

出國報告（出國類別：短期研究）

應用外表型分析技術改進玉米耐浸 水育種效率

服務機關：行政院農業委員會農業試驗所

姓名職稱：戴宏宇 助理研究員

派赴國家：印度

出國期間：105年7月1日至105年9月30日

報告日期：105年12月10日

摘要

在氣候變遷(連年旱澇頻仍)及人口老化(田間人力缺乏)趨勢下，須建立有效快速的耐逆境篩選平台以提升育種計畫作業效率。本計畫擬前往國際玉米與小麥研究中心印度海得拉巴支部學習玉米耐浸水性狀外表型評估技術，未來可配合分子標幟輔助選種技術，增進我國耐浸水等耐逆境玉米品種選育效率。另一方面，學習國際玉米與小麥研究中心育種計畫材料管理、育種流程、譜系建立、田間種植規劃、選拔指標與流程、田間栽培管理模式與田間性狀評估平台。未來可導入國際玉米與小麥研究中心耐浸水等逆境評估平台及材料管理方法，應用於國內玉米品種(系)外表型分析及品種選育，強化我國學術研究及育種計畫執行能力。本次短期研究期間亦參與 CIMMYT 主辦，越南、印度、孟加拉及泰國玉米育種研究人員共同參與的 **Climate Resilient Maize for Asia (CRMA) : Project Inception Meeting & Workshop on Precision Phenotyping for Abiotic stresses**，有助於瞭解東南亞及南亞玉米育種區域計畫現況。最後，藉由本次短期研究，除完成人才培育訓練，亦促進、維持我國與玉米與小麥研究中心互動與未來合作關係建立。

目錄

一、前言.....	3
二、赴印度研習行程.....	4
三、研習內容.....	5
田間外表型評估實務.....	6
四、研習心得與建議.....	8
五、研習照片.....	11
附件 1. Climate Resilient Maize for Asia (CRMA): Project Inception Meeting & Workshop on Precision Phenotyping for Abiotic stresses 議程	14
附件 2. 結訓證書.....	16

一、前言

玉米為臺灣最大宗進口穀物(103 年進口 432 萬噸)，用於飼料、食品加工等用途。臺灣目前每年僅約生產 4 萬公噸硬質玉米，反映臺灣目前陷入硬質玉米低自給率困境(<5%)；另一方面臺灣每年卻有超過 10 萬公頃的休耕地未被用於種植作物及需要政府進行相關補貼，因此硬質玉米目前為活化休耕地政策主要推廣作物之一。

臺灣為典型季風氣候，每年降雨量可高達 2,500 公厘，降雨主要集中於每年 5 至 9 月。在氣候變遷的趨勢下，臺灣極端降雨或乾旱事件也隨之增加。此種天氣型態將造成浸水或乾旱逆境而影響玉米生長發育。玉米屬於熱帶起源旱田作物，喜好溫暖濕潤的氣候條件，但種子發芽期與幼苗期對於浸水逆境相對敏感，若於上述時期遭遇浸水逆境，容易造成植株死亡缺株或根系受損進而影響產量。目前已知作物可藉由遺傳生理機制因應水分逆境，如形成通氣組織供應根部所需氧氣、增加本身抗氧化能力以中和缺氧逆境所產生自由基及重金屬危害，促進酒精發酵以避免細胞質酸化等。因此除了改進栽培方法外，增加玉米品種浸水耐受性亦為有效選項之一。近年來人口老化及工資上漲影響，除了栽培體系因缺工朝向機械化、自動化轉型，育種計畫所能投入勞力亦日漸減少，連帶影響試驗種植面積與規模。

