貳貳

生物技術與安全評估

一 創新農業生物技術的開發與應用

(一) 紫色非硫光合菌篩選、鑑定與活性評估

陳涵葳、曾清山、杜元凱

紫色非硫光合細菌 (purplenon–sulfurbacterium, PNSB) 屬於變形菌門，可利用光自營或光異營的方式固定CO_2，在黑暗環境中可以電自營的模式還原CO_2持續進行碳封存，也可產生胞外聚合物質 (extracellular polymeric substances, EPS) 促進土壤團粒構造形成、具有固氮能力減少化肥施用、產生IAA促進植物根部生長等多種功能。採集東部9處自然溼地、西部11處河口、濕地、水田與水產養殖池底泥，進行兩階段分離純化培養，共取得432株紫色非硫光合菌株。挑選純化菌株60株，進行16S rRNA基因全長定序，分離菌株包含*Rhodopseudomonas pentothenatexigens* (1株)、*R. faecalis* (6株)、*R. harwoodiae* (15株)、*R. palustris*與*R. parapalustris* (合計38株；圖22–1)。完成分離菌株之IAA生合成能力評估、生物膜形成能力評估、促進水稻種子苗期生長評估、生物固碳能力評估、生物固氮能力評估、重金屬轉化能力評估、促進植物抗逆境能力表現等。試驗結果顯示優選菌株具有提升植物對抗生物與非生物逆境之能力，尤其是在耐熱與延遲葉片老化上，值得進一步研究。

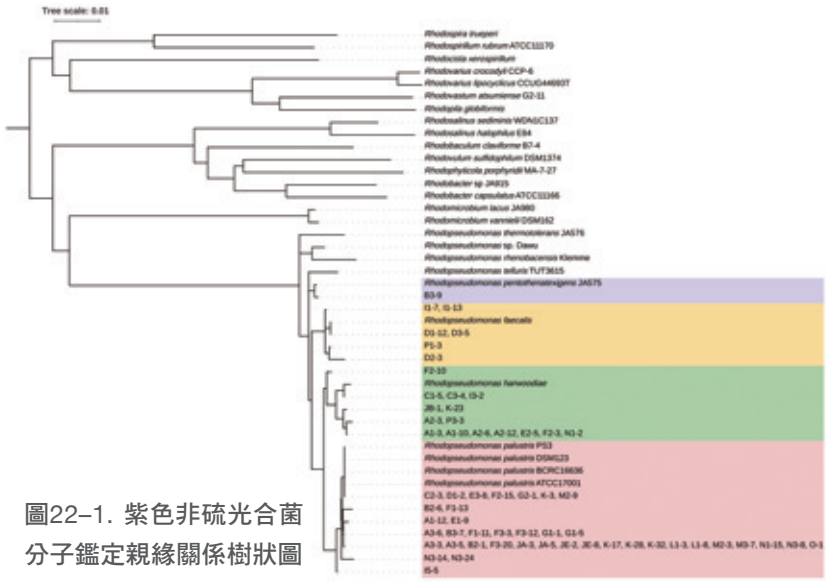


圖22–1. 紫色非硫光合菌分子鑑定親緣關係樹狀圖

(二) 利用電阻抗式流式細胞儀建立甜瓜花粉活力快速檢測技術

蔡嫻婷、莊淨、林思妤、游舜期、夏奇鋐

利用電阻抗式流式細胞儀 (Impedance Flow Cytometry, IFC) 成功建立蝴蝶蘭、文心蘭、水稻、花椰菜及番椒等作物之花粉活力檢測技術，並應用於育種、耐溫性篩選等研究。甜瓜為臺灣重要之經濟作物，且品種之結果率差異極大。本研究目的為利用IFC建立甜瓜 (*Cucumis melo* L.) 花粉活力快速檢測技術，並與TTC (Triphenyl tetrazolium chloride) 染色法比較。以甜瓜‘臺南13號’4個不同發育階段花粉為材料進行IFC及TTC檢測，2種檢測法皆顯示第2階段 (以花瓣突出花萼約2 mm) 花粉之活力最高，分別為81.9%與83.4%，花朵開放後花粉活力即大幅下降 (圖22–2及22–3)。利用IFC檢測第2階段之雄花與兩性花花粉活力，結果顯示兩種花性之花粉活力雖有統計上之差異，但數值相近且均高於80% (圖22–4)。此技術具高效、快速檢測優勢，並可降低人為影響，提升檢測之可靠性，可作為甜瓜田間即時人工授粉之花粉活力參考。

