

緩衝區設置對基因轉殖水稻花粉媒介基因流佈之影響

曾清山¹ 林彥蓉² 關政平¹ 賴明信³ 吳明哲^{4,*}

摘要

曾清山、林彥蓉、關政平、賴明信、吳明哲。2013。緩衝區設置對基因轉殖水稻花粉媒介基因流佈之影響。台灣農業研究 62(3):259–267。

本研究利用 2 個水稻品種，轉殖植酸酵素水稻 (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*; AAN) 作為花粉貢獻親，台農糯 73 號 (*O. sativa* L. ssp. *japonica* cv. 'Tainung73'; 'TNGW73') 作為花粉接受親，進行緩衝區設置影響對基因轉殖水稻花粉流佈之田間評估，以瞭解基因轉殖水稻在商業化生產種植前，對目前之水稻耕作系統有無影響。在有無緩衝區設置對水稻花粉流佈之評估試驗中，顯示有無緩衝區設置的效果受到距離及風向所影響。在順風狀況下，位於下風南方與東南方 7 m 之內，有無緩衝區設置對花粉流佈頻率差異不大，然而在 9 m 處其花粉流佈頻率有顯著的差別。緩衝區設置南方與東南方 9 m 處的花粉流佈頻率分別為 0.83% 和 0.84%，而無緩衝設置則分別為 1.53% 和 1.65%。在逆風狀況下，位於上風北方與東北方 1、3 和 5 m 處有緩衝區設置的花粉流佈頻率高於無緩衝區設置，但在 7 m 以後有緩衝區設置的花粉流佈頻率則明顯低於無緩衝區設置，顯示在上風處之風速較小的情況下，7 m 的緩衝區設置可減少花粉流佈頻率。

關鍵詞：基因轉殖水稻、花粉媒介基因流佈、緩衝區。

前言

自 1996 年基因轉殖作物商業化種植以來，隨著轉殖技術日漸成熟，不論作物種類、栽培面積及種植國家都逐年增加，到 2012 年國際間種植基因轉殖作物面積已達 1.7 億公頃 (James 2012)。然而各界對於基因轉殖作物及其產物在人畜食用安全性、基因污染及其他層面的生態環境安全問題仍存有疑慮，亟需在推廣基因轉殖作物前進行相關的科學評估與研究，讓公眾瞭解基因轉殖作物在生態環境中可能造成的風險，並使其風險降至最低 (Chandler & Dunwell 2008)。

基因轉殖水稻環境釋放可能帶來的生態風險和環境問題一直受到各國生態學家的關注，其中藉由花粉所引起的基因流佈問題最引人注

目。在過去十多年間，許多研究人員利用栽培稻、紅米 (red rice, *Oryza sativa* L.) 及野生稻 (*Oryza rufipogon*) 為材料，以不同種植距離來探討水稻的花粉媒介基因流佈程度，藉以估算基因流佈的頻率。結果顯示基因流佈頻率從栽培種水稻至野生稻及紅米分別為 1.21–2.94% 及 0.011–0.046%，最遠距離在 250 m 處，仍然發現雜交種子 (Song *et al.* 2002, 2004; Lu *et al.* 2003; Messeguer *et al.* 2004; Chen *et al.* 2004; Wang *et al.* 2006)。

降低花粉基因流佈之方法主要在阻斷基因交流的過程，目前在商業生產上，控制花粉基因流佈最簡單的措施是利用距離來進行隔離及調整作物開花期。各國政府為防止基因轉殖作物與一般作物之間的雜交及混雜，訂定基因轉殖作物種植管理規範。對於隔離距離的制訂，

投稿日期：2013 年 6 月 3 日；接受日期：2013 年 7 月 31 日。

* 通訊作者：wu@tari.gov.tw

¹ 農委會農業試驗所生物技術組助理研究員。台灣 台中市。

² 國立台灣大學農藝學系副教授。台灣 台北市。

³ 農委會農業試驗所作物組副研究員。台灣 台中市。

⁴ 農委會農業試驗所生物技術組研究員兼組長。台灣 台中市。

各國依不同作物訂定參考隔離距離。歐盟地區依國家不同訂定相關法定隔離距離，玉米為 25–200 m、甜菜 50–2,000 m、馬鈴薯 2–50 m、油菜 500–3,000 m。中國大陸在農業生物基因工程安全管理實施辦法中明訂水稻的隔離距離為 100 m、玉米 300 m、大豆 100 m、棉花 150 m、油菜 1,000 m。日本水稻的隔離距離為 30 m、大豆 10 m、玉米 600 m、油菜 600 m，北海道因地域關係另外訂定的隔離距離水稻為 300 m、大豆 20 m、玉米 1,200 m、油菜 1,200 m (MAFF Guideline)。依據‘臺灣地區農作物種苗檢查須知’，主要作物生產栽培皆有訂定隔離距離，如水稻 3 m、大豆 3 m、玉米 300 m、馬鈴薯 200 m。隔離距離之制訂一般是根據作物種類及授粉距離而定，然而授粉距離受到很多因素之影響，例如風力、風向、氣溫、濕度、昆蟲地域性、栽種面積等，相關研究顯示利用距離隔離並不能充分防止基因轉殖作物的基因流佈，因此引作他用時其安全及實用性尚需進一步進行檢證 (Remund *et al.* 2001)。

