

# 植酸酵素基因轉殖馬鈴薯收穫田區之殘株管理 — 浸水處理評估<sup>1</sup>

陳烈夫<sup>2</sup> 吳明哲<sup>2</sup> 呂秀英<sup>3,4</sup>

## 摘 要

陳烈夫、吳明哲、呂秀英。2008。植酸酵素基因轉殖馬鈴薯收穫田區之殘株管理—浸水處理評估。台灣農業研究 57:95-102。

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。為了探討浸水處理對基因轉殖馬鈴薯收穫田區之殘株管理的效果，本研究在農業試驗所於 2006 年秋作種植的收穫田區內進行相關試驗。試驗田間設計採兩因子之裂區設計，三區集，以浸水或不浸水兩種處理為主區，轉殖和非轉殖兩品 (種) 系為副區。浸水區在試驗期間一直保持水深淹過田面 3 cm。浸水後第 7、17、28、51、70 天分別自每小區內各隨機取出 4 株，調查取樣植株上的殘留薯球總數，以進行差異性比較。結果發現，浸水 17 天起處理之間的殘留薯球數量即有顯著差異，浸水 28 天以上，轉殖與非轉殖馬鈴薯殘株皆可被完全清除。本試驗評估結果顯示浸水為清除轉殖馬鈴薯土壤中殘薯的有效管理方法；此外，‘克尼伯’轉殖 2-1 品系的田間棄置殘株產量明顯低於‘克尼伯’，亦可供生物安全評估之參考。

**關鍵詞：**馬鈴薯、基因轉殖作物、植酸酵素基因、殘株管理、浸水。

## 前 言

馬鈴薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是世界上最重要的非禾穀類糧食作物，與水稻、小麥及玉米並列為四大經濟作物，為兼具糧、菜用作物，亦是工業加工和食品加工的重要原料 (Liang 2005)。隨著生物技術的興起和發展，全球利用基因轉殖技術在馬鈴薯的研究已積極展開，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; Conner 1994,

- 
1. 行政院農業委員會農業試驗所研究報告第 2317 號。接受日期：97 年 5 月 22 日。
  2. 本所生物技術組助理研究員與組長。台灣 台中縣 霧峰鄉。
  3. 本所作物組研究員。台灣 台中縣 霧峰鄉。
  4. 通訊作者，電子郵件：iying@wufeng.tari.gov.tw；傳真機：(04)23390528。

2006; Halpin 2005; Turhan 2005; Wang *et al.* 2005; Pribylova *et al.* 2006)。現今畜牧產業在植酸(phytic-acid)方面之研究相當重視，這是由於植物中含有相當多的植酸，而植酸易與磷結合形成植酸磷，但單胃動物胃中缺乏分解植酸的植酸酵素(phytase)，故無法吸收和利用飼料中的植酸磷，而需添加外源性無機磷來滿足其對磷的需求。這導致飼料中大量的植酸磷被浪費，且未被利用的植酸磷隨動物糞便排出體外後，將造成土壤及地下水中磷的累積，嚴重污染環境。植酸酵素是一種新型的飼料添加劑，透過它對植酸磷的水解，可提高牲畜家禽對飼料中磷的吸收和利用率，從而降低飼料成本並減輕環境的磷污染。但添加植酸酵素的成本較高，目前還難以被廣泛採用。而將植酸酵素基因轉殖至作物上，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。國內中央研究院余淑美博士首創將植酸酵素基因轉殖至‘克尼伯’品種馬鈴薯植株上，目的在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。