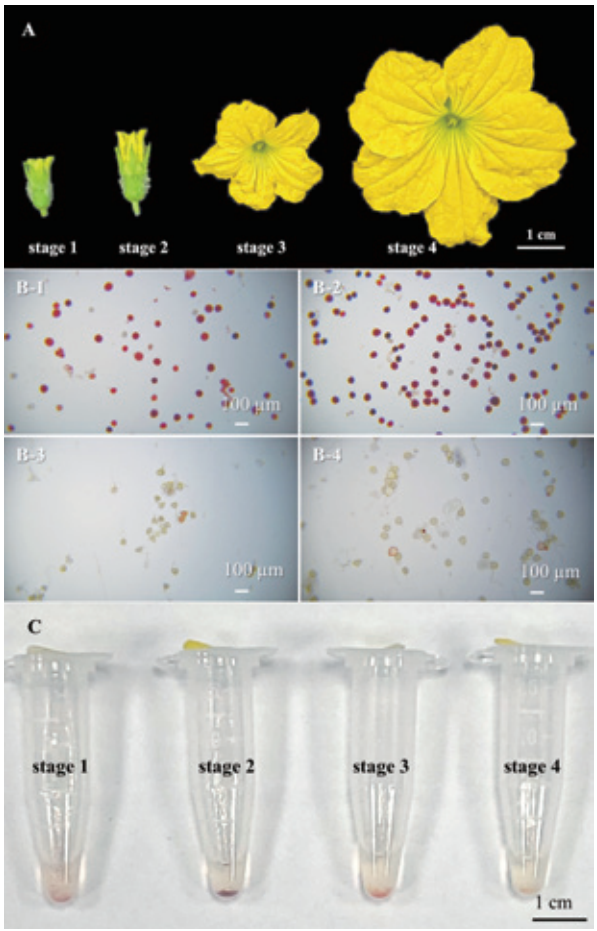


圖22–2. 甜瓜‘臺南13號’不同發育階段花朵及其花粉之TTC染色比較。A、不同發育階段之雄花花朵形態；B、不同階段花粉之TTC染色情形 (4小時)；C、不同階段花粉之TTC染色情形 (24小時)

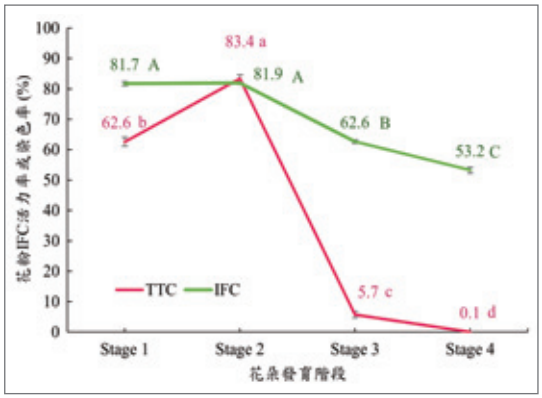


圖22–3. 甜瓜‘臺南13號’不同發育階段花粉IFC活力率與TTC染色率之比較。誤差線為平均值標準差 (n = 3, IFC; n = 20, TTC)。各平均值是以相同字母者為5%水準下經LSD測驗未達顯著差異

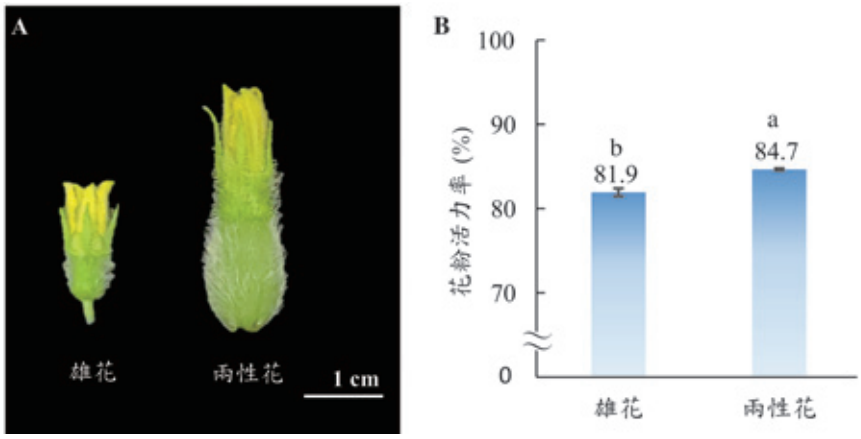


圖22–4. 甜瓜‘臺南13號’發育階段stage 2 兩種花性之比較。A、外觀之比較；B、雄花與兩性花花粉IFC活力率之比較。誤差線為平均值標準差 (n = 3) 各平均值是以相同字母者為5%水準下經LSD測驗未達顯著差異

(三) 選育抗白粉病race1和race5橙肉及綠肉網紋洋香瓜

林思妤、王毓華、吳錫家、黃晉興

白粉病為全球網紋洋香瓜產業共同面臨的危害，臺灣現已發現白粉病原菌 (*Podosphaera xanthii*) race 1及 5，而目前臺灣市售網紋洋香瓜品種多對白粉病race 1具抗性，但對race 5多為感性，爰以TaqMan分子標誌輔助回交育種，將3個抗白粉病基因導入橙肉及綠肉網紋洋香瓜自交系中，產生帶有3個白粉病抗性基因的橙肉及綠肉網紋洋香瓜自交系 (代號R及G；圖22–5及22–6)，其對race 1及5之抗感病指標 (disease index, DI) 皆為0 (極抗)。為確認以R及G自交系作為親本之一代雜交種 (F_1) 對白粉病race 1及5之抗感性，將R及G分別與7個對白粉病極感自交系 (DI > 7) 雜交，結果發現所有F1接種race 1後，皆呈現極抗 (DI = 0)；而 13個F_1組合接種race 5後，DI < 1，僅1個F_1組合DI = 1.9，顯示R及G抗白粉病特性可穩定遺傳至下一代，可作為抗白粉病育種優良親本。