對於降低花粉基因流佈的措施另可設置緩衝區 (buffer zones) 或綠籬 (green fence) 隔離，所謂設置緩衝區即在基因轉殖作物田間周圍種植同種未轉殖的植株作為緩衝區加強屏障。這種方法也可以防止一部分花粉離開作物的種植地點。而綠籬隔離即在基因轉殖作物周圍種植灌木或小喬木成叢聚形成綠色屏障，以防止花粉的遠距離擴散，除降低風速減少花粉的傳播距離外，亦可以直接阻擋一部分花粉 (Mascia & Flavell 2004; Tseng *et al.* 2012)。Scheffler *et al.* (1993) 利用同種非基因轉殖油菜作為緩衝區，並有蜜蜂作媒介的情況下，基因轉殖油菜的傳粉率在 70 m 處降為 0%。Hokanson *et al.* (1994) 發現基因轉殖黃瓜在無緩衝作物帶時，1 m 轉基因黃瓜在隔離距離 50 m 處的傳粉率為 2.73%，在其周圍種植 10 m 和 20 m 的緩衝區後，其傳粉率分別降為 0.075% 和 0%，說明緩衝區的作用十分明顯。OECD (The Organisation for Economic Co-operation and Development) 在生物技術的生物安全專家會議 (Group of National Experts on Safety in Biotechnology) 中，認為大豆是高度自交作

物，只採取物理隔離措施即可控制花粉流佈，緩衝區可有效地阻擋花粉的傳播，大大縮短傳粉距離 (OECD 1993)。另外研究顯示基因轉殖棉花直接相鄰處的傳粉率最高為 1.8%，平均為 0.75%，在緩衝區為 1、10 和 20 m 時，其傳粉率依次為 0.4、0.06 和 0.0001%。對甜菜而言，在 30 m 處的緩衝區中，檢測不到甜菜的花粉。利用 12 m 寬的緩衝作物區可使油菜的傳粉率降至 0.7% (OECD 1993)。顯示利用緩衝區設置可有效地阻擋花粉的傳播，降低花粉飛散距離。

水稻在台灣栽培面積達 22 萬公頃，是種植面積最廣的糧食作物。台灣稻米產業屬小農制，平均每戶可耕作面積低於 1 ha。利用距離隔離方式防止基因流佈，若隔離距離過長將大幅減少耕種面積，降低農民的經濟效益。反之，隔離距離過短則可能增加基因流佈風險，使基因轉殖水稻與鄰近非基因轉殖水稻混雜之可能性增高。如何在隔離距離、基因轉殖水稻種植規模大小及基因流佈等面向取得平衡，因此尋求解決基因流佈方法將是未來產業發展重要的依據。本試驗目的將探討緩衝區設置對基因轉殖水稻花粉媒介基因流佈的可能性及其頻率的影響程度，藉以瞭解緩衝區設置的效果。

材料及方法

試驗地點

本試驗實施地點為農業委員會農業試驗所之基因轉殖植物田間試驗隔離園區 (TARI, 24°01'N, 120°41'E)。所有田間管理試驗依據農業試驗所‘基因轉殖植物田間試驗作業管理規範’之規定執行。

試驗材料

本試驗利用 2 個水稻品種，水稻‘台農糯 73 號’ (*O. sativa* L. ssp. *japonica* cv. ‘Tainung waxy73’; ‘TNGW73’) 為糯稻作為花粉接受親。轉殖植酸酵素水稻 (*O. sativa* L. ssp. *japonica*; AAN) 為粳稻作為花粉貢獻親。AAN 轉殖品系之外源基因是 *Selenomonas ruminantium* 植酸酵素基因 (*SrPp6*)，其主要作用是使發芽水稻種子含有大量植酸酵素，這些發芽種

子經過加工後添加到豬或家禽的飼料中，將可使所飼養動物同時獲得種子中的各種養分、礦物元素及磷 (Hong *et al.* 2004)。

花粉媒介基因流佈田間設計

本試驗利用 AAN 轉殖品系為花粉貢獻親，‘TNGW73’ 為花粉接受親，利用硬糯雜交特性來檢測雜交種子的糙米外觀，可以很容易評估花粉媒介基因流佈頻率。本試驗有二個田間設計，第一個設計為無緩衝區田間設計 (圖 1A)，每一田區大小為 25 m × 25 m。在田區中央種植 5 m × 5 m 面積的 AAN 轉殖品系，分別在東、東北、東南、西、西北、西南、南、北等 8 個不同方向，從距離 AAN 轉殖品系邊緣 1、3、5、7 及 9 m 處種植 ‘TNGW73’，其他空白區域不種植任何植物。第二個設計為有緩衝區田間設計 (圖 1B)，與無緩衝區田間設計的田區大小、配置一樣，差別在於灰色區域種植全部種植 ‘TNGW73’。根據 AAN 轉殖品系和 ‘TNGW73’ 歷年播種至開花期天數的觀察

