

精準育種在蔬菜產業之應用與潛力

潘怡君

國立中興大學園藝系

icp@dragon.nchu.edu.tw

摘要

傳統育種常培育天然突變株的雜交後代並進行外表型的選拔。與傳統育種相比，分子標誌輔助育種利用雜交育種作物之基因型進行篩選，提高篩選的精準度。基因轉殖育種可以精準導入目標性狀，但無法控制外來基因在染色體的位置。CRISPR基因編輯可在特定部位嵌入外源基因達到精準基因轉殖效果，也可育成不含外來基因，在染色體特定位點創造與天然變異無差異的植物，後者歸類為SDN1 (Site-Directed Nuclease 1) 類型產品。基因編輯技術可同時編輯多個基因，突破物種障礙、也是多倍體作物的育種利器，已被應用於增加作物產量、提高環境耐受性、延長保鮮儲藏、改善營養成分和提高食物安全性等面向。未來，基因編輯技術將可望推動設計育種，並有助於永續農業的發展。由於基因編輯技術成本低且應用潛力巨大，加上大部分國家已將SDN1類型產品豁免於基因改造管理法則之外，已成為許多國家的重點發展項目。地球暖化已對人類環境與生存構成明顯的威脅，善用各種育種方法將有助於改善環境問題並提高生活品質。

關鍵字：精準育種、基因編輯、群聚且規律性間隔短回文重複序列

前言

一般認為精準育種是指利用基因編輯技術進行育種，但廣義而言，分子標誌輔助育種、基因轉殖、與基因編輯等不同育種方法，各有其優缺點與適用範圍，及在育種上的精準之處。本文以基因體改變之角度討論各種育種方法在精準育種中扮演之角色與適用範疇，並介紹基因編輯在蔬菜育種之現況與未來展望。

內容

(一) 育種與精準育種

傳統育種依賴自然界中具優良性狀的

天然突變植株作為育種材料，現代作物往往是基因體經過大規模突變的產物，如水稻IR64的基因體是由大量染色體重組、轉置、倒置、缺失或插入等突變而來 (Potrykus, 2013)。然而，天然突變植株中只有少數具備有利於育種的性狀，因此育種學家常使用放射線或EMS藥劑進行誘變，增加突變數量，以創造有利於人類福祉的育種材料。傳統育種主要依賴外表性狀進行選擇，對大多數材料的突變位點、突變數量、影響基因及代謝情形尚不清楚，但因其歷史悠久，無安全疑慮，廣受大眾接受。

育種者利用適當的突變材料進行人為雜交、篩選、繁殖，培育新品種。但植物



外表性狀易受環境影響，篩選過程耗費大量人力、時間與空間成本。近年來次世代定序技術與智慧農業技術的成熟 (Metzker, 2010)，可幫助育種者更有效率而精準的獲得外表型與基因型的資訊。基因型定序分析 (genotyping by sequence; GBS) 和轉錄體技術可幫助開發單核苷酸多態性 (single nucleotide polymorphisms; SNP) 等多種分子標誌，有助於鑑定與性狀相關的基因座或數量基因 (林, 2020；Salvi and Tuberrosa, 2015；Serin et al., 2017)。光學影像技術結合演算法開發的自動化表型分析平臺，以非侵入方式提供植物外表性狀資訊(林, 2023)。再利用全基因組關聯性分析 (genome wide association study; GWAS) 進行基因型與外表型之相關性鑑定 (黃, 2023)，快速精準開發分子標誌。分子標誌輔助育種 (marker assisted selection ; MAS) 與傳統育種同樣利用植物雜交方式，但可避免傳統育種利用植物外觀篩選造成的偏差與耗時，達到精準篩選目標性狀植株之效果 (古, 2023)。

基因轉殖利用農桿菌或基因槍將目標基因轉殖到植物細胞染色體中，創造插入突變。傳統雜交育種受限於可雜交族群中的突變性狀，若無法發現目標性狀突變株，無法達成育種目標。基因轉殖的基因可來自任何物種，導入族群中不存在的目標性狀，擴展育種目標，擴增抗病蟲、提升營養成分或機能性成分、創造雄不稔、提高耐逆境、固氮、光合作用等能力，或生產疫苗、酵素或醫用材料等，對永續農業與淨零排碳議題做出重要貢獻 (杜, 2023)。基因轉殖在染色體中創造一段外來DNA插入突變，可確定突變數量與位置，可精準創造目標性狀，但無法控制外來基因插入位點。