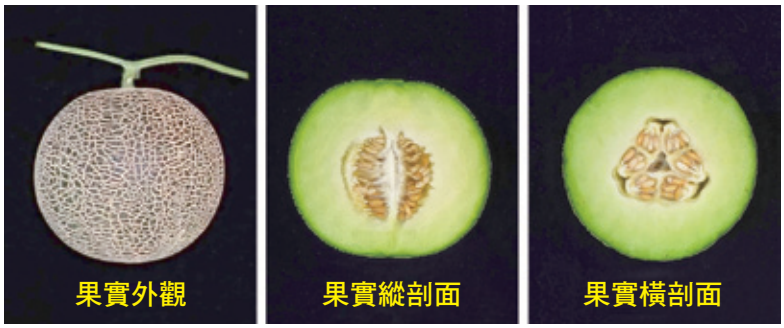


圖22–5. 抗白粉病綠肉網紋洋香瓜自交系G。該自交系含3個抗白粉病基因，對白粉病race 1及5極抗

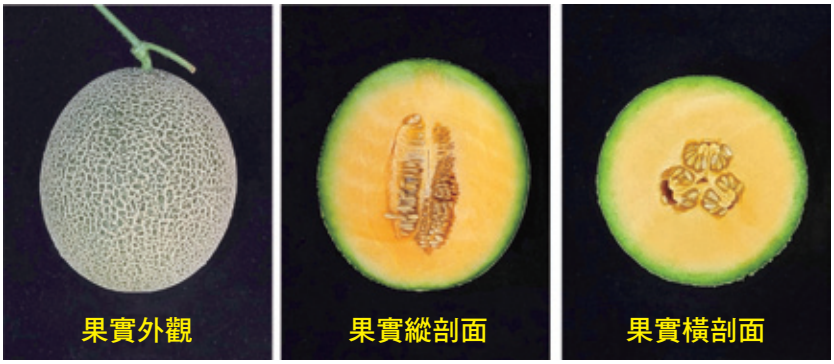


圖22–6. 抗白粉病橙肉網紋洋香瓜自交系R。該自交系含3個抗白粉病基因，對白粉病race 1及 5極抗

二 作物表型體分析技術之建立與應用

(一) 植物表型體分析系統營運及管理模式之建立

林大鈞、林思妤、李承彬、王昭月、王怡雯

已完成「國家植物表型體分析系統」建置，包含環控溫室LemnaTec PhenoAIxpert HT及田間Phenospex FieldScan等系統，可分別提取超過173與19項作物表型參數，並可應用於種原篩選或育種選拔，是我國農業科技創新的核心設施。目前已成功建立甜瓜LemnaTec PhenoAIxpert HT系統影像分析的工作流程，而田間Phenospex FieldScan系統亦已應用於玉米不同氮肥處理及大豆商業品種對紅冠腐病抗性反應試驗，並分別確認氮肥與病原菌接種對玉米及大豆植株生長趨勢的影響 (圖22–7及22–8)。另已建立「國家

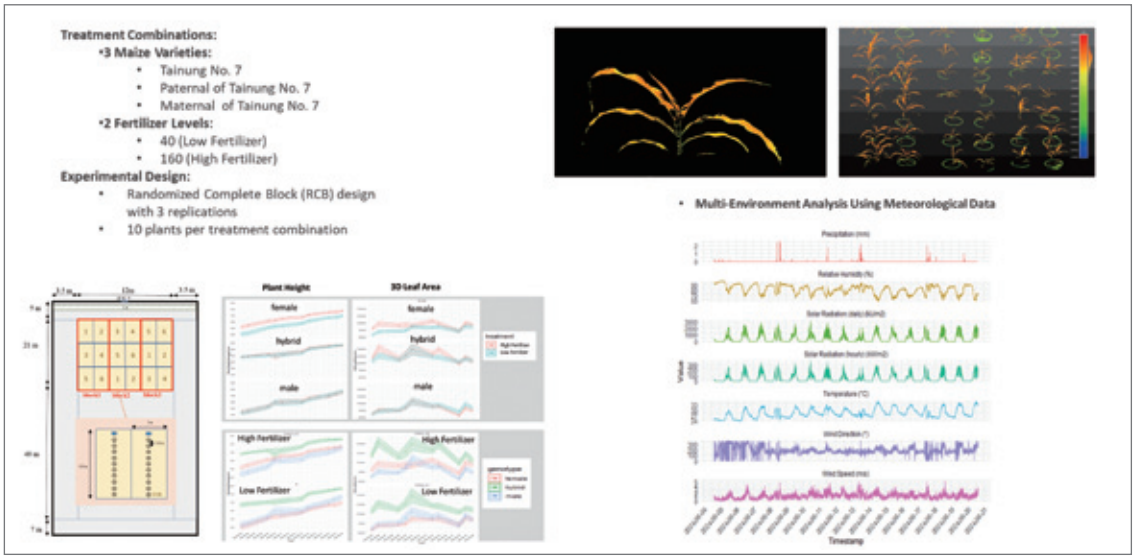
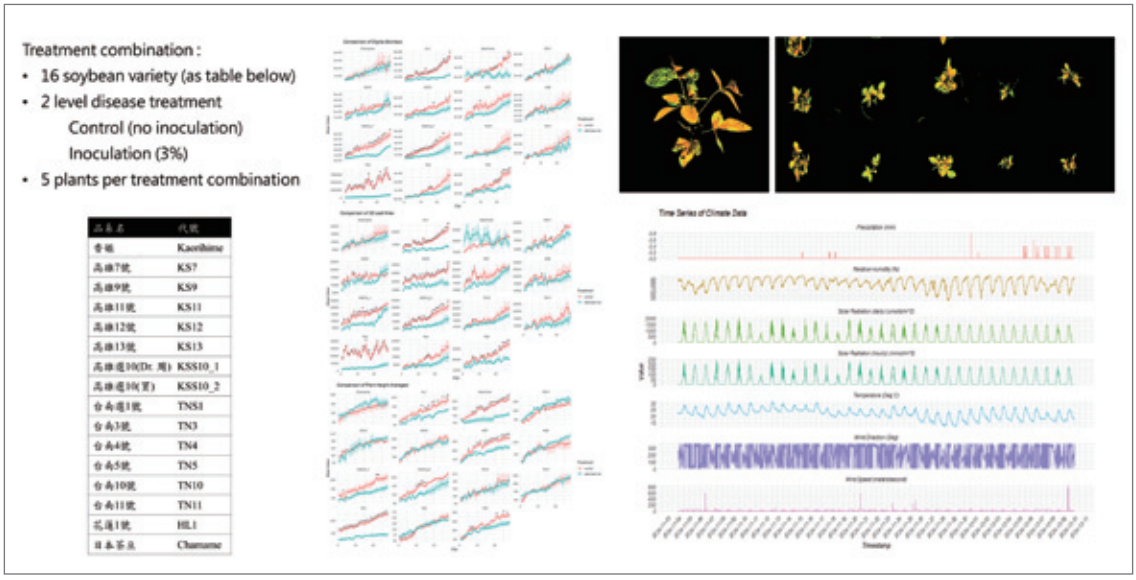