記載，調整播種期使其開花期一致，AAN 轉殖品系及 ‘TNGW73’ 分別於 2007 年 8 月 6 日及 8 月 15 日播種，所有材料於 4–5 葉齡時移植於田間。無緩衝區與有緩衝區田區設計有二重複，多本植，田間管理依一般慣行法進行。每公頃 N、P₂O₅、K₂O 施用量分別為 120、72 及 48 kg，硫酸銨為氮肥 (N) 的來源，過磷酸鈣及氯化鉀分別為磷肥 (P₂O₅) 及鉀肥 (K₂O) 的來源。在種子成熟期，於每一方向每一距離分別收穫 30 株 ‘TNGW73’ 種子混合經風選後隨機選取 6,000 粒種子分成 3 袋種子，每袋含 2,000 粒進行檢定，每一檢測樣本總計共有 12,000 粒種子進行花粉媒介基因流佈頻率的評估。

花粉流佈頻率評估

利用硬糯雜交特性來檢測雜交種子，如果糯稻 ‘TNGW73’ 接受了硬稻 AAN 轉殖品系的花粉，其糙米外觀呈透明狀；反之，若 ‘TNGW73’ 自花授粉，則糙米外觀呈不透明

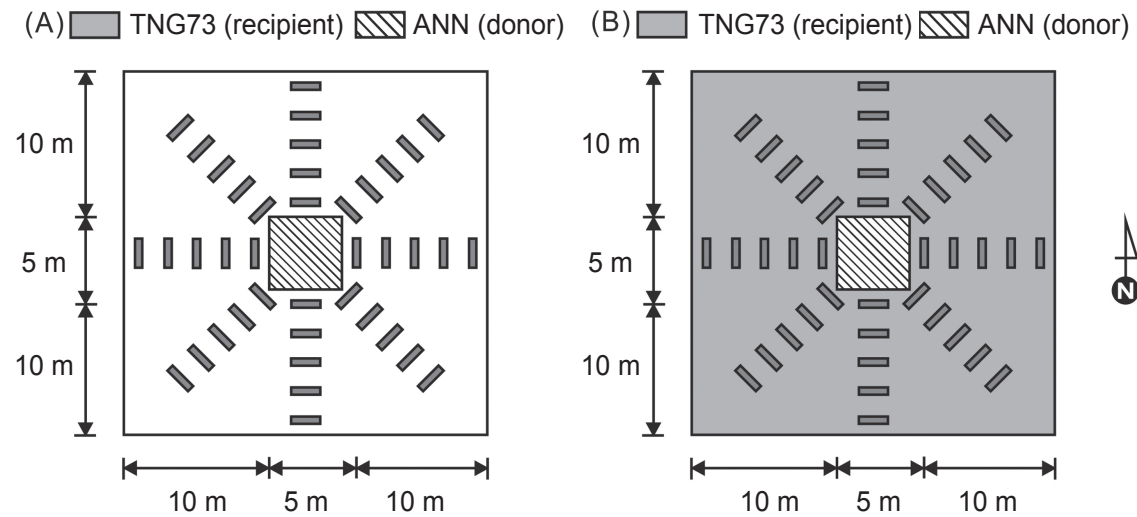


圖 1. 有、無緩衝區設置田間示意圖。(A) 無緩衝區田間設計，田區大小為 25 m × 25 m，中央種植 5 m × 5 m 面積的 AAN 轉殖品系為花粉貢獻親，分別在 8 個不同方向、5 個不同距離種植 ‘TNGW73’ 當花粉接受親，其他空白區域不種植任何植物；(B) 有緩衝區田間設計，田間配置與無緩衝區一樣，差別在於灰色區域種植全部種植 ‘TNGW73’。

Fig. 1. Diagrams of the field experimental designs without (A) or with (B) buffer zones. Pollen donor ‘TNG67’ was transplanted in the central block of 5 m × 5 m, and pollen recipient ‘TNGW73’ was transplanted to the plots in 8 directions at 5 different distances in the open field of 25 m × 25 m. Beyond the plots, no plant and weed grew where is indicated by white space (A); beyond the plots, ‘TNGW73’ grew where is indicated by gray space (B).

