

植酸酵素基因轉殖之馬鈴薯植株生長和產量評估¹

陳烈夫² 曾文彬³ 魏夢麗⁴ 呂秀英^{4,5}

摘 要

陳烈夫、曾文彬、魏夢麗、呂秀英。2007。植酸酵素基因轉殖之馬鈴薯植株生長和產量評估。台灣農業研究 56:45-52。

馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是世界上最重要的非禾穀類糧食作物。基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系, 是由克尼伯 (Kennebec) 品種轉殖植酸酵素基因 (phytase gene) 所產生的基因轉殖作物。根據在農業試驗所隔離試驗田進行的 2004-2005 年秋作試驗結果顯示, 植酸酵素基因轉殖馬鈴薯在各生長期的主莖長、側枝數及地上部乾重等生長介量雖較克尼伯為低但未達統計上 5% 顯著水準差異; 單株薯球總鮮重雖稍低但亦無顯著差異。植酸酵素基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系可能不適合自行留種連續栽種, 其第二年 (2005 年) 連續栽種之產量表現, 小於 120 g 的薯球數量明顯減少。轉殖馬鈴薯在第四週時的出土率, 也顯著低於非轉殖馬鈴薯。

關鍵詞：馬鈴薯、基因轉殖作物、植酸酵素基因、薯球產量、出土率。

前 言

馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L.) 為茄科茄屬之草本塊莖作物, 在世界各地 100 多個國家廣泛栽培, 其分布地域之廣僅次於玉米, 繼水稻、小麥、玉米之後為第四大糧食作物。馬鈴薯的營養價值既豐富且具全面性, 不僅可用做糧食、蔬菜, 也是重要的飼料原料添加物 (Liang 2005)。馬鈴薯栽培種具有同源四倍體遺傳分離的特性, 並存在不完全可育性, 所以利用常規雜交育種需周期性長、過程複雜且需費大量勞力, 而且現有的親本材料遺傳背景狹窄, 很難在較短時間內育成理想的優良品種。隨著生物技術的興起和發展, 植物育種中許多技術和方法已逐步應用到馬鈴薯之品種改良等研究, 如馬鈴薯無病毒苗的繁殖、原生質體的再生、原生質體的融合、以及基因轉殖馬鈴薯的育種工作等 (Dale & Hampson 1995; Dunwell 2000)。基因轉殖技術在馬鈴薯的研究中已有許多成功的例子, 目前用來進行馬鈴薯基因工程的外源基因有抗病毒、抗細菌、抗昆蟲的抗性基因, 用來改良馬鈴薯品質的澱粉合成基因, 以及蛋白質合成基因, 還有抗除草劑基因及其它一些基因等 (Wenzler *et al.* 1989; Cornner 1994; Wang *et al.* 2005)。

目前畜牧產業中, 植酸 (phytic acid) 方面之研究積極進行, 植酸主要是以植酸鹽的形式廣泛存在於穀類籽實和油料作物種子的胚芽和糊粉層內, 在各種作物植酸的存在部位有所不同, 植物的花粉、根、塊莖等組織中也會累積植酸, 這些植酸可用於代謝過程中營養物質的再分配。飼料中的

1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2280 號。接受日期：2007 年 2 月 28 日。
2. 本所生物技術組助理研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
3. 中央研究院分子生物研究所計畫助理。台灣 台北市。
4. 本所作物組助理研究員與研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
5. 通訊作者, 電子郵件：iying@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23390528。

無機磷可直接由動物腸道所吸收，單胃動物胃中缺乏分解植酸的植酸酶 (phytase)，對植物性飼料中的磷利用率甚低，為滿足單胃動物對磷的需要，生產中不得不在飼料中添加無機磷，結果大量未被消化的磷隨糞便排放到自然環境中，對生態環境造成嚴重的威脅。為有效提高磷的利用率，在牲畜家禽的飼料中添加植酸酶，避免因磷的過多投入而帶來環境污染的問題。但添加植酸酶的成本較高，故目前還難以被廣泛採用。而將植酸酶基因轉殖至作物上，是可行的一條途徑 (Ravindran *et al.* 1995)，其能改善飼料中磷的消化率，意即可減少飼料配方中磷的使用。例如近年來，利用理化誘變與基因轉殖技術已成功地獲得了玉米、大麥、水稻和大豆等作物的低植酸突變體 (Larson *et al.* 2000)。至於將植酸酶基因轉殖至馬鈴薯植株上，為國內中央研究院余淑美博士所首創，其目的是藉此提高飼料的轉化率，最終達到節約糧食、提高動物的生產性能以及減輕養殖業所造成環境污染問題，這將對磷源嚴重匱乏而磷污染又嚴重的地區，其社會效益和生態效益無疑是鉅大的，亦頗具前瞻性。目前有關植酸酶基因轉殖馬鈴薯對其田間生長和發育的瞭解還十分有限，而基因轉殖與非基因轉殖植株的生長差異比較是基因轉殖作物生態安全評估體系中最基本的一環。因此本研究的主要目的在比較植酸酶基因轉殖與非基因轉殖馬鈴薯在田間的生長發育及產量表現之差異，從而提供生態安全的資料參考。