圖22–7. ‘台農7號’及其父母本於不同氮肥處理之表型分析結果



品名名	代號
香蘭	Kaorhsiung
高雄7號	KS7
高雄9號	KS9
高雄11號	KS11
高雄12號	KS12
高雄13號	KS13
高雄選10(Dr. 周)	KSS10_1
高雄選10(黃)	KSS10_2
台南選1號	TNS1
台南3號	TN3
台南4號	TN4
台南5號	TN5
台南10號	TN10
台南11號	TN11
花蓮1號	HL1
日本黃豆	Chamame

圖22–8. 不同大豆品種接種紅冠腐病之表型分析結果

植物表型體分析系統」管理架構 (圖22–9)，其中本所主責「執行委員會」及「維運管理小組」，不定期辦理教育訓練課程，邀請國外技師進行團隊成員操作技巧、排障及研究等能力的培訓。未來，該表型體分析系統將聚焦於表型體、AI技術創新與跨領域的人才培育，並針對甜瓜、玉米及大豆等作物建立數位育種平台，同時將針對重要作物核心種原建立數位影像資料庫，冀可強化本國種苗產業競爭力及應對氣候變遷調適力，進而推動永續農業的發展。

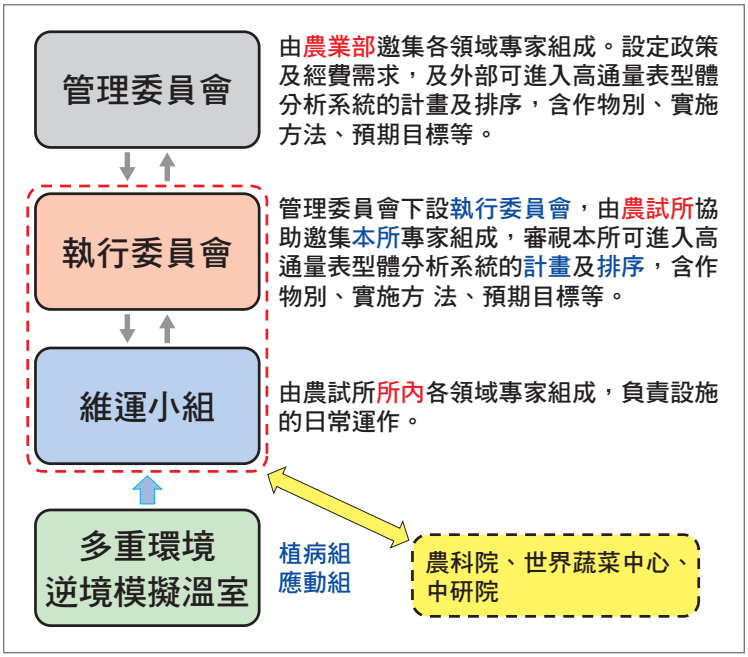


圖22–9. 國家植物表型體分析系統管理架構

(二) 作物苗期根部非破壞性原位影像分析

陳涵葳、曾清山、杜元凱

根部系統結構 (root system architecture, RSA) 是用來描述植物根系在土壤介質中的空間排列，目前以作物地上部高產性狀作為選拔指標，但作物RSA特性，對於作物水分利用、養分利用極其相關，建立非破壞性根部表型分析技術，有助作物韌性選育之進行。根部非破壞性原位影像元件的設計概念 (圖22–10)，是於壓克力容器側壁固定1台入門級掃描器 (Epson Perfection V39II)，壓克力容器外觀尺寸為30 (寬) × 8.5 (深) × 26 (高) cm^3，頂部6 cm處設有1個轉折，傾斜角度培養有利作物根部平貼掃描器生長，內部可放置隔板，同時掃描多株作物，壓克力盒周圍以黑色的布或厚紙包覆，維持根部環境黑暗，目標作物定植於容器靠近掃描器的一側，待根系發育至可掃描範圍即可進行掃描，取得根部影像，並利用Python進行自動化影像分割、根部影像擷取，以及後續特徵性狀量化分析。以根部非破壞性原位影像元件追蹤甜瓜苗期根部生長，觀察加入有益微生物可提升有效根域面積 (圖22–11)。

