

出國報告(出國類別：研究)

# 提升玉米育種效率之新穎技術研習 與特殊種原引進

服務機關：行政院農業委員會農業試驗所

姓名職稱：陳裕儒 助理研究員

派赴國家：美國、墨西哥、肯亞

出國期間：106.7.31~106.10.16

報告日期：107.01.11

## 摘要

本次出國研習經費由農業委員會科技處經費支持，前往美國、墨西哥與肯亞三個有重要玉米研究機構單位的國家，研習提升玉米育種效率之新穎技術與參訪瞭解目前世界研究玉米的情況與發展，除了研習新技術之外，也透過研習參訪的機會引進特殊玉米種原回台灣，提升台灣玉米育種研究基礎與創新研發能力。在美國愛荷華州立大學參加了玉米雙單倍體工作坊、玉米採種調製工作坊與玉米大豆種子品質工作坊，並在美國農部的中北部植物種質資源引進保存中心瞭解美國溫帶 ex-PVP 玉米植株特性與繁殖管理以及 GEM 計畫執行方式，並與多位著名玉米研究教授學者面談對話與實驗室學生互動。在墨西哥，參加 Statistical Analysis of Genetic and Phenotypic Data for Breeders 訓練、分子標幟輔助育種(Molecular markers-assisted breeding)實驗室訓練及試驗基地田間參訪、以及生物營養強化玉米育種(Breeding for biofortified maize)實驗室訓練與操作。在 CIMMYT 墨西哥期間，與世界各國研究人員上課訓練交流，並瞭解如何執行玉米育種計畫。在肯亞，前往 MLN screening facility 和 Maize double haploid facility 瞭解 CIMMYT 如何篩選抗 MLN 玉米及其玉米育種研究，如何利用基因體選種技術進行耐旱玉米育種及其育種成效，並瞭解到如何大面積大規模進行玉米雙單倍體的生產，同樣在這肯亞期間，與多位資深玉米育種家互動，瞭解 CIMMIY 玉米研究計畫。本次出國研習，多方面接觸瞭解世界各國玉米研究現況，以何種育種方式與玉米材料進行育種計畫，其所見所聞對於台灣玉米育種計畫與國際接軌有相當大的助益，本次出國研習內容可提升台灣玉米育種效率與建立正確育種研究基礎，以達到提升台灣新選育玉米品種競爭力與多元增值利用化之目標。

## 目次

目的.....	4
前言.....	4
研習過程與心得	
-美國愛荷華州立大學(Iowa State University, ISU)與中北部植物種質資源引進保存中心(North Central Regional Plant Introduction Station).....	8
-國際玉米與小麥改良中心-墨西哥(CIMMYT-Mexico).....	28
-國際玉米與小麥改良中心-肯亞(CIMMYT-Kenya).....	45
建議.....	57
參考文獻.....	58

## 目的

行政院農業委員會在 105 年 10 月與國際玉米與小麥改良中心(CIMMYT)完成研究合作協議(Research Collaboration Agreement, RCA)簽訂。CIMMYT 為國際贊助且具完全法人資格之非營利性研究訓練國際組織，致力於幫助開發中國家資源匱乏農民改善玉米及小麥生產體系，提高生產力、獲利能力及永續性，因此協議旨在幫助台灣擴大玉米遺傳資源多樣性，發展及拓展具台灣氣候適應性及耐病之玉米種原，以及運用尖端選拔工具、技術及策略於 CIMMYT 培訓台灣研究人員。而在協議中農業委員會所屬試驗改良場所需於 106~107 年完成派員參加 7 個人次 5 個玉米育種訓練研習課程，並完成 CIMMYT 熱帶型玉米自交系、雜交種與種原引進種植及評估。在玉米遺傳育種研究中，美國仍是領先世界各國，其在玉米育種研究中所開發之新穎技術與長年累積不斷改良之玉米種原，亦是臺灣提升玉米育種研究技術之學習標竿與特殊種原引進之國家。

在 106 年 8 月~10 月期間前往中美洲墨西哥國家及非洲肯亞國家完成 CIMMYT 之分子標幟輔助選拔(Molecular marker-assisted breeding)、單倍體倍加選種技術(Doubled haploid technology)、生物營養強化玉米之育種(Breeding for biofortified maize)三個短期訓練課程，與前往美國愛荷華州(Iowa state)研習溫帶玉米雙單倍體技術與研究發展、玉米育種研究工作與瞭解玉米採種與種子品質管控執行操作流程，以及進行 CIMMYT 與美國特殊玉米種原引種工作。

## 前言

CIMMYT 總部位於中南美洲的墨西哥為玉米起源中心，所以蒐集保存眾多豐富多樣歧異度大之玉米種原，為協助在熱帶亞熱帶地區物資資源缺乏、糧食營養不足、易發生自然災害之中南美洲、非洲、亞洲國家，CIMMYT 所選育的玉米多具有耐旱低氮、耐淹水、高生物營養，如高離胺酸、高原維生素 A(Gibbon and Larkins, 2005; Chandler, et al., 2013)、抗銹病、葉斑與煤紋病、抗 MSV、MCMV、SCMV 病毒病等特色性狀。在傳統作物育種中，因雜交族群存在遺傳變異，故可人為選拔優良後代，因此由遺傳控制所造成植株外表型變異，可經由調查記錄外觀性狀，依選拔目標性狀的標準，來挑選理想外表型子代繁殖固定。作物的遺傳變異係因個體間 DNA 序列不同所產生，而近年來分子遺傳學與基因體學的快速發展進步，已能以個體間 DNA 序列的差異所設計的 DNA 分子標幟與植株外表型變異的關聯性研究，像是數量性狀基因座定位(QTL mapping)、混合分組分析法(bulk segregant analysis, BSA)、全基因體關聯性研究分析(genome-wide

association study, GWAS)等方法，來定位與目標性狀有關的基因座，因此找出與性狀緊密連鎖的 DNA 分子標幟，即可替代性狀的調查記錄，直接進行基因型的選拔。2014 年由 MCMV 與 SCMV 所感染造成的複合感染病徵：玉米死亡壞疽病 (MLN/CLN)，嚴重危害非洲肯亞國家的玉米產業，威脅肯亞國家的糧食安全 (Eisabirye and Rwomushana, 2016)。CIMMYT 以上述育種技術，快速完成抗 MCMV 的基因座定位，以選拔分子標幟雜交族群後代，迅速篩選獲得耐抗病新品系，另 CIMMYT 業已完成耐旱、高離胺酸、高原維生素 A 等性狀圖譜定位與分子標幟設計，大幅提升玉米育種效率與縮短品種釋出年限(Babu, et al., 2005; Azmach, et al., 2013; Babu, et al., 2013)。

在傳統玉米自交系選育過程中，必須經過多個世代的套袋自交使基因型固定以及植株各種農藝性狀的調查挑選淘汰工作，再加上後續的組合力分析工作，通常選育一個玉米單交種品種(系)至少要七、八年以上的時間，這過程中需要花費很多人力、物力。在全球氣候變遷情勢下，如何縮短育種所需的時間又能選育出廣適應性的新玉米優良品種，是育種家所面臨的挑戰。利用誘導系來生產單倍體的技術已相當成熟。在歐美國家的種子公司已經相當廣泛的運用這個技術於育種計畫中，來進行大規模玉米自交系的生產與評估。此技術讓育種家可以大大縮短了玉米自交系選育的時間，來加快玉米雜交育種的速度。誘導系所生產的單倍體植株經過人工染色體加倍後，只要經過一次套袋自交工作就可以生產出遺傳背景皆為同型結合子的雙單倍體自交系，單倍體誘導與染色體加倍過程順利，只要一年的時間就可以獲得雙單倍體自交系(Eder and Chalyk, 2002)。雙單倍體技術結合分子標幟輔助育種，可以快速將隱性性狀導入育種材料並縮短固定所需時間，使玉米雜交育種工作效率大幅提升(Geiger and Gordillo, 2009)。

雙單倍體是遺傳背景 100% 同型結合子的個體，因無顯性效應可增進選拔效率，並且可種植多個季節環境，評估外表型增加選拔準確性，因此在生產雙單倍種對育種選拔工作有很大的助益(Rober, et al., 2005)。單倍體(haploid)為只具有單套染色體的細胞或植株，將其進行染色體倍加後所得的雙倍體即稱為雙單倍體(double haploid, DH)，因此欲獲得雙單倍體前必須先有單倍體個體，而植物產生單倍體的方法可分成生物體內(in vivo)與生物體外(in vitro)兩類型。植物遠源雜交後所產生的單性生殖(parthenogenesis)、假受精(pseudogamy)、染色體剔除(chromosome elimination)，以及用單倍體誘導系等方式皆可產生 in vivo 的單倍體，而以 in vitro 組織培養植物雌配子，如子房、胚囊細胞、未受精胚珠，以及雄配子細胞，如花藥、小孢子細胞，也可以獲得單倍體。目前國際上在玉米育種研究中，是以玉米單倍體誘導系生產雙單倍體技術方法為主，將誘導系作為花粉貢獻親(pollen donor)，與分離族群植株雜交後，其果穗上即可獲得單倍體種子，以秋

水仙素處理單倍體種子幼苗後移植田間，完成自交授粉後收穫之種子即為雙單倍體(Prigge and Melchinger, 2012)。上述方法克服了組織培養成本高、成功率低的技術門檻，實現在田間即可大量生產雙單倍體。Bill & Melinda Gates 基金會為提升非洲地區玉米育種研究，增進非洲國家糧食生產以解決飢餓問題，捐助研究經費給 CIMMYT，與德國 Hohenheim 合作玉米雙單倍體研究，成功選育可適應熱帶環境氣候、誘導率 8-10% 的新單倍體誘導系(Prasanna, et al., 2012)，並在肯亞(Kenya)設立玉米雙單倍體量產基地。

臺灣在 2013 年開始實施「調整耕作制度活化農地計畫」，2015 年飼料玉米推廣種植面積達 1 萬 5 千餘公頃。臺灣每年進口玉米為 400~500 萬公噸，主要為動物飼料所用，玉米籽粒是提供動物熱量之主要來源，在飼料中所使用的普通玉米的離胺酸(lycine)、色胺酸(tryptophan)等胺基酸含量較低，此 2 種必需胺基酸在單胃動物體內無法自行合成，故只餵食動物普通玉米籽粒，易造成胺基酸攝食不平衡，而影響畜禽動物的生長發育，因此在飼料配方中需要額外添加大豆粉、魚粉、人工合成胺基酸等來提升飼料蛋白質營養品質。普通硬質玉米籽粒中離胺酸與色胺酸平均含量只有 4.02% 左右，而國際玉米與小麥改良中心經過多年改良，所選育之優質蛋白玉米(quality protein maize, QPM)，其玉米籽粒中離胺酸與色胺酸約提高 1 倍含量可達 8.04%(Vivek, 2008)，因此以優質蛋白玉米作為畜禽飼料，可提升畜禽之飼料換肉率與體重增加(Krivanek, et al., 2007)。

一般玉米籽粒中直鏈澱粉的含量只有 22~27%，高直鏈澱粉玉米則含有至少 50% 以上的直鏈澱粉。相對於一般玉米澱粉，高直鏈玉米具有獨特的理化特性而有不同的應用用途。高直鏈澱粉玉米之澱粉與青香蕉、豌豆、扁豆澱粉同屬於不容易被水解酵素如 amylase、pullulanase 水解的第二類型抗性澱粉(RS2)(Vidrine, et al., 2014)。抗性澱粉對人類的身體健康有諸多的益處，諸如抗性澱粉不容易馬上被水解成葡萄糖進入能量代謝循環中，具有低升糖指數(low glycemic index, low GI) 特性，因此可調節血糖濃度與預防第二型糖尿病的發生(Maki, et al., 2012)。且因高直鏈澱粉不易被水解，故可做為膳食纖維，除了具有促進腸胃蠕動之功能外，在腸道分解發酵所產生的短鏈脂肪酸，如醋酸、丙酸與丁酸，亦被證實可降低腸道酸鹼值，益於腸道益生菌生長，而降低結腸癌發生的風險。而短鏈脂肪酸也可提升腸道脂肪代謝效率，有助於人體血脂的調節。除此之外，由於直鏈澱粉的高抗剪切力與高糊化溫度，可利用高直鏈玉米澱粉製成高透明度、柔韌度及抗拉強度的生物可分解塑膠薄膜(He, et al., 2013)。

