

基改植物之環境安全風險評估

羅致逵*

摘要

基改植物在最近 10 年之間快速發展，特別是自 1994 年第一個基改蕃茄進入市場之後。但由於基改植物的特性，使得基改植物的環境安全風險評估較一般傳統農藥的環境安全風險評估困難。基改作物的環境安全性評估包括對人畜與對環境的安全。由於目前的方法對基改產品的毒性試驗得不到無藥害劑量 (NOEL)，在環境安全試驗時使用的環境指標因子 (Indicator) 也得不到可能的安全風險，因此當基改植物及其產品得到政府同意註冊時，仍有消費者對生技產品的安全有一些疑慮。本文特就基改植物之生物安全，預防原則，實質等同與標示提出一些說明，供消費者，研發基改植物之研究人員與基改植物安全管理相關人員參考。

關鍵字：生物安全，預防原則，實質等同，標示

* 農委會農業藥物毒物試驗所生物藥劑組研究員；朝陽科技大學應用化學系兼任教授；美國農工大學土壤與作物學博士；電子信箱：lcc@tactri.gov.tw

Risk Assessment on the Environmental Biosafety of Transgenic Crops

Chi-Chu Lo*

ABSTRACT

The development of transgenic crops is very fast in the recent ten years, especially after the first transgenic crop of tomato entered the market in 1994. However, it is more difficult to assess the environmental biosafety of transgenic crops than to assess the environmental biosafety of pesticides. Risk assessment on the environmental biosafety of transgenic crops includes the risk to human, animals, and the environment. Toxicity tests with present methods for the target products produced by the transgenic crops showed no safety risk existed because the no-effect levels (NOELs) were not found, and there is also no indicator showed the risk of transgenic crops to the environment existed. Why some consumers are still raising objections against the transgenic crops and their products when transgenic crops and their products are registered? Thus, this report is trying to give some aspects of transgenic crops on the biosafety, precautionary principle, substantial equivalence, and labeling, to the consumers, and the people that are related with the development of transgenic crops and the regulation affairs for reference.

KEYWORD: GMO, Biotechnology, Risk, Transparency

* Senior Scientist, Department of Biopesticide, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute; Adjunct Professor, Department of Applied Chemistry, Chao Yang University of Technology; Ph.D. Department of Soil and Crop Science, Texas A & M University, USA. E-mail: lcc@tactri.gov.tw

前言

一、生物技術的發展

自 1983 年以來，利用生物技術來生產對農業與人類有用的生物，即成了一種新興的科技。藉由分子生物的方法，把重組的基因轉殖至一特定的細胞中，改變細胞或分子的遺傳物質。希望藉由遺傳物質的改變，而發展成符合需要的特性生物體。第一個基改作物為蕃茄，自 1994 年上市，其目的是延長採收後的後熟，增加貯存的時間，雖然不久因風味的問題及消費者不需長期貯存，而導致銷售失敗。但也由此開啟了基改作物的研發，有許多基改作物陸續完成登記（表 1）。至 2004 年全球種植基改作物面積超過 10 萬公頃（0.1 百萬公頃）的國家就有 14 個（圖 1），美國最多，而鄰國菲律賓也有 0.1 百萬公頃（0.1MH）的種植。

表 1 主要基改作物之第一次登記國與時間（AGBIOS, 2005）

基改作物	第一次登記國，時間與品系	目前產品總數
玉米	美國，1994，T14，T25	32
棉花	美國，1994，BXN	15
油菜	加拿大，1994，GT73	15
木瓜	美國，1996，55-1，63-1	1
馬鈴薯	美國，1994，BT6，BT10，BT12，BT16，BT17，BT18，BT23	4
大豆	美國，1994，GTS 40-3-2	7
絲瓜	美國，1994，CZW 20	2
蕃茄	美國，1992，FLAVR SAVR	5
稻米	美國，2000，LLRICE06，LLRICE62	3

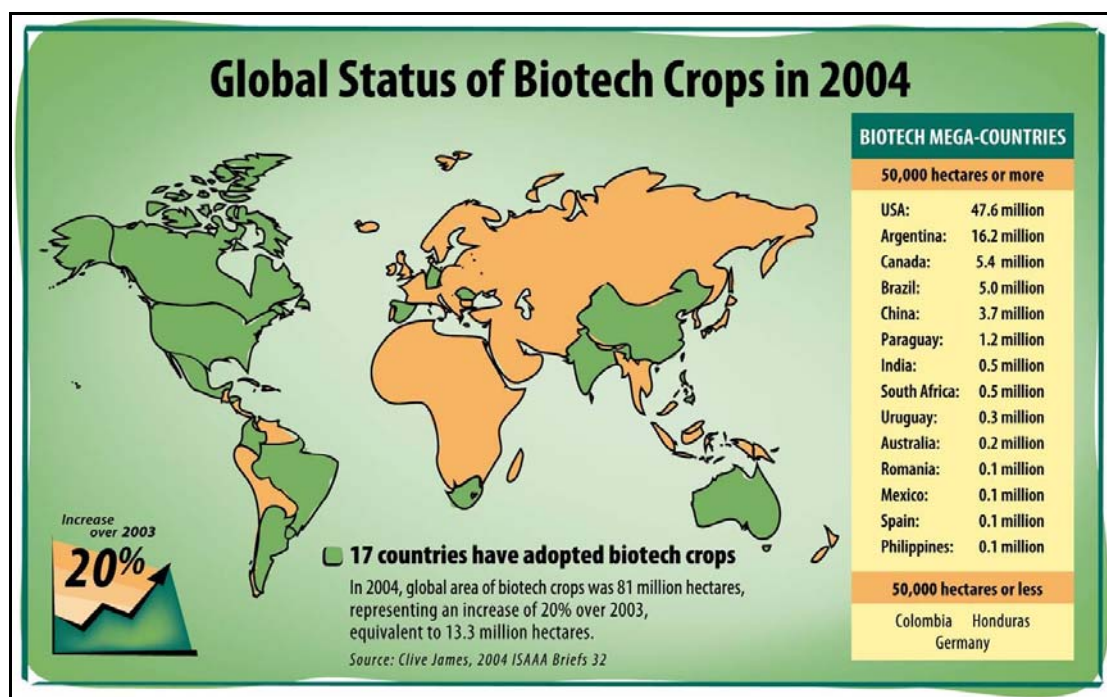


圖 1 2004 年基改作物生技大國（綠色），其基改作物種植面積超過 50,000 公頃者共有 14 國。如 1.美國：47.6MH (59%)；2.阿根廷：16.2MH (20%)；3.加拿大：5.4MH (6%)；4.巴西：5.0MH (6%)；5.中國大陸：3.7MH (5%)；7.印度：0.5MH (1%)；14.菲律賓：0.1MH (<1%)。MH：百萬公頃。(ISAAA 2004)

在基改植物研發初期，認為這些生技產品具有許多利益，如可改善農事操作，可增加食品品質及營養，及改善人畜健康。農藥生技公司的宣傳也認為 (1) 生物技術可以降農藥的使用量。(2) 增加對第三世界的糧食供應。但消費大眾對這些經由生物技術得到的基因改造植物 (Genetically modified plants, GMP) 的食用安全性與對環境生態的安全性，不是很明瞭，因此在接受性上有疑慮。例如對人畜食用的毒性與過敏性如何？如基因外流會不會造成難防除的有害植物？超級雜草？或造成雜交而影響有機農業的發展？基改植物中使用的抗生素基因會不會造成土壤中抗藥性微生物的增加，形成生態優勢？對人畜用的抗生素藥效會不會有影響？有毒蛋白與基因在土壤環境中的殘留會不會增加？對土壤環境中的有益昆蟲或非目標生物的生存受到影響？

這些問題都不是容易回答的，因生技的發展迄今才 15 年，我們對它的認知仍屬有限。因此本文特就基改作物的環境安全性評估提出討論，以供大家判斷的一個基礎。

二、基改植物的管理制度

美國在 1984 年即開始對生技產品進行管理，由白宮的自然資源與環境委員會來進行 (White House Cabinet Council on Natural Resources and the Environment)，然後再將基改作物管理交由美國環保署 (USEPA) 來進行。美國環保署把它列入生物農藥 (Biopesticide)，依生物農藥的原則來

