

厚植精準育種基盤因應氣候變遷 以水稻抗逆境育種為例

前言

水稻為臺灣重要糧食作物，生產面積達 27 萬公頃，對農產業結構有舉足輕重的影響。然而，近十年來因極端氣候的影響，異常的高溫、強降雨以及嚴重且不容易預測的病蟲害加劇水稻生產風險。為了因應日益嚴苛的生產環境，抗、耐性水稻品種的選育顯得極為重要。分子標誌輔助選種是近年來廣泛應用的育種策略，在水稻方面已有許多成功的案例，較慣行譜系法可有效縮短 2~3 年的品系固定時間。在基因體分析技術方面，次世代定序以高速、高通量的方式進行核酸定序，大幅提升基因型分析的速度。除了分子標誌輔助選種、次世代

定序技術，最近興起的無人機遙測技術與自動化表型體設施，利用各式偵測儀器，高通量、客觀且精準地獲取植株外表型資訊，彌補目前農業勞動力的不足，搭配串聯基因型與外表型的全基因體關聯性分析與分子標誌輔助育種技術，以達成精準育種之終極目標。

生物與非生物逆境加劇生產風險

臺灣地處熱帶與亞熱帶之間，夏季氣溫高且雨水充沛，一年可以種植兩期水稻。然而，高溫多濕的環境恰巧也是病蟲害好發的條件。稻熱病為稻熱病菌所引發之真菌性病害，好發於第一期作水稻栽培期間，由於第一期作高溫多濕的栽

培環境，因此發病頻率高於二期作。根據統計，臺灣每年第一期作稻熱病受害面積約占稻作栽培面積的 7% ~ 24%。水稻白葉枯病係由細菌病原菌所引起，也是臺灣水稻主要流行病害之一；通常以第二期作發病頻率較為嚴重，近年來在兩期作均普遍發生，每年發病面積高達 1 萬公頃以上，並且有逐年增加的趨勢。在非生物性逆境上，高溫逆境已成為水稻減產的主要原因之一，尤在抽穗開花時期對溫度極為敏感，當氣溫高於攝氏 35°C 時會破壞花粉的活性，降低稔實率；夜間溫度的增加，導致植株呼吸作用加劇，穀粒充實不均，使得白堊質粒比率增加。臺灣氣溫的高溫期約於六至八月，正值第一期

水稻抽穗與成熟時期，因此高溫危害又以第一期作較為嚴重。

上述生物性逆境危害，雖然可以採行藥劑防治，但防治時機掌握不易推升生產成本；非生物性逆境所造成的損失，雖可透過栽培管理加以預防或改善，但也相對提高設備成本。因此，選育在全球暖化條件下仍具抗病性與耐高溫之水稻新品種乃最經濟有效的解決方法。

從基因體分析至表型體分析

不論是水稻種原探勘或是篩檢分離後裔，充分瞭解試驗材料的遺傳背景能加速新品種育成，基因體分析技術便是其中一項途徑。次世代定序為建構在第一代定序方法基礎上所開發出的新技術，大幅降低單一鹼基定序所需的成本，並且檢測不再受基因體的大小或多寡所限制。其基本操作流程主要可分為樣本庫製備、樣本庫擴增、定序反應及數據分析。目前擁有次世代定序技術

技術的代表性公司主要有 3 家，分別為 Illumina、Roche 與 Life Technologies，均可提供成熟代工基因型分析服務。

在遺傳資源評估利用方面，除了解植物的遺傳背景，精準地蒐集植株外表型資料也相當地重要。在植物領域中，表型體學泛指對植株所有外表性狀之系統性研究。傳統的植株外表型性狀調查多以肉眼觀察結合各種量測器具，消耗大量人力、時間且調查結果較為侷限單一特徵。近年來興起的自動化表型體分析技術具有高通量、節省人力及客觀等優點，能在短時間內系統性地蒐集植株外表型大數據資訊。目前許多國外私人公司已經致力於研發自動化作物表型體分析設施，如瑞典 (Crop Design, LemnaTech)、英國 (UK Plant Phenomics) 及法國 (PHENOARCH, INRA)。自動化作物表型體分析設施，根據掃描器與植株移動的模式可以分為兩大系統：龍門架位平臺與輸送帶系統。龍門架位平臺以掃