在美國農部(United States Department of Agriculture, USDA) 玉米種質提升(Germplasm Enhancement of Maize, GEM) 計畫中，愛荷華州立大學(Iowa state university, ISU)與杜魯門州立大學(Truman State University)研究團隊合作育成

GEMS-0067，其係利用帶有 amylose extender, ae 基因突變的美國 non stiff stalk 玉米種質 H99ae、OH43ae 與帶有高直鏈修飾基因的拉丁美洲玉米種質 GUAT209-S13 雜交後，所選育直鏈澱粉含量高於 70%之玉米自交系，其抗性澱粉含量介於 39.4 - 43.2%之間，為一般普通玉米兩倍以上 (Li, et al., 2008)，並且再利用分子標誌輔助選拔方式，將 GEMS0067 之 ae 基因與修飾基因導入 NSS 與 SS 兩育種雜種優勢群中，進而成功選育高產之高直鏈澱粉玉米 F1 品系。GEM 計畫為美國公部門與私人育種公司一起合作的長期計畫，計畫目標為利用外來玉米種原以擴增美國本土玉米種原之基因池，並改良美國本土玉米核心育種自交系種原，主要改良的目標性狀為高產、抗病蟲害與高附加價值之性狀。GEM 計畫的開始階段挑選了 51 個優良的熱帶與溫帶的 LAMP (Latin American Maize Project) 種原以及 7 個私人公司所提供的熱帶商業雜交種。每一個參與合作的私人公司需要以其專有的優良自交系與一個外來種原雜交，產生一個含有 50%外來種原遺傳背景的雜交組合，然後再跟另一間私人公司之相同雜種優勢群的專有自交系雜交，生產出一個佔有 25%外來種原遺傳背景的雜交組合，而這些 25%外來種原遺傳背景雜交組合所選育的自交系。其田間種植與繁殖調查工作皆在愛荷華州埃姆斯 (Ames, Iowa)所完成。

目前國際飼料玉米進口價格為 6~7 元，而農委會為鼓勵農民種植進口替代作物，以保障國內糧食自給率與農地有效利用，種植硬質玉米每公頃補助 4.5 萬元，收穫籽粒契作價格每公斤 9 元。然而，在自由市場上仍需面對進口玉米價格競爭問題，因此研發具有市場取得不易、高區隔性、附加價值更高的高直鏈澱粉玉米，並利用其對人體健康具有助益的抗性澱粉開發健康產品，期望能克服解決國產硬質玉米多元化加工應用不足與國際市場玉米成本競爭之問題。

## 美國愛荷華州立大學(Iowa State University, ISU)參訪研習 7/31~8/25

### 8/3 – 8/4 玉米雙單倍體工作坊 (Maize double haploid workshop)

此工作坊係由愛荷華州立大學玉米雙單倍體中心所提供之課程，此中心的負責主管為 Thomas Lübberstedt 教授，主要技術管理人為 Ursula K. Frei，全美國只有 ISU 提供玉米雙單倍體生產服務，對象可包含美國與其他國家，玉米雙單倍體工作坊則係包含兩天室內雙單倍體研究現況與未來發展課程、溫室實際操作實習與田間單倍體田現場操作課程。目前 Thomas Lübberstedt 教授實驗室研究重點方向以自動化挑選玉米單倍體與自然倍加優化與利用分子標幟與基因體選種方式選育高誘導率之誘導系，除了在工作坊之餘，也與 Thomas Lübberstedt 教授及他實驗室博士班學生有許多互動討論。

#### 工作坊同學名單

First Name	Last Name	Company Name	Address 2	City	State
Jauhar	Ali	International Rice Research Institute		Metro Manila	
Fernando	Cardenas	Ag Alumni Seed	702 SR 28 E	Romney	IN
Yu Ru	Chen	Taiwan Agricultural Research Institute, TARI		Taichung	
Bailey	Clay	Beck's Hybrids		Atlanta	IN
NICHOLAS	HOFFMAN	Zangger Popcorn Hybrids		North Loup	NE
Max	Robbins	Ag Alumni Seed		Romney	IN
Charles	Zangger	Zangger Popcorn Hybrids		North Loup	NE

#### 溫網室與田間實際操作

1. 挑選單倍體植株	2. 準備秋水仙素藥劑
	
3. 以針筒注射秋水仙素	4. 田間操作示範說明

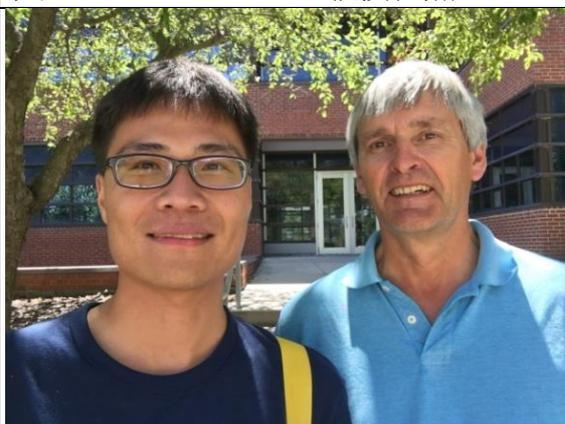


### 玉米雙單倍體工作坊心得

這一兩年在農試所所內開發玉米雙單倍體技術，所利用雜交的 RWS 單倍體誘導系親本，與 ISU 的選育親本材料相同，且選育具有 Ga1-S 基因的育種目標亦是相同，所以一直都有透過網路 ISU 瞭解新誘導系的選育現況，自己所新選育的誘導系跟 ISU maize haploid facility 所釋出的新誘導系，應該是不相上下。另外，再單倍體染色體倍加部份，在今年年中之前一直在克服關鍵技術瓶頸，第一，不清楚秋水仙素的處理方式，是以注射法或浸泡法何者較為恰當?；第二，秋水仙素的處理濃度如何?參考文獻差異甚大，如果處理不對，會造成藥害植株易死亡。然而，在出國研習前，以注射法找到特定濃度，可以使單倍體成功倍加率達 4 成以上。因此在參加此工作坊時，特別注意，ISU maize haploid facility 所使用的秋水仙素濃度是多少?以及注射時幼苗大小與方式，結果與自己所摸索出來的方式相當雷同。再來，在 ISU 農場時，有機會到 Thomas Lübberstedt 教授實驗室的新誘導系田間參觀，心情很興奮，這是很難得的機會，因為在課程上，Thomas Lübberstedt 教授說，他們正在選育誘導率高於 20% 的新誘導系，而誘導率與果穗種子數、種子發芽率、植株生長勢與雄花大小成負相關的，造成即使有高誘導率的誘導系也會有株數與花粉量不足造成田間操作困難，因此 Thomas Lübberstedt 教授實驗室正在選育誘導系的雜交一代新品系，其植株生長勢與花粉量皆會比自交系佳，但不影響誘導率。再者，單倍體植株要經過秋水仙素處理，

才能增加成功授粉率，處理秋水仙素之步驟是最耗人工與需小心注意的步驟，然而 Thomas Lübberstedt 教授實驗室篩選大量玉米族群，從中選到單倍體自然染色體倍加率達 80% 以上的玉米材料，命名為 GF1、GF2，利用這樣的材料就不需要再經過秋水仙素處理，挑選單倍體種子後即可直接種植於田間，又更大幅提升玉米雙單倍體技術的效率，因此目前 Thomas Lübberstedt 教授實驗室正在進行控制自然染色體倍加的圖譜定位，將控制此性狀之基因座導入育種材料中，分別由阿根廷、巴西與美國的博士生在執行此計畫研究。在田間參觀時，可以感受到在美國傳統育種名校中，具有系統化的育種研究，不斷累加研究基礎，不斷改良技術與加深研究內容，讓看似已成熟發展的雙單倍體技術有創新性，可不斷拉開與競爭對手的距離。一同參加此工作坊的同學皆是美國玉米育種公司的研究人員，其中有兩家是爆米花育種公司，目前這些公司正在導入雙單倍體技術於公司的育種計畫中，其中有一家係跟 ISU maize haploid facility 付費生產雙單倍體，他們表示這是一項具有競爭力的技術必需要投入，相信未來玉米雙單倍體技術一定會成為玉米育種工作的標準流程，如果沒有使用此技術終將被市場淘汰。工作坊結束，與 Thomas Lübberstedt 教授有持續的討論與分享，他相當認同我以有限的資源所選育單倍體誘導系，他願意提供我博士班日學進修的機會。

與 Thomas Lübberstedt 教授合照



與工作坊同學聚餐討論分享



## 8/7 – 8/10 玉米採種調製工作坊 (Seed corn conditioning workshop)

此工作坊係由愛荷華州立大學種子科學中心所舉辦，此中心為全美主要負責種子檢查中心與訓練單位，其負責主管為 Michael Stahr 教授，此工作坊主要技術管理與授課人為 Alan D. Gaul。此工作坊每年都會舉辦，提供給玉米育種公司上班的人，再深入瞭解玉米採種工廠設備操作、機械原理、採種所需注意事項。此工作坊四天，內容包含美國採種方式簡介、採種標準作業流程、果穗乾燥與脫粒、種子篩選與保存、種子去雜設備機械原理、種子計數與調製包裝。



IOWA STATE UNIVERSITY Seed Corn Conditioning Workshop August 7 <sup>th</sup> -10 <sup>th</sup> , 2017	
<b>Session I: Monday August 7<sup>th</sup></b> 8:00 Registration 8:30 Introduction & Opening Remarks (Gaul) 9:00 Seed Corn Conditioning Review (Gaul) 10:00 Session Break 10:15 Ear Corn Receiving, Husking & Sorting (Gaul) 11:30 Husking & Sorting Automation (TBA) 12:00 Lunch Break 1:00 Seed and Air Moisture Relationships (Gaul) 1:45 Airflow and Seed Drying Concepts (Gaul) 2:30 Ear Corn Drying Equipment and Operation (Gaul) 3:00 Session Break 3:15 Dryer Monitoring & Management (Jacobsen) 4:00 Demo: Screen Selection & Lab Equipment	<b>Session II: Tuesday August 8<sup>th</sup></b> 8:00 Ear Corn Shelling & Pre-Cleaning (Gaul) 8:45 Bulk Seed Handling & Storage Equipment (Gaul) 9:15 Aspiration & Screen Selection (Gaul) 10:00 Session Break 10:15 Air-Screen Cleaning (TBA) 11:00 Dimensional Sizing & Efficiency (Gaul) 12:00 Lunch Break 1:30 Demo: Sheller, Aspirator, Cleaner, Sizing Operation 2:15 Fluidized Bed Density Separation (Gaul) 3:00 Session Break 3:15 Demo: Destoner & Gravity Separators • Forsberg G-2, 10M2 & 40V, Oliver GVX-1020
<b>Session III: Wednesday August 9<sup>th</sup></b> 8:00 Color Sorting Technology (Gaul) 9:30 Demo: SATAKE & BORTEX Color Sorters (SSC Staff) 10:00 Session Break 10:15 Demo: SATAKE & BORTEX Color Sorters (continued) 11:15 Oliver Seed Technology Update (Pratt) 12:00 Lunch Break 1:00 Control of Seedborne and Soilborne Pathogens with Seed Treatments (Munkvold-video) 2:00 Seed Treating Equipment & Calibration (Gaul) 3:00 Session Break 3:15 Demo: Seed Treating Equipment 4:00 Optical Imaging for QC Applications (Gray) 4:30 Demo: Seed Counting Equipment	<b>Session IV: Thursday August 10<sup>th</sup></b> 8:00 Packaging Fundamentals (Gaul) 9:15 Packaging & Palletizing Equipment (Lukan) 10:00 Session Break 10:15 Pest Control for Seed Applications (Lilleodden-video) 11:00 Seed Corn Plant Design Discussion (Elwer) 12:00 Lunch Break 1:00 Physiological Drying & Storage Issues (Goggi) 2:00 Warehousing & Climate Controlled Storage (Gaul) 2:30 Sampling and Basic Quality Control (Gaul) 3:00 Session Break 3:15 Evaluation & Discussion 3:30 Optional: Seed Testing Review / Lab Tour (Stahr)

Acknowledgement: The ISU Seed Conditioning program would like to express thanks to our industry supporters for their assistance with program content, technical information, and conditioning machinery. Seed corn for demonstrations was provided by Syngenta Seeds.