材料與方法

馬鈴薯克尼伯 (Kennebec) 品種經轉殖植酸酶基因之 2-1 品系與原轉殖受體品種 (wild type, WT) 為對照，於 2004 年和 2005 年在農業試驗所基因轉殖作物隔離試驗田進行兩年秋作安全評估試驗。2004 年秋作於 10 月 13 日種植，至 2005 年 1 月 20 日收穫；2005 年於 10 月 27 日種植，至 2006 年 2 月 13 日收穫。兩年試驗的種植方式、栽培管理和調查項目皆相同。

田間設計採 RCBD，六重複。將馬鈴薯切塊成 15~20 g 作為種薯，採一畦雙行式種植，行株距 60×30 cm，每行 20 株，每小區四畦計 160 株，故每品系共 160×6=960 株。栽培管理方式為基肥用量每公頃施用苦土石灰、雞糞、黑肥各 400 kg；追肥於其幼芽全部伸出土面時施用，即種植後 15 天及 30 天施第一次及第二次追肥，每公頃施用量為台肥 4 號複合肥料 400 kg，條施於距植株 10 cm 處而後培土；期間適時以人工防除雜草，並適時施用 5% 陶斯松粒劑每公頃 20 kg 及噴施蘇力菌 1000 倍稀釋液以防治害蟲，收穫後田間整備作業皆以淹水進行處理，以防止病蟲害之發生。

由於在台灣地區種植馬鈴薯約 110 天即可收穫，因此兩品 (種) 系皆於種植後初期、中期和成熟期自各小區內進行取樣 (2004 年各於第 7、9、14 週逢機取出 3、3、20 株，2005 年各於第 5、8 及 15 週逢機取出 5、4、20 株)，分別調查主莖長、側枝數、地上部葉片乾重及地上部莖乾重等植株性狀，以及塊莖鮮重、塊莖數之產量性狀，收穫後所留種薯冷藏於 4°C 冷藏庫中供第二年種植。另外，2005 年試驗並於種植後第 2 及 4 週分別調查各小區植株的出土率。最後，比較基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯之間的各種植株性狀、產量和出土率的表現差異。

結 果

植株性狀比較

2004 年秋作試驗期間由於在 10~11 月份遇到高溫，月平均最高溫度達 29~28°C，無論基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯皆有極少數植株有開花，但不結漿果；有早疫病發生，除此，植株生育情形

都相當正常。分別於種植後第 7、9、14 週調查主莖長、側枝數、地上部葉片乾重及地上部莖乾重等植株生長性狀，結果發現基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系於生長中期以後（種植後第 9 及 14 週時）這些植株生長性狀均略遜於對照組（WT），但未達統計上 5% 顯著差異，如表 1 所示。

2005 年秋作試驗植株全生育期正常，狀況良好，沒有特別的病害發生。種植後分別於第 5、8、15 週調查主莖長、側枝數、地上部葉片乾重及地上部莖乾重等植株性狀，結果亦發現於生長中期後基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系的植株生長雖然較低，但與非基因轉殖馬鈴薯之間並無顯著差異（表 1）。

