

出國報告（出國類別：其他，國際會議）

參加「第 13 屆植物與微生物之分子技術國際研討會」報告

服務機關：行政院農委會農業藥物毒物試驗所

姓名職稱：羅致逵 研究員

派赴國家：義大利

出國期間：96 年 7 月 20 日至 96 年 7 月 27 日

報告日期：96 年 9 月 11 日

公務出國報告提要

頁數：8 含附件：無

報告名稱：參加「第 13 屆植物與微生物之分子技術國際研討會」報告

主辦機關：行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所

聯絡人/電話：羅致逵/04-23302101#825

出國人員：羅致逵 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所 研究員

出國類別：其他（國際會議）

出國地區：義大利

出國期間：96 年 7 月 20 日至 96 年 7 月 27 日

報告日期：96 年 9 月 11 日

分類號/目：

關 鍵 詞：致病機制，抗菌機制，基因轉殖，有用基因

內容摘要： 本次大會以口頭論文及壁報論文兩種型態進行，並邀請專家，學者，公司研發主持人，針對植物與微生物兩者的關係進行分子生物學上的探討與應用。本次年會共有約 1035 人參加。年會議程相當豐富，包括大會講演 40 篇，口頭論文發表 95 篇，及壁報論文發表 937 篇，合計 1072 篇，口頭論文報告分 10 個領域進行，壁報論文分 16 個領域進行。在展示部份，共有 2 家儀器藥品公司，7 家科技協會，及 2 家出版商。本人提出壁報論文一篇「基因轉殖木瓜對土壤中抗卡那黴素細菌族群影響之調查 (Kanamycin resistant bacterial communities associated with transgenic papaya and its non-transgenic counterpart papaya in soils.)」，並與大會之其他人員交換意見，吸收知識。

目 錄

一、 參加目的.....	4
二、 參加行程.....	4
三、 參加心得.....	5
四、 檢討與建議.....	6
伍、 附錄.....	7

壹、參加目的

以生物技術應用於植物上的研究，目前在國內或國外均很積極，而國內第一個完成的生技術產品抗輪點病毒基因轉殖木瓜就是利用分子植物與微生物的關係。因此本次參與這次大會目的就是希望了解世界各國在此領域上的研究，是否已有新的產品發展，以提早進行各項評估與建議，避免重蹈抗病毒基因轉殖木瓜之發展限制。在本次大會中本人亦提出壁報論文一篇「基因轉殖木瓜對土壤中抗卡那黴素細菌族群影響之調查(Kanamycin resistant bacterial communities associated with transgenic papaya and its non-transgenic counterpart papaya in soils.)」，並與大會之其他人員交換意見，吸收知識。本次大會承國科會同意提供本人經費 (NSC 96-2317-B-225-001)，謹此申謝。

貳、參加行程

7月20日(五)	搭機赴義大利
7月21日(六)	註冊、開幕式
7月22日(日)	邀請講演、口頭論文報告、論文展示
7月23日(一)	邀請講演、口頭論文報告、論文展示
7月24日(二)	邀請講演、口頭論文報告、論文展示
7月25日(三)	邀請講演、口頭論文報告、論文展示
7月26日(四)	整理資料、搭機返台
7月27日(五)	搭機返台

第十三屆年會於義大利 Sorrento 的 Hilton Hotel 舉行，會期自 7 月 21 日至 26 日，共計 6 日。本次年會共有 1039 人參加。年會議程相當豐富，包括大會講演 40 篇，口頭論文發表 95 篇，及壁報論文發表 937 篇，合計 1072 篇，口頭論文報告分 10 個領域進行，壁報論文分 16 個領域進行。

口頭論文：

1. Pathogenic and symbiotic interactions (Bacteria)
2. Pathogenic and symbiotic interactions (Fungi and oomycetes)
3. Common host mechanisms controlling interactions
4. Multitrophic interactions (Pathogens, insects, nematodes, parasitic plants)
5. Recognition and signaling I
6. Recognition and signaling II
7. Molecular dialogues I
8. Molecular dialogues II
9. Dynamics of plant responses to microbes