### 玉米採種調製工作坊課程照片

1.種子科學中心

2.玉米採種處理操作流程



3. 混雜種子顏色選別機

4. 玉米顆粒大小篩選機



5. 玉米篩選流程講解

6. 氣流震動分級篩選機(Oliver)



7. 滾輪式玉米大小篩選機(Oliver)

8. 工作坊結業與課後討論



## 玉米採種調製工作坊心得

台灣主要負責玉米採種的單位為種苗繁殖場，在民國七十年代有建置東亞地區最大的玉米採種設施，後來又因飼料玉米種植面積大幅減少，其採種設備使用頻率減少且鮮少更新。近年來，因活化休耕地，玉米種植面積到達一萬多公頃，去年也重新進行台農 1 號雜交玉米採種烘乾調製作業，而今年度農試所開始與種苗場配合優質蛋白玉米試採種，是以，參加此工作方了解玉米採種所需注意事項與機械設備之功用與流程，以利農試所新育成優質蛋白玉米推廣品種之乾燥調製作業。另外，在臺灣推廣高直鏈澱粉玉米的種植，因目標為食品利用等級，目前台灣尚無食品等級的玉米品種，除了瞭解如何進行籽粒型態較特殊的高直鏈澱粉玉米採種之外，如何利用機械設備篩選分級、去除雜質不良種子與後續籽粒安全保存皆是至為重要的工作，而目前台灣尚無食品級玉米分級調製廠，故了解如何做種子調製與如何與育種選拔作配合，是參加此工作方主要目的。玉米採種工作流程，主要為：採收玉米果穗、乾燥果穗、果穗脫粒、種子風選去雜、種子篩選分級、種子調製包裝等步驟，目前美國玉米採種工廠的上述流程幾乎都是全自動一條龍。而使用熱風循環的乾燥設備有經過改良，智能化控制，所以新的設計可以使乾燥效率提高減少能源使用。種苗場的乾燥設備屬較舊型的，效率與乾燥均勻度可能沒有那麼好，但為了提升種子發芽率一樣是採含苞葉採收，冷風乾燥降低水分後再以熱風乾燥。因大型私人玉米種公司的發展，現代的玉米採種工廠規模都相當的大，資本投資需要一定規模，玉米為美國中西部的的重要糧食作物，即使機械設備昂貴，仍有銷售市場，像是 Oliver、Carter-day、BMC、Satake &Sortex、OptiCount 等皆是種子分級、調製與分裝設備廠商。在工作坊中，介紹了各種種子顏色、型態大小、雜質破損粒等選別機的正确使用方法與原理，雖不是相關領域背景，但講師深入淺出講解，也讓我對採種機械有了初步的概念，日後有相關使用的需要時即可應用到。另外，有關種子如何乾燥，在果穗收穫後，緩慢的乾燥是很重要的一件事，高速的高溫乾燥會造成種子細胞膜與脂肪體的破損，而造成種子活性降低。再者，需要多少含水量多少溫度保存，才能確保種子發芽率？Harrington's rule，每降低 1%含水量玉米種子保存時間則增加 1 倍，保存環境每降低 5.6度C 玉米種子保存時間同樣增加 1 倍。種子含水量範圍宜在 5~14%之間，超過 14%會增加種子的呼吸作用及產熱，也容易使黴菌生長，但是如果低於 5%則會破壞細胞膜結構。儲存環境的濕度亦是重要，超過 18%，會有高的呼吸作用速率，易產生熱而破壞種子，如接近 30%則會容易有黴菌生長。10~12%是一般短期儲藏合適濕度。這方面種子生理的概念幫助很大，因為不管是育種還是採種工作，除了收穫到足夠多種子之外，更重要的是如何保存種子的高發芽率。工作坊中介紹的滾輪式種子型態篩選機與反射光譜式雜質破損選別機，對於食品級的

高直鏈澱粉玉米分級生產，有很大的幫助，但是價格相當昂貴，價格約莫三四百萬元新台幣，這些知名設備廠商，亞洲區也有設置據點，日後如果有食品廠商有需要，可以推薦之。目前台灣硬質玉米種植面積還不到使用到新設備的經濟規模，如考量到要提升玉米品質與競爭力，勢必要利用到這些設備才能達到高品質的分級調製，選育什麼玉米新品種然後可以搭配適用這些機器設備，是我在工作坊中一直在思考與注意的地方。

### **8/11 拜訪 Dr. Jane, Jay-Lin, ISU Food Science & Human Nutrition department Distinguished Professor Emer**



在 2016 年有邀請鄭哲玲教授到農試所演講，講授高直鏈玉米澱粉的理化特性與機能性，因此，本次美國研習，有 email 聯繫鄭老師協助安排住宿與高直鏈澱粉玉米相關研究人員拜訪。鄭老師是國際知名的抗性澱粉研究權威學者，發表許多有關澱粉特性的期刊文章與書籍章節編寫，以及獲得澱粉研究領域最高榮譽獎

(Alsberg-French-Schoch Award)。在 Gem 計畫中，GEMS-0067 高直鏈澱粉自交系的理化特性分析皆是鄭老師實驗室研究團隊所發表，GEMS-0067 為直鏈澱粉 70% 以上；抗性澱粉達 40% 的高直鏈澱粉玉米自交系。雖然鄭老師在 2016 年退休，但她在 ISU 食品科學系仍有辦公室且還經常出席國際研討會。八月初到 Ames 時，鄭老師還在歐洲參加研討會，直到八月中旬才回到 Ames。鄭老師很鼓勵我出國進修博士班，可以申請作物育種 program，將高直鏈澱粉玉米作為一部份的研究，也可以多選修澱粉相關的課程，博士班是訓練如何做研究的過程，可以利用在台灣執行高直鏈澱粉玉米育種的經驗，加深育種研究基礎。美國已有高直鏈澱粉玉米品種栽種，但是仍是屬於溫帶型玉米品種，在台灣的环境下不一定能生長得好，但是可以將過育種改良，保留溫帶型玉米的優點提升對於亞熱帶氣候環境的適應性，可選育出適合台灣的高直鏈澱粉玉米新品種。直鏈澱粉含量與抗性澱粉含量成正比，但直鏈澱粉與脂質結合成的 amylose-lipid compound 可提升抗水解的能力，如台灣要發展高直鏈澱粉玉米全穀粉，可以留意此特性，增加穀粉的抗水解的能力。

### 8/13 Thomas Lübberstedt 教授實驗室聚餐

獲得 Thomas Lübberstedt 教授邀請參加實驗室聚餐，因為實驗室剛完成辛苦的田間雜交工作，所以教授邀請實驗室成員到他家吃烤肉。因先前跟教授有許多討論，所以他邀請我到他家與實驗成員認識，並瞭解實驗室的研究內容，教授的實驗室有美國、墨西哥、巴西、阿根廷籍博士生與中國大陸訪問學者與博士生。



### 8/14 拜訪 USDA Research geneticist Dr. Paul Scot



Paul 與鄭哲玲教授，過去有共同合作計畫，所以鄭教授有請 Paul 協助我在 ISU 的參訪。Paul 的研究主題主要聚焦在玉米籽粒營養品質的化學分析與遺傳改良研究，瞭解玉米籽粒的氨基酸組成與澱粉特性。Paul 有選育出屬於 Quality Protein Maize, QPM 的高離氨酸與色氨酸溫帶型玉米自交系，另外有高甲硫氨酸的溫帶型玉米自交系，目前台灣已有開始進行 QPM 品種選育及試種推廣，但是高甲硫氨酸的玉米尚無，Paul 是全世界目前主要研究此特殊玉米的專家，故特別跟他請教高甲硫氨酸玉米特性，甲硫氨酸是必須氨基酸，對於雞隻的換肉率與產蛋率為第一限制氨基酸，在普通玉米中甲硫氨酸不多，因此之前在 ISU 的玉米研究

人員，在自然族群中選育了編號 B103 的高甲硫氨酸的自交系，B103 則成為目前重要的高甲硫氨酸性狀的貢獻親。Paul 說雖可以用外表型選拔高甲硫氨酸的玉米族群，但控制高甲硫氨酸的基因座目前尚未被定位到，到底哪個主要基因在控制仍不是很清楚。目前他已將部分高甲硫氨酸的玉米族群變成雙單倍體，未來他會有更一步的研究。另外，他有參與一個有機玉米育種的計畫，因為美國的玉米有超過九成以上都是基改玉米，所以對於有機玉米而言，如何避免基改玉米花粉污染有機玉米田是一個議題，利用時間與空間調整，在現實情況下無法百分百的保證可以避免基改玉米花粉污染，然而，在自然族群中，有若干個雜交不親合基因，例如 Ga1-S 與 Tb1，可以應用來避免此問題。Paul 有建立具有 Ga1-S 的高甲硫氨酸玉米族群，在他的計畫中，主要是以 Mo17 與 B73 為主要的雜種優勢群模式。因為我也有做 Ga1-S 玉米，所以我要跟他交換心得，他的 Ga1-S 基因的供獻欽有若干個是爆米花玉米，他目前已找到 Ga1-S 基因的序列正在定序，在他的材料中，少了具有 Ga1-S 的 Hp68-07, hp63-01 爆米花玉米，我有把相關參考文獻提供給他。另外，我已有跟他請教我在回教導入 Ga1-S 基因到高直鏈澱粉玉米中，在試驗研究中有發現，隨著回交次數的增加，雜交不親合的現象會有稍微減弱的現象，果穗上會出現幾顆雜交種子，他說這是 genetic leak 現象，因為在其他染色體上還有其他微效基因在控制這性狀，所以多次回交後，會把微效基因給洗掉。與 Paul 有一個很愉快的分享聊天，他也說日後可以有合作的機會與討論研究的機會。最後他有提到，現在在學校做玉米育種相關的研究，其實很難跟有龐大經費的私人公司競爭，所以做特殊玉米的育種以及研究人才培育是他工作的重點。

### **8/15 – 8/17 玉米大豆種子品質工作坊 (Corn and soybean seed quality workshop)**

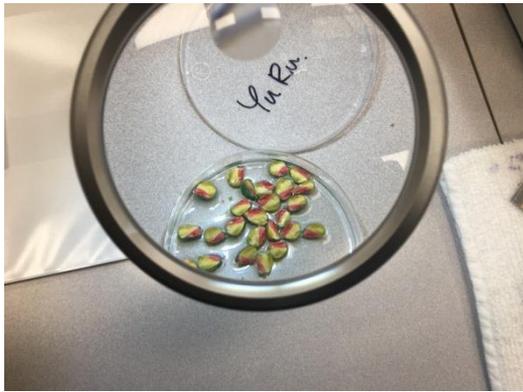
此工作坊係由愛荷華州立大學種子科學中心所舉辦，此中心為全美主要負責種子檢查中心與訓練單位，其負責主管為 Michael Stahr 教授，而此工作坊則係由 Michael Stahr 教授親自授課。內容包含種子品質檢測技術、種子檢測標準規則、種子活力生化分析法、ISU 種子檢測實驗室參觀。

### Seed Corn and Soybean Quality Workshop Agenda

<b>Tuesday</b>	<b>August 15, 2017</b>	<b>Corn Emphasis</b>	
8:30 – 8:45	Welcome and Introductions		Stahr
8:45 – 9:00	Lab practice: Cut corn for TZ		North
9:00-9:30	Seed Testing Overview		Stahr
9:30 – 10:00	Rules for Testing Seeds – Germination (AOSA,ISTA)		Stahr
10:00-10:15	Break		
10:15 – 10:45	Corn Seed and Seedling Morphology. Fungal ID. Seedling Evaluation Criteria		Stahr
10:45 – 12:00	Lab practice: VersaPak (TC), Sand, Paper Towels (to also be used for Seedling Vigor Class.)		Staff
12:00 – 12:45	Lunch		
12:45 -1:30	Principles of Seedling Vigor. Methods		Stahr
1:30 – 2:45	Lab practice: Tray cold, saturated cold, AA. Conductivity		Staff
2:45-3:00	Break		
3:00– 3:45	TZ lecture		North
3:45 – 4:30	Lab practice: Corn TZ		North
4:30 – 5:00	Lab practice: Fast Green		Stahr
<b>Wednesday</b>	<b>August 16, 2017</b>	<b>Soybean Emphasis</b>	
8:00 -8:30	Soybean Morphology, Seedling Evaluation Criteria		Stahr
8:30 – 9:30	Lab practice: Versapak, Sand, Rolled Paper Towels, Seedling Vigor Classification (SVC)		Staff
9:30 – 10:00	Sampling		Stahr
10:00 – 10:15	Break		
10:15 – 11:15	TZ lecture. Lab practice: Soybean TZ		North
11:15 – 12:00	Lab practice: Hypochlorite Soak. Discussion: Other soak-type tests		Stahr
12:00 – 12:45	Lunch		
12:45-1:30	Lab practice:, Accelerated Aging (AA), tray cold		Staff
1:30 – 1:45	Seed Count Procedures		Stahr
1:45 - 3:15	Seed Conditioning. Seed Counter Demonstrations (mechanical, electronic – OptiCount, DataCount, Ball)		Gaul
3:15 – 3:30	Break		
3:30-4:30	Seed Moisture Testing. Mechanical Purity/Dividing		Stahr
4:30-5:00	Discussion, Networking		