基因編輯利用RNA與蛋白質精準改變染色體特定位點，染色體改變狀況與天然

突變相同，例如單位點鹼基變異、DNA缺失、DNA插入等。基因編輯育種可突破傳統育種的物種障礙問題，與基因轉殖無法精準改變多倍體染色體之限制，達到精準育種之目的。以抗白粉病育種為例，大麥的天然突變株 *mlo* 對抗白粉病有極佳抗性，1979年已利用 *mlo* 突變株育成抗白粉病商業品種大麥 (Lyngkjær, 2000)。但因大麥與小麥無法雜交，無法將大麥抗白粉病性狀導入小麥。小麥是異元六倍體，基因體龐大，基因轉殖無法精準同時破壞三個基因座上的MLO (Mildew resistance locus o 1) 基因，基因編輯可同時編輯多倍體中的多條染色體，造成小麥所有MLO基因突變，產生抗白粉病效果 (Wang, 2014)。

基因編輯可在特定部位嵌入外源基因達到精準基因轉殖效果，也可育成不含外來基因，在染色體特定位點創造與天然變異無差異的植物。目前除了紐西蘭與歐盟之外，大部分國家將未含外來基因的SDN1基因編輯植株 (歐盟視為New Genomic Techniques；NGT1) 豁免於基因改造管理法則之外，改以報備或早期諮詢等方式進行管理 (林, 2023)；歐洲議會於2024年2月表決通過NGT倡議法案，將NGT1類型基因編輯植株經資料提交及查證後，適用等同傳統植物管理 (Katsarova, 2024)。以傳統植物管理法則管理不含外來基因的SDN1基因編輯植株成為趨勢，2012年發表的CRISPR基因編輯技術可精準編輯多個基因、育種快速且花費低，是中小型企業負擔得起的技術，全球多國將基因編輯列入國家發展重點政策，積極發展。

(二) 基因編輯在蔬菜產業的應用與潛力

1. 提高產量與改變性狀

面對全球糧食需求的不斷增長，特別是聯合國預測到2050年全球人口將超過90億，需要增產七成的糧食才能滿足需求，而全球

可耕地卻在不斷減少。基因編輯技術為提高作物產量和品質提供了直接有效的解決方案。利用基因編輯技術，科學家們已經鑑定出SlCLV3 (Clavata3) 和SlWUS (Wuschel) 基因，這些基因可以增加番茄的子房數量和果實大小 (Rodríguez-Leal, 2017)。此外，編輯OVATE基因可以調控番茄果實的橢圓形狀，編輯FAS (fasciated)基因可以使果實大小增加三倍，編輯FW2.2 (fruit weight 2.2)基因可以增加果實重量，編輯MULT (multiflora) 基因可以增加果實數量 (Zsögön et al., 2018)。編輯SlAGO7 (ARGONAUTE7) 基因可以讓番茄的葉形趨向針狀 (Brooks et al., 2014)。編輯M1035 (Male Sterile 1035) 和GSTAA (Glutathione S-Transferase) 基因可以育成雄不稔的番茄植株，有助於種苗產業的雜交種子生產 (Liu et al., 2021b)。

2. 採後保鮮與延長儲架壽命

全球園藝產品耗損率平均為45%，控制果實後熟時間等採後保鮮技術可以延長園產品的儲架壽命，減少已生產糧食的耗損，也是另一種面向的增加糧食。編輯番茄的NOR (NAC TF non-ripening)、CNR (SBP-box colorless non-ripening) 或NAM1 (No apical meristem1) 基因可以延緩番茄後熟時間 (Gao et al., 2019 ; Gao et al., 2021)，編輯MIR164A 可以藉由調控SINAM2、SINAM3 (No apical meristem1/2) 加速番茄果實成熟 (Lin et al., 2022)。園產品在儲藏或食用過程產生的褐化多半是由多酚氧化酶 (Polyphenol oxidase; PPO) 催化多酚的氧化引起的。利用基因編輯技術編輯馬鈴薯和茄子的PPO基因可以降低馬鈴薯塊莖中69%的酵素活性，73%的褐化現象，在茄子與馬鈴薯中均顯著減少褐化 (González et al., 2020 ; Maioli et al., 2020)。突變蘑菇的PPO基因使多酚氧化酵素活性降低30%，減緩褐化速度而延長儲架壽命的蘑