10. Plant microbe interactions and biotechnology

壁報論文：

1. Quorum sensing and microbe-microbe interactions
2. Evolution of pathogenicity/resistance and ecology
3. Secondary metabolites and toxins
4. Plant-virus (and virus-like)
5. Pathogenic fungi
6. Mycorrhizal symbiosis
7. Non host resistance
8. Plant-nitrogen fixing bacteria
9. Pathogenic bacteria
10. Hormones and bioactive molecules
11. Recognition and signaling
12. Plant pathogenic fungi (and oomycetes)
13. Endophytes and parasitic plants
14. The impact of 'OMICS'
15. Biocontrol interactions
16. Other

在展示部份，共有 2 家儀器藥品公司，7 家科技協會，及 2 家出版商。在年會期間提供與會人員實際的參考與討論機會。

參、參加心得

本次大會主要是以分子生物技術探討在植物與微生物間相互作用的關係，因此論文方向包括了生物技術的運用，致病機制，抗菌機制，基因轉殖，有用基因之探討等。如：

- 1、利用阿拉伯芥 (*Arabidopsis thaliana*) 來進行病原菌致病性與植物抗病性的研究。
- 2、對病原菌 *Pseudomonas syringae* 的致病力作分子學上的探討。
- 3、研究真菌 *Magnaporthe grisea* 對水稻稻熱病的致病力。
- 4、植物抗病性的基因研究。
- 5、植物與植物間的化學傳訊物質的研究。
- 6、植物的免疫系統。
- 7、基因靜默與抵抗機制。
- 8、細菌性生物藥劑的選擇與監控。
- 9、抗病毒基改作物與環境風險等。本人之壁報論文即歸屬於此。

由分子生物學上來看，目前相關的研究仍有許多是在植物阿拉伯芥與煙草上，因此尚為初期分子生物技術的研究，與實際產品的方向仍有一段距離。

茲舉數例論文介紹：

- 1、Plants manipulate the production of antibiotics by rhizosphere biocontrol *Pseudomonas fluorescens*.

Jousset 等人認為在植物病原菌與抑菌細菌三者之間可藉由某些物質相互溝通，即被感染的植物可藉由根部釋放出特定物質而抑制病原菌生長。例如腐黴菌 *Pythium ultimum* 感染植物後，植物釋放茉莉酸 (Jasmonic acid) 或乙烯 (Ethylene)，隨後植物根部就會分泌特定物質至根圈細菌，根圈細菌如 *Pseudomonas fluorescens* 接受到這些信息物後，則會生產更多的 DAPG (2,4-diacetylphloroglucinal) 抑制病原菌。

2、A malate synthase gene required for *Sclerotinia sclerotiorum* pathogenesis.

Liberti 與 Dobinson 發現對於病原菌 *Sclerotinia sclerotiorum*，其需要一種特殊基因 *mls1* 來完成其致病，*mls1* 基因所編碼的酵素可使 Glyoxylate 轉化成 malate, oxaloacetate，再轉化成 oxalic acid (草酸)，而產生致病力。

3、Salicylic acid represses Auxin responses to limit pathogen growth.

Pajerowska-Mukhtar 等人發現許多病原菌可生產植物性荷爾蒙 Auxin 或控制宿主 Auxin 的生合成，致使宿主因荷爾蒙量的變化而致病。而宿主植物亦會因 Auxin 量的變化而產生一些防禦的措施。作者等人發現以 Salicylic acid (水楊酸) 抑制病菌的抗性與 Auxin 信號的抑制有關。

4、Cross-talk between signaling pathways leading to defense against pathogens and insects.