描器移動、植株不動的方式掃描下方植株外表形態，適用於大規模溫室及田間調查。輸送帶系統則是將掃描器固定、讓植株移動的方式，將植株經由輸送帶送入帶有感測器的裝置進行掃描。此系統的優點在於大幅降低環境變異對影像分析結果造成的誤差，缺點是造價昂貴，適用於小規模的溫室及生長箱。

除了自動化作物表型體分析設施，以遙控無人機 (UAV) 搭配各類型攝影機也是一種蒐集植株外表型資料的方式。近年來無人機技術已經大幅進步，相較於傳統的衛星影像，無人機所拍攝的影響解析度更高，其高機動性、負載能力能應用在非常多領域。目前無人機根據功能及結構可略分為固定翼、無人直升機及多軸飛行器三大類。固定翼的優點為續航力長、航速快，適合大範圍拍攝；缺點為無法懸停與垂直起降，需要較長的跑道給予起飛。無人直升機由於善於滯空懸停與垂直起

降，常應用於定點與中範圍的影像調查。多軸飛行器可滯空懸停與垂直起降，且相較於無人直升機穩定性更高，但缺點為續航力低，故適合小範圍影像調查。

彈性整合提高 跨平臺試驗資源

為了加速新品種的育成與分子標誌輔助選種操作的精確性，全基因體關聯性分析便是一個串聯次世代定序基因型分析、自動化表型體分析技術與無人機影像辨識資料之間不可或缺的技術。關聯性分析仰賴檢定整體種原族群中基因型頻度是否達到哈溫平衡關係，藉此在基因體中尋找影響目標性狀外表型變異有關聯的候選基因，以遍布在基因體中的分子標誌逐一掃描檢定，透過統計分析判讀各標誌內次群體性狀差異是否具顯著差異，分析具有顯著效應之位點並預測基因的性狀效應與變異解釋量。

目前能使用的分子標誌種類繁多，如單一核苷酸多

型性、簡單序列重複、限制片段長度多型性、增幅片段長度多型性及插入與缺失變異等。其中單一核苷酸多型性標誌在基因體上數量最豐富、自動化基因型分析程度高，減少人員仰賴程度、在時間與耗材成本上相對大幅精簡許多，因此應用層面最廣。

在統計分析方法學上，一般會使用廣義線性模型進行關聯性定位，將單一核苷酸多型性基因型資訊與外表型資料進行關聯性分析。然而，若目標作物具有明顯分化的族群結構與親緣關係，則須改使用混合線性模型對兩背景因子進行校正，降低偽關聯的情形發生。植株材料方面，全基因體關聯性分析會蒐集來自世界各地的品系，避免族群遺傳背景過於相似。如此龐大的定序分析量以第一代定序技術操作會消耗大量的金錢與人力，因此在次世代定序技術出現後，提升了全基因體關聯性分析研究的便利性，兩者相輔相成。

選育明確遺傳組成的 優良品系

分子標誌輔助選種是近年來已導入於作物育種中相當成熟的技術，該技術利用遍布於作物基因組中的分子標誌作為偵測目標基因型的工具，可提早於作物苗期，利用分子標誌偵測雜交後裔是否帶有目標基因，減少後裔檢定的程序或數量，有效縮短新品種育成時間，且不易受外在環境影響。其中，分子標誌與目標基因座的關係大致可分為連鎖性標誌與功能性標誌。連鎖性標誌是指該類分子標誌與目標基因座的兩側，仍有發生互換的機率，可作為篩檢重組體後裔或採用兩側包夾導入選拔，避免單側選拔而有重組誤判狀況。而功能性標誌則位於目標基因上，遺傳距離為零，不僅可用於篩選分離後裔，亦可用於種原族群篩檢適當雜交親本使用。