二、赴印度研習行程

日期	地點	行程與工作內容
7月1日	農業試驗所 -> 桃園國際機場 -> 新加坡樟宜機場 -> 印度海德拉巴國際機場	搭乘新加坡航空班機(SQ844)前往新加坡樟宜機場轉機搭乘勝安航空班機(SQ5474)前往海德拉巴。
7月2日至9月29日	CIMMYT- Asia(India) / ICRISAT 總部	學習玉米耐浸水逆境評估設備及評估方法;學習育種計畫材料管理及分析實務;學習田間試驗規劃實務。
7月29日至7月30日	CIMMYT-Asia(India) / ICRISAT 總部	參加 Climate Resilient Maize for Asia (CRMA) : Project Inception Meeting & Workshop on Precision Phenotyping for Abiotic stresses.
9月20日至9月23日	ICRISAT 總部	參訪 Groundnut Breeding Program.
9月29日至9月30日	印度海德拉巴國際機場 -> 新加坡樟宜機場 -> 桃園國際機場 -> 農業試驗所	搭乘新加坡航空班機(SQ5473)前往新加坡樟宜機場轉機搭乘勝安航空班機(SQ876)返回台灣。

三、研習內容

國際農業研究諮商組織（Consultative Group for International Agricultural Research, CGIAR）為非營利性國際農業研究機構，國際玉米與小麥研究中心（Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo, CIMMYT）、國際半乾旱作物研究所(International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, ICRISAT) 及國際水稻研究所(International Rice Research Institute, IRRI)等國際研究機構皆為 CGIAR 下轄研究中心之一。CIMMYT 主要研究對象作物為小麥與玉米，ICRISAT 主要針對落花生、樹豆、鷹嘴豆、高粱、蠟燭稗(Pearl millet)及龍爪稷(Finger millet)等作物進行研究。本次主要參訪位於印度海德拉巴 ICRISAT 總部中，隸屬於全球玉米計畫(Global maize program)的 CIMMYT-Asia 分部，該分部自 2008 年起正式常駐研究人員與執行計畫，目前包含 7 名研究人員、3 名博士生、13 名技工與 3 名行政人員。目前育種目標根據重要性依序為熱、乾旱、浸水、紋枯病、煤紋病、莖腐病、乾物重及穀粒蛋白質品質，並成熟運用全基因組關聯分析、分子標幟輔助選種、雙單倍體族群並發展高通量外表型評估設施與方法等育種工具進行數量性狀基因座定位、驗證及田間選拔，目前亦成功選育同時具有耐旱及浸水特性的雜交品系。本次研習期間亦透過 Dr. Zaidi 協助安排下，造訪 ICRISAT 的落花生育種計畫，參觀田間落花生選育工作。

CIMMYT-Asia 分部所在的 ICRISAT 總部，園區佔地 1390 公頃(試驗田區佔 800 公頃)，年雨量約 800 公釐，雨季(Khalif)為每年 6 到 9 月其餘月份少雨，因此耐熱評估方式為 3 月種植，3 到 6 月海德拉巴地區高溫可達攝氏 40 度以上，評估內容包含產量、葉燒(Leaf Fry)、雄穗乾枯(Tassel Blight)、雄穗不稔(Tassel Sterility)及 NDVI 等性狀。乾旱評估季節為 11 月至隔年 4 月，於抽穗前斷水，除調查其老葉黃化情形、產量、乾物重等性狀外，配合設施可同時放置 2600 個植株，可進行乾旱下植株表現選拔、水分利用效率評估及根系觀察，配合標準化的種植用管柱(cylinder) 1.5M 長、含土約重 180 公斤、底部置 PVC 底板，需配合裝置進行移動與秤重。耐浸水評估為每年雨季期間(6 到 9 月)，評估方式分為田間浸水評估以及設施浸水評估，浸水逆境評估設施每單位批次可處理 300 株，本次參訪期間選定為 7-9 月以參與及學習玉米耐浸水評估與選拔技術。以下簡述浸水造成作物逆境因子與田間外表型評估實務內容：

➤ 浸水造成逆境因子：

1. 缺氧(Oxygen stress)：缺氧環境導致玉米根僅能行無氧呼吸，無法獲得足夠能量。
2. 營養失衡(Nutrient imbalance)：土壤處於還原態導致有毒物質產生及營養元素有效性下降。
3. 生理乾旱(Physiological drought)：缺氧環境下，作物根無法有效輸送水分至地上部，導致地上部呈現乾旱徵狀。
4. 化學逆境(Chemical stress)：因缺氧環境導致 Methane, Ammonia, Ethanol, aldehydes 等化學物質累積造成逆境。
5. 生物性逆境(biotic stress)：部分環境在浸水情況下，利於病原菌(Erwinia spp., Phythium spp.)侵犯宿主。