實驗室檢測操作照片

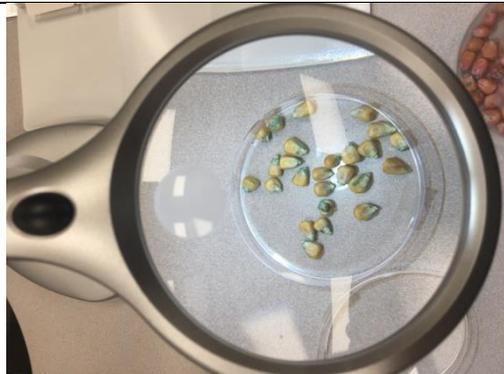
1. TEZ 玉米種子活力檢測



2. 玉米發芽率與異型株檢查(捲紙法)



3. Fast green 檢測種子破損情形



4. 大豆發芽率與異型株檢查(捲紙法)



5. 大豆發芽率與異型株檢查(沙床法)



6. 玉米籽粒有害微生物生長檢測



7. 雷射式快速種子計數機(Data count)

8. 傳統式圓盤種子計數機



## 玉米大豆種子品質工作坊心得

此工作坊為接續玉米採種工作坊，玉米種子在採收後，如何妥適確認種子品質是件重要的事情。在做育種的過程，常忽略了日後推出的新品種，在採種到農民種植過程中如何確保種子品質，第一個最重要的品質是有 90% 以上的發芽率，再來就是要有好的種子活力，這樣種子發芽後幼苗才會有整齊強壯的生長勢。因此，在課堂上，Stahr 教授講授如何利用 TEZ 判別種子活力，不同的種子型態有不同的方式，單子葉的玉米與雙子葉的大豆就不同。TEZ 方法在大學時期其實有蕭為學過，所以知道它的原理，只是如何正確判斷，是需要有人指導與練習的，經過課堂上的多次的挑選練習，讓學員的評斷標準較為一致，這對於種子檢查是重要的。另外，不同於 TEZ 是破壞性的檢測法，課堂上有教一個用 fast green 的化學藥劑，浸泡 15 分鐘後即可以快速檢測種子種皮是否有嚴重破損，但不影響其發芽。在乾燥調製過程，種子表面易受到摩擦後磨損，因而有微生物感染或滲透壓不平衡，造成種子發芽率降低或生長勢差。因此，可以推薦農民使用 fast green 快速檢測種子品種，調整種植密度與深度，以達到高發芽率與生長勢佳的目的。未來新品種釋出前的種子試採或試種，可以先用 fast green 檢測採種種子的品質。

## **8/21 美國中北部植物種質資源引進保存中心(North Central Regional Plant Introduction Station, NCRPIS)**

NCRPIS 負責管理美國中西部的玉米材料，並蒐集多個地點的玉米種原評估與篩選玉米新種原進行玉米族群遺傳改良，並培育新自交系以擴大美國玉米遺傳基礎。評估的標準為各種不同溫帶，亞熱帶和熱帶玉米種質的適應性、產量、對生物逆境的抗性，對極端環境的耐受性以及可提升玉米產品附加價值之質量性狀。每年約莫會評估 50-100 個玉米外來種原是否適應美國中西部環境，選擇具有有利的農藝性狀之玉米種原納入育種計畫中，因其育種計畫係與政府公立和民間私營部門共同合作，目前評估玉米種原資源的農藝性狀項目有，全世界重要的葉莖腐病，低黃麴毒素、非生物逆境耐受性、寄主植物對玉米根葉病的抵抗力，對地上害蟲的多重抗蟲性、以及高抗性澱粉高價值特性、生質能（乙醇）潛力、青貯營養品質和產量。所完成培育衍生自亞熱帶和熱帶玉米種原的遺傳改良之玉米族群和自交系，這些玉米材料可以提供美國更多樣的病蟲害遺傳抗性、對極端環境的耐受性、有更高的產量、獨特的玉米產品品質以及高附加價值特性，以利商業化玉米新品種的選育。目前正應用玉米雙單倍體技術和基因體定序技術提升將外來基因導入到可適應美國中西部環境的玉米基因庫中的效率。而台灣從美國農部引種的玉米材料，皆是由 NCRPIS 所提供。

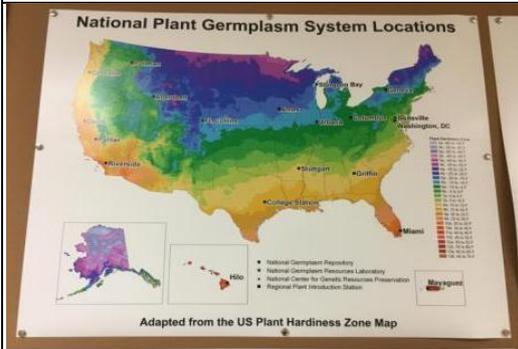
1.NCRPIS 基地



2. NCRPIS 大門門口留影



3.全美植物種原保存地點



4.NCRPIS 種原低溫冷藏庫



5. 以罐裝層架方式儲藏



6.特殊玉米種原材料



7.玉米種子分裝整理

8.待整理之不同來源玉米果穗



9.ex-PVP 繁殖圃



10. ex-PVP 繁殖圃



11.耐密植 ex-PVP 玉米自交系



12. 耐密植 ex-PVP 玉米自交系



13. 抗倒伏 ex-PVP 玉米自交系



14.以條碼標籤管理田間材料



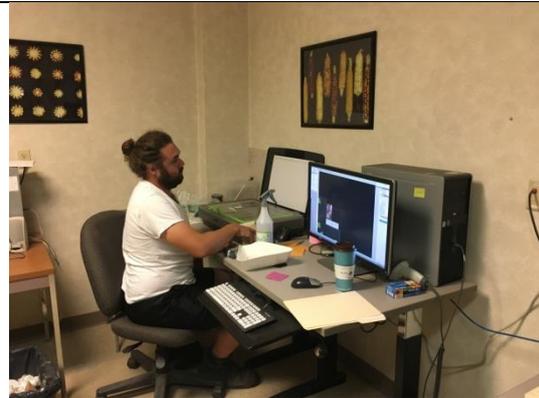
15.玉米考種室



16.玉米果穗與籽粒影像登錄



17. NCRPIS 與 ISU 單位人員



18.與遺傳資源管理人 Millard Mark 合影



## 美國中北部植物種質資源引進保存中心心得

美國是全世界玉米種植面積與產量最大的國家，美國私人公司所選育的玉米品種具有耐密植、早熟與高產等特性，對於玉米育種者，一直很好奇且很想瞭解美國玉米自交系材料的田間表現情形與遺傳雜種優勢群特性，ex-PVP 為美國 Pioneer、Monsanto 品種權保護到期的玉米自交系材料，因過去 PVP 材料有與美國政府公部門合作研究，因此這些品種權保護到期的玉米材料，皆需要送到 NCRPIS 進行繁殖，對這些 ex-PVP 有興趣的人，皆可以在美國農部網頁上申請。Mark 友跟我介紹如何在網路上申請，並提到有些 ex-PVP 還不會給中國大陸，但是如果台灣申請，可以給台灣。在出國前對於 ex-PVP 的玉米材料編號略有瞭解，但是在網路上搜尋也只是一串英文數字，對於實際育種而言，所需要的植株株型與雜種優勢表現，無法有深刻瞭解體會。然而這次在 NCRPIS 的 ex-PVP 繁殖圃中，看到成千的玉米自交系族群，都是目前美國玉米品種的親本祖先，看到這些 ex-PVP 真是很驚艷，因為耐密植自交系的株型即在面前呈現，硬莖桿抗倒伏自交系的植株特性，用手一摸即能感受到植株的強壯，雖為自交系且株高不高，其果穗仍是很長很大，表示美國玉米的遺傳選拔做得真的很到位，利用收集到的種原，雜交後經過不斷的高強度且有方向性的選拔，選育出如此優秀的自交系。美國貴為世界強權，豐富的玉米自交系材料，他也不怕大家申請，因為如何利用這些材料，需要有豐富的田間經驗與譜系遺傳資料才能妥善運用，要不然也只是徒增田間工作，所以這次參訪 NCRPIS 得到非常寶貴的經驗，日後這些都可以應用在台灣的育種計畫中，也將申請若干各 ex-PVP 做為育種材料。引進台灣的高直鏈澱粉玉米自交系，係由 NCRPIS 所負責的 GEM 計畫所選育而成的，原定想到此與 GEM 計畫的研究人員討論，可惜的是，GEM 計畫的負責人 peter 與研究團隊出差不在 Ames，要不然可以跟他們請教更多高直鏈澱粉玉米自交系，以及有關如何利用 GBS 方法與雙單倍體技術改良玉米自交系。另外，NCRPIS 即是全美保存國內玉米種質資源的基地，所以 Mark 有帶我參觀種原庫，給我介紹跟看一些特殊的玉米種原，以及他們如何管理保存，她們從田間種植授粉繁殖、果穗採收乾燥到後續的脫粒考種，都有條碼標籤做管理，而且它們考種的儀器設備相當完善，她們也會把果穗跟籽粒拍照建檔，這一點台灣還沒有做到如此，是相當值得學習的。Mark 跟我說，他知道台灣有各 AVRDC，有做蔬菜種原保存，當下是蠻感動的，因為 AVRDC 他認識台灣。另外，NCRPIS 為美國農部政府機關單位，與 ISU 學校有密切的研究合作，兩邊的玉米研究人員與教授都有相當好的互動。

## 8/22-8/23 美國愛荷華州立大學農業研究農場參訪

ISU 研究農場在學校外圍，開車經高速公路約莫 10 分鐘的路上。因大學同學朱怡萱在 Ohio state university 的碩士班同學牧琪，發表若干篇在世界著名有關玉米全基因體關聯性分析模式研究文章的于建銘(Jainming Yu)教授實驗室當博士生，因此有機會拜訪 Dr. Yu，並且會得到他的試驗田參觀的機會。當天是他實驗室的 technician 名叫 Gregory 與做玉米研究博士生 Matthew 帶我到農場解說。

研究農場照片

1.農業研究農場	2.木造式玉米烘箱
	
3.半自動播種機	4. 玉米採收機
	
5.B73 與耐密植玉米自交系	6.玉米試驗田間參觀



7.UAV 定位點

8.無人機空拍



9.高粱 RIL 族群

10.人工光源溫室



## 美國愛荷華州立大學研究農場參訪心得

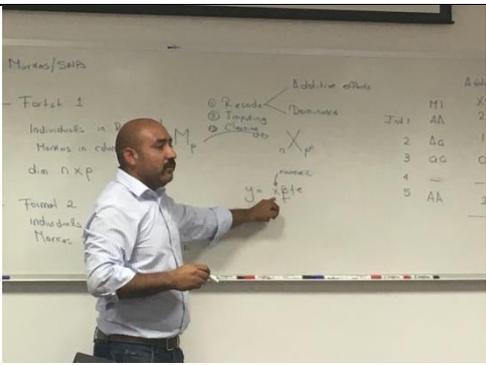
Gregory 先帶我到農場的機械式參觀他們使用的農機具，因為玉米試驗規模都相當大，無法全靠人工徒手播種，所以他們有曳引機附掛式的播種機，兩個人可以坐在播種機上，一一將把整理好的種子依序放入機械中就可以完成播種工作，十分有效率。另外，他們的玉米採收機是針對試驗所設計的兩行式收穫機，銅像可以節省很多採收玉米所需的人力，玉米在採收的烘箱是木造的，蠻特別的，每個計畫主持人都一個空間。Matt 的博士班題目是控制耐密植玉米株型的研究，他所說的 upright 指的就是植株葉片緊湊上揚，flat 指的是葉片與莖桿成近 90 度。他目前已找到控制 upright 性狀的基因座，業已將它導入 B73 中，選育近似同源系，原本 B73 的葉片較為 flat 也變成較為 upright，Matt 說他是找到一個主效基因，而且在田間可以明顯到到 1:3 的外表型分離比。他們實驗室也有跟美國私人空拍公司合作，以無人機空拍影像建立不同栽培玉米密度、葉片型態、葉色與產量產量的關係，Dr. Yu 實驗室的另外一位助理說，有關無人機的硬體設備，大陸在這方面有很不錯的表現，但是在軟體與影像分析上，美國還是占上風，如何有效的分析影像資料與連結影像資料和植株調查資料是以無人機高通量外表型分析的一大關鍵。另外，牧琪，她主要是做高粱落粒性基因的研究，所以也有機會到他的高粱試驗田裡參觀，他們實驗室已建立了一個高粱重組自交系族群，在田間可以看到兩個高粱親本的雜交後代可以有如此大的遺傳變異，確實是很興奮，再著，他們表示高粱比玉米更耐旱，在未來氣候變遷的情況下，高粱有他的發揮空間。