狀。‘TNGW73’水稻上收穫的種子，以 45°C 恒溫將種子烘乾至水分含量為 14%，再以脫殼機 (THU35B, Satake Corp., Japan) 脫殼成糙米，用肉眼觀察糙米透明度。為避免人為影響外觀檢測，呈現透明之糙米再進行碘液 (iodine solution) 反應檢定。將 0.2 g 碘與 2 g 碘化鉀 (KI) 溶解於蒸餾水中並稀釋至 100 mL，且予充分混合置於深棕色瓶中為原液，檢驗時將碘試劑原液稀釋十倍，即為試劑。用刀片將糙米橫切為兩半後置於培養皿中，加入適量的試劑，稍加搖動，靜置 3 min 後，觀察顏色變化。若為 ‘TNGW73’ 自交種子其胚乳呈褐色，若為 ‘TNGW73’ 和 AAN 雜交種子，其胚乳則呈紫黑色。花粉媒介基因流佈頻率 = 檢測到 ‘TNGW73’ 和 AAN 轉殖品系之雜交種子數目 / 檢測種子數目 × 100%。

氣象資料

利用農業試驗所氣象站儀器於水稻開花期間，每天於 8:00、9:00、10:00 及 11:00 測量風速與風向。

結果

水稻花粉媒介基因流佈結果

本試驗藉由調整花粉貢獻親與接受親之播種期，確保其開花期重疊，由田間觀察結果顯示 AAN 轉殖品系水稻開花期為 10 月 20–28 日；‘TNGW73’ 為 10 月 19–26 日。每一花粉貢獻

親與接受親間至少有 7 d 的花期重疊，有最大的機會發生雜交。

本試驗每一檢測樣本共有 12,000 粒種子進行花粉媒介基因流佈評估檢測，所有參試材料的種子平均發芽率介於 95–98% 之間。結果顯示花粉流佈頻率受到接受親種植距離和方向所影響，花粉流佈頻率隨著種植距離增加而下降。在有緩衝區田間設計中，相距 1 m 時其花粉流佈頻率介於 1.54–3.33% 之間，平均為 2.39%，其中以南方和西南方檢測到的花粉頻率最高分別為 3.33% 和 3.10%。隨著種植距離增加在 3 m 及 5 m 處檢測到的花粉流佈頻率平均分別為 1.81% 及 1.67%。在 9 m 處檢測的花粉流佈頻率介於 0–0.84% 之間，平均為 0.38%，其中在北方及東北方僅檢測少量雜交種子，其花粉流佈頻率分別為 0.03% 和 0.01%，而東方和西方則未檢測到任何雜交種子 (表 1)。在無緩衝區田間設計中，也得到類似結果。相距 1 m 時其花粉流佈頻率介於 1.24–3.64% 之間，平均為 2.28%，其中以西南方和東南方檢測到的花粉頻率最高分別為 3.64% 和 3.02%。隨著種植距離增加在 3 m 及 5 m 處檢測到的花粉流佈頻率平均分別為 1.84% 及 1.53%。在 9 m 處所有方向仍皆檢測到雜交種子，其花粉流佈頻率介於 0.52–1.65% 之間，平均為 1.04%，其中仍然以西南方 (1.55%) 和東南方 (1.65%) 檢測到的花粉頻率最高 (表 2)。

表 1. 基因轉殖植酸酵素水稻 (AAN) 於農業試驗所隔離試驗田區在有緩衝區 8 個方向、5 個不同距離之花粉流佈平均頻度 (%) 的結果。

Table 1. Frequency of outcrossed seeds of pollen recipient ‘TNGW73’ in 8 directions and 5 distances from the pollen donor AAN with buffer zones at the confined field sites in Taiwan Agriculture Research Institute.

Distance ^z (m)	Frequency of outcrossed seeds (%)								Average
	North	Northeast	East	Southeast	South	Southwest	West	Northwest	
1	1.88 ± 0.20 ^y	1.76 ± 0.35	2.15 ± 0.57	2.70 ± 0.32	3.33 ± 0.25	3.10 ± 0.56	2.63 ± 0.13	1.54 ± 0.36	2.39
3	1.85 ± 0.35	1.20 ± 0.16	1.85 ± 0.39	2.15 ± 0.24	2.72 ± 0.38	2.03 ± 0.36	1.45 ± 0.14	1.23 ± 0.45	1.81
5	1.58 ± 0.09	1.25 ± 0.56	1.36 ± 0.21	2.70 ± 0.67	2.42 ± 0.54	1.47 ± 0.25	0.97 ± 0.07	1.60 ± 0.25	1.67
7	0.23 ± 0.13	0.43 ± 0.13	0.52 ± 0.09	1.73 ± 0.37	1.80 ± 0.13	1.60 ± 0.22	0.55 ± 0.04	1.50 ± 0.17	1.05
9	0.03 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0	0.84 ± 0.61	0.83 ± 0.21	0.63 ± 0.03	0	0.60 ± 0.08	0.38
Average	1.11	0.95	1.18	2.02	2.22	1.77	1.12	1.29	1.46

^z Distance between recipient plots (‘TNGW73’) and the donor plot (AAN).

^y Mean ± SE (n = 3).

表 2. 基因轉殖植酸酵素水稻 (AAN) 於農業試驗所隔離試驗田區在無緩衝區於 8 個方向、5 個不同距離之花粉流佈平均頻度 (%) 的結果。

Table 2. Frequency of outcrossed seeds of pollen recipient ‘TNGW73’ in 8 directions and 5 distances from the pollen donor AAN without buffer zones at the confined field sites in Taiwan Agriculture Research Institute.

