

出國報告（出國類別:進修）

以基因體組選拔與雙單倍體技術提 升玉米育種效率之研究

服務機關：農業部農業試驗所

姓名職稱：陳裕儒 助理研究員

派赴國家：美國

出國期間：108.6.20~112.6.19

報告日期：112.8.17

摘要

本出國報告為執行農業菁英培訓計畫(2019~2023)，研究主題為學習研究作物基因體選拔方法理論與雙單倍體技術前瞻發展應用，於美國愛荷華州立大學進修博士學位。進修期間，透過選修遺傳育種領域內知名教授之課程，持續強化數量遺傳育種理論基礎，並學習 python, R 等程式語言、大數據分析、機器學習等知識與實作能力，在博士班研究中順利以玉米雙單倍體技術結合基因體選拔方法達成研究目標，深化對理論知識的瞭解與操作施行之能力。研究期間協助校內作物育種研討會舉辦，且參加美國玉米遺傳育種相關研討會，多方面瞭解玉米遺傳育種研究現況與建立人脈連結。本次出國進修成果達成從知識理論層面提升臺灣作物育種研發能量與接軌國際作物遺傳育種研究。博士論文研究，以玉米雙單倍體技術快速獲得純系族群，且重要農藝性狀超親分離於雙單倍體後代樣本族群供人為選拔，其中雙單倍體誘導系之誘導率統計值超過 23%。另在基因體選拔預測研究方面，在多種基因體預測模型中，多變量 rrBLUP 基因體預測模型可提升目標性狀之預測準確率於訓練及測試族群中，如再結合基因體關聯性分析結果於模型之固定型變數，相較其他農藝性狀，誘導率性狀之預測準確率可再提升。基因體育種價估算不僅可用於優良子代之選拔，且可應用於最佳雜交組合之預測，作為選拔親本組合之評判依據，以大數據資料分析結果導向取代人為經驗判斷決策於育種程序中，從博士論文之實證研究中顯示基因體選拔方法搭配雙單倍體技術可顯著提升遺傳增進與育種效率。

目次

目的.....	4
過程.....	4
心得.....	9
建議.....	10

目的

因育種選拔方法技術攸關於作物品種育成之成效，以往主要以雜交分離族群性狀調查及田間試驗設計為主進行優良後代單株穗行品系選拔，抑或進行遺傳圖譜分析、基因座定位、開發分子標誌輔助回交選拔等方法選育新作物品種。然而，其族群品系純化過程所需時間及受限於目標性狀遺傳率等因素，導致育種族群之遺傳增進過於緩慢，因而使得臺灣育成作物品種之產量、適應性等數量性狀不及國外品種，而偏向質量性狀之育種目標為主之育種計畫，長期下容易降低臺灣品種競爭力。由於過去 20 年，生物基因體定序、電腦軟硬體、機械自動化與人工智慧程序語言皆有爆發性長足進步發展，歐美國家之農業科研機構大學及公司投入大量人力資源於作物育種選拔技術方法之提升優化。美國愛荷華州立大學(ISU)為全世界農業研究排名第 8、北美地區排名第 4 之研究型大學，玉米及大豆為州內主要種植作物，因此兩作物為重點研究對象，學校內多位教授為數量遺傳育種研究領域內之權威。ISU 農藝系所屬玉米雙單倍體生產研究中心是目前全美唯一提供世界公私部門單位生產其重要育種材料之玉米雙單倍體之機構。因此本次出國進修目標為學習研究作物基因體選拔方法理論與雙單倍體技術前瞻發展應用並取得美國愛荷華州立大學作物育種博士學位。

過程

本農業菁英計畫原定期程為 2019 年 6 月 20 日至 2022 年 6 月 19 日，但因 COVID-19 疫情影響，延至 2023 年 6 月 20 日結束，共四年。依年度之博士學位攻讀、課程學習研究等事項摘要如下：

➤ 2019 年

1. 美國愛荷華州立大學入學報到
2. 夏季玉米育種田間試驗研究，博士班育種實驗材料建立
3. 課程學習

課程名稱	學分	學期
Population and Quantitative Genetics for Breeding	4	Fall
Statistical Methods for Research Workers	4	Fall