# 國際玉米與小麥改良中心-墨西哥(CIMMYT-Mexico)

8/26~9/26

## CIMMYT global headquarter

CIMMYT 全球總部位於墨西哥 El Batán, Texcoco，屬於海拔 2,200 公尺高的高原。來到這可以體會到 CIMMYT 的玉米及小麥的研究成果是來自世界各國的研究人員的供獻付出。過去 CIMMYT 的研究成果比較沒有做 promote，但是 2016 年換了新的 Director General，漸漸有把 CIMMYT 的研究成果推廣到商業市場，在墨西哥這段期間，有看到 CIMMYT 與國際穀物商業大公司雀巢舉辦會議，透過與跨國大公司的合作發揮 CIMMYT 的影響力。走進 CIMMYT 的行政大樓，可以看到五根用玉米小麥做成的柱子，他們的高度分別代表過去 100 年、過去 50 年、現在以及期望未來 50 年、100 年的玉米小麥產量。中美洲墨西哥等地是玉米的起源地，Norman Borlaug 在 CIMMYT 的半矮性小麥的育種研究及推廣而得到諾貝爾獎。因此，對於學農藝的人來說，這是一個很有意義的地方，很高興有機會來到這裡。

<p>1. CIMMYT 總部</p> 	<p>2. CIMMYT 總部</p> 
<p>3. SAGPDB(講解基因體選種)</p> 	<p>4. SAGPDB 參加人員合照</p> 
<p>5. SAGPDB 參加人員合照</p>	<p>6. CIMMYT-Mexico 研究人員合照</p>



7. CIMMYT 行政大樓門口一景



8. 玉米與小麥展覽室

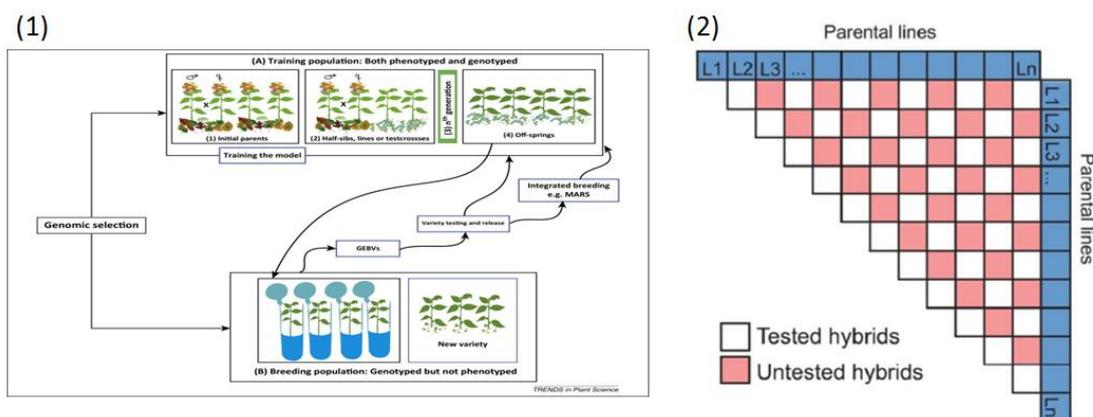


在 El Batán 的前十天，中國大陸籍的張學才博士安排我參加了 Statistical Analysis of Genetic and Phenotypic Data for Breeders 的訓練課程。在課堂上，透過講師的解說、實作與討論，學習 Generalized Linear Mixed Model 的基本概念，並利用電腦程式進行遺傳試驗設計、多點試驗和基因型與環境交感作用的分析，再者，講解數量遺傳學觀念如何應用於基因體選種與作物育種中，並實際的資料進行遺傳資料整理分析、歧異度分析與關聯性分析。



在大學及研究所時期，就有上過數量遺傳學，這時候課堂上的內容，對於剛接觸結合數學與遺傳學概念學門的學生，著實負荷有點重，有點一知半解。當得知張博士安排我上此訓練課時，蠻高興的，因為有機會重新複習相關知識，而且可以了解目前最新的育種技術：基因體選種的方法知識，但又有點擔心，用英文聽課會有不清楚的地方，事後證明我多慮了，在十天的課程中，老師用深入淺出的說明，讓我聽得十分清楚且具體，學習到如何利用程式軟體規劃正確的田間玉米試

## Genomic selection(GS)



驗設計，調查資料如何整理分析，各個參數所代表的意思是如何，以及如何用數量遺傳與生物統計的觀念進行資料分析解讀，在課程中，講師用 CIMMYT 的研究文獻資料，跟我們講解基因體選種應用於耐旱玉米及小麥，獲得多少遺傳增進，相較於傳統育種方式，基因體選種方法效率提升了多少，以及在應用基因體選種需注意的事項細節。基因體選種的應用方式有兩種，第一，可以利用訓練族群的基因型資料與外表型調查資料建立模式，另一個育種族群則不進行外表型調查，利用基因型資料帶入模式中，計算出 genomic estimated breeding values, GEBV，再利用 GEBV 進行材料的選拔，因此可以節省外表面型調查所需的人力與物力，同時也可以加速育種材料的世代推進。第二，則是應用於玉米雜交種的評估，玉米雜交種的親本如果有  $n$  個，則須於田間評估  $n^2$  個雜交種，如果只利用親本的基因體資料與  $n^2/2$  個雜交種的基因體資料與外表型資料，剩下的  $n^2/2$  個雜交種即可利用基因體資料同樣帶入模式中估計其產量表現。目前 CIMMYT 正在進行利用 1500 個雜交種外表型與基因體資料來預測剩下的 3000 個半同胞雜交種的產量表現。目前 CIMMYT 一個樣品的基因體分析所需的成本已經從原本 90 美金降至 15 美金，隨著基因體定序技術的快速進步，未來可以到 10 美金以下。這已比在開發中國家於田間種植玉米及調查評估所耗費的成本 15~18 美金(一行 5 公尺)還要低了。未來當數學統計模式的提升後，可提升基因型與環境交感效應的分析能力，對於基因體選種的效率與成果可以有更顯著的提升。如何提升遺傳增進，育種家

所做的工作，就是在提升手上的材料中遺傳可以控制的效應。育種者方程式，選拔的強度、加性遺傳變方大小與遺傳率，都會影響到遺傳增進值。另一個更重要的是時間，完成一個選拔輪迴需要多少時間！基因體選種與雙單倍體這兩個新技術，皆是要用來縮短育種所需要的時間，用更少的時間得到更多的遺傳增進。當然，縮短時間的同時也減少人力與物力的使用，可大幅提升育種的效率。此兩項技術一定是未來玉米育種的關鍵技術。

## Accelerating genetic gains in plant breeding

$$\text{Breeder's equation} = \frac{\text{Where? Experimental stations? Farmers field?} \cdot (\text{Selection intensity})(h)(\sigma_A)}{\text{Years/cycle}}$$

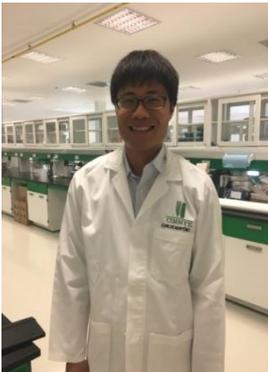
### Fundamentals for breeding

- Experimental designs and control of plot-to-plot variability
- Spatial analysis.
- GxE -- correlation among experimental trials (farmer's field)
- Population size in multi-environment trials.
- Genetic diversity

### Years/Cycle

- **Double haploids**
- **Genomic selection**
- High throughput phenotyping
- Speed breeding (greenhouse)

## CIMMYT 之分子標幟輔助選拔(Molecular marker-assisted breeding) 訓練課程

1.分子標幟輔助選拔實驗操作	2. 操作 DNA 萃取
	

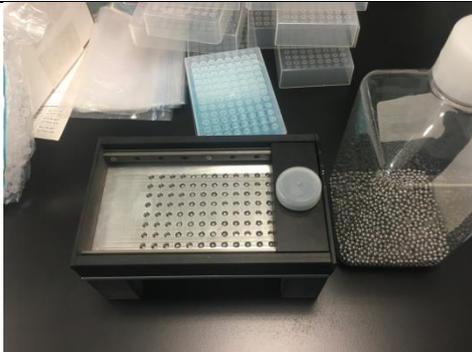
3. 冷凍乾燥玉米葉片



4. 玉米葉片樣品保存



5. 快速放置不銹鋼珠



6. 玉米籽粒胚乳 DNA 萃取



7. 全自動高通量 DNA 萃取設備



8. HiSeq2500



9. 微量分光光度計與半自動移液手背

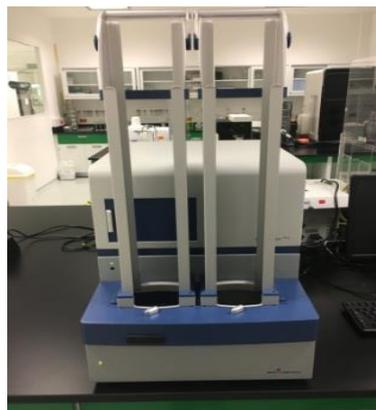


10. SNP 基因型分析





11. 水平電泳



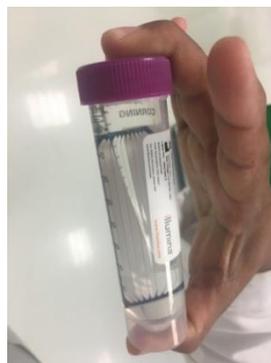
12. 垂直電泳



13. Hiseq2500 晶片耗材



14. Hiseq2500 晶片耗材

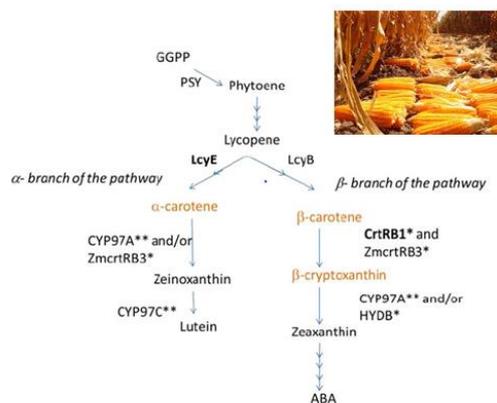


雖然 CIMMYT 有基改玉米隔離評估的溫室，但他的營養品質分析與分子生物實驗大樓，沒有做基因改造相關的實驗，而其他的分子生物實驗皆有在進行。他們的儀器設備相當齊全，由於分析的數量都很多，所以進行的實驗都是以高通量為主，而且他們實驗室管制相當嚴謹，當一天我進實驗室要做實驗時，要先進行實驗室須知訓練，了解毒化物的使用操作、實驗室動線與注意事項等等。這次主要是了解他們的分子輔助育種實驗如何進行，所以一開始他們先教我，CIMMYT

