出國報告(出國類別:國際會議)

2014 農業生命科學國際會議

服務機關:行政院農委會高雄區農業改良場

姓名職稱:蔡奇助副研究員

派赴國家:加拿大

出國期間:103年10月4~11日

報告日期:103年10月24日

摘要

2014 農業生命科學國際會議 (2014 Agricultural Bioscience International Conference) 在加拿大薩斯卡通舉行,由 Ag-West Bio 協會主辦,該組織的 CEO Wilf Keller 博士擔任大會的主席。研討會由來自世界各國,總計約 370 位學者參 與,其中台灣有5位學者參加。議題包含4個主軸,第一是轉基因植物在農業上 的應用,尤其在抗病、抗蟲、抗乾旱及解決糧食危機等議題上,對發展中國家更 顯重要;第二是全球糧食安全(global food security),在人口持續快速成長下,如 何在自然資源(如水資源、耕地面積)持續減少,加上環境變遷全球暖化下,藉由 科學、技術、創新與管理的整合下,獲取足夠且安全的糧食;第三是永續農業的 發展,如何藉由基因科技、有益微生物的利用(如固氮菌等),創造安全農業,以 達永續發展;第四是介紹新進發展科技在農業或食品業發展的應用,如同步加速 器在農業上的應用,次代定序在解決農業問題的應用,以及3D列印在食品業上 的應用等。心得與建議包括:1. 跨領域合作的重要性:農業科技的研發到最後 落實應用需要結合公部門、民間公司及相關的財團或社團法人機構,方能發揮應 用的最大效能。2. 肯定 GMO 在農業上的應用: 大會推崇 GMO 在農業上的貢獻, 對於現在及未來必須面對的糧食短缺及雨水資源匱乏等問題,認爲基因科技是解 決該問題的最佳工具。3. 國際研討會的創新價值:參加國際研討會不僅能得知 相關領域目前國際間最新研究,藉此能激發與會者創新的研究方向。4. 鼓勵研 究人員參與國際活動:參與國際學術活動的正面貢獻不容置疑,因此建議提供更 多元的管道,並對於研究人員從事國外短期研究及參與國際活動給予鼓勵與開 放,如此對於提升研發人員的國際視野及研發能量都有積極正面的影響。

目錄

_	、目的	-4
<u>-</u>	、行程表及內容	-5
三	、研討會紀要	-6
四	、心得與建議	-8
五	、附件	-10

一、目的

2014 農業生命科學國際會議(2014 Agricultural Bioscience International Conference)議程主要以農業生物科技在農業上應用最新的研究,以應用性質的研究居多,藉此可以獲得新近生物科技在農業上應用的新知。雖然基因科技,尤其是 GMO 在農業上的應用目前在國際間仍有部分的疑慮,主要是食品安全與生態衝擊方面,不過基因科技確實帶給農業突破性的發展,尤其未來面臨全球人口極速增長,糧食短缺,以及水資源匱乏的雙重壓力下,如何在不影響環境生態,且能繼續提供足夠的糧食的前提下,不得不正視 GMO的議題,也不得忽視 GMO 在未來所扮演的角色。希望藉由參與此國際研討會,可以獲取許多農業生物技術新的發展及未來的研究重點,並與相關領域的國外學者交流,藉此激發出新的研究方向。

二、行程表及研習內容

2014 農業生命科學國際會議

2014 Agricultural Bioscience International Conference

4th -11th Oct 2014

台灣時	間	夜宿地點	行程內容
10月4日	(五)	飛機	本場→高雄小港機場→ 東京成田機場→飛往加拿大 卡加利國際機場
10月5日	(六)	加拿大薩斯卡通藝術商業中心(TCU place) (住宿:薩斯卡通)	加拿大卡加利國際機場 → 飛往加拿大薩卡頓機場 → 薩斯卡通 → 飯店
10月6日	(日)		抵達會場及註冊 開幕式 專題演講 展示廳開幕
10月7日	(→)		專題演講 午餐 分組研討 迎賓
10月8日	(二)		專題演講 午餐 分組研討 晩餐
10月9日	(三)		專題演講 午餐 分組研討 閉幕 晩餐
10月10日	(四)	飛機	薩斯卡通→加拿大薩卡頓 機場→加拿大溫哥華國際 機場→飛往香港國際機場
10月11日	(五)	香港、高雄、屏東(住宿:屏 東)	香港國際機場 → 台灣高雄 國際機場 → 本場