進行對環境安全性的資料審查，食用安全則由美國藥檢署 (USFDA) 來審查，田間的種植許可則由美國農部 (USDA) 來審查 (表 2)。

表 2 美國對基改作物的管理與登記

權責單位	功能
環保署	<p>最早為植物性農藥 (Plant-pesticides, 1994)，現更名為「含保護物質的植物 (Plant-Incorporated Protectants, PIPs)」。</p> <p>一般要求：產品特性，哺乳類動物的毒性，可能過敏性，基因流佈，對非目標生物效果，環境宿命，抗藥性，利益。</p> <p>抗藥性管理：為建立抗除草劑之基改植物的除草劑使用及容許量，EPA 與 USDA 共同進行抗藥性管理。</p> <p>含殺蟲毒蛋白 Bt 基改產物需分析昆蟲抗藥性。</p> <p>確保基改植物不會對人類健康與環境造成不可理解的傷害。</p>
農部	<p>保護美國農業環境，管理基改植物之種植，確保基改植物不會變成有害植物。</p>
藥檢署	<p>管理基改食品，食用安全。</p>

而生技產品生產公司，有時亦會主動撤銷不具市場價值的產品 (表 3)。

表 3 美國含殺蟲毒蛋白 (Bt) 基改玉米放棄市場之情形 (Carpenter, 2001)

品系	商品名	Bt	公司	EPA 許可	備註
Event 176	KnockOut	CryIA(b)	Ciba-Geigy Novartis/ Syngenta	8/95	4/2001 放棄展延
Event 176	NatureGard	CryIA(b)	Mycogen/ Dow	8/95	6/2001 放棄展延
Mon801	無商品化	CryIA(b)	Monsanto	5/96	5/1998 自動撤銷
DBT418	DEKALBt	CryIA(c)	Dekalb	3/97	4/2000 自動撤銷
MON802	無商品化	CryIA(b)	Monsanto	—	
CBH351	Starlink	Cry9C	AgrEvo/ Aventis	12/98	10/2000 自動撤銷

雖然美國很早就建立了比較完整的安全審查制度，但有愈來愈多的國家都認為美國的現行制度仍為階段性的，各國仍需依其本國環境來審查。特別是在環境安全，抗藥性基因的議題上很多國家與美國的認知就有不同。

美國認為抗卡那黴素 (Kanamycin) 的基因 *nptII* 無安全顧慮，因 *npt II* 基因，可有效篩檢具抗藥性的基改植物組織 (Herrera-Estrella et al., 1983)。該抗藥性基因在環境中有很低的背景值 (Recorbet et al., 1993; Jansson, 1995)，在土壤本身原生的族群中不太可能發現 *npt II* 基因序列 (Pillai, et al., 1991)。在 Smalla 等人的研究報告中 (1993) 亦指出，來自荷蘭與德國的農地土壤中

的抗卡那黴素細菌 150 株均不含 *nptII* 基因。顯示 *nptII* 基因在土壤環境中的零背景值。但由此就引生了另一個問題，原來土壤中沒有抗藥性 *nptII* 基因，如大量種植含 *nptII* 基因之基改植物，會不會因基因水平移轉，由植物 DNA 進入微生物 DNA，造成抗藥性的問題，影響對人畜的用藥(表 4)？美國認為抗生素 Kanamycin 及 Neomycin 不是主要抗生素，即使發生基因水平移轉，它的安全風險仍然很低。但歐洲與紐澳等國則認為基因水平移轉的風險有可能存在，就要謹慎評估。

表 4 基改作物中使用的抗藥性標示基因及其作用的抗生素

抗藥性基因	抗生素	用途
<i>nptII</i>	Kanamycin	全身性發炎，為小兒科用藥，毒性較 Neomycin 低很多，作為 Gentamycin 替代藥。不是主要藥劑，在有些國家也使用於嚴重性的系統感染，且其他抗生素無效時。
	Neomycin	第一線用藥，作用與 Kanamycin 相同，但毒性較強，亦為畜牧用藥。
<i>bla</i>	Ampicillin	第一線用藥，廣泛用於呼吸道，胃腸道，尿道，敗血症，細菌性腦膜炎。亦為畜牧用藥。

英國農部 (MAFF) 在 1996 年不同意 Ciba-Geigy 抗蟲基改玉米用於動物飼料的申請，因這基改玉米含有完整的 *beta-lactamase* 基因及來自 pUC18 載體的啟動子與複製起點 (*ori*)，可在一個細胞中產生超過 600 個複本。因此認為這種基改玉米與對基因移轉至動物腸胃的頻率是有一定程度的風險 (Finite risk)。也有部份英國專家不同意農部的意見認為：(1) DNA 經胃腸道分解之後仍保有足夠長度為細菌吸收的機率很低。(2) 細菌可將這基因吸收並整合至細菌染色體的機會是零。(3) 即使抗藥性基因轉入細菌染色體，但能表現的機率很低。(4) 臨床用藥的顯著性也是零，因為抗藥性問題無所不在，早存在於自然界中，只要換上不是安比西林 (Ampicillin) 的抗生素就可以了 (USFDA, Sept. 4. 1998. Guidance for Industry)。

由此可知我國發展的基改植物如含有抗藥性基因，向美加兩國申請許可，美加兩國是不會拒絕審查的，但是如向美加兩國以外的地區申請，則很可能在實質審查前就被拒絕了。

日本自 1991 年開始進行基改作物的試驗(抗 TMV 病毒的基改蕃茄)，至 2003 年止共有 196 個基改作物品種進行或已完成隔離試驗田試驗，有 74 個基改作物品種進行或完成開放田試驗 (Open field)。開放或同意進口的基改產品有 107 種，登記為食品的有 44 種，登記為飼料的有 38 種 (May, 2003, MAFF)。

日本對於基改植物之安全與風險管理是由農林水產省及厚生勞動省二部會來執行，農林水產省負責審查基轉植物之背景資料，環境安全影響評估試驗 (包括動物之飼料與飼料添加物)，隔離田試驗等。厚生勞動省則是建立對人類食品安全評估，及標示。安全評估的標準 (Standards for safety assessment) 包括：由轉基因產生的蛋白必須很容易分解，不可產生有害的毒蛋白或致敏感性的過敏蛋白，新重組的基因必須是安全的，當有新科學事證出現時，重新評估相關的基改食品安全。日本自 2001 年 4 月開始執行標示，含基改成份 5% 以上就要標示「含基改成份」。對於種植未經許可的基改植物，也可判處 1 年以下刑期或 500,000 日元以下罰金。

國內目前對基改植物安全性評估之內容則是參考美國，歐洲與日本等國的作法作調整，基本上以日本的制度為範本，由農委會（對應日本之農林水產省）負責基改植物的種植與環境安全評估，由衛生署（對應日本之厚生勞動省）負責食品安全審查與標示（表 5）。

表 5 國內基改植物安全性評估

權責單位	功 能
農委會	基轉植物之背景資料：植物，特性，野生種或近緣種，外源基因，基因載體，轉移方法，表現，及穩定性。 環境：演變成有害植物，近緣雜交，與其他生物之關係，基因外流，基改植物對環境的衝擊，對其他植物之污染，對植物抗藥性的發展，對微生物抗藥性的發展，對土壤肥力的影響（微生物），對原始物種之保護，生物多樣性。 隔離田試驗：農藝性狀之調查，表現，實質等同之評估，對土壤生態環境的影響調查。 其他評估項目與管理法。
衛生署	安全：基改食品安全性評估與標示。

三、預防原則 (Precautionary principle)

由前述案例可以知道歐洲與紐澳等國啟用了預防原則來限制基改植物中使用可抗抗生素的基因。每個國家對於基改作物的安全性的態度不是一致的，因此在生物多樣性公約之卡塔基納安全議定書中 (Cartagena Protocol on Biosafety to the Convention on Biological Diversity)，即規定基改產品輸出國需主動提供詳盡資料及風險，任何簽署國均可因未回答的科學性安全問題而拒絕基改作物的輸入。此項議定書效力與 WTO 規範同級 (January 31; February 7, 2000 C&EN)。美國，加拿大等基因大國就非常反對，因輸入國提出的安全問題，輸出國不易或無法以實驗方式來得到答案，會造成產品輸出困難 (表 6)。這議定書實際上也是依據「預防原則」來設定的，由於歐盟與美國對預防原則的設定有著很大的差異，因此對基因大國的生技輸出造成嚴重的打擊，導致公司轉賣，裁員，總裁離職等。

表 6 歐盟與美國基改產品管理之預防原則比較

項目	歐 盟	美 國
安全性	基改作物有一定之風險，除非基改輸出國提出資料證明沒有	基改作物沒可預見的風險
管理	個案審查，態度嚴格	新登記嚴謹，再次登記相關技術產品希望簡化 (Deregulation)
環境生態	可能危害環境生態	環境生態的影響為暫時性
標示	含 0.9%基改食品要標示	討論中
安全資訊	部份廠商提供	由廠商提供
預防原則	嚴格執行	反對