➤ 田間外表型評估實務

研習期間主要藉由實地進行試驗以達到研習目的，共分為下列兩項試驗：

五葉齡期浸水試驗(waterlogging at V5 stage)

材料與方法：包含試驗品系、對照商業品種與歷年育成耐浸水品系共 30 品系(如表 1)。7 月 14 日進行播種，每重複種植 5 盆，每盆種植 2 粒種子，並於 7 月 25 日進行間苗(2-3 葉齡)。於 8 月 8 日(5-6 葉齡)進行浸水處理並於 8 月 13 日進行排水，共種植處理組兩重複，另種植對照組兩重複。

評估性狀：

- 浸水結束後三日：

土表根 (Surface root)：突出土表的根尖數目 / 每小區植株數目

- 浸水結束後七日：

支持根(Brace root)：每小區支持根數目 / 每小區植株數目

萎凋(Senescence)：各植株萎凋分級(1-9)總和 / 每小區植株數目

倒伏(Lodging) (%)：小區倒伏植株百分比

死亡率(Mortality) (%)：小區死亡植株百分比

開花期(Anthesis days)：自種植日起小區 50%植株開花所需日數

吐絲期(Silking days)：自種植日起小區 50%植株吐絲所需日數

開花 - 吐絲間隔日數(Anthesis-Silking Interval)：小區開花期至吐絲期間隔日數

萌芽期無氧逆境(anaerobic germination)

材料與方法：包含試驗品系、對照商業品種與歷年育成耐浸水品系共 14 品系(表 2)。播種行株距為 45 * 10 公分，於播種後(7 月 15 日)立即浸水，浸水深度為土表以上 10 公分，於浸水 72 小時後(7 月 17 日)進行土表排水，並從次日起每日調查種子萌芽數至播種後第 15 日，共種植處理組兩重複，並另行種植一重複作為對照。

評估性狀：

- 種子發芽率(Seed germination)：種子萌芽數 / 種子播種數，以發芽率高為佳。
- 發芽速率(Days to emergence)：達最大萌芽數所需天數，以天數短者為佳，大於 5 天便淘汰。

本次研習除田間試驗實務外，亦受邀參加 7 月 29 至 30 日為期兩天 Climate Resilient Maize for Asia (CRMA)：Project Inception Meeting & Workshop on Precision Phenotyping for Abiotic stresses(議程如附件)，CRMA 為由德國 Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit(GIZ)提供經費，CIMMYT 主導執行計畫，其前期計畫為 Abiotic stress tolerant maize for Asia (ATMA)，CRMA 期程為 2016 至 2020 年，參與機構橫跨德國、印度、巴基斯坦、泰國及越南。會議內容除包含前期計畫成果回顧、各國玉米產銷概況、生產環境瓶頸(旱、澇)以及逆境韌性(Stress-resilient)玉米品種選育現況與展望外，亦針對計畫執行細節以及工作分配進行討論。30 日下午則由 CIMMYT 科學家進行教育訓練 Workshop “Precision Phenotyping for Abiotic Stress Tolerance in Maize”，從田間試驗設計分析到非生物性逆境外表型分析簡介，確保參與該計畫學者皆能運用適當外表型分析技術與設施進行玉米品種選育。

目前 Dr. Zaidi 團隊已撰寫並經由 CIMMYT 出版“Phenotyping for Abiotic Stress Tolerance in Maize”系列手冊，包含耐浸水、耐旱及耐熱，介紹該機構目前耐浸水玉米種植、設施、評估及選拔方法依據與介紹，在 CIMMYT 網站上皆可瀏覽。參訪 ICRISAT 落花生育種計畫