4. 博士班研究計劃(program of study, POS)及 POS 委員確認。

➤ 2020 年

1. 課程學習

課程名稱	學分	學期
Molecular Plant breeding	3	Spring
Field Plot Technique	4	Spring
Animal Breeding Strategies: Breeding Goals and Response to Selection	2	Spring
Animal Breeding Strategies: Design and Evaluation of Animal breeding programs	2	Spring
Introduction to Multivariate Data Analysis	3	Fall
Statistical Theory for Research Workers	4	Fall

2. 參加 R. F. Baker Plant Breeding Symposium

3. 育種材料整理數據整理分析、夏季田間育種試驗

4. 通過數量遺傳學(Quantitative Genetics)、傳遞遺傳學(Transmission Genetics)、作物育種方法(Plant Breeding Methods)博士筆試資格考三門

➤ 2021 年

1. 課程學習

課程名稱	學分	學期
Quantitative Genetics for Plant Breeding	3	Spring
Plant Breeding Seminar	1	Spring
Computational Skills for Biological Data	3	Spring
Statistical Methods II	3	Spring
Introduction to machine learning	3	Fall

2. 參加 R. F. Baker Plant Breeding Symposium at ISU, poster presentation: Exploring the Genetic Variation of Haploid Induction Rate for High Level Maternal Haploid Inducer Breeding

3. 通過生物統計(Biometry)及基因體與生物技術(Genomic and Biotechnologies)博士筆試資格考兩門

4. 通過博士資格考口試，成為博士候選人

➤ 2022 年

1. 課程學習

課程名稱	學分	學期
Introduction to Time Series	3	Spring
Advanced Plant Breeding	3	Spring
Plant Breeding Seminar	1	Spring
Big Data Analytics and Optimization	3	Fall

2. 參加 R. F. Baker Plant Breeding Symposium at ISU, poster presentation:

Advances in Maternal Haploid Inducer Development in Maize

3. 參加 64th Annual Maize Genetics Meeting in St. Louis, poster

presentation: Advances in Maternal Haploid Inducer Development in Maize

4. 參加 2022 national association of plant breeder's annual meeting in Ames,

poster presentation: The Genetic Improvement of Haploid Inducers in Maize by Genomic Selection

5. 夏季田間育種試驗

6. 完成博士班試驗材料數據收集

➤ 2023 年

1. 完成博士班試驗材料數據整合分析

2. 參加 65th Annual Maize Genetics Meeting in St. Louis, poster presentation:

Superior haploid inducers are attained from inducer doubled haploid

3. 博士論文題目：Genomic prediction and doubled haploid technology in maternal haploid inducer breeding.

4. 於 10/20（留職停薪期間）通過博士口試，成為博士。

5. 博士論文研究其一章節，已發表於 *frontiers in Plant Science* SCI 期刊，*impact factor*: 5.6。 <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1320660>

進修期間選修了 17 門共 49 學分課，主修作物育種；輔修統計。

➤ 博士研究論文摘要

單倍體誘導系是玉米雙單倍體 (DH 技術的關鍵材料，透過數量遺傳育種可接續針對誘導系的穩定農藝性狀和更好的單倍體誘導能力進行改良。我們在研究中利用遺傳創新選育了新 *CI-I* 誘導系，能夠大規模生產雙單倍體誘導系，並從其 DH 後代族群中發現性狀表現更為優異的誘導系。*CI-I* 誘導系的單倍體誘導率(HIR)範圍在 5.8%至 12.0%之間。整體而言，23 個不同誘導系雜交 F₁ 親本族群的 DH 生產成功率為平均 13%。F₁ 誘導系的花期-吐絲間隔與 DH 生產的成功率有顯著相關($r = -0.48$)。DH 誘導系 (DHI) 子代樣本族群