預防原則最早出現在德國的環境保護法 (1970 年代)，主要是用於保護人與環境的安全。在第一屆國際北海保護會議中 (First International Conference on Protection of the North Sea) 第一次提出 (1984)，聯合國 1992 年舉辦之會議中亦列入 (Rio Declaration, United Nations Conference on Environment and Development)，美國也簽字背書，但迄今美國的法律中對這原則仍沒有很明確的敘述與支持。

預防原則的方法包括：(1) 禁用或逐漸不用 (Bans and phase-outs)，(2) 污染之清除與防止 (Clean production and pollution prevention)，(3) 第二種途徑以上的評估 (Alternative assessment)，(4) 健康上考慮的職業暴露限制 (Health-based occupational exposure limits)，(5) 反向責任之化學物名冊 (Reverse onus chemical listing)，(6) 有機農業 (Organic agriculture)，(7) 環境生態 (Ecosystem management)，(8) 進入市場前之測試 (Pre-market or pre-activity testing requirements)。

由此可知歐盟各會員國在審查基改植物含可抗人畜用抗生素的抗藥性選擇基因時，完全運用了預防原則的方法中的第 1 條—對於可能對環境有害的抗藥性基因要予以確認 (Identifying) 及逐漸不用 (Phasing out) (Directive 2001/18/EC)。第 2 條污染之清除與防止，則是美國生技公司的惡夢，因為管理的問題太複雜，造成基改產品不斷地混入一般產品中，例如星連玉米進入食品中，導致公司放棄登記，或 Bt11 玉米摻雜 Bt10 玉米導致公司繳交鉅額的罰金等。

預防原則的啟動執行步驟包括：(1) 確認可能的威脅 (Threat) 與問題的特性，(2) 確認對這威脅認識多少，還有那些未知，(3) 重整問題，以了解有那些需要應執行，(4) 不同途徑的評估，(5) 決定處理的方向，(6) 監偵效果與後續執行 (由另一獨立單位進行)。在預防原則的執行過程中，要注意科學的限制不確定性 (Uncertainty)，這也就是為何所有的安全評估都建立在一種風險上，即導因於科學的不確定性。

雖然依預防原則訂立了較嚴格的管理制度，但由於人類對基改產品管理的經驗有限，由 1996 年以來仍然發生許多與基改食品污染，基改作物種子非法釋放，或基改植物田間管理產生的負面次效應等的意外事件，如間接造成昆蟲的抗藥性與雜草的抗殺草劑 (圖 2)，或不合法的基改種子或產品出現在合法的基改種子中或產品中。



圖 2 種植抗嘉磷賽的基改棉花，導致莧科雜草 (*Amaranthus palmeri*) 對嘉磷賽的抗性 (Muller, UT, 2005)

自 1996 年開始第一個大面積種植基改作物商品以來，至 2005 年止，共有 113 件基因管理意外事件 (Incidents) 被報導 (表 7)，這些意外事件包括 88 件污染 (Contamination)，17 件非法釋放 (Illegal release) 及 8 件負面的農藥次效應 (Negative agricultural side-effects)，發生在 39 個國家，共有 13 種基改植物發生管理上的問題 (GM contamination Register Report, 2005)。其中以基改產品污染食品與飼料的次數最高 (圖 3)，自 2000 年以後，每年發生次數總在 10 件以上，而台灣在 2003 年也被報導發生過一次非法釋放 (未許可的單抗基改木瓜進入市場)。

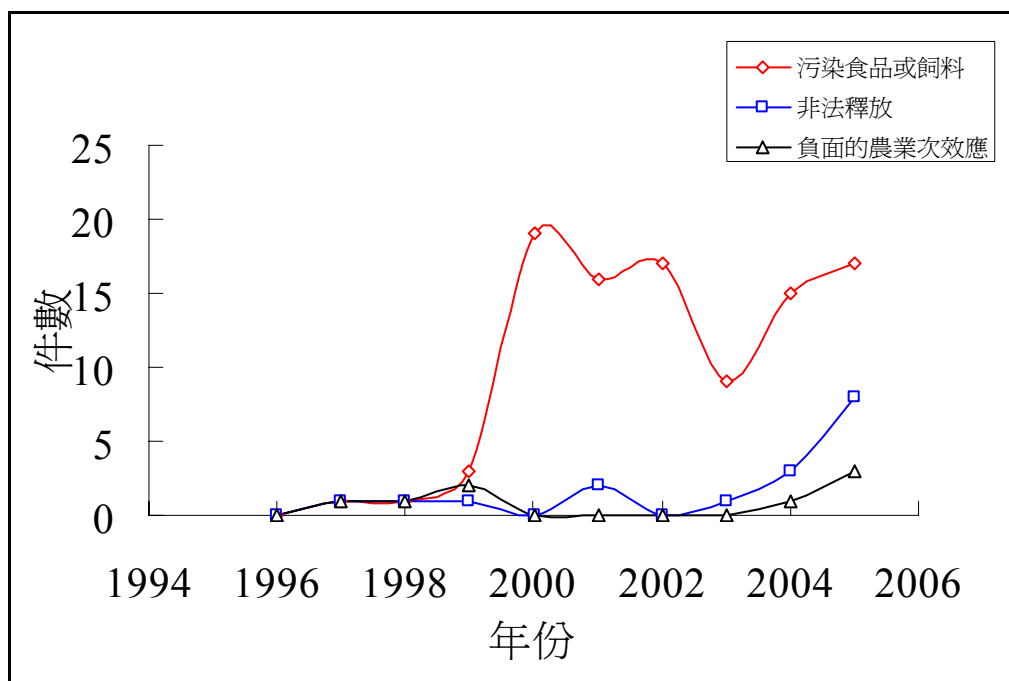


圖 3 自 1996 年至 2005 年基改植物或產品發生意外事件之件數

表 7 自 1996 至 2005 年發生基改植物或產品意外事件之國家

國家	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	總數	%
USA		1		2	2	2	3	2	5	2	19	17
UK				1	3	1	3	1	1		10	9
Australia					1		2	2		4	9	8
Canada		1	1		1	1	3	1	1		9	8
France					2	3	1				6	5
Germany			1		2				1	1	5	4
New Zealand					1		1	1	1	1	5	4
Brazil			1						2	1	4	4
India						2				1	3	3
Japan					1				1	1	3	3
Romania										3	3	3

Argentina						1			1		2	2
Bolivia						1	1				2	2
Croatia		1							1		2	2
Denmark				1					1		2	2
Ireland							1			1	2	2
Netherlands				1					1		2	2
Switzerland			1				1				2	2
Thailand			1						1		2	2
Austria						1					1	1
Chile									1		1	1
China										1	1	1
Columbia						1					1	1
Egypt					1						1	1
Equador						1					1	1
Greece					1						1	1
Guatemala									1		1	1
Italy								1			1	1
Mexico						1					1	1
Nicaragua							1				1	1
Peru						1					1	1
Philippines						1					1	1
Poland						1					1	1
Russia			1								1	1
Serbia										1	1	1
South Korea				1							1	1
Spain								1			1	1
Sweden				1							1	1
Taiwan								1			1	1
Europe										1	1	1
合計	0	3	3	6	19	18	17	10	19	18	113	100%
%	0	3	3	5	17	16	15	9	17	16	100%	

日本更是連續 4 個月驗出自美國輸日的 11 批基改玉米 Bt11 中含有 Bt10 的基改玉米，前者是合法進口，後者是不合法的輸日（表 8）。由此可知基改植物的環境安全管理不是一件容易的任務。

性，表現與食用安全。第二個階段是基改植物對環境的安全性。第三個階段是產品上市後的安全追蹤（食用安全與環境安全）。現分別說明於後：

一、人畜安全性評估

1. 有效成份

美國環保署初期比照農藥管理的方式進行（表 9），但隨即面臨到一個問題，就是不易得到足量的有效成份進行各項安全測試（表 10），例如進行口服急毒性分析，餵食劑量往往接近上限值 5 克/公斤（老鼠）。農藥是一個簡單明確的分子，可大量取得，而基改植物的有效成份則是一種蛋白質，以微量方式存在植物體內，例如 *B.t.k.*HD-1 基改蛋白在 MON810 玉米葉上每克的含量約為 8-10 μ g（10⁻⁶克）（CFIA, 1997），因此只好以細菌 *E. coli* 代工代為生產毒蛋白 *BtK* HD-73 來進行毒性安全與環境安全測試。