產量評估比較

2004 年秋作試驗兩品（種）系於種植後第 7、9、14 週所收穫的薯球總鮮重皆無顯著差異，在種植後第 14 週之成熟期的單株產量都可達 300 g 以上（表 2）。各調查時期所獲得的兩品（種）系薯球總數相當一致，進而考慮其市場經濟價值，大致以小薯 ≤ 50 g、 $51 \text{ g} \leq$ 中薯 ≤ 100 g、大薯 > 100 g 進行分級，各分級的薯數均未達統計上 5% 顯著差異（表 2）。在成熟期收穫時的兩品（種）系各分級薯球分配比例亦大致相同：小薯、中薯和大薯各約佔 45、25 和 30%（圖 1）。為瞭解兩品（種）系於成熟期的薯球鮮重分佈趨勢，進而將所有薯球之鮮重，以每隔 20 公克為組界，計算各組頻度後，

表 1. 2004 及 2005 年秋作基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯的植株生長性狀²比較

Table 1. The growth characteristics² of transgenic and non-transgenic potato plants in different growth periods in the fall of 2004 and 2005

Year	Weeks after planting	Cultivar ^y	Main stem length (cm)	Lateral stem no./plant	Shoot dry matter (g/plant)	
					Leaves	Stems
2004	7	WT	31.3±1.2	2.0±0.2	6.8±0.9	3.0±0.3
		2-1	30.9±0.9	2.0±0.2	7.5±0.7	3.4±0.4
	9	WT	38.5±1.3	1.6±0.2	12.3±0.9	3.6±0.3
		2-1	38.1±1.0	1.8±0.2	11.8±1.6	3.2±0.4
	14 (at maturity)	WT	44.6±1.1	2.2±0.2	8.5±0.5	5.8±0.4
		2-1	42.4±1.3	2.0±0.2	8.4±0.7	4.8±0.3
2005	5	WT	34.0±1.2	2.3±0.2	5.4±0.4	1.4±0.1
		2-1	32.3±0.9	1.9±0.4	5.0±0.6	1.2±0.3
	8	WT	37.2±1.6	1.5±0.3	6.7±0.7	1.5±0.2
		2-1	35.4±1.2	1.7±0.2	6.3±0.2	1.2±0.1
	15 (at maturity)	WT	38.1±0.9	2.6±0.2	15.4±0.8	6.9±0.5
		2-1	36.1±0.8	2.3±0.1	14.0±0.9	4.8±0.7

²Data indicate mean and its standard error of 6 replicates.

^yWT, wild type (non-transgenic) potato (Kennebec); 2-1, transgenic potato (strain 2-1); For each growth period, no significant difference between cultivars was detected by LSD-test at 5% level.

分別繪製成頻度分佈圖（圖 2）和相對頻度分佈圖（圖 3），結果顯示 2004 年秋作試驗兩品（種）系於成熟期的薯球大小分布曲線相當一致，由小到大呈遞減趨勢。小於 20 g 的極小薯球，以基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系略多於非基因轉殖馬鈴薯，分配比例分別為 30 和 25%；20 g 以上的薯球數量及其所佔比例，兩品（種）系之間並無明顯差異；兩品（種）系雖都有大於 200 g 的超大薯但數量甚少，皆僅佔所有薯球的 2.5% 左右（圖 3）。

2005 年秋作試驗兩品（種）系於種植後第 5、8、15 週所收穫的薯球總鮮重皆無顯著差異，在種植後第 15 週之成熟期的單株產量也都可達 300 g 以上（表 2）。然而在成熟期（種植後第 15 週）時，基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系能採收到的總薯數明顯較非基因轉殖馬鈴薯為少（兩品（種）系分別調查 120 株，各採收到 496 及 600 薯），約減產近兩成，其中主要是因為每株中薯的數量顯著減少（表 2）。在成熟期收穫時兩品（種）系的小薯所佔比例大致相同（約 40%），但由於基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系的中薯所佔比例變少，導致大薯所佔比例也隨之增加（圖 1）。進而從薯球鮮重的頻度分佈圖（圖 2）和相對頻度分佈圖（圖 3）得知，兩品（種）系的薯球大小呈現遞減的曲線分

表 2. 2004 及 2005 年秋作基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯的薯球產量^z比較

Table 2. The tuber yield^z of transgenic and non-transgenic potato plants in different growth periods in the fall of 2004 and 2005