Chan *et al.* (2007) 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植酸酵素基因轉殖之馬鈴薯植株生長和產量評估，結果發現植酸酵素基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系在各生長期的主莖長、側枝數、地上部乾重及單株薯球總鮮重，雖較對照之非基因轉殖馬鈴薯‘克尼伯’為低，但未達統計上 5% 顯著水準差異；此外，2-1 品系在移植後第四週時的出土率顯著低於‘克尼伯’，而且自行留種連續第二年栽種下小於 120 g 的薯球數量明顯減少，此結果可以作為生態安全評估之參考。惟基因轉殖作物的生態安全評估工作，尚包括植株生長勢及與原生種、野生種或雜草的競爭力(Conner *et al.* 2003; Jenczewski *et al.* 2003; Hill 2005)。在台灣地區天然條件下‘克尼伯’通常較少開花結籽，除非提早種植或進行嫁接與光期處理延長光照，有促進開花與結實之可能(Tsao & Chang 1980)。因此國內種植基因轉殖馬鈴薯較無花粉飛散的問題，惟需調查薯球收穫後殘留薯球在田間之生育情形，評估是否有雜草化之可能性，據以供為基因轉殖馬鈴薯商業栽培之可行性評估的依據之一。根據行政院農業委員會於 2005 年訂定發布之「基因轉殖植物田間試驗管理辦法」，基因轉殖作物在進行遺傳性狀調查及生物安全評估後所殘留下來之植物殘體，按規定須妥善處理(COA-AFA 2007)，但一般處理作物殘株的方式，如焚毀、掩埋或清運離園(Lin *et al.* 2004)等方法，其中清運離園是基因轉殖作物安全評估作業所不允許，而掩埋方式往往不能完全清除乾淨，又露天焚燒產生之濃煙會有嚴重污染空氣的顧忌，故必須採以其他能徹底消除殘株的方法。植株長期浸水，可導致根部腐爛，植株缺氧死亡之現象(McMichael & Persson 1991)。因此，本研究在基因轉殖與非基因轉殖馬鈴薯的收穫田區進行土壤浸水和不浸水處理的比較試驗，以評估基因轉殖馬鈴薯的殘留薯球能否在土壤中被清除，並藉此找出浸水處理所需的有效天數，提升基因轉殖馬鈴薯之殘株管理的有效性。

## 材料與方法

本試驗材料以馬鈴薯‘克尼伯’品種經轉殖植酸酵素基因之 2-1 品系與原轉殖受體品種‘克尼伯’(wild type, WT) 為對照，於農業試驗所基因轉殖作物隔離試驗田進行秋作栽培試驗。田間設計採裂區設計，三區集，以浸水或不浸水為主區，兩品(種)系為副區，共 12 個小區。試驗於 2006 年 9 月 25 日種植，採一畦雙行式種植方式，行株距 60 × 30 cm，每行 20 株，每小區四畦計 160 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。待 2007 年 1 月 22 日成熟收穫期，不採收任何薯球即進行田區土壤的浸水處理試驗。為防止浸水區的灌溉水溢流，各主區先築起四周田溝。浸水區保持水深淹過田面 3 cm，並需注意田間水分蒸發散失，隨時補充水分，以維持一定高度；而不浸水區則不施以任何處理，以作為對照組。

從施行浸水處理即日起，分別在第 7、17、28、51、70 天自每小區內各隨機取出 4 株，調查 2-1 品系和對照之‘克尼伯’在取樣植株上的殘留薯球總數，以比較兩個品（種）系在兩種浸水處理（有、無）之間的表現差異。

## 結 果

本研究之兩個品（種）系與兩種浸水處理（有、無）之兩因子試驗採裂區設計，由表 1 之各不同取樣時間的變方分析結果得知，處理 7 天的效應不顯著；但 17 至 51 天浸水期間的殘留薯球數量與對照（不浸水）殘留量之間皆呈顯著差異，惟其品種效應、處理 × 品種之交感效應皆不顯著，此意味著在這段期間內浸水處理對 2-1 品系和‘克尼伯’收穫田區之殘株處理具有一致的顯著效果；處理後第 70 天之變方分析中的處理、品種、處理 × 品種之交感等效應皆呈顯著，表示兩品（種）系的田間殘株受到浸水處理的效果開始有明顯差異。

進而檢視 2-1 品系和‘克尼伯’收穫田區在各取樣時間殘留於植株的薯球數量（表 2），則發現在不浸水狀況下，雖然在各取樣時間兩品（種）系間之差異皆未達統計上 5%顯著水準，但自第 28 天

**表 1.** 基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯收穫田區施行浸水處理對殘留薯球數量<sup>z</sup>影響的變方分析（採用裂區設計）

**Table 1.** Analysis of Variance (ANOVA) of effects of post-harvest flooding on number of tubers<sup>z</sup> in the fields of transgenic and non-transgenic potatoes (2006 field experiment, split plot design)

Source	df	Mean squares				
		7 <sup>w</sup>	17	28	51	70
Block	2	53.6	15.3	22.8	9.8	6.1
Treatment (T) <sup>y</sup>	1	120.3	352.1*	396.8*	432.0*	310.1*
Error (a)	2	18.6	5.6	22.8	9.8	6.1
Cultivar (C) <sup>x</sup>	1	12.0	2.1	24.1	27.0	60.8
T × C	1	12.0	0.1	24.1	27.0	60.8
Error (b)	4	14.3	12.6	11.6	9.3	6.3

<sup>z</sup> Number of tubers from 4 plants sampled in each plot.