表 9 基改作物與農藥的管理資料比較

項目	農藥	基改植物
結構與確認	化學結構	分子結構
產品特性	理化特性	農藝性狀
毒性（哺乳類）	急毒與亞慢毒	急毒與亞慢毒
	慢性毒與致變異	—
環境（宿命）	水解與光分解	—
	土壤代謝	土壤代謝
	移動性	基因流佈
	非目標生物	非目標生物
	生態影響	生態影響
風險與利益	風險與利益	風險與利益

表 10 化學農藥與基改植物之基改蛋白在生物安全測試的比較：

項目	化學農藥	基改植物表現蛋白
組成	物質簡單，明確，可大量取得	基改蛋白微量存在植物體內，不易取得
高劑量	高劑量可造成效應	最大劑量不易明確，且未必與效應相關
吸收量	容易估算	不易估算
急毒性	容易判斷毒性程度	不易產生或判斷
營養	與營養無關	與營養相關
代謝途徑	途徑特殊容易了解	複雜
殘留	可以，如化學農藥為非自然物	不易，因表現蛋白與自然蛋白理化性接近。
因果關係	相當明確	複雜

如以微生物方法產製以得到大量的表現蛋白。兩者蛋白是相同（Identical），相近（實質等同，Substantially equivalent），或不同？例如某公司生產的基改作物在進行昆蟲毒性測試時發現，

以兩種不同來源之毒蛋白進行對昆蟲的急毒性測試時，出現二組結果。對昆蟲 A, B, C 而言，兩種來源之蛋白毒性相同，但對昆蟲 D, E 而言卻有相差近 3 倍的急毒性值（表 11）。這結果顯示，對 A, B, C 三種昆蟲而言，來自微生物增量的毒蛋白與來自基改植物的毒蛋白是相同的，但對 D, E 兩種昆蟲而言是不同的，是昆蟲對這些毒蛋白的反應有不同？或實驗不同造成？但如把急毒性由相對毒性來看，則又是相同的，致死性強度均為 $A > B \approx C > D > E$ 。因此不同來源的毒蛋白對人類或其他哺乳類的毒性測試要如何知道結果之正確性？這些差異也是造成基改植物管理上不確定性的原因之一。

表 11 微生物產劑的蛋白與基改植物表現的基改蛋白對昆蟲之急毒性(ng/cm²)

昆 蟲 \ 來 源	微 生 物	基 改 植 物
A	0.5	0.5
B	2.0	2.0
C	2.5	2.5
D	50	15 (最大劑量)
E	70	25

(本表數據經修改)

2. 無效劑量 (NOEL, NOAEL) 與食用安全

一般基改蛋白在植物組織中約佔所有蛋白含量的 0.01%。但對老鼠進行口服急毒性測試的最高劑量為 5 克/公斤老鼠，基改蛋白要達到這個最高劑量會有困難，因此實際進行時的最高劑量往往比這數值低很多。

基改植物之毒性風險評估目前仍是參考農藥與醫藥之毒性風險評估：

$$\text{風險} = \text{毒性} \times \text{曝露劑量} \text{ 或 } = \text{傷害} \times \text{可能性} \times \text{結果}$$

因此取得無效劑量 NOEL 或 NOAEL (No observed adverse effect level) 作為估算的基礎，以得到參考劑量 (Reference dose, RfD) 或族群取食修正劑量 (Population adjusted dose, PAD) 是必要的。例如以下四種計算的說明：

(1) 參考劑量 (RfD)

$$\text{RfD} = \frac{\text{NOAEL 或 NOEL}}{\text{UF}}$$

UF: Uncertainty factor, 不確定因素，為由試驗動物的毒性資料來推算對其他不同物種動物的毒性，及其他未知因素的風險修正係數。

(2) 族群取食修正劑量 (PAD)

$$\text{PAD} = \frac{\text{RfD}}{\text{FQPASF}}$$

FQPASF: Food Quality Protection Act Safety Factor 食品保護法安全係數，一般由 10 開始往下修正。

(3) 急性曝露的參考劑量 (Acute reference dose, aRfD 及 aPAD) :

$$aRfD=NOEL/UF,$$

$$aPAD = aRfD / PQPASF$$

(4) 慢性曝露的參考劑量 (Chronic reference dose, cRfD 及 cPAD) :

$$cRfD=NOEL/UF,$$

$$cPAD = cRfD / PQPASF$$

由於目前的毒性測試方法得不到基改植物最低的有害劑量 (LOAEL, Lowest observed adverse effect level), 及無效或無害劑量 (NOEL 或 NOAEL), 以致需以動物試驗之最大劑量作為無效或無害劑量 (NOEL 或 NOAEL) 之估算值。例如對 Btk HD-1 最大口服急毒急性測試劑量為 4000mg/kg, 測試結果與對照組無差異, 因此無效劑量 (NOEL 或 NOAEL) 定為 4000mg/kg (CFIA, 1997)。

由此可知對環境安全性風險評估就存有不準確性與不確定性。再加上有時標準的測試動物也會在個體上出現差異, 造成結果的不同, 此種偽真的現象 (False positive) 造成在毒性 (Toxicity) 或傷害性 (Hazard) 上判斷的困難, 也常造成政府管理單位、學者專家與生技公司間的爭議。

例如基改玉米 MON 863 事件, 英國獨立報 (The Independent, London, 22 May 2005) 報導, 餵食老鼠可造成腎臟縮小 (Smaller kidneys), 與血液組成改變。孟山都公司回應: 這些差異基本上是正常的, 並無特殊意義。在歐盟 25 國中, 也僅有英國與其他 9 國同意 MON863 之登記。

以管理制度上有多年經驗的農藥為例, 有些農藥也有類似的爭議。例如 DDT, 有人認為對人類的貢獻很大, 但更多的人認為 DDT 對環境生態的污染性要更注意 (表 11), 由此可知安全性評估不是件容易的事, 角度不同看法就不同。有些農藥的禁用也是在使用了 51 年後才找到適當的指標項目 (Indicator) 予以禁用 (表 11)。

表 11 農藥使用與禁用時間:

農 藥	使用年	禁用之指標項目
滴滴涕 (DDT)	1944-1972, 28	長效性環境污染
克氯苯 (Chlorobenzilate)	1952-1983, 31	致癌性
亞拉生長素 (Daminozide)	1962-1990, 28	致腫瘤性
巴拉松 (Parathion)	1946-1997, 51	極劇毒, 致癌性 C 級
一品松 (EPN)	1949-1998, 49	極劇毒, 遲發性神經毒

3. 食品營養與毒物分析

藉由基本的食品營養組成成份分析以找到可能對營養的影響, 及可能天然毒性物質含量的變化, 總共分析項目很多, 包括水分, 蛋白質, 脂肪, 灰分, 碳水化合物, 胺基酸, 脂肪酸, 纖維, 微量元素, 維他命, 毒物, 二次代謝產物等等, 有時會多達 86 個分析物以上。因此耗費的時間, 人力, 資金是很可怕的。但如基改作物沒有這些資料, 要成為商品或輸出國外會有問題。

4. 過敏性分析

美國環保署以體外消化試驗，血液分析免疫球蛋白抗體（Immunoglobulin E antibody, IgE antibody）的含量，皮膚穿刺試驗（Skin prick tests），及進行基改蛋白與過敏原胺基酸序列的比對得資料來評估過敏性。

應用體外消化試驗及過敏原序列比對來輔助判斷基改蛋白是否具有過敏性的是目前很多國家採用的安全評估方法之一。以合成胃液、腸液來進行體外消化試驗，如蛋白質很容易分解，便判斷致病風險不存在，如不能消化，則判斷為可能具有致病的風險。例如 Monsanto 對基因轉殖的 NPT II 酵素及 CP4 EPSPS 酵素進行的人工胃液消化試驗顯示可在短時間內消化完全，因此美國環保署認為對人的致病風險很低。

Aventis 使用於星連玉米（StartLink）的 Cry9C 蛋白經人工合成胃液消化試驗，4 小時後仍很安定，且其蛋白分子仍維持為 70 kDa 左右，在 90°C 熱處理 10 分鐘也很安定。因此美國環保署不確定是否可用於人類食品，但可先作為動物飼料，因經動物食用後的基改玉米，對人類尚無危害的報告。就如同大豆，大豆含有某些致過敏的蛋白，且也對胃液及熱安定，可是經由動物食用並不會將其過敏特性轉入肉品，牛奶或蛋的蛋白上。所以美國環保署認為將星連玉米列為動物飼料，對人仍是安全的。但 Aventis 公司不認同這結論，因 Aventis 公司認為 10-40 kDa 比較可能對人致病，而 Cry9C 大小為 70KDa 應無問題。