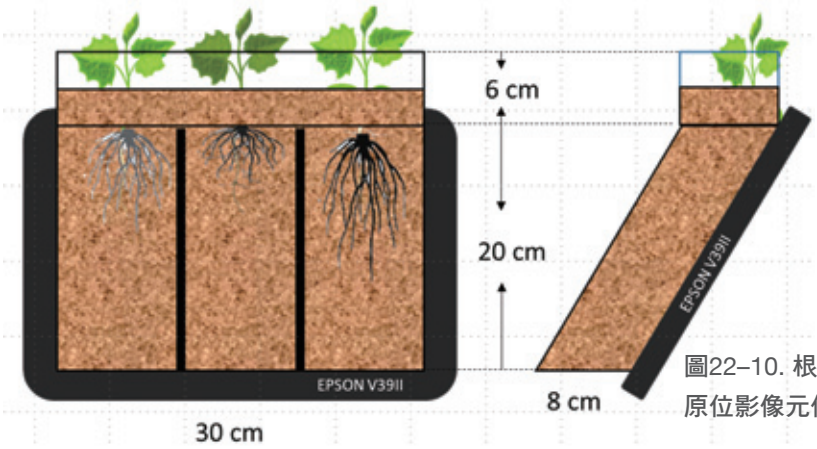


圖22–10. 根部非破壞性原位影像元件設計概念

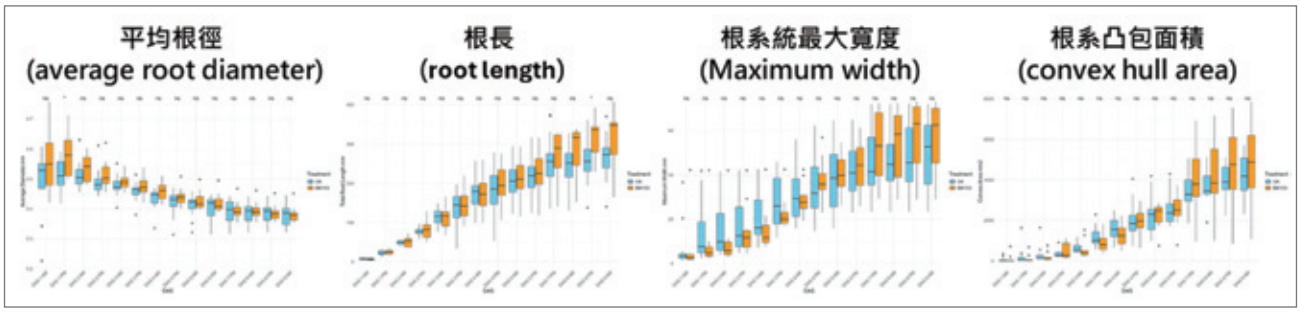


圖22–11. 甜瓜苗期根部生長追蹤。藍色為未處理對照；橙色為有益微生物處理

(三) 利用RGB影像建構作物高精度3D模型技術

李承彬、林思好、王怡雯、王昭月、林大鈞

結合先進影像處理與3D重建技術，突破傳統表型測量在精度、速度、成本與覆蓋範圍的限制，開發1套經濟型高精度3D表型掃描系統。系統採用多台消費級數位相機作為感測器，具備250 cm的垂直掃描範圍，透過定量旋轉收集多角度影像，並經優化的3D重建與噪訊處理技術，大幅縮短重建時間，實現高效的表型量化流程 (圖22–12)。本系統已於113年8月至9月完成掃描48株甜瓜，涵蓋幼苗期至果實成熟期。實測結果顯示，每株掃描僅需30秒，經中階繪圖工作站重建，30分鐘內可獲得去除雜訊的高精度點雲。整體而言，該系統為中大型經濟作物提供精準、高效的表型測量，滿足多元作物研究需求。在兼具經濟性與高效能的優勢下，該技術可望推動植物表型研究的應用落地，並為AI模型訓練提供高精度數據，加速AI分析工具的發展。

