代表其花粉無活性，這是使用傳統方法的缺點(Shivanna *et al.*, 1991; Rodriguez-Riano and Dafni, 2000)，除此，花粉活性並不完全等於萌發率，因為具有萌發能力的花粉，在其授粉後不一定能正常結實，故在測定花粉活性

時，需要根據具體目的、樣品特徵及花粉發育時期等因素，選擇最適合的測定方法。

五、花粉流佈資料的量化評估及模式化

在花粉流佈研究方面，不同作物的基因轉殖授粉距離各有差別，如基因轉殖油菜、馬鈴薯、芥菜、棉花、向日葵花粉的流佈距離分別為 12、20、35、100、1000 公尺，這與特定作物的生物學授粉特性有關 (Dale and Irwin, 1995; Eastham and Sweet, 2002)。而同一種作物不同試驗所估測的隔離距離亦有很大的變異性，如原來對基因轉殖馬鈴薯隔離距離的估計達到 600 公尺，而現在則不到 50 公尺，這可能與周圍植被的類型與密度、其他植物的開花期、氣象條件等因素有關 (Tynan *et al.*, 1990)。種植面積亦可影響基因轉殖的授粉距離，若種植面積為 75 平方公尺的基因轉殖油菜授粉距離，發現距離基因轉殖試驗區 1 公尺及 3 公尺處之基因轉殖花粉的雜交頻率分別為 1.5% 及 0.4%，在 47 公尺處則下降到 0.00033%；而在 400 平方公尺的研究中，其結果與前者有較大的差異，200 公尺處的雜交頻率為 0.0156%，在 400 公尺處仍可檢測出花粉 (Scheffler *et al.*, 1993)。Timmons *et al.* (1995) 亦發現距離基因轉殖油菜 (種植面積為 10 公頃) 試驗區 360 公尺處的花粉密度只降到種植邊緣的 10%，在 1500 公尺處仍計算出每立方公尺有 22 粒的花粉。而花粉授粉距離與授粉途徑 (包括風媒與蟲媒途徑) 兩者間亦有密切相關 (Rissler and Mellon, 1996; Rognli *et al.*, 2000)。這些結果充分說明了在田間應作詳細觀測，並將資料量化，才能確實瞭解基因轉殖作物對環境的影響。而目前的描述性、觀察性研究還不能滿足生態後果評估的需求，應進行實驗研究及建立模式來對轉殖基因逃逸可能帶來的生態後果進行長期的模擬研究。

模式在生態風險評估及監測的重要性是顯而易見的，因為風險評估是根據有限的已知資料來預測未知後果的過程，這就需要應用大量的數學模式才能完成。長期以來不少歐洲國家已在建立花粉流佈模式方面進行大量的研究，對於基因流

佈、生態適合度、生態後果等模式的研究也正在進行之中。Bateman 於 1947 年最早提出了距離對風媒和蟲媒傳播花粉污染影響的三個方程式，並將其近似地合併成一個為 $F=ye^{-KD}/D$ ， F 為花粉污染之比率， D 為距離， y 為零隔離距離時之污染。進而 Manasse (1992) 以此為基礎，在假設污染花粉以固定機率傳播的情況下，提出了評價基因流佈的指數模式，以評價基因轉殖作物與其野生親緣種間的基因流佈。隨後 Kareiva *et al.* (1994) 提出一個類似於 Manasse 之指數模式的可靠性函數 (reliability function)，以描述污染花粉傳播的機率會隨著隔離距離而異。對於風險評估而言，需要的不是在某一距離上的傳播花粉頻度，因此 Gliddon *et al.* (1997) 進一步使用累積密度函數 (cumulative density function) 所建立的模型，來描述一個轉殖基因在一個或幾個方向上流佈到某一特定距離以外的可能。為管理及監測法國農作環境下之除草劑耐性油菜品種，從而將一個農作區之耕作制度對基因轉殖油菜品種基因流佈之影響予以量化，Colbach *et al.* (2001a, b) 建立了 GeneSys 模式：這個模型輸入之變量影響著基因轉殖除草劑耐性品種與常規之除草劑敏感品種的生長與發育，在整個生活史中，可依據開花時間、試區形狀及間距、試區間可以交換花粉及種子之數量，以模擬植株之年生活史（種子庫-幼苗-成株-開花-結實）等；而輸出變量則以模擬開始後 50 年試區之種子庫、成株與種子產量，每階段均需統計試區每平方公尺之植株個體數及植株之基因型組成成份，藉此提供對策以追蹤及監測基因轉殖作物之基因流佈。Lavigne *et al.* (2002) 認為野生種所佔面積通常較基因轉殖作物為少，轉殖基因經由風媒傳播花粉到野生種的授粉率因而偏低，不易取得雜交種子，因此在假設基因轉殖作物與其野生近緣種都具有相同的花粉傳播函數且傳播對稱的情況下，利用反向基因流佈 (inverse gene flow) 的觀念，即由野生種基因流佈到基因轉殖作物，來反向推測轉殖基因由基因轉殖作物逃逸到野生種的風險機率；該模式並已成功地運用到基因轉殖甜菜之基因流佈的風險監測上。Kawashima *et al.* (2004) 指出，較強的風有利於花粉散出，但穩定的風向則導致花粉集中沉降在田區背風處，而實際上花粉沉降同時受到風速和風向之影響，由於玉米花粉的傳播及沉降與田區距離呈指數遞減關係，因此