Distance ^z (m)	Frequency of outcrossed seeds (%)								
	North	Northeast	East	Southeast	South	Southwest	West	Northwest	Average
1	1.82 ± 0.32 ^y	1.35 ± 0.11	2.38 ± 0.45	3.02 ± 0.57	2.58 ± 0.32	3.64 ± 0.25	2.23 ± 0.35	1.24 ± 0.16	2.28
3	1.18 ± 0.18	0.85 ± 0.26	2.34 ± 0.56	2.67 ± 0.31	2.88 ± 0.42	2.15 ± 0.11	1.82 ± 0.05	0.84 ± 0.21	1.84
5	0.85 ± 0.12	1.21 ± 0.14	1.58 ± 0.25	2.57 ± 0.35	1.87 ± 0.32	2.52 ± 0.21	1.20 ± 0.21	0.45 ± 0.12	1.53
7	1.20 ± 0.35	1.45 ± 0.28	1.30 ± 0.16	2.14 ± 0.27	1.98 ± 0.41	1.97 ± 0.24	1.01 ± 0.13	0.55 ± 0.21	1.51
9	0.52 ± 0.13	0.62 ± 0.13	0.80 ± 0.08	1.65 ± 0.13	1.53 ± 0.65	1.55 ± 0.03	0.63 ± 0.03	0.98 ± 0.30	1.04
Average	1.11	1.10	1.68	2.41	2.17	2.36	1.38	0.81	1.64

^z Distance between recipient plots (‘TNGW73’) and the donor plot (AAN).

^y Mean ± SE (n = 3).

表 3. ‘台農糯 73 號’ 水稻在農業試驗所隔離試驗田區 10 d 開花期間的風向與風速氣象資料。

Table 3. Wind direction and velocity during the 10 days of ‘TNGW73’ flowering at the confinement field sites of Taiwan Agriculture Research Institute.

Wind direction from	Hours	Wind speed (m s ⁻¹)
North	9	0.6–4.7
Northeast	2	0.7–2.0
East	0	0
Southeast	0	0
South	2	0.7–4.2
Southwest	2	0–2.5
West	3	0.6–4.2
Northwest	22	1.4–9.8

氣象資料結果

花粉媒介的基因流佈在自然條件下，容易受到風向與風速等氣象因子影響，存在著較大的方向性。表 3 為水稻開花期間所收集的氣象資料，資料顯示在開花期間 10 d 40 個小時的記錄點中，有 22 個小時是西北方風向，其風速介於 1.4–9.8 m s⁻¹ 之間，9 個小時是北方風向，其風速介於 0.6–4.7 m s⁻¹ 之間，而在 40 個小時記錄點中未測得東方和東南方的風向及風速資料。對照水稻開花期間的氣象資料，發現開花時風向及風速明顯影響基因流佈發生頻率的高低。從氣象資料顯示有 78% (31/40) 的時間為北方及西北方向，且其最大風速達 9.8 ms⁻¹，在有緩衝區田間設計中，位於下風處南方、東南方及西南方處皆測得較高的雜交種

子，花粉流佈頻率平均分別為 2.22、2.02 和 1.77%。然而相對地在上風處北方及東北方向測得較少雜交種子，其花粉流佈頻率平均為 1.11% 和 0.95% (表 1、圖 2)。同樣地在無緩衝區田間設計中位於下風處南方、東南方及西南方向測得較高的雜交種子，花粉流佈頻率平均分別為 2.17、2.41 和 2.36%。相對地在上風處東北方及西北方向測得較少雜交種子，其花粉流佈頻率平均為 1.10% 和 0.81% (表 2、圖 2)，結果顯示花粉流佈頻率存在著極大的方向性。