除了毒蛋白分解片段大小引起爭議外，各基因公司進行胃液消化試驗的酸鹼值也有不同，Monsanto 公司用 pH 1.2，Aventis 公司用 pH 1.5，均較人體胃液的 pH 2.0 低。pH 愈低酸性愈強，對蛋白的分解愈快。曾有研究人員以 pH 2.0 來作試驗，就發現 Monsanto 公司，Syngenta 公司的基改玉米毒蛋白 Bt 與 CryIAb 與星連玉米 Cry9C 毒蛋白在分解效率上相似。為避免這些爭議，因此目前美國傾向如同意基改作物時，就同時發給食品與飼料之許可。

5. 動物試驗的不確定性：

有時動物實驗也檢驗不出異常，最終仍需以人為測試體。例如移轉巴西核桃製造含硫胺基酸 Methionine 的基因至大豆，動物的皮膚穿刺試驗檢驗正常，但一經人體皮膚穿刺試驗測試，就測出了過敏性。

所以希望由動物實驗來取得對人相關的安全風險以評估是要小心的。

二、環境安全測試與評估

基因改造植物在田間種植後，其所攜帶的轉殖基因就有可能因花粉的散佈，或因作物的農事操作或收成而使轉殖的基因進入與其相近的植物中，或隨部份植體進入土壤中，使得轉殖的基因有機會與土壤中的細菌進行基因水平移轉（Horizontal gene transfer, HGT）（圖 5）。基因水平移轉為不同物種間的基因移轉，生物技術本身即是一種基因水平移轉，將細菌或病毒的基因轉入植物染色體中。基因水平移轉也是自然界中常見的現象，對於真核生物與原核生物上的演化，基因水平移轉是一個重要的機制。對於真菌的演化，基因水平移轉的重要性也有可能高於其他真核生物（Rosewich and Kistler, 2000）。

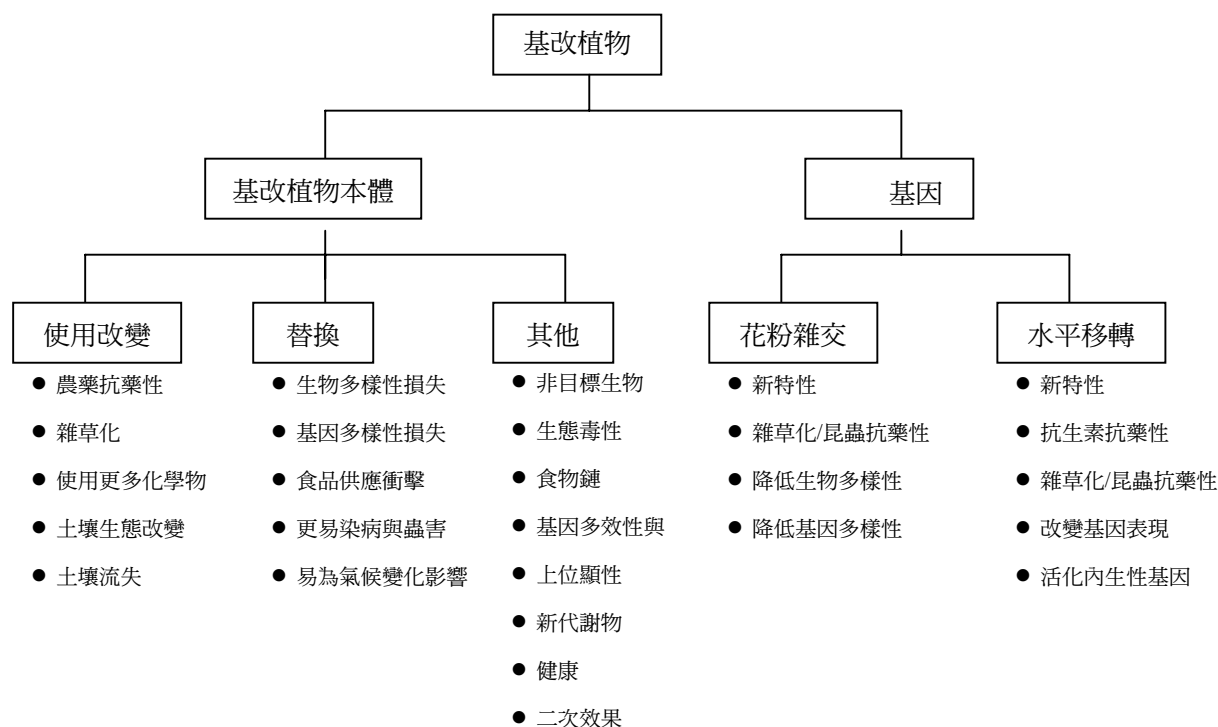


圖 5. 基改植物對生態的可能影響 (Myhr and Traavik, 2003)。

目前基改植物對生態環境可能影響之評估與檢測約有下列 8 個方向去執行：

1. 抗藥性細菌選擇性優勢：

細菌為何可自土中環境中獲得抗藥性基因的選擇性優勢的原因尚不清楚，但此能力經實驗證明存在。例如將鏈黴素(Streptomycin)加入土中，就使得細菌可吸取螢光假單胞菌 *Pseudomonas fluorescens* 中具有抗鏈黴素基因的轉位子 Tn5 而獲得抗藥性 (Oliveira et al., 1995)。

2. 抗藥性基因水平移轉

世界衛生組織與聯合國農糧組織 (World Health Organization/Food and Agriculture Organization, WHO/FAO) 在 2000 年發表數篇報告對於基改作物中使用的抗生素基因有一個原則上的建議：對這些抗藥性基因的橫向移轉至環境中病原性微生物上，及可能在臨床上的意義是必須評估的。因基因無論其來自基改植物或來自環境進入勝任細菌中的機會均相近，而基改植物上的其他物種 DNA 較一般基因更可能進入勝任細菌中 (Meier and Wackernagel, 2003)。

美國環保署在基改作物審查初期時並不主動要求廠商提供有關微生物間的基因移轉報告，因早期認為 DNA 在土中不殘留，容易為環境中所分解。但由於新的研究報告指出煙草 (*Nicotiana tabacum*) 及馬鈴薯 (*Solanum tuberosum*) 的轉殖基因在土中可殘存至少 40 天以上 (Widmer et al., 1996, 1997)。基因甜菜 (*Beta vulgaris*) 的轉殖基因可在土中殘存至 18 個月以上 (Gebhard and Smalla, 1999)。而這些殘留在土中的轉基因，仍具活性可進入原核生物的基因組中，造成基因水平移轉鏈 (Schluter et al., 1995; Nielsen et al., 1997; Paget et al., 1998; Gebhard and Smalla, 1999)。所以美國環保署近年來開始要求廠商提供有關轉殖基因在環境中的宿命的報告，並建議對進入土壤中的轉殖基因進行環境監控與評估可能的衝擊。

農藥所自 2002 年即開始進行抗藥性轉基因在環境中的安全性評估試驗，目前試驗仍在進行 (Lo, 2003; Lo *et al.*, 2005)。

3. 基改植物對土壤微生物的生態影響

自 1999 年以來，有一些報告指出基改植物可對土壤微生態造成一些影響，例如 Griffiths 等人 (2000) 研究可生產凝集素 Lectins (Con A)，及 Agglutinin (GNA) 的基改馬鈴薯對土壤群落的影響調查，顯示基改馬鈴薯可以對根圈微生物群落的生理特性造成改變。但當基改馬鈴薯收穫後，此種影響就消失了。Siciliano 及 Germida 等人 (1998) 報告指出抗嘉磷塞的基改油菜其根圈微生物群落與非基改油菜的群落有不同。Donegan 等人 (1997) 報告指出基改煙草的葉子會影響土壤中線蟲的族群密度，Vierheilig 等人 1993 年研究發現基改煙草 (*Nicotiana sylvestris*) 轉入來自煙草 (*Nicotiana tabacum*) 的幾丁質酵素，可降低根系病菌 *Rhizoctonia solani* 對煙草的致病力，但根系共生菌 *Glomus mosseae* 仍正常形成菌落而無影響。

但由於實驗觀察的時間也很短，因此對於連續大量長期種植所造成的影響就不清楚了。這是要小心觀察的，因對生態的影響初期不是很明顯，也不是很穩定，需要長期觀察。一旦新的生態穩定發展時，要再復育就會困難。