<sup>y</sup> Treatments: flooding and non-flooding.

<sup>x</sup> Potato: non-transgenic potato (cv. Kennebec) and transgenic potato (strain 2-1).

<sup>w</sup> Sampling time: days of flooding.

\* Significant at 5% level.

起，2-1 品系的殘留薯球數量已逐漸少於‘克尼伯’，直到第 70 天，‘克尼伯’之 4 株取樣植株上的殘留薯球數量仍維持約 14–15 個，但 2-1 品系則已經少到僅剩 6 個。再由表 2 得知，兩品 (種) 系之收穫田區經過浸水處理的結果表現相當一致，浸水 7 天的 4 株取樣植株上皆僅約殘留 6 個薯球，浸水 17 天則約還有 2–3 個，到第 28 天及之後皆不見有任何薯球存在。

為找出基因轉殖馬鈴薯田區殘株管理的有效浸水天數，將兩品 (種) 系在有、無浸水處理後的殘留薯球數量隨著不同取樣時間的變化，繪製成趨勢圖，如圖 1 所示。結果發現，倘不施以任何處理而任意將植株棄置田間，‘克尼伯’田區的薯球殘體不會減少，然 2-1 品系在第 28 天起的田區殘留薯球數量有明顯降低的趨勢，且隨著植株棄置田間的時間越久，殘株量亦會更少，到第 70 天時 4 株取樣植株上僅平均殘留著 6 個薯球，顯然該品系有生長弱勢之傾向。倘種植田區在收穫後即施予浸水處理，無論 2-1 品系和‘克尼伯’皆於處理後第 28 天起便不再有任何薯球殘留在田間 (圖 1)。由此顯示，2-1 品系和‘克尼伯’在進行遺傳性狀調查及生物安全評估後，所棄置之植物殘株在浸水處理 28 天以上皆可完全腐爛死亡，即能有效控制田間殘株存活數。

## 討 論

Chan *et al.* (2007) 以兩年秋作試驗發現基因轉殖馬鈴薯 2-1 品系較非基因轉殖馬鈴薯‘克尼伯’的生長勢較弱。本研究進而發現，倘收穫田區不施以浸水處理，‘克尼伯’的殘留薯球量不會減少，但 2-1 品系在第 28 天起的田區棄置殘株明顯遞減，顯然該轉殖品系確實有生長弱勢之傾向 (表 2、圖 1)。此意味由‘克尼伯’品種轉殖植酸酵素基因所產生之馬鈴薯 2-1 品系在國內田間長期種植時，獲得競爭優勢的潛在可能性不高，再加上在台灣天然條件下‘克尼伯’通常較少開花結籽 (Tsao & Chang 1980)，較無花粉飛散問題，這將使得 2-1 品系形成新的雜草的機會大為降低，此對生物安全評估具有正面的意義。但為了能將種植轉殖馬鈴薯的潛在風險降至最低，收穫後的田區殘株管理

表 2. 有、無施行浸水處理下基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯收穫田區的殘留薯球數量比較

Table 2. Numbers of tubers transgenic and non-transgenic plants of potatoes in harvested fields with or without flooding.

Treatment	Cultivar <sup>y</sup>	Number of tubers from 4 potato plants <sup>z</sup>				
		7 <sup>x</sup>	17	28	51	70
Non- flooding	WT	14.3 ± 4.3 a	14.3 ± 2.1 a	14.3 ± 0.9 a	15.0 ± 1.5 a	14.7 ± 2.7 a
	2-1	10.3 ± 2.2 a	13.3 ± 1.2 a	8.7 ± 4.7 a	9.0 ± 3.2 a	5.7 ± 0.9 a
	LSD (0.05) <sup>w</sup>	14.9	12.5	16.9	15.1	12.4
Flooding	WT	6.0 ± 1.0 a	3.3 ± 2.8 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
	2-1	6.0 ± 3.0 a	2.3 ± 1.2 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a	0.0 ± 0.0 a
	LSD (0.05)	11.4	12.4	0.0	0.0	0.0

<sup>z</sup> Data indicate mean and its standard error of 3 replicates.

<sup>y</sup> WT: wild type (non-transgenic) potato (cv. Kennebec); 2-1: transgenic potato (strain 2-1).

<sup>x</sup> Sampling time: days of flooding.

<sup>w</sup> LSD (0.05): values of least significant difference are for comparisons of cultivar means within treatments at 5% level. Within treatment for each sampling time, cultivar means followed by different letter are significantly different by LSD-test at 5% level.