研討會記要

2014 ABIC 在加拿大薩斯卡通舉辦,本國際會議由 Ag-West Bio 協會主辦, 該協會時常接受加拿大政府委託,推動農業生技及機能性食品產業等生技產業的 發展。會場在薩斯卡通藝術商業中心(TCU place)的國際會議廳舉開。研討會由來 自世界各國,總計約 370 位學者參與,其中台灣有 5 位學者參加,重要的會議行 程如下:

10月6日:抵達會場及報到,隨即進行一場專題演講,講者是 Julie Borlaug。Julie Borlaug 的祖父是有"綠色革命之父 (the father of the Green Revolution)"之稱的 Dr. Norman Ernest Borlaug,Dr. Borlaug 爲美國生物、人類學家,藉由導入高產作物品種與結合現在農業科技,替墨西哥、印度及巴基斯坦解決嚴重的糧食問題,因此在 1970 年獲得諾貝爾和平獎。Julie Borlaug 在 2006 年加入由 Dr. Borlaug 創辦的 Institute for International Agriculture College Station,目前在該機構對外關係部門(External Relation)擔任副執行長。該機構致力於建立公部門、民間及慈善機構的合作關係,協助面臨飢餓的地區。Julie Borlaug 的專題演講題目:Continuing the Borlaug Legacy into the Next Century。隨後進行迎賓酒會,會後台灣與會者與Ag-West Bio 協會有一場簡短的會談。

10月7日:早上進行開幕及迎賓。隨即進行會議的第一節,主軸是全球糧食安全,共有5個演講者,分別由 Dr. Lawrence Kent 主講 The Role of Crop Biotechnology within the Gates Foundation Investment Portfolio Promoting Agriculture Development for the Poor in Africa and South Africa; Ingo Potrykus 教授主講 Progress and Challenges in Developing Golden Rice; ILRI副執行長 Suzanne Bertrand 主講 Biotechnology Tools Can Adress Our Biggest Livestock Production Challenges to 2050; IICA 執行長主講 Sowing Innovation to Harvest Prosperity。中午用餐後爲分組研討,包含農作物組、畜產組、農業管理組及合作研究組。會議

10月8日:會議的第二節,主軸是農業創新策略,有4個演講者,分別是Denise Dewar 有一場專題演講; Maurice Moloney 主講 Agriculture Biotechnology and Sustainable Agriculture Practice; Hong-Wei Xue 博士主講 Genetic Understanding and Approach Towards Rice Improvement; Dr. Swapan Datta 主講 Application of Science and Technology for Genetic Gains of Agriculture Production in India。中午用 餐後爲分組研討,包含基因專利後發展組、發展中新科技組、永續農業組及能源管理策略組。

10月9日:會議的第三節,主軸也是農業創新策略,有4個演講者,分別是GregMeredith 主講 A Changing Landscape: At the Intersection of Science, Policy and Society; Nina Fedoroff 主講 Innovations in Arid Land Food Production Systems; Carlo Montemagno 博士主講 Opportunities for Engineering Life Processes to Improved Production and Sustainability Through the Application of Nanotechnology; Ganech Kishore 主講 Innovation in Agriculture and Biotechnology - Opportunities and Threats。中午用餐後還有二場專題演講,分別由 David Fischhoff 主講 Improvements in Measurement, Insights, and Tools for Precision Agriculture; Roger Beachy 執行長主講 Meeting the Challenges for Global Food Security。專題演講結 束後,隨即進行閉幕式。結束後參觀薩斯卡通大學的相關農業研究、設施,及附 設於大學內,由政府資助Ag-West Bio協會,該協會專門扮演學界與業界的合作、研發及成果推廣等。

四、心得及建議

1. 跨領域合作的重要性:

DNA 雙股螺旋結構的發現者華生博士(Dr. James Watson)曾說:基因科技的發展就是要讓我們更適合生存、過的更好一點。姑且不論基因產品的安全性與生態衝擊方面,對於世界仍然有 1/9 人口(約 8 億)面臨飢餓和長期營養不良的狀態下,基因科技應用作物品種的改造,可以獲得更適合因應逆境的作物品種,以應付全球氣候變遷,確實能解決糧食問題,不過先決條件需要結合公部門、民間公司及相關的慈善機構相互合作,才能有效發揮功能。本次研討會的宗旨亦在連繫及媒合此種合作關係,以達到基因科技能落實解決農業上的問題。

3. 肯定 GMO 在農業上的應用:

大會傾向支持 GMO的發展,並看好 GMO 在解決糧食問題的應用潛力,尤 其對於第三世界國家,在面臨全球環境變遷下,糧食問題更加劇烈,因此如何利 用基因科技,解決這些地區在農業上所面臨的乾旱、產量及抗病性等問題。會中 並無探討 GMO 相關的食品安全與生態衝擊相關的議題,可見 GMO 在北美地區 是持積極開放的角度。目前歐盟與日本是對 GMO 相對保守的國家,雖然如此, 在研究上卻不落人後,尤其日本對 GMO 研究相當積極。反觀,台灣對 GMO 的 研究發展相對保守許多,目前農委會相關的科技計畫經費大約降至 10 年前的 1~2 成,對於基因科技在 GMO 的發展上,遠不及大部分的開發中及已開發國家。

3. 國際研討會的創新價值:

本次研討會的特色是應用性質的研究很多,因此不僅吸引學者參與,也有很多民間公司的代表參與。主場地設備豪華,分組研討分成幾個場地同時進行,由於議題多元,與會者皆能依照各自的專長、領域與興趣,參與不同的主題研討。此外,也介紹許多新近發展的技術,如同步加速器在農業上的應用,次代定序在解決農業問題的應用,以及 3D 列印在食品業上的應用等,爲研討會增色不少,可以讓與會者在未來的研究上能有另一層次的思考。因此參加國際研討會不僅能得知相關領域目前國際間最新研究,藉此激發與會者創新的研究方向。

4. 鼓勵研究人員積極參與國際活動:

由於網路科技發達,資訊流通快速,農業生物科技的發展一日千里,相關的研究競爭也非常激烈。藉由參與國際研討會可以得知國際間最新的研究概況,也可以結識國外的友人,對於未來的研究發展與國際合作上相當有幫助。因此建議應該提供更多元管道,鼓勵研究人員從事國外短期研究、參與國際活動,這樣不僅能增進研發人員的國際視野及國際觀,也能提昇國內的研究水準,期能有效將基因科技應用於農業發展。

五、附件

1. 發表論文內容

Genomic *in situ* hybridization (GISH) and RFLP analysis in the intergeneric hybrids between *Ascocenda* and *Phalaenopsis* cultivars

Chi-Chu Tsai

Kaohsiung District Agricultural Research and Extension Station, Pingtung 900, Taiwan.

*Corresponding author e-mail: <u>tsaicc@mail.kdais.gov.tw</u>; telephone number; +886-8-7746735; fax number: +886-8-7389106

ABSTRACT

Genomic in situ hybridization (GISH) and RFLP analysis were conducted to confirm the intergeneric hybrids between Ascocenda John De Biase 'Blue' (♀) Phalaenopsis Chih Shang's Stripes (3). There is no chromosome recombination in the hybrids can be found based on GISH analysis. Twenty-seven hybrid seedlings were randomly selected to examine DNA analysis. Both the internal transcribed spacer (ITS) of nuclear ribosomal DNA (nrDNA) and the trnL intron of chloroplast DNA (cpDNA) were analyzed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis to identify the hybrid seedlings and to evaluate the inheritance of cp DNA in the intergeneric hybrid seedlings, respectively. The results indicate that all of seedlings were intergeneric hybrids, and cpDNA was shown maternal inheritance in the intergeneric hybridization between Ascocenda and Phalaenopsis. In addition, RFLP analysis of the external transcribed spacer (ETS) of nrDNA was also included to examine the hybrid seedlings, the result is consistent with that of ITS region by PCR-RFLP analysis. In conclusion, GISH, PCR-RFLP and RFLP are useful to advancely identify the intergeneric hybrids and to evaluate the genetic inheritance of intergeneric hybrids.

Keywords: orchids, genomic *in situ* hybridization, restriction fragment length polymorphism, nuclear ribosomal DNA, external transcribed spacer

INTRODUCTION

The intergeneric hybrids between Ascocenda John De Biase 'Blue' and P. Chih Shang's Stripes have been conducted to introduce blue color into Phalaenopsis germplasm (Tsai et al., 2009). Because apomixis easily can be induced by interspecific/intergeneric hybridization in plants (Asker and Jerling, 1992). Genomic in situ hybridization (GISH), restriction fragment length polymorphism (RFLP) and PCR-RFLP analysis are powerful molecular analytical techniques. Therefore, GISH analysis, RFLP analysis and PCR-RFLP analysis of both cpDNA and nuclear DNAs were applied to advancely confirm the hybrid seedlings derived from the artificial hybridization using Ascocenda John De Biase 'Blue' as a female parent and P. Chih Shang's Stripes as a male parent.