實驗室如何抽取玉米 DNA，如何處理保存重要族群的葉片樣品。其實抽 DNA 的方式與台灣的大同小異，但是主要是了解他們如何快速有效率完成大量的 DNA 萃取，以及如何整理保存葉片樣品的管理方式。我去的時候，他們正好在抽做基因體選種的玉米族群 DNA，抽完後的 DNA 會送到美國康乃爾大學做 GBS。完成大量 DNA 萃取後，雖然無法看到如何進行 GBS 的實驗操作，但實驗室的墨西哥籍助理 Martha 有帶我參觀次世代定序儀 illumina Hiseq2500，並跟我介紹如何使用他的耗材以及需注意的事項。再來，則是教我他們如何做 SNP 基因型分析，由於需要大通量，所以他們用的機器是 BMG 的 PHERAstar plus，一次可以放入多盤 96 孔排進行 SNP 基因型分析。當然他們也有做 STR 與 InDel 分子標幟的實驗室平台，同樣是依照不同的規模數量及分子標幟的片段大小選用不同跑膠平台。Martha 以高 provitamin A 的玉米分子標幟輔助選拔為例，教我如何進行實驗，high provitamin A 的性狀由兩個主要基因所控制，分別是 LcyE 與 CrtRB1。LcyE 可以用 SSR 分子標幟跑瓊脂糖電泳平台進行基因型分析，而 CrtRB1 是近期文獻發表，可以顯著提升 provitamin A 含量的基因座，以 GWAS 做 provitamin A 性狀所得到與其緊密連鎖的 SNP 有若干個，其他可以在 PHERAstar plus 平台上準確穩定分析的分子標幟只剩兩三個，其中 S10\_136072513 的實驗結果，可以利用於高 provitamin A 的玉米篩選。另外，為了可以快速萃取 DNA，Martha 有告訴我他自己調配的快速萃取液，雖然我在台灣，已成功調配出穩定低成本的快速萃取液，之後可以試試看她的，比較一下，甚至可以讓自己的配方更穩定。

• Markers-Assisted Selection

• High provitamin A



*crtRB1* GENOTYPING – SNP ASSAY S10\_136072513

GBS SNP sequence

```
ATTTGCATGGCAGCACGTAGGCCATCAGAGACTTAAACTAGGAATCAIT/6GTCTGGATCATTTTGTGCAGTATTCTCTAATCACT
GACCATGCACA
```

KASP Assay

S10\_136072513 (allele T labeled with FAM and allele G labeled with HEX).

Cycling conditions

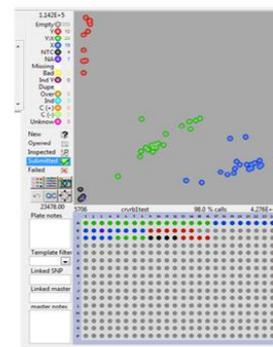
- 1) 94°C 15 minutes
- 2) 94°C 20 seconds
- 3) 61°C 60 seconds
- 4) Drop - 0.6°C/per cycle  
Repeat steps 2-3 9 times (a total of 10 cycles) achieving the annealing temperature 55°C
- 5) 94°C 10 seconds
- 6) 55°C 60 seconds  
Repeat steps 5-6 for 25 times (a total of 26 cycles)

Recycling conditions

- 1) 94°C 20 seconds
- 2) 57°C 60 seconds  
Repeat steps 1-2 twice (a total of 3 cycles)

Pherastar read: start with gain 15%.

KlusterCaller image:



## CIMMYT 之生物營養強化玉米之育種(Breeding for biofortified maize) 訓練課程

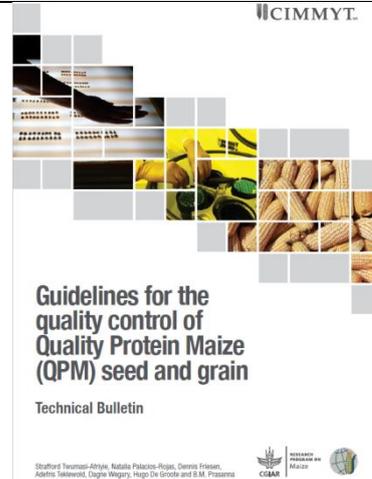
CIMMYT 的優質蛋白玉米(Quality Protein Maize, QPM)研究是世界知名的，玉米營養品質分析實驗室是當年 Evangelina Villegas 所設立的。在 2000 年她與 Surinder Vasal 因優質蛋白玉米的研究貢獻得到了世界糧食獎(World Food Prize)的殊榮。因此這次的生物營養強化玉米訓練課程即到此實驗室學習如何分析離氨酸(Lysine)與色氨酸(tryptophane)。實驗室大助理名叫 Aldo，他叫年輕實驗助理帶我做相關實驗，然後他解說實驗室的儀器設備與目前所正在進行的實驗。整個實驗操作流程是根據 CIMMYT 所出的 guidelines 所操作，但同樣是大通量的關係，操作的溶液體積有稍微調整。Aldo 說分析一個樣品的離氨酸成本約是 2 美金，色氨酸則是 3 美金。在實驗室期間，他們正好在辦玉米品質與營養的展示說明會，看到各式各樣的玉米品種，有白色、黃色、橘色、紅色、紫色與黑色的玉米，也有不同加工方法所做成的加工食品，在墨西哥當地玉米是他們的主食，每天都會吃玉米餅，另外，比較特別的是，他們有紫色的玉米餅，雖然紫色的玉米因富含花青素，所以做成的餅看起來有點黑黑的，但是吃起來相當好吃。目前正在進行的機能性玉米計畫，可以考慮發展不同顏色的玉米，除了增加多樣性也可以增加其機能性。比較可惜的是，有關高 provitamin A 深橘色玉米的葉黃色分析，因為時間與實驗操作需要更多的講解訓練，而無法實際參與，但是我有跟張博士說根據 RCA，CIMMYT 要給我深橘色玉米品種，希望到時候成功引進台灣後，也可以做深橘色玉米育種，提高台灣玉米的附加價值。

<p>1. 玉米營養品質實驗室</p> 	<p>2. 離胺酸含量測量實驗</p> 
<p>3. 離胺酸含量測量實驗</p>	<p>4. 普通玉米粉與優質蛋白玉米粉</p>



5. 葉黃素分析實驗室

6. QPM 品質分析手冊



7. 不同玉米顏色之水溶性

8. 不同顏色與粒徑玉米粉



9. 玉米營養品質檢測

10. 不同玉米加工產品



11. 不同玉米加工產品

12. 不同玉米加工產品



13. 不同玉米加工產品

14. 玉米營養與品質展示說明會



## 9/13 CIMMYT research station Aquafria

距離總部約 4 小時的路程，所以當天早上六點即從宿舍出發。張博士的實驗室助理 Carlos 開車載我前往，當天目的是要去看基因體選種的玉米族群生長情形。在 Aquafria 試驗田中，有 nursery 與 trials 試驗。Nursery 指得是玉米自交系的培育與繁殖，trials 指得是玉米測交種與雜交種評估調查。CIMMYT 的玉米田，都是採滴灌系統，由滴灌系統供水及養液，一行區(row)約 4 公尺。由於他們有在進行耐旱玉米與耐酸性土壤玉米育種，所以在這樣的栽培模式在相當合適。在 nursery 的田中，可以看到 DH 族群與自交純化族群，可以很明顯看出他們在株高與穗位高整齊度的差異。DH 的穗行植株表現得相當整齊，這對於田間的農藝性狀調查有很大的幫助，減少田間調查的誤差。Aquafria 位於海拔 100 公尺的熱帶平原上，所以這裡種的材料多屬於熱帶種玉米，trials 田間的玉米株高及穗位高都相當高，有些玉米的穗位高都快接近我肩膀了，這對於日後引進 CIMMYT 材料到台灣試種時，需要特別注意，因為台灣屬於季風氣候，擔心即使產量表現好卻有嚴重易倒伏的問題。Aquafria 試驗研究站面積約有 100 公頃，他們的田工人員編制約莫有 100 人上下，在 Aquafria 可以感受到田工與助理都非常認真地進行試驗研究工作，即使天氣炎熱，他們仍然盡責地在工作。CIMMYT 在墨西哥的雙單倍體生產基地主要設置在 Aquafria，所以要田間看他們如何進行雙單倍體的生產，雖然仍不是主要季節，但還是可以看到他們採收的誘導的玉米果穗以及幼苗，在研究基地房間內，有說明他們如何生產玉米雙單倍體。在 2011 年剛開始時，生產不到 500 個雙單倍體，經過五年後，他們已經可以一年生產出兩萬個雙單倍體。因此，在室內考種室所看的玉米果穗都已經玉米雙單倍體了，他們現在主要自交系培育都改為玉米雙單倍體了。

1. Aquafria 與助理田工合照	2. Carlos 解說田間玉米
	
3. Carlos 與助理討論玉米生長情形	4. 助理田間性狀調查



5. 玉米自交系



6. 玉米雙單倍體



7. Aquafria 試驗農場



8. 玉米生物防治蟲害



9. 保護行(新玉米品系)



10. CIMMYT-Mexico DH 生產數量



### Technology in CIMMYT

Year	Number of DH lines produced in CIMMYT-Mexico
2011	<500
2012	7,142
2013	19,382
2014	15,995
2015	18,356
2016	20,766

11. 誘導系雜交果穗

12. 誘導系雜交果穗



13. 單倍體幼苗馴化簡易溫室

14. 單倍體(DH<sub>0</sub>)田間生長情形



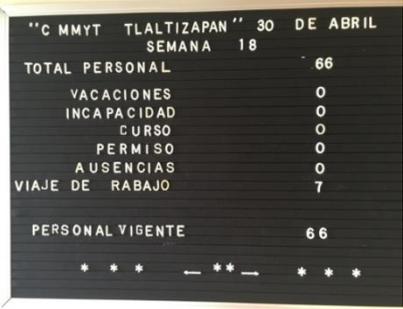
15. 單倍體(DH<sub>0</sub>)果穗

16. 單倍體(DH<sub>0</sub>)果穗



### 9/19 CIMMYT research station Tlaltizapan

Tlaltizapan 位於海拔 500 公尺的熱帶平原，CIMMYT 的玉米都會有多個地點的調查評估，所以 Carlos 帶我來也是要看基因體選種玉米族群的玉米生長情形。在這研究基地比較興奮的是，看到 CIMMYT 將他們的高產熱帶型玉米材料與美國溫帶型玉米 ex-PVP 自交系，雜交後不同回交世代的純化族群，分別有溫帶背景佔 50%、25%、12.5% 的玉米自交系材料。CIMMYT 有耐旱耐熱玉米材料且熱帶型玉米對病蟲害抗性佳，美國 ex-PVP 溫帶型玉米早熟耐密植抗倒伏，因此如果能結合兩種玉米優良特性在一起，在未來氣候變遷的環境下，仍可以達到增產的目標。在臺灣，硬質玉米仍是以黃色的為主，但是因為非洲地區對白色玉米的偏好，我看他們所選拔的玉米材料都是白色胚乳型的玉米，未來引進材料時能需要花點時間，將其轉換成黃色胚乳型玉米，因此有關 high provitamin A 得分子標誌輔助育種技術方法對於台灣而言更為重要。