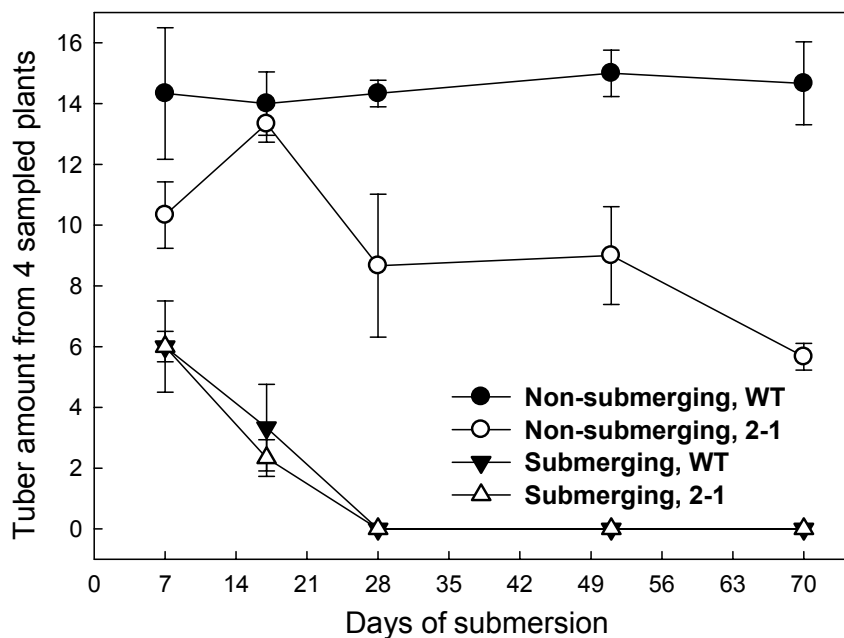


圖 1. 基因轉殖和非基因轉殖馬鈴薯收穫田區有、無浸水處理的殘留薯球數量變化。各點上的垂直線為平均值之標準差。

Fig. 1. Changes of number of tubers of transgenic and non-transgenic potato plants in harvested fields with or without flooding. Vertical bars on each point are standard error of mean.

仍非常重要。經本研究評估結果，種植田區在收穫後即施予浸水處理 28 天以上，就能有效完全清除田間棄置之殘株 (表 2，圖 1)，因此以水淹法進行基因轉殖馬鈴薯的收穫田區殘株處理不失為一良好的方式，可考量納入安全評估之標準操作程序中。

基因轉殖作物在土壤中之殘留物，與土壤生物群落長時間接觸，再加上轉殖也可能導致根際分泌物或作物本身其他生理特性產生改變，而影響作物殘株在土壤中的分解速率和分解產物中碳、氮等營養元素之含量變化，最終反過來又會影響土壤肥力、土壤生化過程及有機質組成 (Ponnamperuma 1984; E *et al.* 2004)。因此，未來將繼續就浸水期間基因轉殖作物在分解過程中對土壤生物的影響層面進行相關研究，以供作生態安全所需之資料，並提供未來基因轉殖馬鈴薯經安全評估認可釋放後在栽培管理上之參考。