同時納入風向、風速及開花強度之影響，而發展出一個可推估基因轉殖玉米花粉之潛在沉降程度的模式，以進行環境風險評估。另外，Gustafson *et al.* (2005)則捨棄上述複雜的機制模式(mechanistic model)，僅利用一個簡單的回歸經驗模式(simple empirical regression model)來探討田區面積、基因轉殖作物與其野生近緣種在收穫時之混合程度以及隔離距離對小麥花粉流佈污染的影響程度。上述模式都是建立在風媒傳播之基礎上，這也是目前花粉流佈模式發展的主流，至於其他花粉媒介的模式發展則較少見，而 Walklate *et al.* (2003)特別針對歐洲油菜(oilseed rape)兼具風媒和蟲媒(蜂類)的花粉傳播特性，提出一個數學模式，可藉由風向、風速、試驗田大小、目標作物之稔性及蟲的行為，來預測轉殖基因由基因轉殖作物逃逸到野生種的風險機率，並推估安全隔離距離。

隨著風險評估越來越複雜，準確性要求越來越高，發展和改善各種數學模式始終是風險評估研究領域的重要課題(呂等，2002)。對於基因轉殖作物的花粉流佈預測模式，發展至今仍有不足而尚有改善之處，例如基因流佈必須對花粉傳播之空間及時間不設限，同時應考慮到花粉媒介的型式及強度可能存在年度間的變異(因作物每年係以不同量種植於不同試區，花粉遷移速率可能隨著年度而異，另外栽種品種也可能隨年度改變)，除此，由於目前所有模式都是假設植冠為連續且花粉傳播為均質，但基因轉殖作物與其野生近緣種未必種在緊鄰田區，因此對於相隔馬路或其他作物田區的非連續情況亦應考慮(Lavigne *et al.*, 2002)。未來研究方法也已由過去的小規模、個案、描述性和定性的模式發展，走向大規模、定量、系統化和動態的模式發展。研究的內容已從過去集中於基因轉殖是否能夠逃逸以及逃逸的頻率，轉向基因轉殖逃逸的生物學機制、逃逸後之生態後果以及基因轉殖的有效風險評估和長期監控管理的方向發展(盧，2003)。