1. Tlaltizapan 人員編制	2. Trials 玉米田
	
3. Trials 玉米田	4. Trials 玉米田
	
5. Trials 玉米田	6. 熱帶玉米與 ex-PVP 雜交材料
	
7. 熱帶玉米與 ex-PVP 雜交材料考種	8. 熱帶玉米與 ex-PVP 雜交材料果穗



### 9/21 拜訪 Thanda Dhliwayo maize breeder

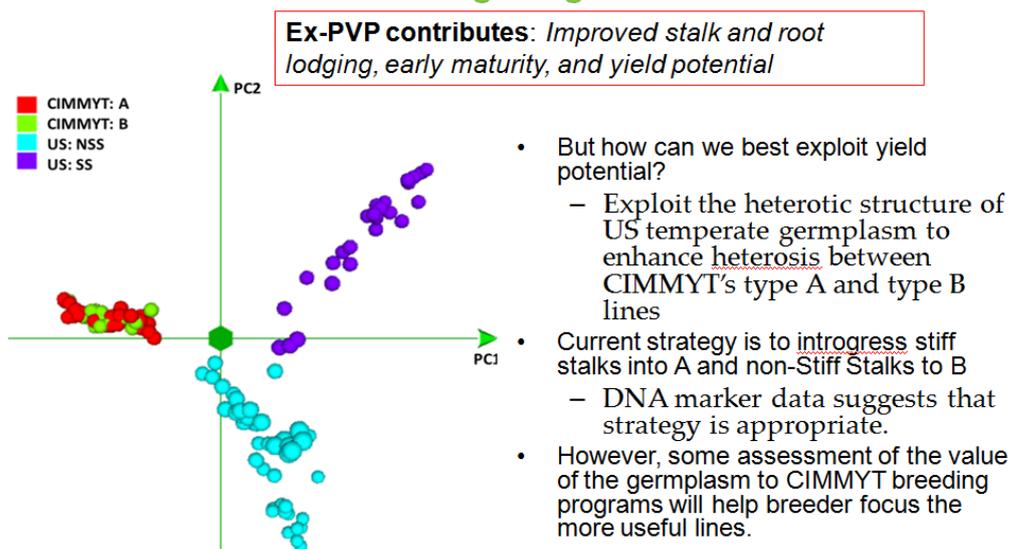
Thanda 是美國愛荷華州立大學畢業的玉米育種者，他是辛巴威籍，之前有在美國 pioneer 公司工作，CIMMYT 熱帶型玉米與美國 ex-PVP 玉米雜交育種計畫就是他在負責的。CIMMYT 的玉米依照組合力劃分，可分成兩群雜種優勢群，分別為 A 與 B，由於過去 CIMMYT 以混合族群(pool)的方式改良玉米，所以使得 AB 兩群的遺傳關係過於接近，對於雜交種玉米的種質資源遺傳創新改良有其侷限性。然而，美國的雜交玉米系統，同樣可以分成兩群，分別是 stiff stalk and non-stiff stalk，由遺傳距離關係來看，兩群的遺傳距離隨著改良工作的進行，逐漸往兩邊拉開，達到育種方向明確化、成果效率化，奠定了持續有效改良玉米育種的基礎。在台灣，我也有做同樣的育種工作，劃分兩各雜種優勢群，並利用 CIMMYT 與美國的育種材料，所以跟 Thanda 對談後，更確立目前正在進行的育種工作方向是正確的。另外，我也跟他請教，有哪些 CIMMYT 的自交系與美國 ex-PVP 自交系是可以利用到台灣亞熱帶地方的育種計畫中，他有提供給我幾個自交系資訊，我也員成引種工作，等待種子進到台灣來，將隨即進行雜交工作。

### 9/22 與張學才博士討論

在出國前與 CIMMYT 的聯絡窗口即是張學才博士，可以在 CIMMYT 工作，他的玉米學術研究成果是很傑出豐碩的。由於農委會與 CIMMYT 簽訂了 RCA，2016-2017 需要派員參加短期訓練與引進雜交種試種。2016 年度的人員訓練安排已完成，然而要引進哪一種材料試種，不是清楚的，因為 CIMMYT 的玉米材料有分 tropical, subtropical, highland and lowland 等不同玉米材料，所以他讓我去基地看玉米瞭解不同玉米的生長環境與植株情形，由於台灣主要種植的中南部地區，屬於熱帶平地，因此日後 CIMMYT 將會給台灣 tropical lowland 的玉米材料試種。另外，由於 2014 年我有先引進優質蛋白玉米在台灣生產雜交種，目前也台灣台南做試種，有關品種權的問題有特別詢問張學才博士，他說：CIMMYT 是非營

利的國際組織，育成的自交系公開免費給全世界使用，不會索取向使用的研究單為收取品種授權金，研究單位如何與採種農戶或公司簽訂契約，CIMMYT 不會管，唯希冀的是如果種植表現不錯可以擴大種植面積，讓 CIMMYT 的玉米發揮餵養全世界的影響力。最後，由於張學才博士是年輕的玉米研究科學家，主要專長是玉米基因體選種，所以有跟他討論說，希望未來有機會還可以一起合作相關的研究。

## Value of US EX-PVP germplasm to CIMMYT Maize Breeding Programs



## 國際玉米與小麥改良中心-肯亞(CIMMYT-Kenya)10/1~10/16

肯亞，首都為奈洛比(Nairobi)，奈洛比是非洲國家最都市化的城市，聯合國非洲駐點也位於這個城市。CIMMYT 在 1950 年開始在非洲設立據點，目前他們的辦公總部在世界農業林木中心(World Agroforestry Center)裡。非洲東岸的人以玉米為主要糧食，所以為了解決非洲人的糧食問題，CIMMYT 在塔尚尼亞、肯亞與辛巴威等國家有將近 25 位玉米研究人員進行玉米育種研究計畫，近五年比爾蓋茲捐贈了很多錢給 CIMMYT 解決乾旱低氮肥、MLN 病害與酸性土壤的問題，所以目前有很多資源與研究重心都在非洲，因此我有機會在奈洛比與很多玉米研究人員有面對面討論的機會。在肯亞的這兩個禮拜，Manje 是我的 supervisor，他是分子育種家，他帶我到 Naivasha 的 MLN screen facility 跟 Kyboko 的 Maize double haploid facility，這兩個基地都是比爾蓋茲捐贈要改善非洲玉米種植問題與提升育種能力的基地，如果要了解 CIMMYT 近年來的玉米研究，一定要來這個地方。

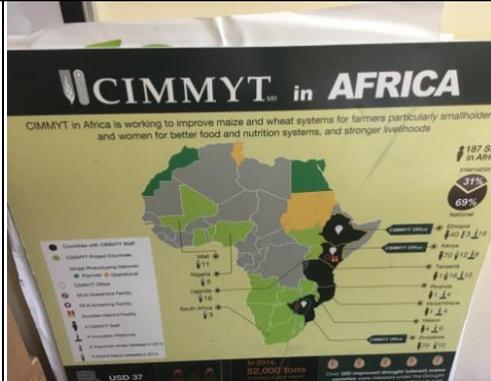
### Nairobi

1.Nairobi 機場 	2. 世界農林中心大門 
3.世界農林中心 	4.CIMMYT 非洲總部地點 

5. 與研究人員聚餐聊天



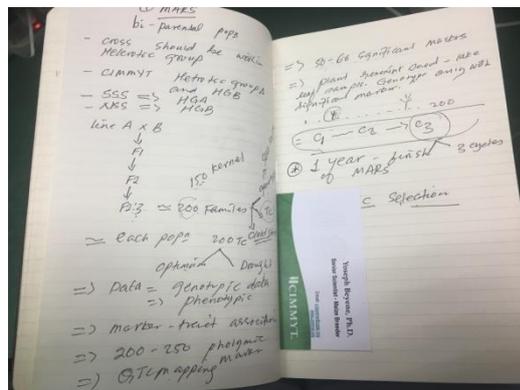
6. CIMMYT 在非洲



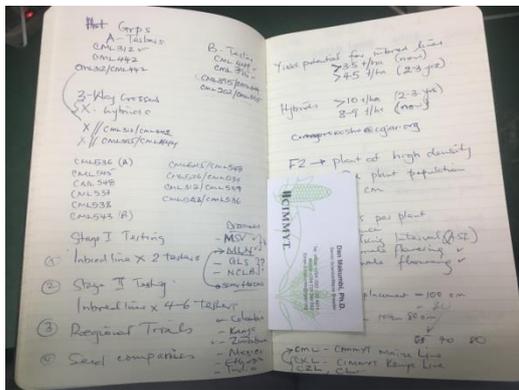
7. CIMMYT 在非洲



8. 與資深育種者 Yosepha 面談討論



9. 與資深育種者 Dan 面談討論

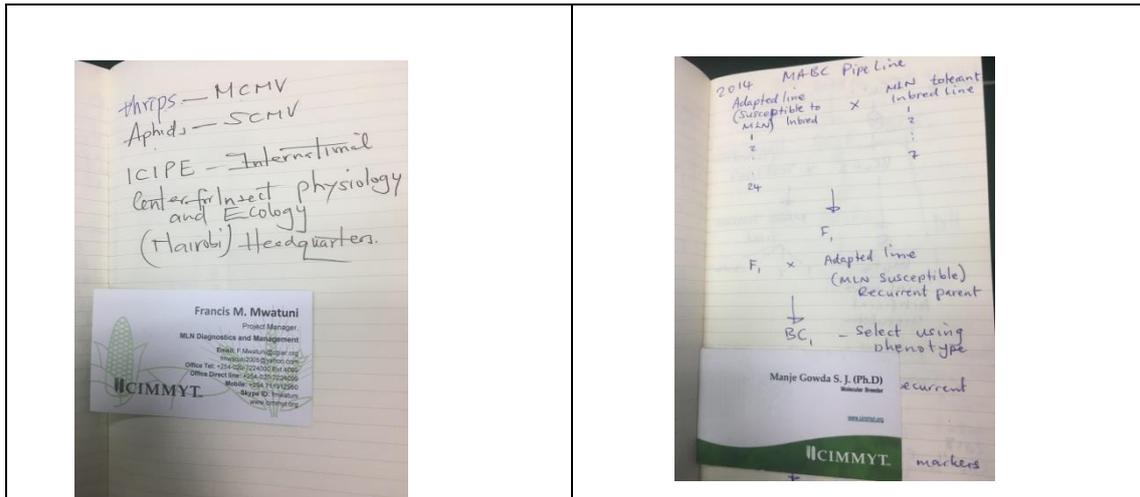


10. 與 CIMMYT 非洲主管面談討論



11. 與 MLN 研究人員 Francis 面談討論

12. 與分子育種者 Manje 面談討論



## Naivasha

肯亞在 2012 年爆發 MLN 病毒危害，玉米在幼苗期感染此病毒病後，葉片會黃化斑駁枯萎成長受阻，喇叭口期感染後，果穗會授粉不良，嚴重威脅玉米生產。MLN 病毒病是由褪綠斑駁病毒(MCMV)與甘蔗嵌紋病毒(SCMV)複合感染所造成，MCMV 是由薊馬媒介昆蟲所傳播，而 SCMV 則是由蚜蟲所傳播，由於非洲地區鮮少使用化學藥劑防治昆蟲，所以田間媒介昆蟲的防治相對困難，除了適當的田間管理，摘除病株與輪作方式可以控制此病害危害之外，篩選對 MLN 有抗性的玉米品種，是其中一種有效解決 MLN 病害問題的方法。CIMMYT 在位於 Naivasha 的 KALRO 研究中心內設置 20 公頃的抗 MLN 玉米的篩選基地。MLN 病害除了在非洲之外，在美國、中國大陸、東南地區都有傳出危害新聞。目前世界各國主要推廣的玉米品種幾乎都沒有抗性，所以在這個中心裡面，CIMMYT 也提供玉米材料田間抗病篩選的服務，一行(row)收費 5 美金。日後，台灣如果有要進行抗病種原材料的篩選，可以進一步與 CIMMYT 討論相關合作的方式。由於須解決 MLN 此嚴重問題的急迫性，CIMMYT 花一年的時間在 2013 年就完成，也在 2015 年發表抗 MLN 的遺傳圖譜定位，發現在第六條染色體短臂上有抗病的基因座。在非洲地區主要都是種植白色胚乳型玉米，控制白色胚乳的 y1 基因也同樣是在第六條染色體短臂上，他們有發現到白色玉米相較於黃色玉米較容易感病，而他們第一階段篩選到具抗性的玉米是來自於泰國的黃色玉米材料，因此 CIMMYT 利用分子標誌將抗病基因座回交到他們在非洲主要推廣品種的自交系中，Manje 解說回交改良後的玉米族群，在田間表現比原本的親本更有抗性，感染後不會造成死亡，植株仍可以維持鮮綠色，他們也這用這些材料選配出了幾個有 MLN 抗性的雜交組合了。其實在田間仔細看玉米葉片，仍然是有病毒感染的病徵，但是相較於感染後，玉米黃化枯萎的嚴重程度已經有所改善，植株也可以結出一定程度大小的果穗。我有跟 Manje 索取他們用於 MAS 的分子標誌序列，