農業試驗所稻作研究室於二〇一八年將菲律賓秈稻 IR24 帶有不同白葉枯病

抗性判別品系 (IRBB 系列品系) 分別栽培於露天環境與高溫逆境篩選圃 (白天溫度設定 39°C) 情境下 (圖 1), 分別以 XF116 與 XE2 兩白葉枯病流行菌株進行接種, 同步評估病勢發展, 並觀察已知抗性基因是否隨高溫處理而改變抗性反應。在植株遺傳背

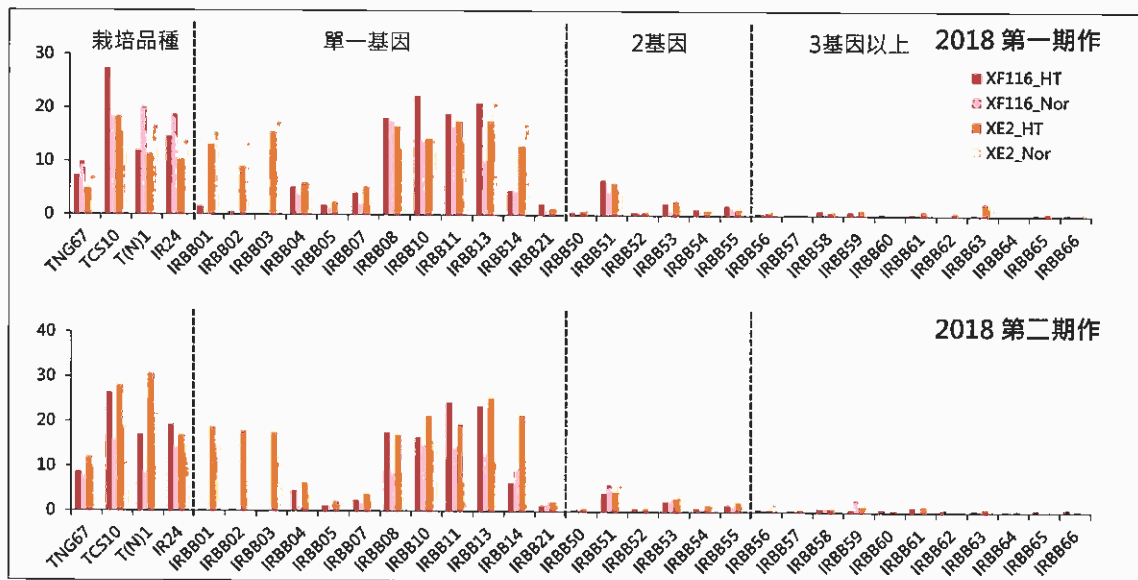
景方面, 以抗性基因功能性標誌檢測各判別品系之抗病基因型, 確認抗性品系間的抗性組合與堆疊數量。不論是一般露天環境還是暖化情境下, 從 IRBB 系列品系之抗病表現可見 (圖 2), 除了 IRBB5、IRBB7 與 IRBB21 品系各帶有 [xa5] 基因需斜體、