菇於2016年在美國上市 (Waltz, 2016)。

3. 增加對環境耐受性

氣候變遷帶來的極端氣候，如高溫、寒害、缺水、淹水等，對作物栽培和生產構成了嚴峻挑戰，基因編輯技術可以提高作物對這些環境壓力的耐受性。例如，編輯番茄的CPK28 (Calcium-dependent protein kinase 28) 基因和HKT1;2 (High-affinity potassium transporter 1;2) 基因可以分別提升番茄的耐熱和耐鹽能力 (Hu et al., 2021 ; Vu et al., 2020)。編輯GRXS14/15/16/17 (CGFS-type glutaredoxin 14/15/16/17) 基因可以提升番茄對高溫、低溫、乾旱、重金屬毒性和營養不足等多重逆境的抗性 (Kakeshpour et al., 2021)。編輯RBOHD基因可以降低根部的過氧化氫和鉀離子含量，進而提高南瓜的抗鹽能力 (Huang et al., 2019)。

4. 提高抗病蟲害能力

極端氣候條件也加劇了病蟲害的危害，這些生物性和非生物性因素對植物生長和產量都有重大影響。基因編輯技術可以提升植物對不同逆境或多重逆境的抗性。編輯番茄的Pelo (pelota)、Mlo1 (Mildew resistance locus o 1)、DMR6-1 (Downy mildew resistance 6)、和MYBS2 (MYB transcription factor S2) 基因，可以分別獲得抗番茄黃化曲葉病毒 (Tomato Yellow Leaf Curl Virus, TYLCV)、白粉病、露菌病和晚疫病的番茄突變株 (Pramanik et al., 2021 ; Thomazella et al., 2016 ; Thomazella et al., 2021 ; Liu et al., 2021b)。編輯黃瓜的eIF4E基因可以造RNA病毒在細胞內轉譯功能障礙而無法複製，進而提高對CYYV (Cucumber vein yellowing virus)、ZYMV (Zucchini yellow mosaic virus)、PRSV-W (Papaya ring spot mosaic virus-W) 等病毒的抗性，育成廣效性抗病毒的黃瓜 (Chandrasekaran et al., 2016)。



5. 改善營養成分提高價值

基因編輯技術還可以改變作物的營養成分，從而提高其營養價值和經濟價值，或提供藥用或工業用原料。例如，編輯CYC-B/CycB (Lycopene beta cyclase) 基因可以大幅提高番茄的茄紅素含量 (Hunziker et al., 2020；Zsögön et al., 2018；Li et al., 2018)，編輯GF (Greenflesh/Staygreen) 基因可以提高番茄果實的類胡蘿蔔素含量 (Gianoglio et al., 2022)，而編輯PHO基因可以提高番茄果實的花青素含量 (Zhao et al., 2019)。編輯SlALMT9 (Al-activated malate transporter 9) 和INVINH1 (Invertase inhibitor 1) 基因可分別提高番茄果實的蘋果酸與糖含量(Kawaguchi et al., 2021；Ye et al., 2017)。編輯GAD2/3 (Glutamate Decarboxylase 2/3) 基因可以將番茄的GABA含量提高7-15倍，高GABA番茄已於2020年在日本上市 (Nonaka et al., 2017)。編輯地瓜的IbGBSSI (granule-bound starch synthase I) 或IbSBEII (starch-branching enzyme II) 基因可以增加地瓜的澱粉含量(Wang et al., 2019)。

油品質與成分對人體健康具有重要影響，和作為再生能源之原料之潛力。基因編輯技術可以提高油品中的單元不飽和脂肪酸含量，這種脂肪酸比多元不飽和脂肪酸更穩定，耐高溫且抗氧化，高油酸有助於降低膽固醇和血壓，預防心血管疾病。編輯亞麻子和油菜的FAD2 (fatty acid desaturases 2) 基因可以提高這兩種作物的油酸含量 (Morineau et al., 2017；Okuzaki et al., 2018)，編輯FAE1 (Fatty Acid Elongase1) 基因可以降低亞麻子60%的長鏈脂肪酸 (Ozseyhan et al., 2018)，編輯BnSFAR4 (seed fatty acid reducer 4) 和BnSFAR 5(seed fatty acid reducer 5) 基因可以提高油菜種子的含油量 (Karunarathna et al., 2020)。

6. 提高食物安全性

某些蔬果含有天然有害物質，如攝取過量可能對人體造成不良的影響，利用基因編輯調整植物的代謝途徑可減少有害物質提高食物安全性。例如，馬鈴薯含有配糖生物鹼 (steroidal glycoalkaloids；SGAs)，這些物質在花和花芽中含量最高，塊莖中含量相對較低，但仍有一定毒性，過量食用會引發口腔灼熱、噁心腹瀉、呼吸困難等症狀 (Friedman, 2006)。利用CRISPR技術編輯馬鈴薯的St16DOX基因，使四倍體馬鈴薯的所有St16DOX (16α -hydroxylase) 基因突變，完全檢測不到配糖生物鹼 (Nakayasu, 2018)，提高了馬鈴薯的食物安全性，減少了潛在的健康風險。