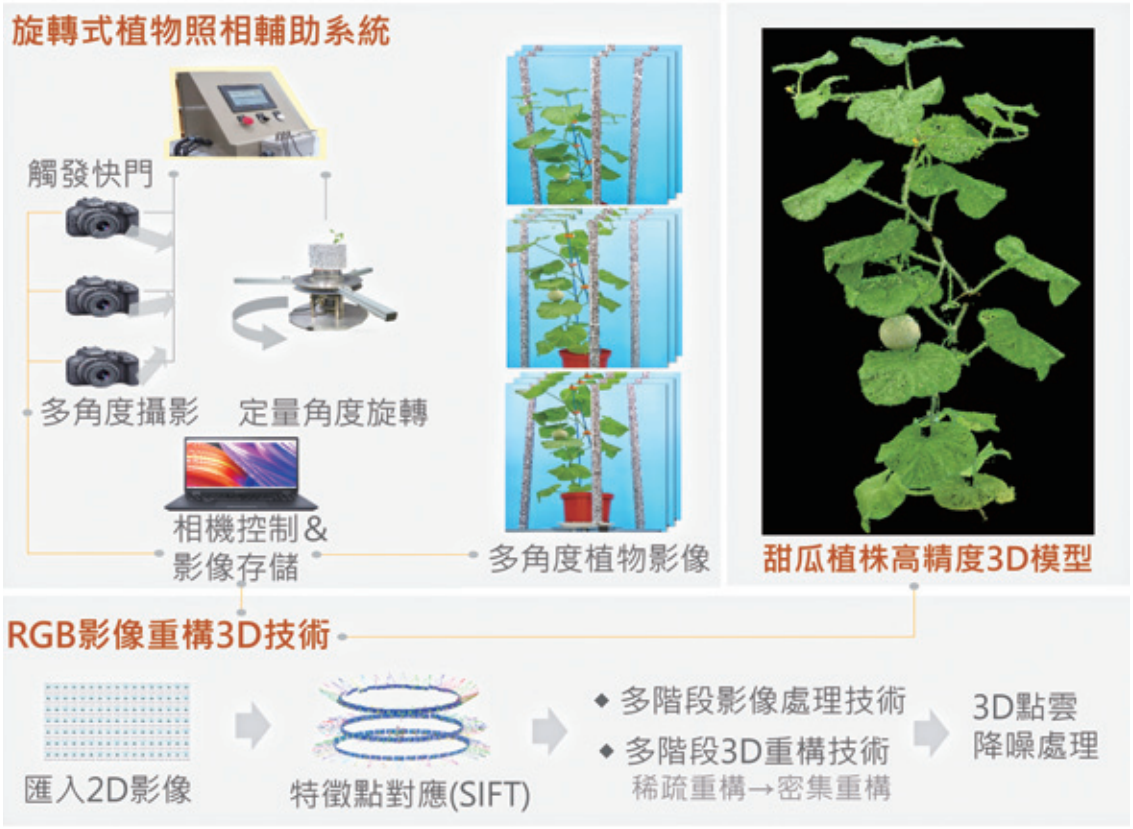


圖22–12. RGB影像建構作物高精度3D模型之技術架構

三 基因編輯及基改作物安全評估技術之建立與應用

(一) 基因編輯番茄對TYLCTHV病毒的抗病力表現

關政平、曾清山、陳涵葳

為評估基因編輯番茄對番茄捲葉病毒 (TYLCTHV) 的抗病性，使用聚合酶鏈式反應 (PCR) 及即時定量PCR (real–time PCR; RT–PCR) 進行病毒檢測。PCR用於確認病毒的存在，而RT–PCR則可用來量化病毒累積量，評估基因編輯番茄對病毒的抗性。基因編輯番茄在接種TYLCTHV後的14–40天 (dpi) 內均表現出明顯的病徵，顯示其對TYLCTHV並無顯著抗性。RT–PCR分析顯示，在14 dpi至40 dpi期間，基因編輯番茄與對照組之間的病毒累積量無顯著差異。此外，使用RT–PCR在14 dpi檢測基因編輯番茄的病毒感染率 (檢出率為20%) 高於未進行基因編輯的對照組，顯示基因編輯處理未能有效降低TYLCTHV的感染率 (圖22–13)。本研究成功建立TYLCTHV的人工感染接種技術，並透過PCR及RT–PCR進行病毒檢測與定量分析，惟試驗結果顯示，基因編輯番茄未能有效抵抗TYLCTHV感染，其感染率甚至高於未編輯植株，顯示該基因編輯策略似無法提供預期的抗病效果。未來研究可進一步探討其他基因編輯標的或結合RNA干擾技術，以提升番茄對TYLCTHV的抗性。

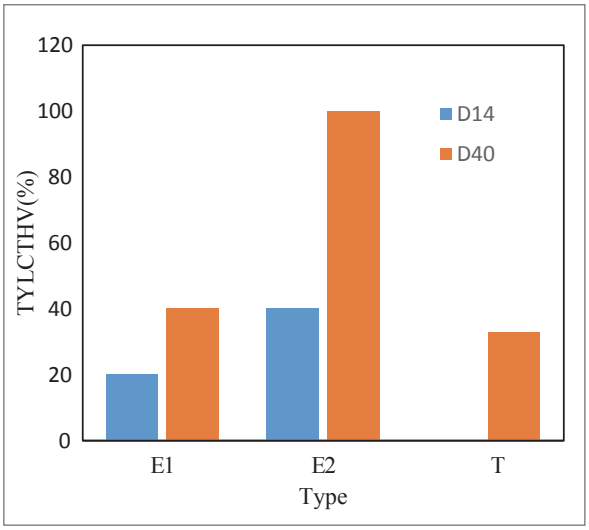


圖22–13. 基因編輯與非基因編輯番茄品系在14 dpi/40 dpi的TYLCTHV檢出率估算百分比

(二) 應用精準育種生物技術培育抗細菌性斑點病番茄品系

杜元凱、陳涵葳

番茄細菌性斑點病之抗病種原大多為不具經濟價值野生種，以傳統雜交方式易導入不良栽培性狀，且雜交品系的純化需花費大量時間。精準育種生物技術可針對單一基因序列進行編輯，調控目標基因同時保留其餘性狀。細菌性斑點病感性相關基因*DMR6* (Downy Mildew Resistance 6)，為水楊酸羥化酶 (SA–5 hydroxylase)，其促進水楊酸代謝，降低水楊酸對病害的防禦作用。本次研究於番茄基因組轉入基因編輯相關序列，針對*DMR6*進行編輯使其失去基因功能，並於T_2世代獲得無外源基因之*dmr6*基因編輯品系。以葉綠素含量與黑暗狀態下光系統II光

學反應最大螢光值 (Fv/Fm) 作為細菌性斑點病非破壞性評估系統，抗性品系‘Fla.8223’與感病品系‘Hawaii7988’為標準，葉綠素含量介於25–45、Fv/Fm介於0.6–0.85為具抗病能力，並透過已知感病品系‘TN2’得到證實 (圖22–14)。經此系統檢測，本次研究所培育抗細菌性斑點病番茄品系之*dmr6*品系確定具有抗病能力 (圖22–15)。