4. 基改植物對土壤病原微生物及有益微生物之調查

加拿大對基改玉米之環境安全評估項目中則要求對土壤微生物中之病原微生物與有益微生物要進行風險評估，其中土壤病原菌則列出 11 種指標生物作為調查對象。例如 *Gibberella zeae*，*Fusarium spp.*，*Pythium spp.*，*Rhizoctonia spp.*，*Setosphaeria turcicum*，*Ustilago maydis*，*Colletotrichum graminicola*，*Puccinia sorghi*，*Sphacelotheca reiliana*，*Erwinia stewartii*，及 *Pseudomonas syringae* 等。對土壤病原菌及有益菌的分析調查，可因基改植物的特性，生長溫度與農地的環境不同而有改變。

不同國家可設定不同的指標微生物來進行環境生態的影響調查。如期望產品外銷，則要依產品輸入國家的標準來執行，美國雖很反對這項建議，並在 WTO 中指出是一種貿易障礙，但最後也必需配合尊重各國的意見。

5. 基改植物對非目標性生物的影響：

這也是件容易起爭議的事，而且常被用為貿易障礙的一個技巧。有一家基改作物公司依美國的規範完成了所有的測試，但資料送至輸入國審查時，則被要求重作，因所選的指標性生物在輸入國不存在或不是主要生物。美國公司申覆說不在輸入國內種植，但輸出國不同意，因該輸出的種子具有生命力。因此對於環境生態的分析，常會被要求異地進行，依輸入國的意見重新試驗，對於基改植物的投資成本，利潤，及時效性均是一大挫折。

6. 基改毒蛋白的殘留

Bt 基改作物所產生的毒蛋白可在土壤中殘留一段時間，如棉花中轉入的 Cry1Ab 或 Cry1Ac 蛋白在土中的半衰期（分解一半的時間）約為 3~41 天。星連玉米轉入的 Cry9C 蛋白在土中的半衰期約在 0.5~13 天之間 (USEPA, Bt plant Pesticide Biopesticides Registration Action Document)。殺蟲毒蛋白殘留的愈長，就愈有可能經過一些時間後可能造成昆蟲的抗藥性，使得有機農業僅有的生物性殺蟲劑蘇力菌 *Bacillus thuringiensis* 失去效用，將會造成有機農業永續經營的危機

(February 14, 2000 C&EN)。

7. 基因靜默：(Al-kaff et al., 2000)

基因靜默(Gene silencing)是植物對病毒侵入時的一個抵抗機制，以阻止病毒基因在植物體內的複製，表現。因此轉基因也可能會因植物的基因靜默而失效，特別是當轉基因與病原菌是同源性時。花椰菜鑲嵌病毒 (Cauliflower mosaic virus, CaMV) 主要宿主為十字花科植物。因此當植物感染病毒後進行恢復(Recovery)時，會藉由基因靜默的方式而使同源的轉基因 CaMV35SP 同時失效。因此基改油菜原有抗固殺草的設計，在感染花椰菜鑲嵌病毒後喪失 (Al-kaff et al., 2000)。

8. 非目標生物：

對非目標生物，如有益昆蟲及微生物造成傷害，也可能造成抗毒蛋白昆蟲的選擇優勢，因此需注意田間毒蛋白的量的監控。含 Btk 之基改玉米可自根分泌 Btk 毒蛋白 (66 kDa)，並在土中持續殘留至少 40 天以上，且由 Btk 之致死力分析知殘留量持續增加，對幼蟲的致死率由 25%~10% (10 天) 提高至 88~100% (40 天) (Saxena and Stotzky, 2000)。

三、實質等同 (Substantial equivalence)

由於以目前的方法進行的環境安全試驗，均不易得到有關風險評估的基本數值，因此美國就提出了一個補救的方法，就是實質等同的觀念，認為只要基改作物的性狀與傳統作物的性狀差異在某一百分比之內 (如 20%)，就認為是相同的。也就是基改食品與傳統食品是一樣的品質，人類長年取用是安全的。但在美加等國以外，就有很多的國家不認同以「實質等同」來作為一個安全與風險的評估指標，並認為實質等同本身僅是說明基改產品與傳統產品之差異大小，並不提供安全評估的資料及是否可能的傷害，而差異大到多少就會有安全風險也無說明資料。例如傳統大豆中雌激素 (Phytoestrogen) 含量會比基改大豆 (Roundup-Ready 40-3-2) 高，基改大豆中的植物雌激素含量為 796 μ g/g (Lappe et al., 1999)，約為傳統大豆的 88%，如實質等同的差異由 20%修正至 10%，則基改大豆就與傳統大豆不同，如訂為 20%差異內仍為等同，則基改大豆與非基改大豆的 12%差異就仍歸為實質等同。

就如同標示，有的國家是含基改成份 5%以上就要標示「含基改成份」，有些國家含量只要超過 3%或 0.9%以上就要標示一樣。台灣的基改產品要輸出，如以實質等同來敘述安全與風險，美加兩國或許會接受，但世界其他國家就會有困難。選用抗藥性基因作選擇基因的基改植物及其產品也是如此，美加會接受申請，但其他國家則不一定接受。

四、標示 (Labeling)

標示的目的主要有二：

1. 提供消費者選擇商品的權力：希望給消費者知道陳列的商品是使用化學藥物耕作的傳統農產品，或是不使用化學農藥與肥料耕作的有機農產品，或是基因產品。
2. 提供輸入國選擇的權力：知道進入國內的是何種農產品，以避免引起社會與環境的問題。但美加等國認為標示並不是用來說明基改產品的安全性，就如同有機產品的標示也不是用

來說明產品的安全性一樣。而且標示之後會增加基改產品生產成本 3-6%，及商業複雜性，進而影響產品之競爭性，因此迄今仍反對制定基改食品標示法。但歐洲與日本等其他國家則認為標示基改產品可以提供消費者自行判斷安全與風險的機會，並可對環境提供較安全的保障。但基因轉殖食品之標示為一不可避免的趨勢，加拿大也在 2004 年開始進行志願性的標示，如基改成份超過 5% 以上就可標示。歐盟則早自 2000 年 4 月 10 日執行 1% 標示，2004 年 4 月 18 日下修為 0.9%。英國在 1999 年 9 月 17 日執行 1% 標示；日本於 2001 年 4 月執行 5% 標示；俄羅斯與印尼也為 5% 標示；韓國在 2001 年 7 月執行 3% 標示；瑞士在 1999 年 12 月執行 1% 標示。紐西蘭與澳洲的標示草案所擬的閾值為零容許度，而其定義就如同化學檢驗一樣，以偵測極限為標示之閾值，但目前是與歐盟相同為 0.9%。

我國衛生署也參考日本制定了基改食品標示：

1. 2001 年 2 月 22 日公告：基改大豆，及玉米應向衛生署辦理查驗登記。
2. 目前已販售的應於 2002 年 4 月 30 日前辦理查驗登記。
3. 2003 年 1 月 1 日起，未經查驗的基改大豆，玉米不得販售及使用。
4. 以基改大豆或玉米為原料，且該等原料佔最終產品總重量 5% 以上的食品應標示「基因改造」或「含基因改造」，其字體長度及寬度不得小於 2 公釐。
5. 強制標示實施日：2003 年 1 月 1 日，農產品型態：大豆，大豆粉，玉米，玉米粉。
2004 年 1 月 1 日：初級加工食品：豆腐，豆漿等。
2005 年 1 月 1 日：高層次加工食品。
6. 自願標示實施日：2001 年 1 月 1 日。
7. 不需標示之大豆，玉米加工食品：醬油，大豆油(沙拉油)，玉米油，玉米糖漿，玉米澱粉等不含轉基因之加工食品。

參、基改作物前景

基改植物及其產品可能是非常重要的食物革命，但也可能是一個不定時的生物性炸彈。因經過一些時間使用後，自然的力量又將使其失去預期的效果。

雖然基改作物的開發技術已較穩定，但基改作物公司的經營卻仍面臨挑戰，例如第一個生技產品基改蕃茄 (Flavr Savor) 在 1994 年上市，1996 年 Calgene 公司轉賣。因特有的風味不為消費者接受，而較長期的保存消費者也不認為必要，表示研發的方向與消費者的需求有嚴重的落差。Monsanto 公司 1994 年推出的基改馬鈴薯也因消費者不支持，而停止生產。1995 年推出之基改棉花，Monsanto 也與農民的爭議經常出現，美國農民抱怨種植的基改棉花種子數減少，美國農部調查也發現嘉磷塞確實會影響棉花莢殼 (Boll) 的保持期及種子數目減少，並發現嘉磷塞對基改棉花雄蕊的延長及花粉的發展有抑制作用而導致胚株 (Ovules) 受精比例降低 (Pline et al., 2002)。Monsanto 公司 1996 年推出基改大豆以後，種植面積逐年增加，但在阿根廷的基改大豆收不到權利金，在巴西的基改大豆也收不到錢，因南美洲的農民平均收入不高，跨海訴訟不一定有效。Monsanto 公司在生技產品推出 7 年後，總裁辭職，公司重整。2005 年 Monsanto 公司停止所有基改小麥的市場化推動。