討論

緩衝區設置效果

基因轉殖作物商業化生產最受關注的議題

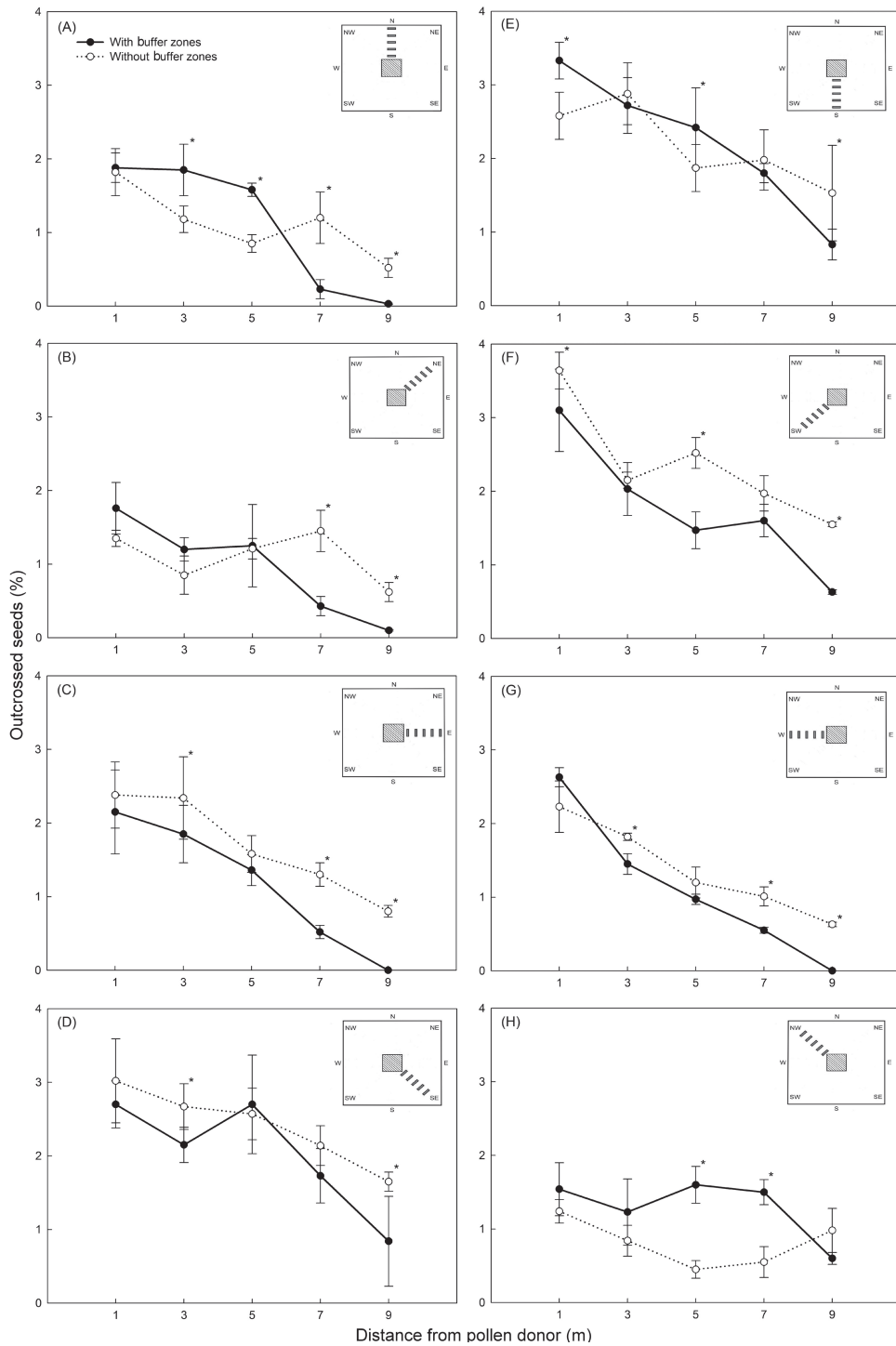


圖 2. 基因轉殖植酸酵素水稻 (AAN) 有緩衝區和無緩衝區設置在 8 個不同方向之花粉流佈平均頻度 (%) 的結果。

Fig. 2. Frequency of outcrossed seeds of pollen recipient 'TNGW73' in 8 directions from the pollen donor AAN in the open field with buffer zones and without buffer zones. Error bars represent standard error of two replications. * indicates significant difference at level of $P < 0.05$ according to t-test.

是外源基因透過花粉媒介進而污染鄰近田區的非基因轉殖作物，防範基因轉殖水稻種植造成商業品種稻米生產之混雜風險，最好的方法是杜絕花粉媒介的基因流佈。本研究利用有緩衝區與無緩衝區設置防範水稻花粉流佈，結果在 1、3 及 5 m 距離之花粉流佈頻率二者間並無顯著差異，但在 7 m (1.05%, 1.51%) 及 9 m (0.38%, 1.04%) 處二者間有顯著差異 (表 1、2)。顯示利用 5 m 的緩衝區，對於水稻花粉的擴散並無法達到有效的阻隔，然而利用 7 m 緩衝區則有明顯的防範作用，可以使花粉流佈頻率降至 1.05%，9 m 則可以降至 0.38%。Damgaard & Kjellsson (2005) 利用隔離距離及緩衝區來探討基因轉殖油菜的花粉流佈，建議最佳的商業化栽種管理策略是採用 100 m 的隔離距離，可以將基因轉殖油菜花粉流佈頻率控制在 0.1% 以下。其次是用 50 m 的隔離距離，花粉流佈頻率可以降至 0.3% 以下。最後才是利用 5 m 的緩衝區，可以降低基因轉殖油菜的花粉流佈頻率至 0.53%。OECD 則建議利用 12 m 寬的緩衝作物區可使油菜的傳粉率降至 0.7% (OECD 1993)。