六、結論

基因轉殖作物外源基因流佈是基因轉殖生態風險評價中的一個重要指標，基

因流佈可通過花粉、種子和無性營養體等形式。對於顯花植物，花粉流佈是最主要的形式。基因流佈的可能和程度不僅與花粉傳播距離有關，且與基因轉殖作物包括花粉、雜交、種子及植株等繁殖和生長發育性狀的生態適合度改變也有極大關係。任何可散播花粉的作物，保證「零」基因流佈是不可能的。就基因流佈的進化潛能而言，就算只是一個小的花粉量都能在少數幾個世代裡改變了受體族群的基因結構，因此像是基因流佈隨著距離增加而急遽降低的說詞，很容易導致錯誤的認知。對此，反倒不如根據品種中既定特性，設定一些可以被接受的門檻或標準，評估其可能風險，並實行基因流佈管理，如確立隔離距離的手段，或許能讓基因流佈的程度降低至特定門檻以下。風險評估要經過合理的試驗設計與嚴密抗性科學的試驗程序，積累足夠多的數據，同時發展能夠快速準確檢測基因轉殖植物生態風險的新方法和新技術，建立基因轉殖植物生態安全性評估的技術體系，如此才能夠充分發揮基因轉殖技術在農業生產上的鉅大應用潛力，同時將基因轉殖植物的生態風險降低到最低水準。

七、引用文獻

1. 呂秀英等。2002。科學農業 50(11,12)：399-409。
2. 陳烈夫等。2004a。科學農業 52(5,6)：120-130。
3. 陳烈夫等。2004b。科學農業 52(11,12)：292-298。
4. 黃雙全、郭友好。1999。植物學報 41:788-790。(中國)
5. 黃雙全、郭友好。2000。科學通報 45:225-237。(中國)
6. 曾北危。2004。轉基因作物安全。化學工業出版社。北京，中國。417 頁。
7. 盧寶榮。2003。生物多樣性 11(2):177-178。(中國)
8. Austerlitz, F. *et al.* 2004. *Mol. Ecol.* 13:937-954.
9. Bateman, A. J. 1947. *Heredity* 1:303-336.
10. Bhatia, C. R. and R. Mitra. 2003. *Curr. Sci.* 84:138-141.

11. Chen, L. J. *et al.* 2004. *Ann. Bot.* 93:67-73.
12. Colbach, N. *et al.* 2001a. *Agric. Ecosyst. Environ.* 83:235-253.
13. ———. 2001b. *Agric. Ecosyst. Environ.* 83:255-270.
14. Cresswell, J. E. 2003. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 358:1005-1008.
15. Dale, P. J. 2002. *J. Agric. Sci.* 138:245-248.
16. Dale, P. J. and J. A. Irwin. 1995. *Euphytica* 85:425-431.
17. Eastham, K. and J. Sweet. 2002. *Genetically Modified Organisms (GMOs): the Significance of Gene Flow through Pollen Transfer. Environmental Issue Report 28, European Environment Agency, Copenhagen, Denmark, 75P.*
18. Ellstrand, N. C. 2003. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 358:1163-1170.
19. Gelderen, E. V. *et al.* 1994. *South African J. Bot.* 61:253-259.
20. Gliddon, C. *et al.* 1997. *Gene Flow – A Review of Millennium: Risks and Benefits. Italy, Dec. 1-5.*
21. Gustafson, D. I. *et al.* 2005. *Crop Sci.* 45:1286-1294.
22. Kareiva, P. *et al.* 1994. *Mol. Ecol.* 3:15-21.
23. Kawashima, S. *et al.* 2004. *Environ. Biosafety Res.* 3:197-207.
24. Khatun, S. and T. J. Flowers. 1995. *J. Exp. Bot.* 46:151-154.
25. Kjellsson, G. and V. Simonsen. 1994. *Method for Risk Assessment of Transgenic Plants. I. Competition, Establishment and Ecosystem Effects. Birkhauser Verlag, Basel. 214P.*
26. Kjellsson, G. *et al.* 1997. *Method for Risk Assessment of Transgenic Plants. II. Pollination, Gene Transfer and Population Impacts. Birkhauser Verlag, Basel. 308P.*
27. Klein, E. K. *et al.* 2003. *Ecol. Monogr.* 73:131-150.
28. Lavigne, C. *et al.* 1998. *Theor. Appl. Genet.* 96:886-896.
29. ———. 2002. *Theor. Appl. Genet.* 104:139-145.