Pieterse 等人報導水楊酸 (Salicylic acid, SA)，茉莉酸 (Jasmonic acid, JA)，及乙烯 (Ethylene, ET) 為主要誘導植物抗性的調控物 (約含 70%)，這些物質在植物，食草類昆蟲與病原菌三者之間傳遞，也有效增加抗性基因的表達及植物抵抗病原菌與食草類昆蟲的能力。

5、*Pseudomonas* virulence factors and *Arabidopsis* disease resistance mechanisms.

Dange 報導 NB-LRR 即核苷酸結合區 (Nucleotide binding sites) 與白胺酸密集重覆序列區段 (Leucine rich repeat)，為重要的植物抗病性蛋白，認為 NB-LRR 蛋白的活化需經過一連串內部分子的切割，去除抑制的分子之後才會導致核苷酸結合區的活化。

6、Bacterial extracellular polysaccharides (EPS) promote pathogenicity by suppressing plant basal defenses.

Aslam 等人認為病原菌的胞外多醣體 (EPS) 可與植物細胞壁上的二價陽離子 Ca^{++} 結合，此種錯合物 (EPS-Ca) 貯存於植物細胞壁上，避免 Ca^{++} 離子進入細胞中而防止植物抵禦機制的活化。

肆、檢討與建議

植物與病原菌之間的抗病基因 (Resistance gene, R) 與病原菌致病基因之非毒性基因 (Avirulence gene, *avr*) 一直是近 30 年研究的方向之一。而植物抗病物質或信息的傳遞途徑則為近年來主要研究的方向，例如水楊酸途徑，茉莉酸途徑和乙烯途徑等。基因的研究則主要在 *avr* 基因，*hrp* 基因等。如依 Monsanto 公司生技發展的 6 階段來看，本次大會論文資料大部份仍是在第一階 (Identifies a valuable protein) 或第二階 (Makes the gene constructs for the protein) 的研究，少部份進入了第三階 (Inserts the new gene and regenerates to whole plant)，因此與基因轉殖的產品化出現可能仍有一段距離。

伍、附錄

1. 壁報論文

Kanamycin resistant bacterial communities associated with transgenic papaya and its non-transgenic counterpart papaya in soils

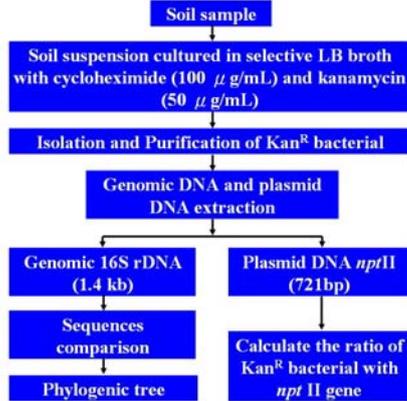
Chi-Chu LO, Jin-Zang YANG, and Shu-Chuan CHEN

Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, Council of Agriculture, 11, Kuang Ming Road, Wu fong, Taichung County, Taiwan, ROC.

Introduction :

The objective of this study is to monitor the effect of planting transgenic papaya expressing *nptII* gene on the kanamycin resistant bacterial (Kan^R) communities in soil (sandy loam with 12% clay, 0.44% organic matter)

Procedures :



Results and Discussion :

Table 1. Ratios of Kan^R bacterial and Kan^R bacteria with *nptII* gene in soil of different papaya.

papaya	Kan ^R (%)	<i>nptII</i> (%)
Transgenic 10-4	17 (12.2)	2 (11.8)
Transgenic 12-4	24 (17.3)	3 (12.5)
Transgenic 14-3	28 (20.1)	3 (10.7)
Non-transgenic T-CK	19 (13.7)	1 (5.3)
Blank	51 (36.7)	12 (23.5)
Total	139 (100)	21 (15.1)

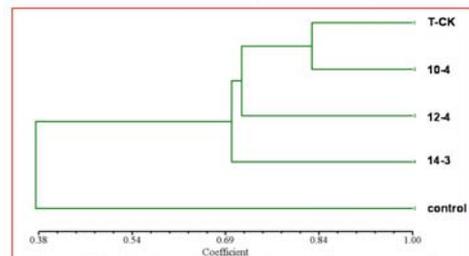


Fig 1. Similarity of 16S rDNA fragments from 139 Kan^R bacteria. The similarity of Kan^R bacteria between transgenic papaya and non-transgenic papaya is about 70%.