9. 田間人工篩選圃

10. 抗病玉米植株



11. MLN 感病玉米病徵

12. MCMV 隔離網室



## Kyboko

Kyboko 位於 Nairobi 南邊距離約莫四小時車程，屬於熱帶乾燥氣候紅土平原，一年四季氣候穩定。在這區域如果沒有灌溉設施的話，只能等短暫雨季後快速播種的開天田，往往會因為乾旱而歉收。因為 CIMMYT 有在田區安裝滴灌系統，所以相當適合進行耐旱玉米篩選，他們會在玉米開花前 20 天停止滴灌給水，從開花後即時乾旱逆境，同時會有一組滴灌給水對照組，他們目前的玉米品系在乾旱環境之下產量為每公頃 1.5~3 公噸，在有給水的良好環境下，產量可以有每公頃 7~8 公噸，目前他們主要使用的耐旱玉米自交系有 CML312, CML442, CML 395, CML444，前兩者屬於 A 群；後兩者屬於 B 群，由於非洲的採種戶主要是使用三系種，所以他們會把 CML312 與 CML442 的雜交種作為 A 群檢定親；CML 395 與 CML444 的雜交種作為 B 群檢定親，將新選育玉米雙單倍體與此兩檢定親做雜交評估新雜交組合的耐旱能力與產量表現。Dan 說預計三年後產量可以到每公頃 10 公噸以上。在他們的 nursery 田可以看到他們生產 testcross 的規模，一共有將近 1500 個玉米雙單倍體做自交繁殖種子，同時坐測交種生產，在將近兩公頃得田裡每株玉米幾乎都有做雜交，雖然沒有看到他們做雜交工作，但可以想像這是一個龐大的工作量。亦是因為如此，所以他們的 trials 的田也是大到恐怖，一望無際。去的時候正好他們在做採收考種，目前他們還是利用人工採收及考種，但是下一期開始，他們會用 wintersteiger 的試驗用兩行式收穫機，做機械採收與考種，那台收穫機的特色在採收果穗的同時也會進行小區產量、籽粒千粒重與濕度測量，在人工超級便宜的地方，他們還是改成機械收穫調查，除了節省人力資源外，更重要的是可以大幅提升調查的準確性。在 kyboko 研究基地的 CIMMYT 研究人員有教我如何評分自交系果穗，在他們眼裡白色玉米比黃色玉米好，再來是 flint corn 比 dent corn 好，最後是果穗的整齊度，依照這些標準 1~5 分做評選，最好的評 1，中等的 3，差的 5。我們大家一起說一個數字，再由他說出他評的分數，經過多次的評分後，大家就達到他的目的了，知道哪些是好的哪些是差的了。除了看果穗評分之外，他也教我們如何評分耐旱玉米的株型，第一，在乾旱環境下要有大的雄穗與雌穗，第二，玉米根系要強壯，從植株是否會倒伏傾斜做評分，再者莖桿要強壯不能會被折斷。目前 CIMMYT 正在進行抗 MLN 與耐旱玉米的基因體選種，Manje 是主要負責的研究人員，他們會開花前完成單株 GBS 再根據 GEBV 進行篩選，篩選到的植株要進行 intermating，以加速世代的推進與遺傳增進。

1.DH 繁殖與測交種種子生產	2. DH 繁殖與測交種種子生產
	
3. DH 繁殖與測交種種子生產	4.DH 玉米
	
5. trials 田間	6.玉米機械脫粒考種
	
7.Manje 講解基因體選種	8. 基因體選種玉米材料



9. 兩行式玉米收穫機



10. 耐旱玉米篩選圃



11. 耐旱玉米評估指標說明



12. 耐旱玉米田間乾燥後表現



13. 玉米果穗評比

14. 等級 1 玉米果穗



15.黃色玉米果穗



16.玉米人工考種



17.田間玉米脫粒與考種



18.人工脫粒



19.評選玉米與人工脫粒



20.耐旱高產玉米果穗



### CIMMYT 之單倍體倍加選種技術(Doubled haploid technology)參訪

Vijai 是這個玉米雙單倍體基地的主管，而此基地設立在此，是比爾蓋茲基金會希望 CIMMYT 可以在非洲建立這項技術快速提升選育玉米新品系的成效。這個基地同樣是佔地 20 公頃，一年四季鮮少下雨，但是有滴灌設備，所以更好控制田間土壤水分，再者這日照時數充足而氣溫不超過 32 度，相當適合生產玉米雙單倍體。CIMMYT 處理秋水仙素的方式與 ISU 不同，他們是用浸泡法，使用濃度略高。他們生產玉米雙單倍體的規模相當大，一批次有將近一公頃 5 萬 5 株，所以利用浸泡法相較注射法省工，但是秋水仙素的使用量就很多，且後續的廢棄物的處理所需的花費也較多出許多，最後成功收穫雙單倍體比率 30~40%。

CIMMYT 第一代選育適合熱帶地區生長的誘導系誘導率 5~8%，第二代新選育的誘導係可達 12%。Vijai 說 CIMMYT 也有幫其他單位生產玉米雙倍體，收價標準為一個材料 2200 美金。在這個基地裡臨時雇工有將近 50 人，助理兩位，管理人一位。Vijai 表示現在國際上大型的育種公司每年生產一百萬個玉米雙單倍體，CIMMYT 只是他們的十分一，聽到的時候再三確認數字，因為對我來說這個基地的規模就相當大了，沒想到對於像是 monsanto 或 pioneer 這些公司而言，還是很小的，而且這些公司現在的玉米育種計畫有九成以上都是已經是用玉米雙單倍體。由於可以在一年內快速出大量純系，所以反而讓後續雜交種的評估工作變成更為龐大，因此有了玉米雙單倍體技術後，必須要結合基因體選種技術，利用 GEBV 先大量淘汰四分之三的材料，再做後續的田間產量評估。

<p>1. 玉米雙單倍體研究基地</p> 	<p>2. 玉米雙單倍體研究基地辦公室</p> 
<p>3. 講解玉米雙單倍體生產原理</p> 	<p>4. 講解秋水仙素處理方式</p> 
<p>5. DH<sub>1</sub> 玉米果穗</p> 	<p>6. DH<sub>0</sub> 大面積種植田</p> 
<p>7. 完成授粉之 DH<sub>0</sub> 玉米</p>	<p>8. 討論 DH 田間病蟲害防治方法</p>



9.2<sup>nd</sup> 單倍體誘導系

10. 2<sup>nd</sup> 單倍體誘導系



11. DH<sub>0</sub> 玉米生產情形

12. DH<sub>0</sub> 玉米生產情形



13. 單倍體玉米育苗方式

14. 單倍體玉米人工點播



15.人工篩選單倍體籽粒



16.整理 DH<sub>1</sub> 玉米果穗種子



17.秋水仙素處理室



18.與研究人員合照



## 建議

1. 玉米是重要糧食作物，所以各國對於玉米的研究相當重視，要達到一定程度的成果產出，需要投入一定的研究資源，串連起學術研究、品種選育、採種推廣以及後端的產品銷售整各產業鏈。
2. 玉米雙單倍體技術與基因體選種，是未來提升玉米新品種競爭力的關鍵技術，台灣需要在此領域投入資源，才能有機會在日後選育出的新品種與國外品種有競爭力。台灣的硬質玉米的育種材料的在耐旱與產量的表現，落後美國與 CIMMYT 甚多，應該加強合作關係，引進有獨特性的玉米材料，發展出有台灣特殊定位的玉米新品種，否則難有競爭力。再者，在發展新技術的同時，除了瞭解目前技術的發展現況之外，宜再進一步發展下一各世代的新技術，以跳蛙戰略的想法，超越目前的技術發展，以達到有競爭力、他國願意與台灣合作或學習的層級，例如單倍體的自然染色體倍加材料的選育，即是超越目前研究技術的一項未來趨勢。
3. 台灣農業人才的培訓與博士生培養，在國外發現有很多中國大陸博士生有聯合培養，而且現在在國外有很多教授與研究人員職位都是中國大陸人。臺灣在農業相關的留學博士甚少，而且目前學校的教授有關雜糧的育種研究以及研究技術，與國外差距甚多，因此，在各種農業研究發展無法有新突破發展，建議可以鼓勵台灣從事農業的研究人員留學，學習最新學理知識技術，回國後不僅可以提升台灣農業研究，可以建立與國外研究學者的合作管道。
4. 與 CIMMYT 的研究合作宜加深，但是也必須要加強台灣本身研究人員的研究基礎環境，由於台灣年輕的育種研究人員，沒有從事他們那樣大規模的育種計畫，在參訪研習後，很難將整套方法應用到台灣育種研究環境中。
5. 玉米是重要的土地利用型糧食作物，世界各國都努力的研發新品種對抗未來氣候變遷的威脅，雖然在台灣土地面積與產量無法跟國外相比較跟抗衡，但是相較於非洲國家，台灣人民對飲食養生觀念較為注重，因此針對具有機能性的高直鏈澱粉玉米、富含花青素的紫色玉米、富含葉黃素的橘黃色玉米以及高品質的水果玉米，都是可以加強發展的玉米新育種目標。
6. 在本次參訪中實際看到 CIMMYT 的耐旱玉米及抗 MCMV 與美國 ex-PVP 玉米自交系的田間表現，這些都是很好利用做為改良台灣玉米育種材料的材料，並且宜加強台灣玉米雜種優勢群建立的基礎育種研究，以商業品種純化自交系，雖然可以快速得到組合力表現不錯的材料，但是對於長期改良提升玉米遺傳增進是沒有幫助的，且難建立具有台灣特色的玉米育種材料與選育特殊玉米品種。

## 參考文獻

- Azmach, G., Gedil, M., Menkir, A., Spillane, C. (2013). Marker-trait association analysis of functional gene markers for provitamin A levels across diverse tropical yellow maize inbred lines. *Plant Biology*, 13(1), 227-1.
- Babu, R., Nair, S. K., Kumar, A., Venkatesh, S., Sekhar, J. C., Singh, N. N., Gupta, H. S. (2005). Two-generation marker-aided backcrossing for rapid conversion of normal maize lines to quality protein maize (QPM). *Theoretical and Applied Genetics*, 111(5), 888-897.
- Babu, R., Rojas, N. P., Gao, S., Yan, J., Pixley, K. (2013). Validation of the effects of molecular marker polymorphisms in *LcyE* and *CrtRB1* on provitamin A concentrations for 26 tropical maize populations. *Theoretical and Applied Genetics*, 126(2), 389-399.
- Chandler, K., Lipka, A. E., Owens, B. F., Li, H., Buckler, E. S., Rocheford, T., Gore, M. A. (2013). Genetic analysis of visually scored orange kernel color in maize. *Crop Science*, 53 (1), 189-200.
- Eder, J. and Chalych, S. (2002). In vivo haploid induction in maize. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(4), 703-708.
- Eisabirye, B. and Rwomushana, I. (2016). Current and future potential distribution of maize chlorotic mottle virus and risk of maize lethal necrosis disease in Africa. *Journal of Crop Protection*, 5(2), 215-228.
- Geiger, H. H. and Gordillo, G. A. (2009). Doubled haploids in hybrid maize breeding. *Maydica*, 54(4), 485.
- Gibbon, B. C. and Larkins, B. A. (2005). Molecular genetic approaches to developing quality protein maize. *Trends in Genetics*, 21(4), 227-233.
- He, Y., Wang, X., Wu, D., Gong, Q., Qiu, H., Liu, Y., and Gao, J. (2013). Biodegradable amylose films reinforced by graphene oxide and polyvinyl alcohol. *Materials Chemistry and Physics*, 142 (1), 1-11.
- Krivanek, A. F., De Groote, H., Gunaratna, N. S., Diallo, A. O. and Friesen, D. K. (2007). Breeding and disseminating quality protein maize (QPM) for Africa.
- Maki, K. C., Pelkman, C. L., Finocchiaro, E. T., Kelley, K. M., Lawless, A. L., Schild, A. L., & Rains, T. M. (2012). Resistant starch from high-amylose maize increases insulin sensitivity in overweight and obese men. *The Journal of Nutrition*, 142 (4), 717-723.
- Prasanna, B. M., Chaikam, V., and Mahuku, G. (2012). Doubled haploid technology

in maize breeding: theory and practice. CIMMYT.

Prigge, V. and Melchinger, A. E. (2012). Production of haploids and doubled haploids in maize. *Plant cell culture protocols*, 161- 172.

Rober, F. K., Gordillo, G. A., and Geiger, H. H. (2005). In vivo haploid induction in maize-performance of new inducers and significance of doubled haploid lines in hybrid breeding. *Maydica*, 50(3/4), 275.

Vivek, B. S. (2008).Breeding quality protein maize (QPM): Protocols for developing QPM cultivars. CIMMYT.

Vidrine, K., Ye, J., Martin, R. J., McCutcheon, K. L., Raggio, A. M., Pelkman, C.,and Greenway, F. (2014). Resistant starch from high amylose maize (HAM-RS2) and Dietary butyrate reduce abdominal fat by a different apparent mechanism. *Obesity* ,22 (2), 344-348.