MATERALS AND METHODS

Genomic in Situ Hybridization (GISH) and RFLP were conducted to identify the intergeneric hybrids between Ascda. John De Biase 'Blue' ($^{\circ}$) x P. Chih Shang's Stripes ($^{\circ}$) (Fig. 1). In GISH analysis, Genomic DNA was extracted from two parents and the F1 hybrid seedling using a CTAB method and labeled by nick translation with DIG-11-dUTP. Chromosomal DNA was denatured and hybridized with probe DNA. Labeled probe was detected with fluorescein-conjugated antibodies, and chromosomes were counterstained with propidium iodide (PI). The prepared materials can be observed by a confocal fluorescence microscope. In DNA analysis, total DNA extracd from both intergeneric hybrids and parents by cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) method. Genomic DNA (1 g) was digested with XbaI and DraI, resolved on 1.0% (w/v) agarose gels and DNA transferred onto membranes. Using the DIG-High Prime DNA Labeling Kit (Roche), a 877 bp digoxigenin-labeled DNA probe using ETS and ETS-2 (Fig. 2)

RESULTS AND DISCUSSION

Intergeneric hybrids between *Ascda*. John De Biase 'Blue' ($\stackrel{\circ}{+}$) x *P*. Chih Shang's Stripes ($\stackrel{\circ}{+}$) were examined by GISH (Fig. 3). 28 chromosomes derived from *A*. John De Biase 'Blue' stained by PI, and 34 chromosomes derived from *P*. Chih Shang's Stripes stained by FITC were showed in one hybrid seedling. In addition, no chromosome recombination can be found in the hybrids according to GISH analysis. In DNA analysis, both the internal transcribed spacer (ITS) of nuclear ribosomal DNA (nrDNA) and the *trn*L intron of chloroplast DNA (cpDNA) were analyzed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis to identify the hybrid seedlings and to evaluate the inheritance of cp DNA in

the intergeneric hybrid seedlings, respectively. The results indicate that all of seedlings were intergeneric hybrids (Fig. 4), and cpDNA was shown maternal inheritance in the intergeneric hybridization between *Ascocenda* and *Phalaenopsis* (Fig. 5). RFLP analysis of the external transcribed spacer (ETS) of nrDNA was also included to examine the hybrid seedlings, the result is consistent with that of ITS region by PCR-RFLP analysis (Fig. 6).

CONCLUSION

GISH, PCR-RFLP and RFLP are useful to advancely identify the intergeneric hybrids and to evaluate the genetic inheritance of intergeneric hybrids.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by funding from the National Science Council, Executive Yuan, Taiwan, R.O.C.

Literature Cited

- 1. Tsai, C. C., Y. C. Chiang, W. L. Liu, S. C. Huang, and C. C. Chou. 2009. Intergeneric hybridization, embryo rescue and molecular detection for intergeneric hybrids between *Ascocenda* and *Phalaenopsis*. Acta Horticulturae 829:413-416.
- 2. Asker, S.E. & Jerling, L. (1992) *Apomixis in plants*. CRC Press, Boca Raton, U.S.A.

Figures



Figure 1. 母本爲 *Ascda*. John De Biase 'Blue' (♀)(左圖),父本爲 *P*. Chih Shang's Stripes (♂)(右圖).

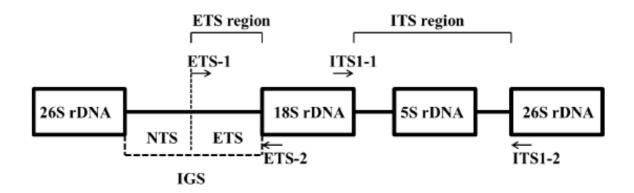


Figure 2. The gene structure of nuclear ribosomal DNA and the arrows show the primers used in the study.

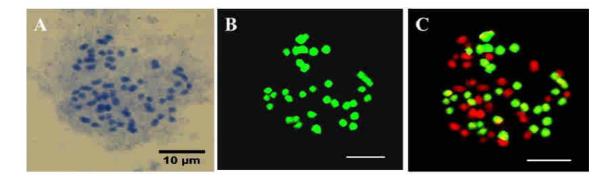


Figure 3. GISH in somatic metaphase chromosomes of intergeneric hybrids between *Ascocenda* John De Biase 'Blue' (\mathcal{P}) and *Phalaenopsis* Chih Shang's Stripes(\mathcal{P}). Giemsa-stained chromosomes before GISH (A). After GISH using total DNA from *Phalaenopsis* Chih Shang's Stripes revealed with FITC (B). A composite chromosome image of propidium iodide counterstained (red) and FITC signal (green) (C). Bar: 10 μ m.