Acknowledgment :

This work was supported by National Science Council (NSC-96-2317-B-225-001).

References :

1. Dijkstra, A.F., Govaert, J.M., Scholten, G.H.N. and Van Elsas, J.D. (1987) Biochem. 19:351-352.
2. Henschke, R.B. and Schmidt, F.R.J. (1989) Fertil. Soils. 8:19-24.
3. Widmer, F., Seidler, R.J., and Watrud, L.S. (1996) Mol. Ecol. 5:603-613.

Gene construct of transgenic papaya :

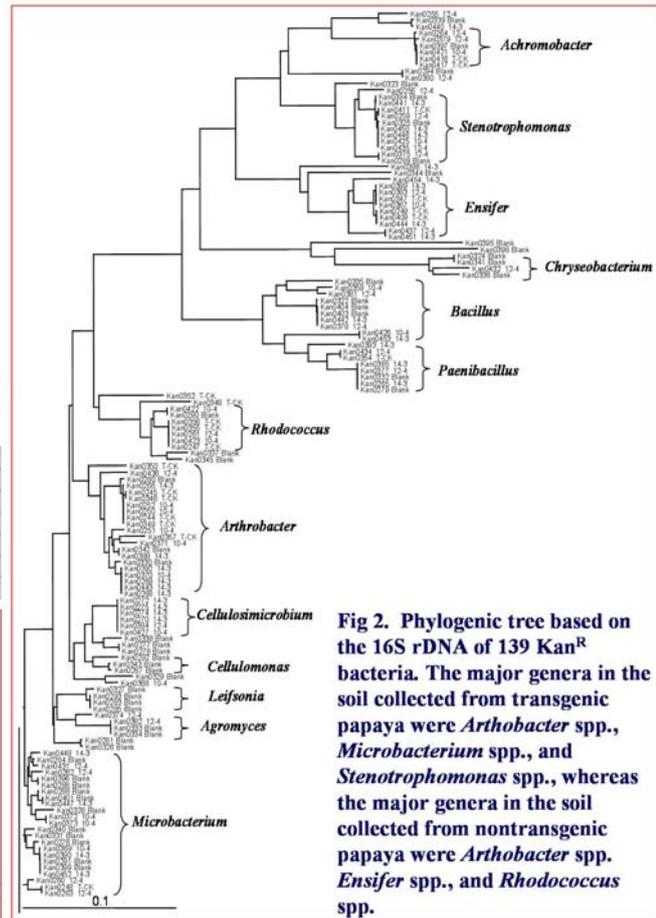


Fig 2. Phylogenetic tree based on the 16S rDNA of 139 Kan^R bacteria. The major genera in the soil collected from transgenic papaya were *Arthrobacter* spp., *Microbacterium* spp., and *Stenotrophomonas* spp., whereas the major genera in the soil collected from nontransgenic papaya were *Arthrobacter* spp., *Ensifer* spp., and *Rhodococcus* spp.

Conclusions :

1. The ratio of *nptII* gene in Kan^R bacteria ranged from 5.3 to 23.5 %, and could be used as a starting point for risk assessment.
2. The similarity of Kan^R bacteria between transgenic papaya and non-transgenic papaya is about 70 %.
3. The major Kan^R bacteria are mainly distributed in the following genera: *Microbacterium* spp. (25 isolates), *Arthrobacter* spp. (21 isolates), *Bacillus* spp. (10 isolates), *Stenotrophomonas* spp. (9 isolates), *Ensifer* spp. (7 isolates), *Paenibacillus* spp. (7 isolates), and *Rhodococcus* spp. (7 isolates).

2. 大會論文光碟：

存農業藥物毒物試驗所圖書館。