開發星連玉米之 Aventis 公司則因污染食品，撤銷許可（表 12），公司為 Sanofi 併購，成立 Sanofi-Aventis。而 Aventis 之前也曾併購 PGS 及 AgroEvo 等生技公司。Northrup King, Ciba,則為 Syngenta 併購。但該公司也因輸出的 Bt11 玉米摻雜 Bt10 玉米而承受巨大指責與罰款（表 12）。

表 12 美國農業部對基改公司的管理與處罰

基改作物	公司	說明	管理與處罰	時間
Bt 11 玉米	Syngenta AG	Bt 11 玉米種子摻雜 Bt 10 (2001-2004)	美金 375,000 元	2005
星連玉米	Aventis (Bayer 購入)	污染至食品	期滿撤銷登記	2000
抗蟲棉花	Monsanto	賄賂外國政府同意進行環境風險試驗	美金 1 百萬元	2005

基改黃金米每克中含 β-胡蘿蔔素為 1.6μg (10⁻⁶ 克)。一成年婦女每天需食用 7 公斤煮熟的黃金米。一般人每天三餐，一餐 0.23 公斤，僅可提供 10% 需求量。幼童每天要食用 5.4 公斤煮熟的黃金米，因此在實際上的應用已有問題。加以 β-胡蘿蔔素為脂溶性，需先經脂肪貯存，然後再為人體慢慢釋放利用。如人體要吸收則人體中要有一定量的鋅，蛋白與脂肪。原先計畫用於改良營養不良的兒童視力健康，但結果是營養不良的兒童體內經常缺乏足夠的鋅，蛋白與脂肪，即使食用黃金米也不能有效吸收 β 胡蘿蔔素。如用於非貧困地區，則營養已無問題，因此視力健康不是主要來自 β 胡蘿蔔素，不合實際應用 (Freese, 2001)。

所以美國基改作物公司也配合經驗調整產品方向，以免造成投資過大，時間過長，經濟影響層面過大，耕作面積過大等不利環境安全評估的方向 (Council for Biotechnology Information, 11 / 25 / 2002)。基改作物的登記在美國 2000 年之後也急速下降，由每年 8-9 件，降至每年約 3 件(表 13)，主要原因為

1. 基改成本太高，只能用於主要作物(large-commodity crops)，不能用於次要作物(Minor crops)。
2. 消費者不接受，超市不販賣。
3. 基改小麥，蕃茄，馬鈴薯，陸續放棄市場。

表 13 美國基改作物同意數之經時變化(USA Today, Feb.04, 2005)

時間	美國藥檢署同意品種數/年	美國農部同意品種數/年
1995—1999	9.4	8.2
2000—2004	3	2.6

農民對基改作物種子的管理也要謹慎，稍一疏失，就會進入法律訴訟（表 14）。

表 14 孟山都公司自法律中所得之罰金(Kimbrell and Mendelson, 2005)

案號	孟山都公司勝訴所得金額(美金)	訴訟費 (美金)
4:01-CV-01749	3,052,800	雙方自理
97-CV-953	5,595	由被告付 15,000
02-CV-10	67,664	
98-CV-2004	2,586,325	
99-CV-1691	175,000	
01-CV-1484	163,770	
97-CV-1454	447,797	由被告付 279,741 ; 其他花費 57,469 ; 及田間檢測 75,454

台灣發展基改作物的限制主要受限於環境安全風險評估之費用與田間試驗之規模這兩項。

1. 基改植物環境安全風險評估費用

一個基改作物完成安全風險評估的費用至少在 300 萬美金或 1 億台幣以上 (表 15)，在如此高成本投資下，發展基改作物不是一件容易的事。加以相關的檢驗技術目前尚未能完全建立，因此所得到的環境安全風險評估資料對於產品的外銷幫助有限。

表 15 美國 EPA 對基改植物的風險評估之費用估算

項 目	估算金額 (美金)	台幣 (1 : 32)
基本資料 (殘留, 宿命, 急毒性, 消化等)	20,000	640,000
環境宿命	735,000	23,520,000
人類安全與哺乳類急毒性	1,667,000	53,344,000
非目標生物	411,000	13,152,000
註冊登記, 資料審查 (21 個月以內)	420,000	13,440,000
合 計	2,833,000	104,096,000

2. 田間試驗的規模

台灣的基改作物如要輸出，國外必會要求相關資料。台灣的用地有限，不可能如同國外進行上市前的大規模的田間試驗 (圖 6)，因此這些限制對台灣的基改作物產品輸出容易形成貿易障礙。

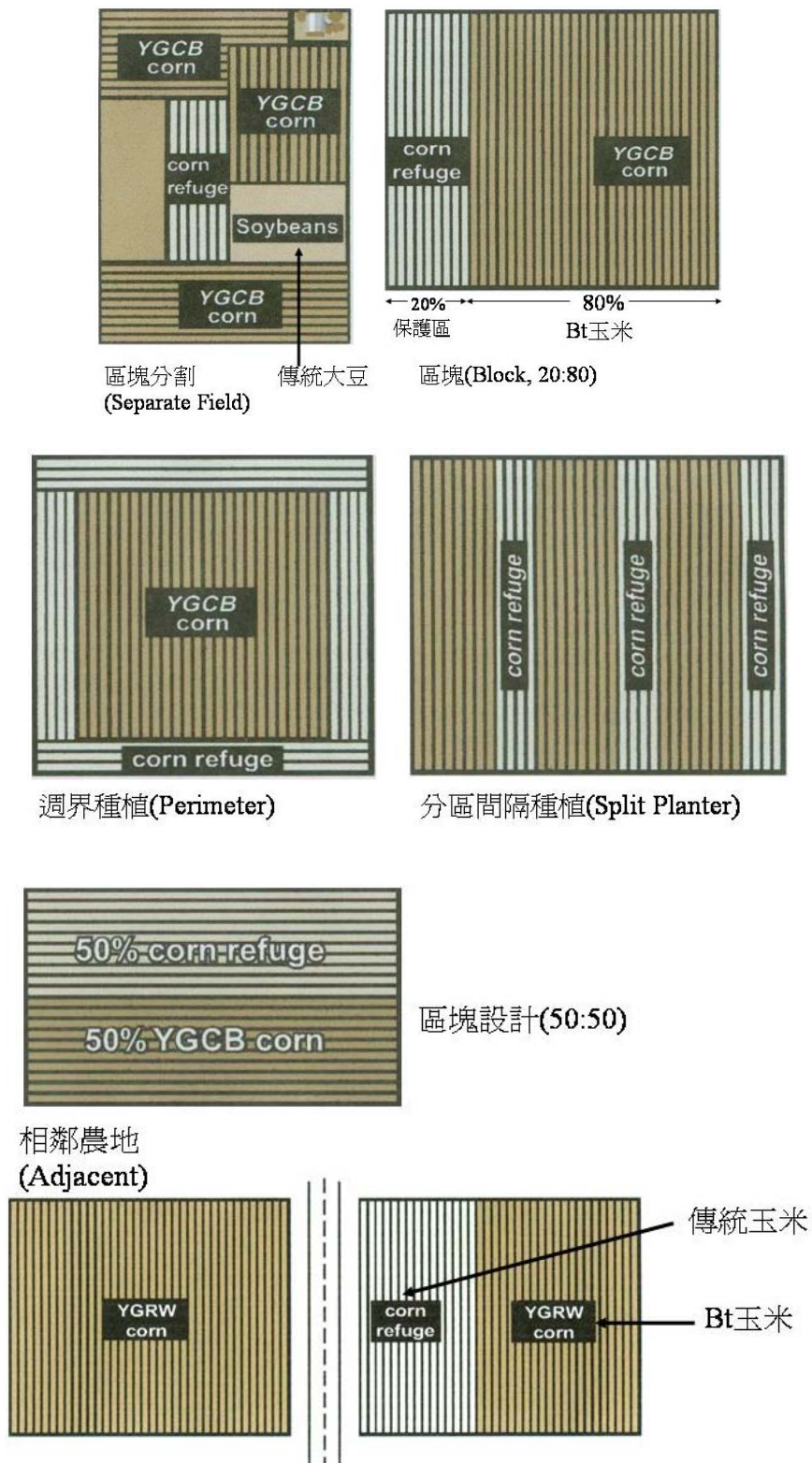


圖 6 美國基改作物商品農地種植時之田區設計 (Monsanto, 2005)