中之開花天數，DTF；單倍體誘導率，HIR；株高，PHT；雄花分枝長度，PBL，皆有超親分離。此外，DHI 中的最佳 HIR 超過 23%。我們比較了單一性狀/多性狀 (single-trait/multi-trait, ST/MT) 之基因體預測(GP)模型 (rrBLUP、BayesB、Random forest 和 xGBoost) 的表現。特別是在 ridge regression BLUP (rrBLUP) 模型中採用多變量 (multi-trait) 和 *de novo* GWAS 來研究多個雜交族群之 DHI 子代樣本的四個重要性狀，並在多親代雜交 (MAGIC) DHI 中測試 GP 模型。在多個雜交族群 DHI 中，不同 GP 方法在四個性狀間的平均預測能力 (predictive ability, PA) 為 0.44 至 0.65。此外，它還表明，在 MAGIC DHI 中，相對於 ST GP 模型，MT GP 模型的 PA 各性狀平均提高了 13%。此外，在 MT rrBLUP 模型中，使用 *de novo* GWAS 的單位點和多位點演算法所偵測到 SNPs 作為 GP 模型中的固定效應，相對於 ST rrBLUP 模型，其在 MAGIC DHI 測試群體中 HIR 上的進一步提高了 17% PA，這是本研究 GP 模型中 PA 最高的。另在實證研究中，DHI 群體 4 個重要性狀的狹義遺傳力估計值分別為 0.81、0.71、0.45 和 0.46。全基因群組估計的 EGV_Mid/Mean 和 EGV/UC_Inferior 與 breeding 和 bridging 樣本族群的四個性狀的後代和 inferior 群之平均值顯著相關。EGV/UC_Superior 與 breeding 和 bridging 樣本族群中 DTF、PHT 和 PBL 的 superior 群之平均值顯著相關。然而，EGV/UC_Superior 僅與 breeding 樣本族群 HIR 的 superior 群之平均值顯著相關。bridging 樣本族群的 DHI 後代中的基因組估計親代貢獻能夠探勘貢獻於非優秀親本但具遺傳增進的基因組區域，以提高 HIR 的遺傳增進之進行長期育種選拔。總體而言，本研究結果顯示利用基因組預測和 DH 技術可以有效快速增進遺傳育種效率。



育種試驗田



機械移植單倍體植株



GPS 定位機械播種



田間玉米授粉性狀調查工作



NAPB 參觀 Corteva 展示田區與品種

心得

1. ISU 課程教學設計除了注重理論方法說明，也強調實作能力，所以作業繁重但多為實務現場所需觀念能力的問題與計算分析，且皆有小組報告強調與人溝通合作能力。對於非英語為母語國家之學生一開始是有挑戰性的，但隨著時間適應後，對於個人專業能力與英文口語溝通能力有很大的進步。
2. 博士班研究期間，有關試驗研究工作，除了勤奮認真與團隊合作之外，利用基因體選拔方法在誘導系育種族群中選育出>20%之誘導率之優良品系，其超越目前公開文獻之最佳性狀表現，讓接下來實驗室工作更加順利。另外研究工作之外，一起與系上同學練習慢跑參加馬拉松比賽，名列參加團隊中前茅，也讓日後的人際關係更加融洽。在美國社會要得到認同與尊重配合，需要在某些方面有過人之表現、長處或優點。
3. 實驗室之科學家與技工皆有專責分工，協助博士生完成研究工作。育種試驗材料有軟體資料庫進行管理分類，田間播種移苗皆為機械操作。如有非實驗室專長之工作則交由具有其專長之單位或公司負責。然而做事情有一定的規劃流程，雖大家一般不喜歡改變；害怕出錯，但可以放心提出想法根據，改進 protocol 提升效率。
4. 為深入了解作物基因體選拔應用於作物育種中之理論與實作能力，除了進階數量遺傳育種專業課程，也選修大數據分析、機器學習、混合線性統計分析等課程。因有關程式編寫與數學統計計算，所以學習過程不容易簡單，但是在美國這些能力已是育種組博士學生所需必備，此外因人工智慧的發展，過去強調育種經驗的累積，已轉變成育種試驗大數據資料分析解讀能力為主。
5. 進修期間，體認到 ISU 的作物研究經費技術發明能量可能超過臺灣農業研究機構與大學，然而上市大型或家族擁有之育種公司如 Corteva, Bayer, Syngenta, AgReliant, KWS, Beck's 等等，因可以不斷獲利持續大量經費投入品種研發，親身參觀其試驗農場與研發部門，其作物品種表現與生產之研發能力與規模更是超乎想像。以玉米為例，2021 年玉米產量比賽，Corteva 的 Pioneer 玉米品種每公頃籽粒產量在 Virginia state 突破 40 噸，而在美國中西部每公頃平均產量 15 噸以上才是農民會滿意的品種。
6. 實驗室除了博士生、博士後與科學家，每年都有國際訪問學者或博士生來訪(除了 2020 年外)，除了歐美已發展國家，來自墨爾瓦多、土耳其、墨西哥、巴西、泰國、印度等發展中國家，瞭解其研究室研究主題、團隊規模與經費人力資源。他們皆是來學習玉米雙單倍體技術應用於他們的高產、耐旱、優質蛋白、甜糯玉米等育種族群中。然而育種方法仍與美國存在差異，在外表型選拔或僅進階至分子標誌輔助選拔，其育種團隊人數眾多，