氣象因子與緩衝區設置之關聯性

水稻為風媒花，開花時的氣候因子特別是風向及風速容易影響水稻花粉的散佈。由田間的氣象資料顯示，在開花的 10 d 中，風向主要是從北方、西北方往南方和東南方，其最大風速達 9.8 m s^{-1} ，致使在有緩衝區設置位於下風南方與東南方 7 m 處檢測到的花粉流佈頻率分別為 1.80% 和 1.73%，與無緩衝設置差異不大，其花粉流佈頻率分別為 1.98% 和 2.14%。然而在 9 m 處其花粉流佈頻率有顯著的差別，有緩衝區設置南方與東南方 9 m 處的花粉流佈頻率分別為 0.83% 和 0.84%，而無緩衝設置則分別為 1.53% 和 1.65%。顯示在風速比較大的情況下，7 m 的緩衝區設置並不會影響風向對於花粉流佈頻率造成的結果，但超過 9 m 則有明顯差異。

同樣地由田間的氣象資料結果顯示，在開花期間並無東方及東南方風向，僅有 2 個時間點是西南方風向，其風速介於 $0-2.5 \text{ m s}^{-1}$ ，致使位於上風處西方 1 m 處，有緩衝區設置的

花粉流佈頻率為 2.63% 高於無緩衝區設置的 2.23%，然而 3 m 後，隨著距離增加有緩衝區設置的花粉流佈頻率明顯低於無緩衝區設置。同樣地在北方與東北方也有類似的結果，有緩衝區設置在 1、3 及 5 m 處的花粉流佈頻率高於無緩衝區設置，但在 7 m 以後有緩衝區設置的花粉流佈頻率則明顯低於無緩衝區設置，顯示在無風向或風速比較小的情況下，有緩衝區的設置仍會影響風向對於花粉流佈頻率造成的結果。

利用緩衝區設置雖可以有效地阻擋花粉的傳播，降低花粉飛散距離，但並無法完全的阻隔，在 9 m 處仍偵測到雜交種子，其花粉流佈頻率平均為 0.38%。根據北海道基因轉殖作物種植所致的雜交防止條例規範水稻的隔離距離為 300 m，然而研究結果顯示在距離 300 m 及 450 m 處調查水稻雜交頻率分別為 0.023% 和 0.006%，在 600 m 仍舊有發現雜交種子 (Bio Journal 2008, <http://www5d.biglobe.ne.jp/~cbic/english/2008/journal0805.html>)。Devos *et al.* (2005) 認為在基因轉殖作物田間周圍種植同種未轉殖的植株作為緩衝區雖可防止一部分花粉離開種植地點，但無法造成完全的隔離。

台灣地狹人稠，現有耕地主要栽種水稻，若利用隔離距離，距離過長將大幅減少耕種面積，降低農民的經濟效益，反之，隔離距離過短則可能增加基因流佈風險，使基因轉殖作物與鄰近非基因轉殖作物混雜之可能性增高。研究顯示利用緩衝區的設置並無法有效的防止水稻花粉流佈，在基因轉殖作物周圍種植高大的植物當綠籬形成屏障防止花粉的遠距離擴散，可以使基因轉殖作物藉由花粉媒介的基因流佈風險降至最低 (Arritt *et al.* 2007; Prescher *et al.* 2010; Tseng *et al.* 2012)。

引用文獻

- Arritt, R. W., J. Astini, C. A. Clark, J. M. E. Westgaba, and A. S. Goggi. 2007. Biological windbreaks for pollen confinement. p.131-134. *in*: Proceedings of the 3rd International Conference on Coexistence between Genetically Modified (GM) and Non-GM Based Agricultural Supply Chains. November