30. Manasse, R. 1992. *Ecol. Appl.* 431-438.
31. Meagher, T. R. *et al.* 2003. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 358:1157-1162.
32. Messeguer, J. *et al.* 2001. *Theor. Appl. Genet.* 103:1151-1159.
33. Messeguer, J. 2003. *Plant Cell, Tissue Organ Cul.* 73:201-212.
34. Moore, P. D. and J. A. Webb. 1991. *Pollen Analysis.* Blackwell Scientific, London. 216P.
35. Neigel, J. E. 1997. *Ann. Rev. Ecol. Sys.* 28:105-108.
36. Real, L. 1983. *Pollination Biology.* Academic Press, Florida. 338P.
37. Richard, A. J. 1986. *Plant Breeding Systems.* 2nd. George Allen and Unwin, London. 529P.
38. Rodriguez-Riano, T. and A. Dafni. 2000. *Sex Plant Reprod.* 12:241-244.
39. Rognli, O. A. *et al.* 2000. *Heredity* 85:550-560.
40. Rissler, J. and M. Mellon. 1996. *The Ecological Risks of Engineered Crops.* Cambridge, MA: MIT Press. 168P.
41. Scheffler, J. A. *et al.* 1993. *Trans. Res.* 2:356-364.
42. Shivanna, K. R. *et al.* 1991. *Theor. Appl. Genet.* 81:38-42.
43. Song, Z. P. *et al.* 2002. *New Phytol.* 153:289-296.
44. Song, Z. P. *et al.* 2004. *Biodiv. Conser.* 13:579-590.
45. Stone, J. L. *et al.* 1995. *Amer. J. Bot.* 82:1186-1197.
46. Timmons, A. M. *et al.* 1995. *Euphytica* 85:417-423.
47. Tufto, J. *et al.* 1997. *Theor. Popu. Bio.* 52:16-26.
48. Tuinstra, M. R. and J. Wedel. 2000. *Crop Sci.* 40:968-970.
49. Tynan, J. L. *et al.* 1990. *J. Genet. Breed.* 44:303-305.
50. Walklate, P. J. *et al.* 2003. *Proc. R. Soc. Lond. B* 271:441-449.
51. Wang, Z. Y. *et al.* 2004. *Amer. J. Bot.* 91:523-530.
52. Wright, S. 1943. *Genetics* 28:114-138.

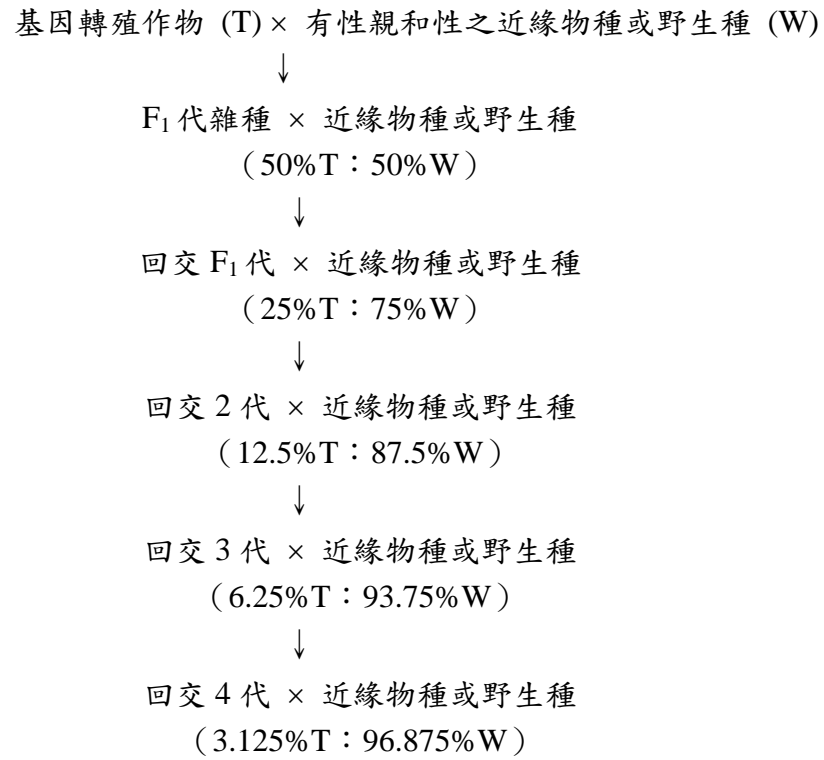


圖 1 不同回交世代群體中基因轉殖頻率下降理論趨勢。(整理自曾，2004)