肆、結論

基改植物的管理自第一個基改蕃茄在 1991 年 8 月 12 日向美國藥物食品檢驗所 (USFDA) 申請許可使用於食品後，迄今美國的基改作物的管理經驗進入第 14 年，與農藥登記審查的近 60 年經驗相比 (1947—2006, 60 年) 仍有許多需改善的。因此藉由一件一件的個案 (Case by case) 累積經驗，及邊作邊修改是必然的。台灣對於基改植物的管理才剛起步，可參考國外的發展與案例，及早調整。例如：(1) 研究人員對於自己的基改作物不同品系一定要管控好，不可外流。(2) 在作田間農藝性狀比較時，一定要注意品系的掌控避免污染。(3) 送至政府作管理試驗的品系要單一化。(4) 與其他品系區隔的分子生物分析法要立法，供確認之用。(5) 一次不要申請多種品系。(6) 上市前的田間大規模試驗要加強，以提供農民實際種植的規範。

對基改植物環境安全試驗的方法在未來可能會有更適用於基改作物的試驗方法出來，在可預見的將來仍有許多工作需更多人力，經費的投入。但只要持續去做，終將會整理出比現在更好的指標項目群 (Indicators)，及更適當的評估技術與結論。累積的經驗愈多，基改植物的環境安全性評估也就會愈接近完善，愈近完善，消費者的疑慮愈低，商機才會真正出現。

參考文獻：

1. Al-Kaff, N.S., Kreike, M.M., Covey, S.N., Pitcher, R., Page, A.M., and Dale, P.J. (2000) Plants rendered herbicide-susceptible by cauliflower mosaic virus-elicited suppression of a 35S promoter-regulated transgene. *Nat. Biotechnol.* 18:995-999.
2. Carpenter, J. E. Case studies in benefits and risks of agricultural biotechnology: Roundup Ready soybeans and Bt field corn. NCFAP, January 2001.
3. CFIA 1997. Case study: Insect resistant corn MON810.
4. Directive 2001/18 EC of the European Parliament and of the Council.
5. Donegan, K.K.; Seidler, R.J.; Fieland, V.J.; Schaller, D.L.; Palm, C.J.; Ganio, L.M.; Cardwell, D.M.; Steinberger, Y. (1997) Decomposition of genetically engineered tobacco under field conditions: persistence of the proteinase inhibitor I product and effects on soil microbial respiration and protozoa, nematode and microarthropod populations. *J. Appl. Ecol.* 34:767-777.
6. Freese, B. 'Gold Rice' and Vitamin A Deficiency. June, 2001. <http://www.foe.org>
7. Gebhard, F., and Smalla, K. (1999) Monitoring field releases of genetically modified sugar beets for persistence of transgenic plant DNA and horizontal gene transfer. *FEMS Microbiol. Ecol.* 28:261-272.
8. GM Contamination Register Report 2005. <http://www.gmcontaminationregister.org>
9. Griffiths, B.S., Geoghegan, I.E.; Robertson, W.M. (2000) Testing genetically engineered potato, producing lectins GNA and Con A, on montaanget soil organisms and proasses. *J. Appl. Ecol.* 37:159-170.
10. Herrera-Estrella, L., DeBlock, M., Messens, E., Hernalsteens, J.P., Van Montagu, M. and Schell, J.

- (1983) Chimeric genes as dominant selectable markers in plant cells. *EMBO J.* 2:987-995.
11. ISAAA 2004
 12. Kimbrell, A., and Mendelson, J. Monsanto vs U.S. Farmers, 2005, Center for Food safety.
 13. Lappe M. A., Bailey, E.B., Childress, C., and Setchel, K.D.R. (1999). Alterations in clinically important phytoestrogens in genetically modified, herbicide-tolerant soybeans. *J. Med. Food*, 1:241-245.
 14. Lo, C.C. (2003) Transformation of *Acinetobacter* sp. strain BD413 (pFG4 Δ nptII) with transgenic papaya. The impact of genetically modified plants (GMPs) on microbial communities, European Science Foundation, Tromso, Norway, 24-28 May 2003. Invited speaker.
 15. Lo, C. C., Chen, S. C., Wang, C. S., and Chen, H. L. (2005) Evaluation of the transformation of *Acinetobacter* sp. BD413 by transgenic papaya DNA containing functional *nptII* gene in soil microcosms. *Annal. Microbiol.* 55:163-169.
 16. Meier, P. and Wackernagel, W. (2003) Monitoring the spread of recombinant DNA from field plots with transgenic sugar beet plants by PCR and natural transformation of *Pseudomonas stutzeri*. *Transgenic Res.* 12:293-304.
 17. Monsanto, 2005 Technology use Guide
 18. Mueller. T. Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) showing sensitivity to glyphosate. 2005, <http://www.utextension.utk.edu/fieldCrops/weeds>
 19. Myhr A.I. and Traavik T. (2003) Genetically modified (GM) crops: precautionary science and conflicts of interests. *J. Agri. Environ. and Ethics.* 16:227-247.
 20. Nielsen, K.M., Gebhard, F., Smalla, K., Bones, A.M. and van Elsas, J.D. (1997c) Evaluation of possible horizontal gene transfer from transgenic plants to the soil bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* BD413. *Theor Appl Genet.* 95:815-821.
 21. Oliveira, R.D., Wolters, A.C. and van Elsas, J.D. (1995) Effects of antibiotics in soil on the population dynamics of transposon Tn5 carrying *Pseudomonas fluorescens*. *Plant Soil* 175, 323-333.
 22. Pager, E., Lebrun, M., Freyssinet, G., and Simonet, P. (1998) The fate of recombinant plant DNA in soil. *Eur.J.Soil Biol.* 34:81-88.
 23. Pillai, S.D., Josephson, K.L., Bailey, R.L., and Gerba, C.P. (1991) Rapid method for processing soil samples for polymerase Chain reaction amplification of specific gene sequences. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:2283-2286.
 24. Pline, W. A., Viator, R., Wilcut, J. W., Edmisten, K. L., Thomas, J., Wells, R. (2002) Reproductive abnormalities in glyphosate-resistant cotton caused by lower CP4-EPSPS levels in the male reproductive tissue. *Weed Sci.* 50:438-447.
 25. Recorbet G., Picard C., Normand P., Simonet P. (1993) Kinetics of the persistence of chromosomal DNA from genetically engineered *Escherichia coli* introduced into soil. *Appl. Environ. Microbiol.*

- 59:4289-4295.
26. Rosewich, U. L., and Kistler, H. C. (2000) Role of horizontal gene transfer in the evolution of fungi. *Annu. Rev. Phytopath.* 38:325-363.
 27. Saxena, D. and Stotzky, G. Insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* is released from roots of transgenic Bt corn in vitro and in situ. *FEMS Microbiol. Ecology.* 2000, 33:35-39.
 28. Schluter, K., Futterer, J., and Potrykus, I. (1995) “Horizontal” gene transfer from a transgenic potato line to a bacterial pathogen (*Erwinia chrysanthemi*) occurs – if at all – at an extremely low frequency. *BioTech.* 13:1094-1098.
 29. Siciliano, S.D., Theoret, C.M., De Freitas, J.R., Hucl, P.J., Germida, J.J. (1998) Differences in the microbial communities associated with the roots of different cultivars of canola and wheat. *Canadian Journal of Microbiology.* 44:844-851.
 30. Smalla, K., van Overbeek, L.S., Pukall, R., and van Elsas, J.D. (1993) Prevalence of *npt II* and Tn5 in kanamycin-resistant bacteria from different environments. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 13:47-58.
 31. Vierheilig, H., Alt, M., Neuhaus, J., Biller, T., Wiemken, A. (1993) Colonization of transgenic *Nicotiana sylvestris* plants, expressing different forms of *Nicotiana tabacum* chitinase by the root pathogen *Rhizoctonia solani* and by the mycorrhizal symbiont *Glomus mosseae*. *Molecular plant-Microbe Interactions* 6:261-264.
 32. Widmer, F., Seidler, R.J., and Watrud, L.S. (1996) Sensitive detection of transgenic plant marker gene persistence in soil microcosms. *Mol. Ecol.* 5:603-613.
 33. Widmer, F., Seidler, R. J., Donegan, K. K., and Reed, G. L. (1997) Quantification of transgenic plant marker gene persistence in the field. *Mol. Ecol.* 6:1-7.