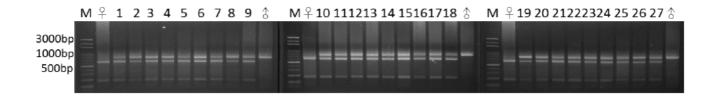


Figure 4. PCR-RFLP analysis of internal transcribed spacer (ITS) of nuclear ribosomal DNA PCR product for each sample was cut by AluI restriction enzyme. Lanes $\mathcal{L}_{\mathcal{A}}$ represent maternal (Ascocenda John De Biase 'Blue') and paternal parent (Phalaenopsis Chih Shang's Stripes), respectively. Lanes 1-27 F1 hybrids. M: 100 bp DNA ladder marker.

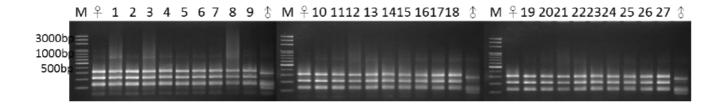


Figure 5. PCR-RFLP analysis of plastid trnL intron of chloroplast DNA for each sample was cut by TaqI restriction enzyme. Lanes \supsetneq , \circlearrowleft represent maternal parent (Ascocenda John De Biase 'Blue') and paternal parent (Phalaenopsis Chih Shang's Stripes), respectively. Lanes 1-27 F1 hybrids. M: 100 bp DNA ladder marker.

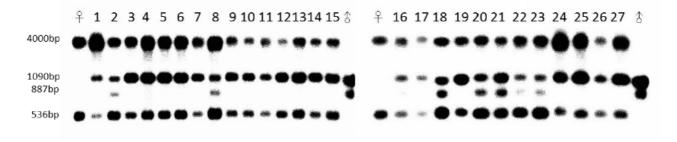
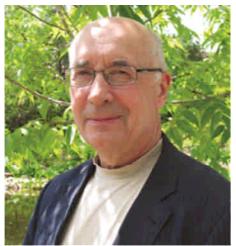


Figure 6. Southern blot analysis of external transcribed spacer (ETS) patterns for each sample used total genomic DNA was cut by XbaI and DraI restriction enzyme. Lanes \mathcal{L} , represent maternal parent (Ascocenda John De Biase 'Blue') and paternal parent (Phalaenopsis Chih Shang's Stripes), respectively. Lanes 1-27 F1 hybrids.

2. 本次國際研討會相關照片



大會主席 Dr. Wilf Keller



國際研討會會場~薩斯卡通藝術商業中心(TCU place)



國際研討會主會場



研究海報部分展示區



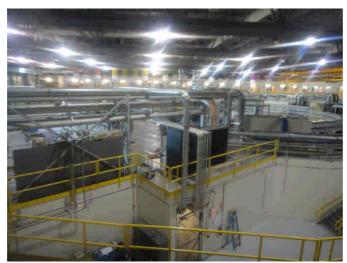
台灣與會者與 Ag-West Bio 協會代表簡短交流



台灣與會者與 Ag-West Bio 協會代表合影



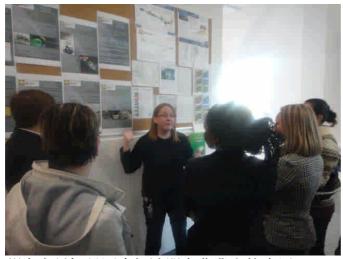
筆者與台灣中研院生農中心主任合影



參觀位於薩斯卡通大學的同步加速器



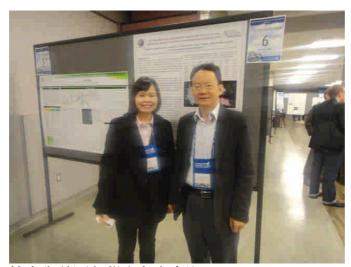
參觀同步加速器與部分與會者合影



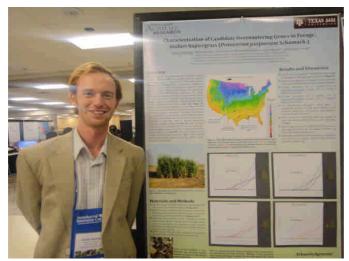
研究人員解說同步加速器在農業上的應用



聯誼交流會



筆者與美國留學生友人合影



美國友人及其研究



閉幕晚會