7. 設計育種

傳統育種與現代育種去除許多對商業不利性狀，基因庫窄化，生物多樣性降低 (Louwaars, 2018；Rauf et al., 2010)。成功商業品種須兼顧栽培方便性、產量、果實大小顏色、方便採收、儲藏運輸等面向，有時風味在育種過程中被犧牲。佛羅里達大學團隊收集398種番茄品種，百人試吃後鎖定30種消費者喜好風味物質，發現市售番茄缺少13種，包括香葉基丙酮 (geranylacetone)、甲基庚烯酮(6-methyl-5-hepten-2-one)、與愈創木酚 (guaiacol)。利用GWAS鑑定這些風味物質基因位於染色體3與染色體9 (Tieman et al., 2017)。未來可利用商業品種番茄直接編輯多個基因，育出具有特定風味且符合商業利益之番茄品種。

結語

全球暖化下各地的極端氣候發生頻率逐漸增加，永續農業與淨零排碳成為全世界重要的課題，若不能及時控制地球溫度劇烈的環境變化可能會帶來嚴重的後果，應當善用各種科技以解決重要問題。包含分子標誌

輔助育種、基因轉殖與基因編輯等精準育種技術將有助於改善糧食、健康、永續、環保等議題。其中基因編輯技術可以不導入外來基因而突破許多育種限制而達到設計育種的目的，大部分國家已將之豁免於基因改造管理法則之外，並列為國家重點研發和發展領域，提升其研發能量與全球性商業布局。臺灣育種能力享譽國際，然而園藝作物的基因編輯仍有基因轉殖系統建立、基因與基因體資訊不足、與研究與產業鏈結等技術或實務上的瓶頸，需要產官學研的共同努力，如能善用新興科技進行前瞻性的佈署，將有機會再創下一個臺灣奇蹟。

參考文獻

- 古新梅. 2023. 分子標誌育種原理與技術介紹及應用. 精準育種科技之應用及發展. Pp 5-21.
- 杜宜殷. 2023. 作物基因轉殖技術介紹及應用. 精準育種科技之應用及發展. Pp 105-129.
- 林奐好. 2023. 基因改造與基因編輯之法規規範. 精準育種科技之應用及發展. Pp 449-463.
- 林耀正. 2020. 轉錄體學分析技術於作物之應用. 前瞻基因體學技術於農業領域之研發應用與展望. Pp 167-185.
- 林耀正. 2023. 自動化作物表形體分析平臺介紹及應用. 精準育種科技之應用及發展. Pp 197-225.
- 黃致閔、賴牧謙、高崇峰. 2023. 全基因組關聯分析原理與技術介紹及應用. 精準育種科技之應用及發展. Pp 22-51.
- Brooks, C., Nekrasov, V., Lippman, Z. B., Van Eck, J. 2014. Efficient gene editing in tomato in the first generation using the clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated9 system. *Plant Physiol.* 166:1292-1297.
- Chandrasekaran, J., Brumin, M., Wolf, D., Leibman, D., Klap, C., Pearlsman, M., Sherman, A., Arazi, T., & Gal-On, A. 2016. Development of broad virus resistance in non-transgenic cucumber using CRISPR/Cas9 technology. *Molecular Plant Pathology* 17(7):1140-1153.
- Friedman, M. 2006. Potato glycoalkaloids and metabolites: role in the plant and in diet. *J. Agric. Food Chem.* 54:8855-8681.
- Gao, Y., Fan, Z. Q., Zhang, Q., et al. 2021. A tomato NAC transcription factor, SiNAM1, positively regulates ethylene biosynthesis and the onset of tomato fruit ripening. *Plant J.* 108 (5):1317-1331.
- Gao, Y., Zhu, N., Zhu, X. F., Wu, M., Jiang, C. Z., Grierson, D., et al. 2019. Diversity and redundancy of the ripening regulatory networks revealed by the fruit ENCODE and the new CRISPR/Cas9 CNR and NOR mutants. *Hortic. Res.* 6:39.
- González, M. N., Massa, G. A., Andersson, M., Turesson, H., Olsson, N., Fält, A. S., Storani, L., Décima Oneto, C. A., Hofvander, P., & Feingold, S. E. 2020. Reduced enzymatic browning in potato tubers by specific editing of a polyphenol oxidase gene via ribonucleoprotein complexes delivery of the CRISPR/Cas9 system. *Front. Plant Sci.* 10:1649.
- Hu, Z., Li, J., Ding, S. 2021. The protein kinase CPK28 phosphorylates ascorbate peroxidase and enhances thermotolerance in tomato. *Plant Physiol.* 186 (2):1302-1317.
- Huang, Y., Cao, H., Yang, L., Chen, C., Shabala,