目前計畫主持人 Dr. Janila 共執行六個育種計畫，包含高油酸、早熟、葉部病害、耐旱、毒素病及種子休眠性等，每期作試驗田種植超過 20 公頃。高油酸落花生育種計畫引進美國高油酸種原 SunOleic 95R 作為高油酸對偶基因來源，並利用分子標幟輔助選種選拔後裔。早熟性以積溫 1240、1470 度日(degree days, 基礎溫度為 10°C)為標準分別進行選拔，若以 1470 度日為標準選出品系，在 2016 年台灣氣候條件下推估，若於 2 月底種植，6 月中便可收穫，較台灣常見栽培種早熟兩週以上。地上部病害包含毒素病、早(晚)葉斑病、晚葉斑病及白絹病，以人工接種及病圃自然感病方式進行分離族群篩選，同時亦評估黃麴毒素污染狀況。耐旱則田間生育後期停止灌溉進行評估，並設立充份灌溉之對照區同時評估乾旱與一般環境下落花生品系表現。本次參訪除瞭解前述育種計畫研究現況外，亦參與落花生誘變選拔，累積誘變育種實務經驗。

四、研習心得與建議

1. CIMMYT - Asia 以作物為主體進行組織，團隊以育種為主軸，包含育種家、分子育種家、生理學家、病理學家及專案科學家，並有專業技術及行政人員打理研究以外事務，各有其專業角色且分工明確，傳統育種、生理、分子生物等科學家皆各司其職且長期投入，自然能累積扎實且豐碩的產出，值得作為臺灣農業研究組織學習標竿。
2. CIMMYT 無論是大學、私人種子公司、各國或國際農業研究機構皆有密切合作與往來，包含計畫合作、雙單倍體族群材料建立、人員訓練、學者互訪以及學者研究，透過本次參訪 CIMMYT、ICRISAT 以及 CRMA 計畫工作會議，除實際參與育種評估選拔過程外，亦與各國研究人員進行討論、建立日後聯繫橋樑。
3. 本次執行計畫期間適逢 CIMMYT 所長(Director-general) Dr. Martin Kropff 參訪，除參訪研究現況外，其參訪主要目的為改善因性別、學歷、年齡及階級上的騷擾與霸凌，根據職務、性別分組進行保密座談，以給予研究人員更好的研究環境，對於臺灣在推行性別主流化以及改善職場霸凌方面政策執行值得借鏡參考。
4. CIMMYT 以自行開發 EXCEL 外掛套件 Fieldbook 進行種原管理、雜交組合安排、種子運送、雜交規劃、田間試驗分析等育種常規工作，此系統更可自動產生 RFID、條碼以進行材料管理。CIMMYT、IRRI 及 ICRISAT 等國際研究機構更進一步合作開發 Breeding Management System (BMS)，除具有前述 Fieldbook 功能外，且無須安裝 EXCEL 便可執行，更可以單一系統管理多種作物及整合基因型分析資料，ICRISAT 目前便以雲端資料庫方式統一管理落花生、高粱等作物試驗研究資料，未來國內農業試驗機關或可視自身需求導入以加強育種材料管理效率。