Year	Weeks after planting	Cultivar ^y	Tuber fresh weight (g/plant)	Total tuber no. /plant no.	Tuber no. / plant			
					Total	Small (<50 g)	Medium (50-100 g)	Large (>100 g)
2004	7	WT	60.4±10.2	60/18	3.3±0.2	3.1±0.1	0.3±0.1	0.0±0.0
		2-1	64.6±11.3	62/18	3.4±0.4	3.3±0.4	0.1±0.1	0.0±0.0
	9	WT	215.2±23.9	77/18	4.5±0.5	2.6±0.3	1.2±0.3	0.7±0.2
		2-1	193.5±19.2	79/18	4.3±0.8	2.4±0.7	1.4±0.2	0.4±0.1
	14 (at maturity)	WT	351.8±13.4	529/120	4.4±0.2	1.9±0.2	1.1±0.1	1.4±0.1
		2-1	339.4±25.8	528/120	4.4±0.3	2.0±0.2	1.0±0.1	1.3±0.1
2005	5	WT	12.3± 2.6	154/30	5.1±0.5	5.1±0.5	0.0±0.0	0.0±0.0
		2-1	8.6± 4.0	149/30	5.0±0.6	5.0±0.6	0.0±0.0	0.0±0.0
	8	WT	100.8±13.1	86/24	3.6±0.2	2.8±0.3	0.8±0.2	0.0±0.0
		2-1	99.7± 6.6	89/24	3.7±0.4	2.9±0.5	0.8±0.1	0.0±0.0
	15 (at maturity)	WT	388.0±26.6	600/120	5.0±0.4 a	2.1±0.3	1.4±0.2 a	1.5±0.1
		2-1	336.3±24.4	496/120	4.1±0.5 b	1.6±0.4	1.1±0.2 b	1.4±0.1

^z Data indicate mean and its standard error of 6 replicates.

^y WT, wild type (non-transgenic) potato (Kennebec); 2-1, transgenic potato (strain 2-1); For each growth period, no significant difference between cultivars was detected by LSD-test at 5% level, excluding tuber number at harvest; a,b indicate significant difference between cultivars at 5% level.

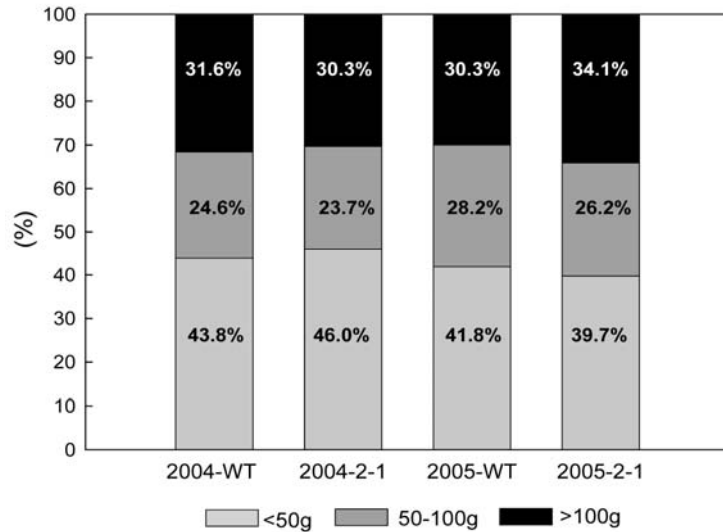


圖 1. 2004 及 2005 年秋作基因轉殖 (2-1) 和非基因轉殖馬鈴薯 (WT) 於成熟收穫時各級薯球的分配比例。

Fig. 1. Distribution of tuber grade based on weight for transgenic (2-1) and non-transgenic (WT) potato plants harvested at maturity in the fall of 2004 and 2005.

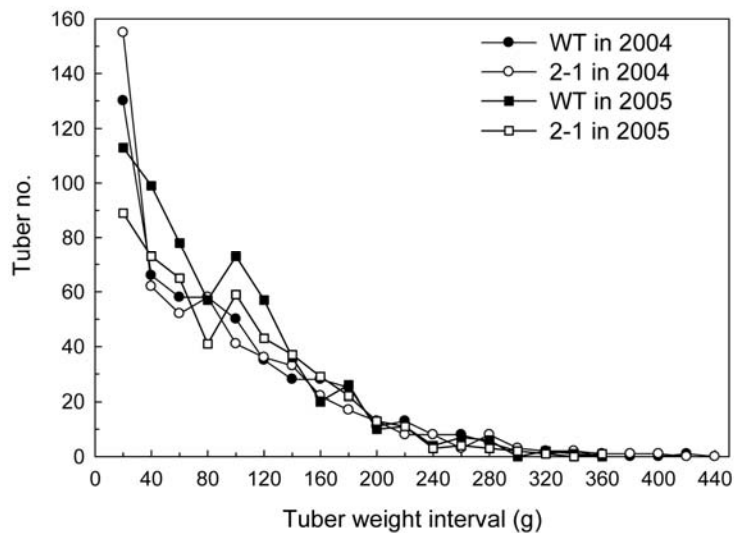


圖 2. 2004 及 2005 年秋作基因轉殖 (2-1) 和非基因轉殖 (WT) 馬鈴薯於成熟收穫時的薯球大小之頻度分布。(薯球鮮重組界=20 g)