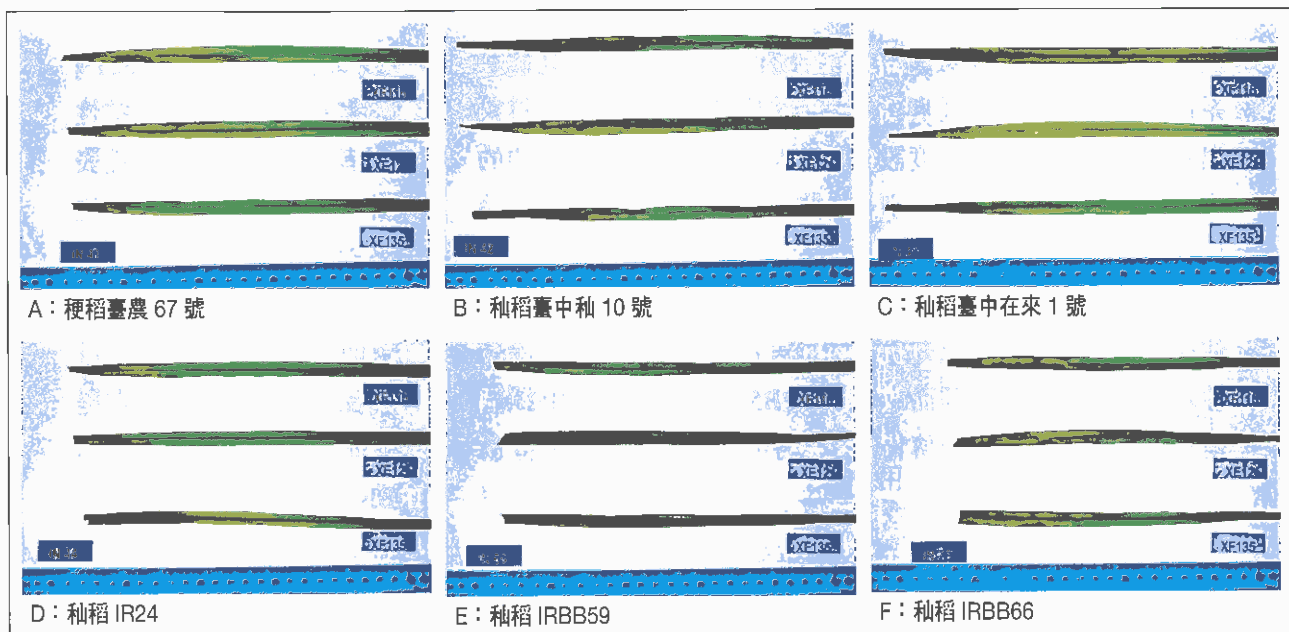
[Xa7] 基因需斜體與 [Xa21] 基因需斜體等單一主效抗性基因者尚能維持良好抗性表現外, 大多栽培品種及單抗品系對 2 個高致病力流行菌株 (以 XE2 尤之) 均呈現敏感性, 而堆疊 2 個抗性基因以上的品系, 抗病性則明顯提升, 堆疊 3 基因以上者如秈稻 IRBB59 與 IRBB66 則表現更佳 (圖 3), 且不論露天或高溫環境均可維持穩定的抗病表現, 兩期作有相仿的結果。



←圖1. 2018年二期作於高溫環境下白葉枯病發病篩選圃

↓圖2. IRBB 判別品種與栽培品種對 2 個主流菌群 (XF116、XE2) 之病勢表現。其中 Nor 代表露天栽培環境, HT 代表高溫栽培環境





↑圖 3. 對照品種稉稻臺農 67 號、臺中秈 10 號、臺中在來 1 號與 IRBB 判別品系 (IR24, IRBB59 與 IRBB66) 分別接種 XE116、XE2 與 XE135 菌株後的 21 天病斑影像紀錄

而溫度對於抗病性的影響，從高溫處理與慣行栽培的白葉枯病病斑趨勢，可見栽培品種及僅具單一基因之品系在高溫情境下病斑普遍較高，顯示溫度上升會降低植株對白葉枯病的抵抗力，除了 *xa5*、*Xa7*、*Xa21* 等特定抗性基因在高溫環境下仍可表現優良抗性。再者，利用多型性分子標誌檢測是否帶有目標抗性基因能提早確定植株之遺傳背景，加速試驗流程之進行；而堆疊多個抗病基因之品系則能維持優

良且穩定的抗性，顯示回交及分子標誌輔助選拔導入帶有多個抗性基因的品系可應對氣候變遷維持穩定抗性。

結語

臺灣作物品種育種研發成本相當高，平均一個新品種需要花上 8~10 年的育成時間與巨大人力、物力成本。次世代定序技術的發展讓我們能更迅速地了解作物的遺傳背景，無人機遙測技術與自動作物表型體分析能更精確地蒐集作物的外表型資

訊，並利用全基因體關聯性分析技術將所蒐集到的基因型資訊與外表型資訊進行串聯，最後將結果藉由分子標誌輔助選種導入優良品種，可提升育種效率、縮短育種年限，也使田間資源應用更具彈性。目前已經有許多研究單位投入抗耐逆境水稻新品種的育成，期望以精準育種之策略，選出具有明確遺傳組成的新品系，緩解氣候變遷、有效減少生產風險，創造農民福祉。