表 1.五葉齡期浸水試驗材料清單

Entr y	Name	Pedigree
1		CA14514-B-2-B-2-B*6/CL02450-B*4
2	Z540-32	[CML327xCML287]F2-32-1-B*5-1-B*8/CL02450-B*4
3	Z545-2	S87P69Q(SIYF)131-2-2-1-B*7/CML451-B*6
4	Z721-15	CLQG2508-B*8/CML451-B*6
5		[GQL5/[GQL5/CML202]F2-3sx]-11-4-1-2-BB-1-BBB-#/WL-16-2-1-1-3-1-B*4-B2-BB
6	CAH1515	[SC/CML204//FR812]-X-30-2-3-2-1-B*4-1-B*6-#-BB/CML451
7	CAH1516	DTPWC9-F55-2-1-1-2-3-1-2-B*4-#-BB/CML451
8	CAH1511	WLCY2-7-1-2-1-5-B-2-3-3-1-1-B-##/CML451
9	ZH161032	WLCY2-7-1-2-1-5-B-2-3-1-2-2-B*6/CML451
10	CAH1511	WLCY2-7-1-2-1-5-B-2-2-2-2-1-B*5/CML451
11	VH112888	(CML474/S92145-2EV-7-3-B*5)-F2-58-1-B*8-#-B/CML451
12	VH121104	DTPYC9-F46-1-7-1-2-1-2-2-B*5-#/CML451
13	ZH161033	S87P69Q(SIYF)131-2-2-1-B*5-#-B-#-1-#/CML451
14	CAH1449	CA00310/AMATLCOHS71-1-1-2-1-1-1-B*13/CL02450
15	ZH161036	WLCY2-7-1-2-1-5-B-2-3-1-2-2-B*6/SO4YWL-172-B-1-1-B-1-BBB
16	ZH161037	WLCY2-7-1-2-1-5-B-2-3-1-2-2-B*6/WLS-F310-3-2-2-B-1-BBB
17	CAH1424	(CML165xKI45)-B-14-1-B*4-1-B*5-#/CML451
18	CAH1513	(CTS011004/EY-DMR-G-C5-S2-BB-3-1-B*4/Pop147)F2#89-3-2-B-1-B*8/CML451
19	VH101490	POP351C0-HS274-1-1-B*4-2-B*4/CML451
20	VH112837	CML433-B*5-#-B/CML451
21	VH12238	ZEWAac1F2-134-4-1-B-1-B*4-1-B-1-B*6-#/CL02450
22	VH101363	CML470-B*7/CML474
23	VH112563	(CML165xKI45)-B-14-1-B*4-1-B*5-#/CML474
24	VH112298	CML164-B*6-#-B/CML474
25	ZH161532	CML444-1-B*5-#-B/CML448-B*4-#
26	ZH161031	ZM621A-10-1-1-1-2-B*10-1-B*4-#-B/CL02450
27	VH112455	(CML427/CML474)-F2-19-1-B*6-#/CML474
28	VH12186	MAS[206/312]-23-2-1-1-B*7-1-B*4-#-B/CL02450
29		DKC8101
30		900MGold

表 2. 萌芽期無氧逆境(anaerobic germination)材料清單

Entry	Name	Pedigree
1		CA14514-B-2-B-2-B*6/CL02450-B*4
2	Z540-32	[CML327x CML287]F2-32-1-B*5-1-B*8/CL02450-B*4
3	Z545-2	S87P69Q(SIYF)131-2-2-1-B*7/CML451-B*6
4	Z721-15	CLQG2508-B*8/CML451-B*6 [GQL5/[GQL5/CML202]F2-3sx]-11-4-1-2-BB-1-BBB-#/WL-16-2-1-1-3 -1-B*4-B2-BB
5		
6	CAH1516	DTPWC9-F55-2-1-1-2-3-1-2-B*4-#-BB/CML451
7	CAH1511	WLCY2-7-1-2-1-5-B-2-3-3-1-1-B-##/CML451
8	ZH161032	WLCY2-7-1-2-1-5-B-2-3-1-2-2-B*6/CML451
9	CAH1511	WLCY2-7-1-2-1-5-B-2-2-2-2-1-B*5/CML451
10	VH112888	(CML474/S92145-2EV-7-3-B*5)-F2-58-1-B*8-#-B/CML451
11	VH121104	DTPYC9-F46-1-7-1-2-1-2-2-B*5-#/CML451
12	ZH161033	S87P69Q(SIYF)131-2-2-1-B*5-#-B-#-1-#/CML451
13		DKC8101
14		900MGold

五、研習照片



圖 1. 耐浸水評估設施及種子發芽期浸水試驗



圖 2. 田間品系浸水試驗



圖 3. 耐旱暨根系外表型評估設施



圖 4. 設施玉米浸水處理實務



圖 5. CIMMYT 世界玉米計畫主任 Dr. Prassana 進行計畫引言簡報



圖 6. CRMA 計畫 Principle coordinator, Dr. Zaidi 主持 CRMA 工作會議



圖 7. Climate Resilient Maize for Asia (CRMA) : Project Inception Meeting & Workshop on Precision Phenotyping for Abiotic stresses 參與人員合影



圖 8. Dr. Zaidi 向 CIMMYT 所長 Dr. Martin Kropff 簡介耐旱暨根系評估設施



圖 9. ICRIASAT 田間展示落花生改良新品系成果



圖 9. 參與田間篩選落花生誘變株實務



圖 10. 參觀早熟落花生品系試驗

附件 1. Climate Resilient Maize for Asia (CRMA): Project Inception Meeting & Workshop on Precision Phenotyping for Abiotic stresses 議程