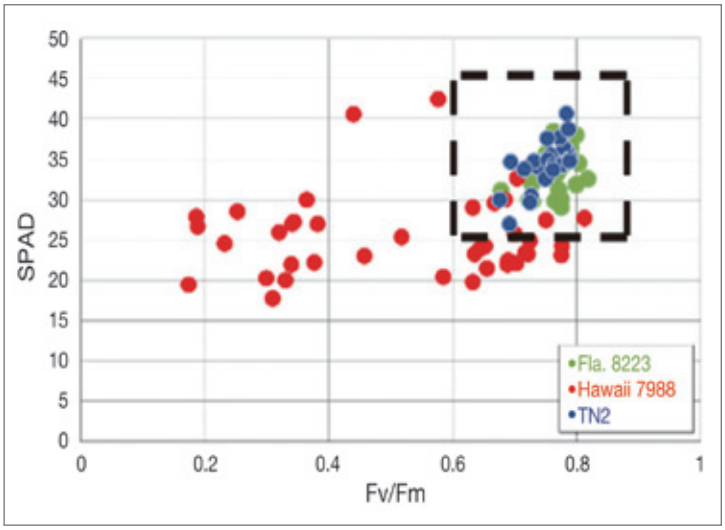


圖22–14. 以葉綠素含量 (SPAD) 與黑暗狀態下光系統II光學反應最大螢光值 (Fv/Fm) 作為細菌性斑點病非破壞性評估系統。分析族群落於黑框內 (SPAD 25–45, Fv/Fm 0.6–0.85) 則表示該族群具有抗病能力



圖22–15. 接種細菌性斑點病之野生型 (未編輯) 植株葉片 (上) 與*dmr6*基因編輯系 (下) 的葉片病斑感染情況 (bar = 2 cm)

(三) 建立番椒原生質體再生系統以應用於精準育種技術開發

游舜期、蔡媚婷、莊淨、夏奇鈱

以番椒原生質體於液態培養基誘導形成之微癒傷組織測試繼代至不同固態培養基後芽體再生之情形，5種處理分別為含有1 mg L^{-1} BAP之對照組和含有不同生長激素之固態培養基 (代號I–IV)。結果顯示，培養2個月後對照組癒傷組織褐化率為71.4%，I–IV處理依序為75.0%、72.5%、88.9%及14.3%；而培養10個月對照組之癒傷組織褐化率為20.0%，I–IV依序為22.0%、21.0%、25%及18.2%。對照組及處理I–III之癒傷組織在固體培養基培養2個月後褐化率皆高於70%，以IV處理培養基之褐化率最低；持續培養10個月後各處理之癒傷組織褐化率皆降至約20%左右 (圖22–16)，推測癒傷組織已逐漸適應不同之固態培養基，但各處理之癒傷組織皆未觀察到胚狀體或芽體再生，未來須調整材料取樣時期、部位與培養基成分等用以促進芽體再生。

(四) 利用功能性分子標誌輔助*sbe3*編輯突變基因導入IR64品系

王怡雯、李承彬、林思妤、王昭月、林大鈞

IR64為全球廣泛栽培的籼稻品種，因其高產、早熟、抗病及優良米質而深受青睞。然而，其抗性澱粉含量僅1.65–1.9%，無法滿足糖尿病患者的膳食需求。本研究旨在提升IR64的抗性澱粉含量，透過*sbe3*基因編輯系進行回交選育。以高抗性澱粉*sbe3*基因編輯系為提供親回交育種導入IR64，並

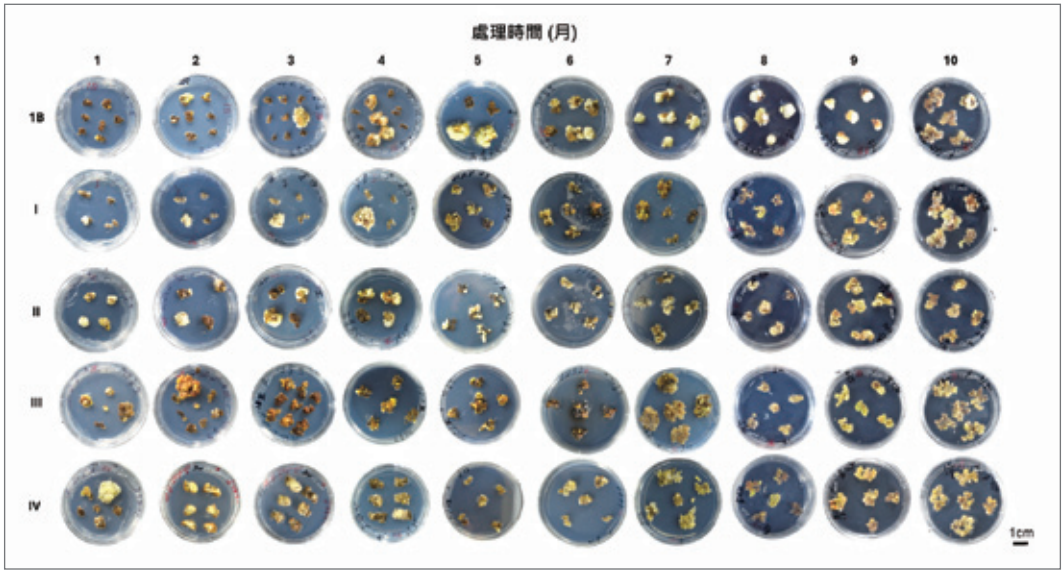


圖22–16. '橙辣'子葉原生質體誘導之癒傷組織在含有1 mg L^{-1} BAP之對照組與代號I–IV處理之固態培養基中培養1–10個月之生長情形

利用*sbe3*突變位點開發功能性分子標誌，進行前景選拔。於BC_1F_1至BC_4F_1世代，篩選出22至88株異質結合基因型個體，並以39至124組SSR標誌進行背景選拔，背景回復率逐次提升至90–99%。進一步依植株外觀、產量與穀粒充實度等指標，選拔出4株近似IR64的BC_4F_1植株，並於BC_4F_2族群進行基因型與抗性澱粉分析，結果於846植株中篩得18株目標基因型 (圖22–17)，其抗性澱粉含量達13.5–28.5%，較IR64高出7–15倍 (圖22–18)。本研究成功開發*sbe3*功能性分子標誌，並育成高抗性澱粉IR64改良系，可作為進一步探討*sbe3*基因於秈粳稻遺傳背景功能的重要材料。