## 誌 謝

本研究承蒙農業生物技術國家型科技計畫補助經費 (96 農科-1.1.6-農-C1)，及中央研究院余淑美博士提供試驗材料，特此誌謝。

## 引用文獻 (Literature cited)

- Chen, 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. (in Chinese with English abstract)
- COA-AFA. 2007. Management method of field experiments in transgenic plants. p.65–82. *in: A Reference Guide to Field Experiments in Transgenic Plants.* (Liu, L. F. and Y. L. Yang, eds.) Agriculture and Food Agency (AFA), COA. Taiwan, ROC. (in Chinese)
- Conner, A. J., T. R. Glare, and J. P. Nap. 2003. The release of genetically modified crops into the environment. Part II. Overview of ecological risk assessment. *Plant J.* 33:19–46.
- Conner, A. J. 1994. Biosafety assessment of transgenic potatoes: environmental monitoring and food safety evaluation. p.1–12. *in: The Proceeding of the 3<sup>rd</sup> International Symposium on the Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and Microorganisms.* California Univ. Oakland, California.
- Conner, A. J. 2006. Biosafety evaluation of transgenic potatoes: gene flow from transgenic potatoes. p.127–140. *in: International Symposium on the Ecological and Environmental Biosafety of Transgenic Plants.* (Huang, S. L., S. Chen, and C. Y. Lin, eds.) ARI. Taichung, Taiwan, ROC.
- E, Z. G., X. Chen, and G. Y. Zhi. 2004. Impact of transgenic crops on soil-organism. *Rural Eco-Environ.* 20:73–76. (in Chinese with English abstract)
- Halpin, C. 2005. Gene stacking in transgenic plants-the challenge for 21<sup>st</sup> century plant biotechnology. *Plant Biotechnol. J.* 3:141–155.
- Hill, R. A. 2005. Conceptualizing risk assessment methodology for genetically modified organisms. *Environ. Biosafety Res.* 4:67–70.
- Jenczewski, E., J. Ronfort, and A. M. Chèvre. 2003. Crop-to-wild gene flow, introgression and possible fitness effects of transgenes. *Environ. Biosafety Res.* 2:9–24.
- Lin, C. Y., P. J. Ann, C. A. Chang, C. T. Lo, and T. F. Hsieh. 2004. Cultural management. p.24–30. *in: Non-pesticide Management of Crop Disease.* Agric. Res. Inst. Pub. No.110. Taichung. 53 pp. (in Chinese)
- 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)
- McMichael, D. G. and H. Persson. 1991. *Plant Roots and Their Environment.* Elsevier. Amsterdam, The Netherlands. 650 pp.
- Ponnamperuma, F. N. 1984. Effects of flooding on soils. p.10–46. *in: Flooding and Plant Growth.* (Kozłowski, T. T., ed.) Academic Press. New York.
- Pribylova, R., I. Pavlik, and M. Bartos. 2006. Genetically modified potato plants in nutrition and prevention of diseases in humans and animals: a review. *Vet. Med.* 51:212–223.

- 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.
- Tsao, S. J. and Y. M. Chang. 1980. Study on potato production by true seeds - flowering and ruiting. *J. Agric. Res. China* 29:321–328. (in Chinese with English abstract)
- Turhan, H. 2005. Salinity response of transgenic potato genotypes expressing the oxalate oxidase gene. *Turk. J. Agric. For.* 29:187–195.
- 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 Agron. Sin.* 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.

# Effect of Flooding on Management of Phytase-Containing Potato Tubers in the Harvested Field<sup>1</sup>

Lit-Fu Chen<sup>2</sup>, Min-Tze Wu<sup>2</sup>, and Hsiu-Ying Lu<sup>3,4</sup>

## Abstract

Chen, L. F., M. T. Wu, and H. Y. Lu. 2008. Effect of flooding on management of phytase-containing potato tubers in the harvested field. *J. Taiwan Agric. Res.* 57:95–102.

Potato (*Solanum tuberosum* L.) is the most important non-cereal food crop in the world. The transgenic potato plants, strain 2-1, were obtained by transforming phytase-gene into their original plants, cv. 'Kennebec' (wild type). To study effects of flooding on survival and persistence of transgenic potato tubers in the harvested field, an experiment was conducted in a field at the Agricultural Research Institute in the fall crop season of 2006. A factorial split design with three blocks was used with flooding (with and without) as main factor and cultivars (strain 2-1 and wild type) as subfactors. For the flooding treatment, water level was maintained at 3 cm above soil, starting at harvest time and throughout the entire period of the experiment. For each of sampling date at 7, 17, 28, 51, and 70 days after flooding, four potato plants were randomly sampled from each plot and examined for number of tubers. Results showed that number of tubers was significantly reduced after flooding treatment of filed plots for 17 days, compared to non-flooding controls. After flooding for 28 days or longer, no tubers were found on both transgenic and non-transgenic plants of potatoes. This results suggest that flooding of potato fields is an effective method for post harvest field management of transgenic potatoes. Besides, production of potato tubers in the transgenic plants 'Kennebec' strain 2-1 was significantly lower than the non-transgenic plants cv. 'Kennebec' sampled from plots without flooding treatments. The lower number of potato tubers in the transgenic plants 'Kennebec' strain 2-1 might be another reference point for consideration in biosafety assessment of growing transgenic potatoes in the field.

**Key words:** Potato, *Solanum tuberosum*, Genetically modified crops, Phytase gene, Residue management, Flooding.

- 
1. Contribution No.2317 from Agricultural Research Institute, Council of Agriculture. Accepted: May 22, 2008.
  2. Respectively, Assistant Researcher and Director, Biotechnology Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
  3. Senior Researcher, Crop Science Division, ARI, Wufeng, Taichung, Taiwan, ROC.
  4. Corresponding author, e-mail: iying@wufeng.tari.gov.tw; Fax: (04)23390528.