Fig. 2. Frequency distribution of tuber size for transgenic and non-transgenic potato plants harvested at maturity in the fall of 2004 and 2005. (class interval of tuber fresh weight=20 g).

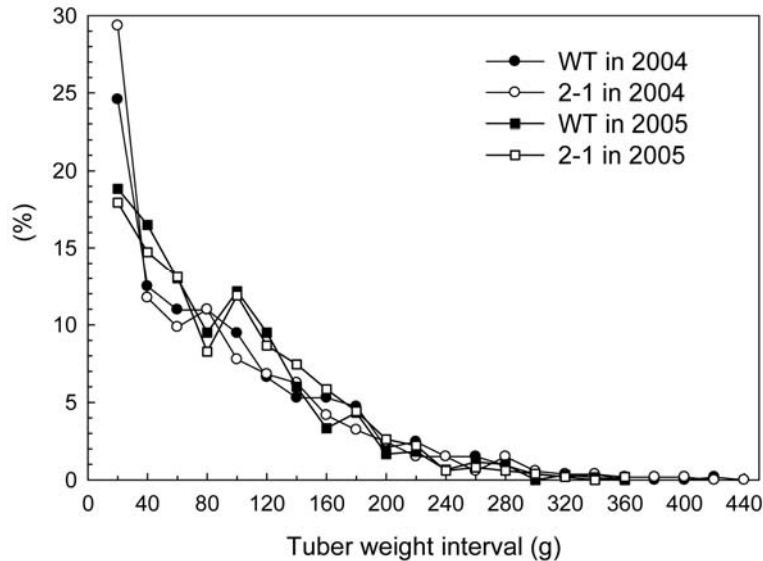


圖 3. 2004 及 2005 年秋作基因轉殖 (2-1) 和非基因轉殖 (WT) 馬鈴薯於成熟收穫時的薯球大小之相對頻度分布。(薯球鮮重組界=20 g)

Fig. 3. Relative frequency distribution of tuber size for transgenic and non-transgenic potato plants harvested at maturity in the fall of 2004 and 2005. (class interval of tuber fresh weight=20 g).

表 3. 2005 年秋作基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯的出土率^z比較

Table 3. The emergence rate^z of transgenic and non-transgenic potato in fall 2005

Cultivar ^y	Emergence rate (%) after planting	
	2 nd week	4 th week
WT	58.3±8.9 a ^x	95.5±2.0 a
2-1	56.2±8.3 a	90.8±1.9 b

^z Data indicate mean and its standard error of 6 replicates.

^y WT, wild type (non-transgenic) potato (Kennebec); 2-1, transgenic potato (strain 2-1).

^x Within columns, means followed by the different letter are significantly different by LSD-test at 5% level.

布，小於 20 g 的極小薯皆約佔 20% 左右，大於 200 g 的超大薯為數少，約僅佔 2.5%；同時發現，其實基因轉殖馬鈴薯在 120 g 以下的薯數均少於非基因轉殖馬鈴薯（圖 2），故其所佔比例亦較非基因轉殖馬鈴薯略少些，約減少 1~2%（圖 3）。

出土率比較

於 2005 年秋作試驗種植後第 2 及 4 週分別調查馬鈴薯植株的出土率，結果如表 3 所示，對照之克尼伯品種分別為 58.3% 及 95.5%，基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系分別為 56.2% 及 90.8%，兩品（種）

系在第 4 週時的出土率達到 5% 顯著水準之差異性，顯示基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系的生長勢有較弱之趨勢。