(五) 建立基改馬鈴薯環境抽檢與檢測技術

杜元凱、陳涵葳

根據國際組織International Service for Acquisition of Agri–Biotech Applications

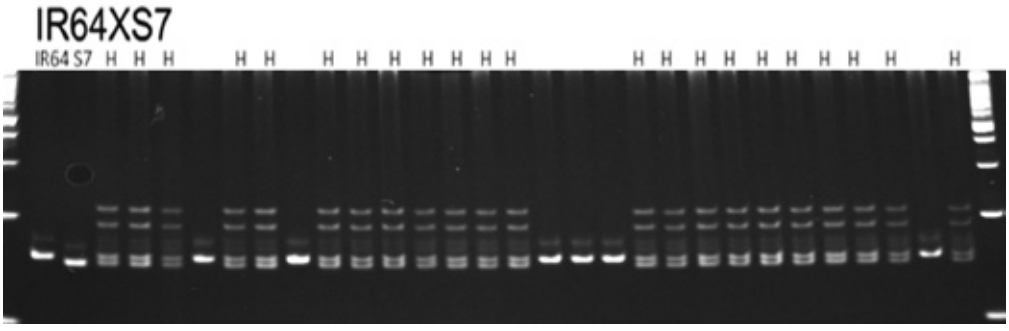


圖22–17. IR64 × *sbe3* BC_4F_1族群前景基因型選拔。H: 代表異質結合體的基因型

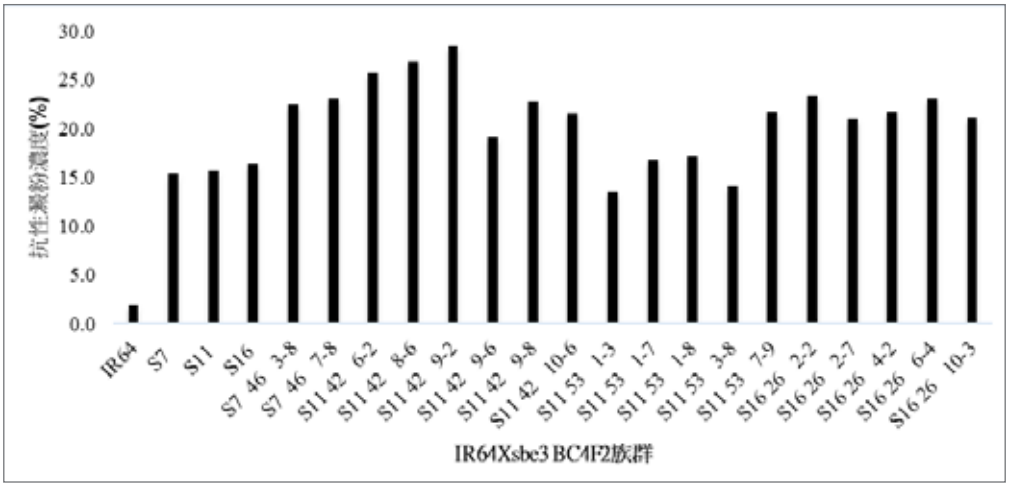


圖22–18. IR64 × *sbe3* BC_4F_2目標性狀基因型單株之抗性澱粉分析。IR64: 本試驗輪迴親；S7、S11、S16: *sbe3*突變基因提供親

(ISAAA) 公告資料，目前國際上流通或已發表的基因改造 (基改) 與基因編輯馬鈴薯品系共有51種。我國目前尚無查驗登記許可之基改馬鈴薯，為避免基改作物影響我國農業永續發展，本所已建立基改及非基改馬鈴薯檢測技術 (圖22–19)，並衡量各檢測單位之採樣監測能力。以現行馬鈴薯品系標準品以及檢測方法，完成3個馬鈴薯栽培主要縣市 (臺中、雲林、嘉義) 之田間樣品檢測 (圖22–20)。運用衛星定位 (GPS) 與地理資訊系統 (GIS) 相關應用軟體之設置，可利用手持GPS系統，配合開發之APP軟體，於環境採樣地點進行GPS座標標定與記錄。記錄內容可包括照片、栽培田區大小、風速與方向等，並可快速匯入GIS系統進行座標點分析與圖資處理。

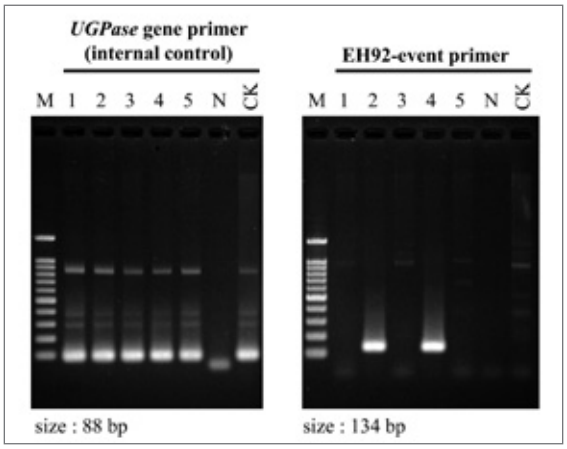


圖22–19. 利用PCR技術檢測基改馬鈴薯片段。M: 100 bp DNA ladder；1–5: 盲樣試驗樣本；GM: EH92–527–1基改品系標準品；CK: 非基改品系標準品；ddH_2O: blank對照



圖22–20. 運用衛星定位 (GPS) 與地理資訊系統 (GPS) 標註我國馬鈴薯環境監控採樣地點資訊。圖片從上至下分別為：臺中、雲林、嘉義