- 20–21, 2007. Seville, Spain. IPTS, JRC. Seville.
- Chandler, S. and J. M. Dunwell. 2008. Gene flow, risk assessment and the environmental release of transgenic plants. *Crit. Rev. Plant Sci.* 27:25–49.
- Chen, L. J., D. S. Lee, Z. P. Song, H. S. Suh, and B. R. Lu. 2004. Gene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to its weedy and wild relatives. *Ann. Bot.* 93:67–73.
- James, C. 2012. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2012. ISAAA Briefs 44, ISAAA. Ithaca, NY. 243pp.
- Damgaard, C. and G. Kjellsson. 2005. Gene flow of oil-seed rape (*Brassica napus*) according to isolation distance and buffer zone. *Agric. Ecosyst. Environ.* 108:291–301.
- Devos, Y., D. Reheul, and A. De Schrijver A. 2005. The co-existence between transgenic and non-transgenic maize in the European Union: a focus on pollen flow and cross-fertilization. *Environ. Biosafety Res.* 4:71–87.
- Hokanson, S. C., J. F. Hancock, and R. Grumet. 1994. Can border rows serve to limit the long distance movement of transgenic pollen? p.418. *in: Proceedings of the 3rd International Symposium on the Biosafety Results of Field Tests of Genetically Modified Plants and microorganisms.* November 13–16, 1994. Oakland, California. The Univ. of California.
- Hong, C. Y., K. J. Chen, L. F. Liu, T. H. Tseng, C. S. Wang, and S. M. Yu. 2004. Production of two highly active bacterial phytases with broad pH optima in germinated transgenic rice seeds. *Transgenic Res.* 13:29–39.
- Lu, B. A., Z. P. Song, and J. K. Chen. 2003. Can transgenic rice cause ecological risks through transgene escape? *Prog. Nat. Sci.* 13:17–24.
- Mascia, P. N. and R. B. Flavell. 2004. Safe and acceptable strategies for producing foreign molecules in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 7:189–195.
- Messeguer, J., V. Marfà, M. M. Català, E. Guiderdoni, and E. Melé. 2004. A field study of pollen-mediated gene flow from Mediterranean GM rice to conventional rice and the red rice weed. *Mol. Breed.* 13:103–112.
- OECD. 1993. Group of National Experts on Safety in Biotechnology. The Organisation for Economic Co-operation and Development Press. Paris. 7 pp.
- Prescher, S., J. Schiemann, and A. Hüsken. 2010. Study of maize fields and their surroundings in European regions regarding the suitability for coexistence of different maize cultivars. p.84–88. *in: Implications of GM-Crop Cultivation at Large Spatial Scales.* (Breckling, B. and R. Verhoeven, eds.) Peter Lang GmbH Pub. Frankfurt, German. 180 pp.
- Remund, K. M., D. A. Dixon, D. L. Wright, and L. R. Holden. 2001. Statistical considerations in seed purity testing for transgenic traits. *Seed Sci. Res.* 11:101–119.
- Scheffler, J., R. Parkinson, and P. J. Dale. 1993. Frequency and distance of pollen dispersal from transgenic oil seed rap (*Brassicana apus*). *Transgenic Res.* 2:235–236.
- Song, Z. P., B. R. Lu, Y. G. Zhu, and J. K. Chen. 2002. Pollen competition between cultivated and wild rice species (*Oryza sativa* and *O. rufipogon*). *New Phytol.* 153:289–296.
- Song, Z. P., B. R. Lu, and J. K. Chen. 2004. Pollen flow of cultivated rice measured under experimental conditions. *Biodivers. Conserv.* 13:579–590.
- Tseng, C. S., M. T. Wu, H. C. Huang, and Y. R. Lin. 2012. The green fence of Chinese hibiscus (*Hibiscus rosasinensis* L.) prevents pollen dispersal of transgenic Rice (*Oryza sativa*). *Plant Prod. Sci.* 15:100–108.
- Wang, F., Q. H. Yuan, L. Shi, Q. Qian, W. G. Liu, B. G. Kuang, D. L. Zeng, Y. L. Liao, B. Cao, and S. R. Jia. 2006. A large-scale field study of transgene flow from cultivated rice (*Oryza sativa*) to common wild rice (*O. rufipogon*) and barnyardgrass (*Echinochloa crusgalli*). *Plant Biotechnol. J.* 4:667–676.

Effect of Buffer Zones on Pollen-Mediated Gene Flow of Transgenic Rice

Ching-Shan Tseng¹, Yann-Rong Lin², Cheng-Ping Kuan¹, Ming-Hsing Lai³, and Min-Tze Wu^{4,*}

Abstract

Tseng, C. S., Y. R. Lin, C. P. Kuan, M. H. Lai, and M. T. Wu. 2013. Effect of buffer zones on pollen-mediated gene flow of transgenic rice. *J. Taiwan Agric. Res.* 62(3):259–267.

In this study, the non-glutinous of phytase-transformed rice line AAN (*Oryza sativa* L. ssp. *japonica*) was used as the pollen donor and the glutinous rice 'Tainung waxy 73' (*O. sativa* L. ssp. *japonica* cv. 'TNGW73') was used as the pollen recipient. The objective of this research was to study the effect of buffer zones on pollen dispersal of transgenic rice in the open fields. Results showed that the frequency of outcrossed seeds varied with the distances and directions. The frequencies of outcrossed seeds were not significantly different in the south and southeast directions within 7 m between buffer zones and non-buffer zones treatments. However, there were significantly different frequencies of outcrossed seeds at 9-m distance between buffer zones and non-buffer zones treatments. The frequency of outcrossed seeds with buffer zone was 0.83% (south) and 0.84% (southeast) and 1.53% (south) and 1.65% (southeast) for non-buffer zones, respectively. The frequency of outcrossed seeds of plots with buffer zones was higher than those without buffer zones in the north and northeast at distance of 1, 3, and 5 m. However, the frequency of outcrossed seeds of plots with buffer zones was significantly lower than those without buffer zone beyond 7 m. This study indicated buffer zones longer than 7 m could decrease the frequency of outcrossed seeds by pollen-mediated gene flow in the directions against wind.

Key words: Transgenic rice, Pollen-mediated gen flow, Buffer zones.

Received: June 3, 2013; Accepted: July 31, 2013.

* Corresponding author, e-mail: wu@tari.gov.tw

¹ Assistant Research Fellow, Biotechnology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

² Associate Professor, Department of Agronomy, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, ROC.

³ Associate Research Fellow, Crop Science Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.

⁴ Research Fellow and Director, Biotechnology Division, Taiwan Agricultural Research Institute, Taichung, Taiwan, ROC.