



現代林木分子遺傳改良技術 —轉基因木本植物之發展現況

不少的科學家預言：

「生物技術的發展與運用，將是 21 世紀生命科學研究的顯學。」就森林生物技術而言，它可包含的範圍很廣，例如：細胞培養、酵素工程及遺傳工程技術等，都可以歸屬於森林生物技術的範疇。由於樹木的再生週期很長，因此對於林木遺傳改良的工作而言，可說是一條極為漫長的道路。如能妥善的運用遺傳工程技術，則可有效地加速縮短林木改良的週期，這是因為只要經過一次組織培養的週期，就可以平行轉移一至數個基因到樹木的遺傳物質(染色體)中，直接再生成植株。如此一來，不但解決傳統育種時可能遭遇的問題，即由於傳統育種是對整組染色體的變更，因此有極大的機率會獲得其它不期望的基因組，產生意料之外的結果；同時，利用組織培養的方法，亦可省去種子採收的過程，節省人力、物力。此外，遺



◎曲芳華 / 中央研究院
植物所博士後研究員

傳工程技術的最大突破，就是所轉移的基因可來自不同的樹種，甚至是不同生物體的基因源，對於育種學家而言，則可有更多的選擇來改良林木。

最早的轉基因植物報導可追溯至 1970 年代，科學家發現植物受一種植物病原？

Agrobacterium tumefaciens 感染時，可轉移其 Ti 質體上的一段 DNA 到植物的染色體上。1983 年，Barton 等人產生第一個轉殖植株，而後陸續發展，至今已超過 200 種植株進行基因轉殖試驗，其中，亦包括木本植物。相對而言，雖然遺傳工程技術已十分成熟的運用於農作物改良上，研究成果亦頗為豐碩；但就樹木而言，由於參與研究的人員較

少，且組織培養過程中所面臨到的瓶頸，因此，與其他植物或作物相較下，轉基因樹木的研究較為緩慢。不過，體胚形成技術已在1985年順利地再生出針葉樹木，更於1987年育出第一個轉基因白楊樹，接著於1993年，第一個轉基因針葉樹雲杉便誕生了。至此，遺傳工程技術已成功地應用於木本植物上。事實上，截至目前為止，已有不少的轉基因樹木產生，本文即針對林木改良中較重要的基因，及已成功的轉基因木本植物為實例，作一概念性的介紹。

一、抗病蟲害

利用蘇力菌的噴灑來防治病蟲害已廣泛運用在森林保護，目前已選殖得到產生此毒性的基因，且也有效地運用在轉基因植物上，用來防治鱗翅目、鞘翅目、雙翅目的昆蟲及線蟲等病蟲害。就木本植物而言，此基因亦已被引入白楊樹、雲杉及落葉松等樹種。另外一個策略是利用蛋白抑制劑（proteinase inhibitors），抑制昆蟲及動物體內之消化酵素。事實上，這些蛋白抑制劑基因，經常可以在某些植物本身發現，當植物受到昆蟲侵略時，它會經由一系列的訊息傳遞與反應而被誘發出來。目前已有許多這類的基因被分離，並被用來產生轉基因植株防治病蟲害，例如：在

白楊樹中也可選殖得到類似 Kunitz-type trypsin inhibitors，經由基因轉殖而應用於林木改良，防治病蟲害。

另外，真菌及細菌性病害對樹木苗期以及成株，亦會造成嚴重的損害。在其他作物方面，已可利用抗真菌的蛋白質（從細菌或其他的植株分離），來抑制真菌的生長；或藉由破壞病原與寄主植物之間的辨識系統來達到防治的目的。至於細菌性病害方面，則是利用昆蟲體之免疫系統中所產生 ceropins 及 magainins 的基因來進行遺傳工程，或是轉殖去毒性（detoxification）酵素基因來去除細菌病原所產生的毒性。

二、抗殺草劑

對林木而言，抗殺草劑是一項非常有用的特性，它可以用來控制雜草的生長，免於雜草強勢的競爭，進而保護苗木生長。於作物方面，轉基因技術主要可利用三個策略來進行遺傳工程，進而達到抗殺草劑的作用。一是影響殺草劑鍵結作用的酵素（例如：抗 glyphosate 及 sulphonylureas），二是大量表現會被殺草劑標地的植物酵素（例如：glyphosate），三是從微生物分離出可以去除殺草劑毒性的酵素（例如：phosphinotricin 及 bromoxynil）。目前，於轉基因樹木的研究進展上，不但已有