AGENDA

FRIDAY, 29 July 2016				
Opening session: <i>Climate-resilient maize for Asian tropics</i>				
Chair: Dr. Md. Jalal Uddin, Director (Research), BARI, Bangladesh				
Time		Topic	In-charge	
0900	-	0915	Welcome and Introduction	P.H. Zaidi, CIMMYT
0915	-	1000	Developing and deploying stress resilient maize – challenges and opportunities	B.M. Prasanna, CIMMYT
1000	-	1030	Genomic selection: a powerful tool to address complex traits	A. Melchinger, UoH, (through Webex)
1030	-	1045	Chairman's remarks	
1045	-	1100	Tea/coffee	All
Session 1: <i>Target environment and country perspectives</i>				
Chair: Dr. J.P. Shahi, Professor, IAS-BHU, Varanasi				
1100	-	1130	Stress-resilient maize in India: Status and prospects	Bijendra Pal, BIOSEED
1130	-	1200	Stress-resilient maize in Bangladesh: Status and prospects	Md. Amiruzzaman, BARI
1200	-	1230	Stress-resilient maize in Vietnam: Status and prospects	Dang Ngoc Ha, NMRI
1230	-	1300	Stress-resilient maize in Thailand: Status and prospects	Suriphat Thaitad, NSFCRC
1300	-	1430	Lunch	All
Session 1: <i>Socio-economic importance of stress-resilient maize</i>				
Chair: Dr. Dang Ngoc Ha, Vice-Director, NMRI, Vietnam				
1430	-	1500	Value of stress resilient maize for India - Report from ground zero	Sujit G. Kumar, TATA Trust
1500	-	1530	Value of stress resilient maize for Bangladesh: Report from ground zero	Sudhir Chandra Nath BRAC, Bangladesh
1530	-	1545	Tea/coffee	All

Session 3: <i>Updates on Climate-resilient maize- Where are we?</i>			
Chair: Dr. Sudhir Chandra Nath, BRAC, Bangladesh			
1545	-	1615	Molecular breeding for climate resilient maize in Asia: An update Sudha Nair, CIMMYT
1615	-	1645	CIMMYT-derived climate-resilient maize for Asia: Improved germplasm M.T. Vinayan, CIMMYT
1645	-	1715	CIMMYT-derived climate-resilient maize for Asia: hybrids A.R. Sadananda and P. Nagesh, CIMMYT
1715	-	1730	Queries, Discussion, Clarification..... All
Saturday, 30 July 2016			
Session 4: <i>Climate Resilient Maize for Asia (CRMA) – the new project</i>			
Chair: Dr. Bijendra Pal, BIOSEED Pvt. Ltd., India			
0900	-	0930	Overview of the new project “ <i>Climate resilient maize for Asia</i> ” P.H. Zaidi, CIMMYT
0930	-	1045	Plenary discussion on project work-plan and activities <i>Moderator:</i> AbduRahman Beshir, CIMMYT
1045	-	1100	<i>Tea/coffee</i> All
1100	-	1300	Plenary discussion on project work-plan and activities <i>Moderator:</i> AbduRahman Beshir, CIMMYT
1300	-	1400	<i>Lunch</i> All
Session 4: <i>Workshop on ‘Precision phenotyping for abiotic stress tolerance in maize’</i>			
1400	-	1530	Reducing experimental error in phenotyping for abiotic stresses: Experimental design and trial layout B.S. Vivek, CIMMYT
1530	-	1545	<i>Tea/Coffee</i> All
1545	-	1630	Managed abiotic stress trials P.H. Zaidi, CIMMYT
1630	-	1700	Abiotic stress phenotyping traits – what, when and how? P.H. Zaidi, CIMMYT
1700	-	1730	Discussion, Queries & Wrap-up All

附件 2. 結訓證書

1. “Precision Phenotyping for Abiotic stresses”結訓證書



2. “Precision Phenotyping for Abiotic stresses”結訓證書