助理田工薪資每小時 2~5 美金不等。其年輕世代育種人員普遍尚未具有基因體選拔理論方法實作能力應用其於玉米育種計畫中。

7. 雖基因體選拔方法，強調利用 genome-wide SNP 基因型取代外表型進行高育種值(breeding value)個體單株選拔，但高通量的外表型調查能可以節省訓練模型中外表型資料調查的工作量，因而提升工作效率。博士研究期間花費很多時間外表型的數據收集與確保其正確性，雖有使用私人公司機器操作外表型調查，但其準確性仍不佳。然而因人工神經網絡模型的突破發展，相信部份外表型調查可以利用機器影像方式達成，但需跨領域合作。
8. 進修期間除了認識各國農業研究領域之科學家、學者教授，也結交認識若干博士班同學學長姊畢業任職於美國大學、農部或私人育種公司。他們皆對於未來的育種研究合作交流表示興趣。

建議

1. 玉米為土地利用型 C4 作物，水分需求較水田作物少，且其食用與加工用途廣泛。目前臺灣硬質玉米品種之單位面積平均產量不到 7 公噸，雖臺灣種植面積與產量不遠及美國，但應透過種植耐密植、高收穫指數之玉米品種提高單位面積產量，以提升農民種植玉米收入，進而增加玉米推廣種植面積，以減少水資源不足形成臺灣糧食作物種植面積減少之趨勢，又因國際糧食生產不穩，導致無法穩定臺灣糧食供應之概率。
2. 增購臺灣作物育種所需現代化農機具設備，育種流程機械化不足，人力成本逐漸增高，如以高勞力密集之育種計畫，必要育種程序工作無法有效執行，最終育成品種無法取得推廣成果。
3. 玉米雙單倍體技術是玉米雜交族群純化之關鍵技術，10 年前只在歐美已發展國家中普遍使用，現在開發中國家已開始使用於育種計畫中。沒有用此技術之玉米育種計畫沒有競爭力前景。基因體選拔方法，是提昇遺傳增進與優化雜交組合選擇之關鍵方法，臺灣需要在投入基因體定序、育種訓練模型之育種材料等資源，才能有機會在未來育成新品種與外國品種有競爭力。
4. 跳脫舊有習慣思維與方法，需要有機會有意願接觸新知識技術方法並融入既有操作模式中且迭代改進創新。基因體選種方法為大數據分析與機器學習之人工智慧實行於育種計畫中的品系表現預測。其核心方法不僅可以應用於各種作物育種計畫；有系統資料收集數據化下，亦可以使用農業生產各個環節之預測與決策。
5. 臺灣農業人才的培育不僅需要持續有人前往歐美先進國家學習新知識技術觀念，也需要建立先進的農業研發環境、人才庫與產業鏈吸引各國人才到臺灣學習與工作。全世界都需要農業永續發展，未來農業科技核心在於有

效的資料收集資訊整理與分析，臺灣在機械電子資訊等產業中排名世界前列，應在臺灣有效整合各產業界資源優勢，發展可獲利之農業科技放眼全世界。