抗 glyphosate 及 sulphonylureas 的轉基因白楊樹，亦有抗 glyphosate 的轉基因落葉松。

三、花不孕性

進行不孕性植株的遺傳工程有二個理由，一是生產力，二是防止基因漂流。就生產力而言，認為開花會造成能量的耗損，因此，若能避免開花則可以增加樹木的生物產量。另一方面而言，由於樹木的生長週期長，為避免在生長過程中對環境造成影響，因此，讓轉基因樹木不具有有性生殖的能力就非常的重要。目前，已有利用破壞花器結構細胞來造成不孕，例如：破壞花粉的生成；或者將參與形成花的基因修飾，以防止正常的配子體發育生成，例如：轉基因白楊樹即用此法；另一方面，將阿拉伯芥參與花分裂組織的 *LEAFY* 基因轉殖到楊樹中，即會促使花早熟，發育不全，進而阻斷有性生殖。

四、植物的耐受性

森林樹木是生長周期長的生物，在生長的周期中，難免會面臨到季節的變化，例如：溫度及乾濕的變化；另外，也會面臨到一些非生物性的逆境，例如：傷口、鹽害及化學物污染等。因此，如何能讓林木更適應季節的變化及全球溫室效應，亦可藉由遺傳工程技術

來達成。例如：一般非轉基的白楊在 0.4% NaCl 的環境下就無法生長，但將來自細菌 *l-phosphate mannitol dehydrogenase* 基因轉殖至白楊樹中，則可增加其對鹽度的耐受性，在鹽度 0.6% 的環境下仍生長良好。

另外，生物淨化 (bioremediation) 技術近年來逐漸受到重視，因為它可以用來去除一些對人類有害的化學污染物質。其策略有二種，一是將有毒物質固定、隔離或抑制有毒物質避免被其它物質所吸收；二是藉由化學之氧化作用進行去毒作用。目前已發現許多種類的植物，包括樹木，對金屬離子具有較高的耐受性，可將受污土淨化。為增加植物對重金屬的耐受性，目前可藉由遺傳工程技術將動物產生 *metallothioneins* 的基因轉殖到植物體中，以增加植物對氮化鎘的抗性。另外，將細菌產生去除 *chlorophenol* 毒性的酵素基因轉入白楊樹中，則可進行生物淨化作用，淨化自然污染或受工業污染的土壤，防止土壤受到侵蝕及污染源散佈。

五、樹木形態及組成份的改變

最早進行改變樹木形態的研究，是在 1995 年由 Tuominen 等人利用 *auxin* 生物合成有關的基因 (*iaaM* 及 *iaaH*) 進行白楊樹的遺傳工程實驗，其成果不僅

降低白楊樹的生長速率、縮小葉片及樹徑減小，其樹木的側枝亦減少。同時，木質部的構造及組成亦有所改變。之後，其他改變樹木形態的轉基因樹木亦被陸續發表，如提早開花、降低發根能力、結間縮短、矮化或是加速生長、結間增長、纖維細胞增長、發根率提高及生物產量增加等，在不同品系的白楊樹皆有報告發表。

另外，對製漿工業來說，將木材纖維中木質素去除的過程是最耗廢成本的，亦會造成環境的污染。因此，若能將樹木中的木質素降低，將可大大改善這個問題。木質素是經由 phenylpropanoid 生合成的途徑，由 phenylalanine 生成而來。然而，phenylpropanoid 生合成的途徑中，有一個分支是會產生一些芳香族的化合物，可用來對抗環境中紫外光及病原菌的侵害。因此，要進行遺傳工程降低木質素的含量，就必須是要針對參與木質素生合成中最後一個步驟的酵素作為標的，才不會降低其防禦能力。例如：將生合成木質素的酵素 caffeoyl coenzyme A O-methyltransferase 以反義股 (antisense) 的方式轉殖到白楊樹，則可以降低樹中木質素的含量。

傳統林木改良須經過相當長的時

間，然而藉由現代遺傳工程技術，利用組織培養過程轉入我們所期望的基因，便可不限量產生繁殖體。如此一來，可以大大縮短育種的過程，這對林木改良而言，是一項相當吸引人的技術。無可諱言的，樹木的生長週期長，轉基因樹木長期暴露在自然環境中，沒有人可保證轉基因樹木不會對生態造成衝擊。因此，比較理想的策略是，我們所引入的基因應能夠在病蟲害侵害時才被誘發啟動，或是在特定的組織內作用。再者，轉殖多個基因較單一基因為佳，或將摻雜轉基因及非轉基因的林木混合種植，可以使樹木更適應環境。

目前，楊樹及雲杉等的轉基因樹木已在許多國家進行林場試驗，目的就是要評估轉殖的基因是否穩定？是否適應外在環境？因此，所要評估的項目則包括雜草的發展、轉殖的基因是否會漂移至天然的林木族群？對於標的及非標的昆蟲的衝擊、食物鏈的衝擊及相關生物的衝擊等可能造成的影響等，其目的即是盡量減少對環境造成的危害，且使轉基因能在轉殖的樹木中能穩定的存在。相信在分子生物學逐漸揭開樹木生理神秘面紗的年代，配合各種生物技術將可以使林木改良的時間縮短及更精確檢測基因的動向。