討 論

由兩年秋作試驗得知，相較於原轉殖受體的對照品種，基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系的生長勢顯著較弱，生長中期後的主莖長、側枝數、地上部葉片乾重及地上部莖乾重等生長介量雖也稍弱小但未達統計上 5% 顯著差異，單株產量雖稍低但並無顯著差異，成熟期時的薯球大小分配大致相同，惟在 2005 年秋作時 120 g 以下的薯球數量顯著較少。由此可見，由克尼伯品種轉殖植酸酵素基因所產生之轉殖植物的植株生長和產量性狀皆呈現略弱，而且可能不適於自行留種連續栽種，在第二年 (2005 年) 連續栽種下 120 g 以下的薯球數量明顯變少，尤其是具有市場經濟價值之 50~100 g 的中薯顯著較非基因轉殖馬鈴薯為少。

近年來基因轉殖作物的生態安全性評估之科學的體系，已漸具雛型，且一致公認進行基因轉殖與非基因轉殖植株間的生長差異比較，是基因轉殖作物生態安全評估體系中最基本的一環，不可或缺。因此，本研究結果對於植酸酵素基因轉殖馬鈴薯之安全性評估提供依據。

引用文獻 (Literature cited)

- Cornner, A. J. 1994. Biosafety assessment of transgenic potatoes: environmental monitoring and food safety evaluation. p.1-12. *in*: the Proceeding of the 3rd International Symposium on the Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms. (Jones, D. D. eds.). California Univ., Oakland, California.
- Dale, P. J., K. K. Hampson. 1995. An assessment of morphogenic and transformation efficiency in a range of varieties of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Euphytica* 85:101-108.
- Dunwell, J. M. 2000. Transgenic approaches to crop improvement. *J. Exp. Botany* 51:487-496.
- Larson, E. R., J. N. Rutger, K. A. Young, and V. Raboy. 2000. Isolation and genetic mapping of a non-lethal rice (*Oryza sativa* L.) low phytic acid 1 mutation. *Crop Sci.* 40:1397-1405.
- Liang, Y. F. 2005. Introduction, evaluation and utilization of potato genetic resources from international potato center (CIP). *Southwest China J. Agric. Sci.* 18:814-817. (in Chinese with English abstract)
- Ravindran, V., W. L. Bryden, and E. T. Kornegay. 1995. Phytase: occurrence, bioavailability and implication in poultry nutrition. *Poultry Avian Biol. Rev.* 6:125-143.
- Wang, Q., H. Y. Huang, Y. L. Chen, and D. Wang. 2005. Variation of polyphenol oxidase activity and isozyme in transgenic homozygous tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.). *Acta Agronomica Sinica* 31:1162-1166. (in Chinese with English abstract)
- Wenzler, H., G. Mignery, G. May, and W. Park. 1989. A rapid and efficient transformation method for the production of large number of transgenic potato plant. *Plant Sci.* 63:79-85.

Plant Growth and Yield Evaluation of Phytase Transgenic Potato¹

Lit-Fu Chan², Wen-Pin Tseng³, Meng-Li Wei⁴ and Hsiu-Ying Lu^{4,5}

Abstract

Chan, L. F., W. P. Tseng, M. L. Wei and H. Y. Lu. 2007. Plant growth and yield evaluation of phytase transgenic potato. *J.Taiwan Agric. Res.* 56:45-52.

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is the most important noncereal food crop in the world. The transgenic potato plants, strain 2-1, were obtained by phytase-gene transformation into their original plants, cv. 'Kennebec'. Here, we carried out an isolated field experiment to compare the plant growth and yield performance of both phytase transgenic and non-transgenic potato plants at Agricultural Research Institute in the fall of 2004 and 2005. The results showed that the transgenic potato plants were slightly lower than non-transgenic potato plants in main stem length, lateral stem length, shoot dry matter and tuber fresh weight in three different growth periods, but the differences were not statistically significant ($p>0.05$). The transgenic potato plants harboring phytase gene might not favor continuous cultivation using harvested seed potatoes because of significant number reduction of tuber with less than 120 g in the second-year cropping (2005). Phytase transgenic potato showed a significantly lower emergence rate than non-transgenic potato at 4 weeks after planting.

Key words: Potato, Genetically modified crops, Phytase gene, Tuber yield, Emergence rate.

1. Contribution No.2280 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted :February 28, 2007.

2. Assistant Researcher, Biotechnology Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

3. Project Assistant, Institute of Molecular Biology, Academia Sinica, Taipei, Taiwan, ROC.

4. Respectively, Assistant Researcher and Senior Researcher, Crop Science Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.

5. Corresponding author, e-mail: iying@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23390528.