- L., Xiong, M., Niu, M., Liu, J., Zheng, Z., Zhou, L., Peng, Z., Bie, Z., & Shabala, S. 2019. Tissue-specific respiratory burst oxidase homolog-dependent H₂O₂ signaling to the plasma membrane H⁺-ATPase confers potassium uptake and salinity tolerance in Cucurbitaceae. *J. Exp. Bot.* 70(20):5879-5893.
- Hunziker, J., Nishida, K., Kondo, A., Kishimoto, S., Ariizumi, T., Ezura, H. 2020. Multiple gene substitution by target-AID base-editing technology in tomato. *Sci. Rep.* 10:1-12.
- Karunaratna, N. L., Wang, H., Harloff, H. J., Jiang, L., & Jung, C. 2020. Elevating seed oil content in a polyploid crop by induced mutations in SEED FATTY ACID REDUCER genes. *Plant Biotechnol. J.*, 18(11), 2251-2266.
- Katsarova, I. 2024. Plants produced using new genomic techniques. European Parliamentary Research Service. Pp 1-12.
- Kawaguchi, K., Takei-Hoshi, R., Yoshikawa, I., Nishida, K., Kobayashi, M., Kusano, M., et al. 2021. Functional disruption of cell wall invertase inhibitor by genome editing increases sugar content of tomato fruit without decrease fruit weight. *Sci. Rep.* 11(1):21534.
- Li, X., Wang, Y., Chen, S., Tian, H., Fu, D., Zhu, B., et al. 2018. Lycopene is enriched in tomato fruit by CRISPR/Cas9-mediated multiplex genome editing. *Front. Plant Sci.* 9:559.
- Lin, D., Zhu, X., Qi, B., Gao, Z., Tian, P., Li, Z., et al. 2022. SiMIR164A regulates fruit ripening and quality by controlling SINAM2 and SINAM3 in tomato. *Plant Biotechnol. J.* 20 (8):1456-1469.
- Liu C., Zhang Y., Tan Y., Zhao T., Xu X., Yang H., et al. 2021a. CRISPR/Cas9-mediated SiMYBS2 mutagenesis reduces tomato resistance to phytophthora infestans. *Int. J. Mol. Sci.* 22 (21):11423.
- Liu, J., Wang, S., Wang, H., Luo, B., Cai, Y., Li, X., et al. 2021b. Rapid generation of tomato male-sterile lines with a marker use for hybrid seed production by CRISPR/Cas9 system. *Mol. Breed.* 41:25.
- Louwaars, N. P. 2018. Plant breeding and diversity: A troubled relationship? *Euphytica*, 214(7):114.
- Lyngkjær, M. F., Newton, A. C., Atzema, J. L., Baker, S. J. 2000. The Barley mlo-gene: an important powdery mildew resistance source. *Agronomie*, 20:745-756.
- Maioli, A., Gianoglio, S., Moglia, A., Acquadro, A., Valentino, D., Milani, A. M., Prohens, J., Orzaez, D., Granell, A., Lanteri, S., & Comino, C. 2020. Simultaneous CRISPR/Cas9 editing of three PPO genes reduces fruit flesh browning in *Solanum melongena* L. *Front. Plant Sci.* 11:607161.
- Metzker, M. L. 2010. Sequencing technologies - the next generation. *Nat. Rev. Genet.* 11:31-46.
- Morineau, C., Bellec, Y., Tellier, F., Gissot, L., Kelemen, Z., Nogué, F., & Faure, J. D. 2017. Selective gene dosage by CRISPR-Cas9 genome editing in hexaploid *Camelina sativa*. *Plant Biotechnol. J.* 15(6):729-739.
- Nakayasu, M., Akiyama, R., Lee, H. J., Osakabe, K., Osakabe, Y., Watanabe,

- B., Sugimoto, Y., Umemoto, N., Saito, K., Muranaka, T., Mizutani, M. 2018. Generation of α -solanine-free hairy roots of potato by CRISPR/Cas9 mediated genome editing of the St16DOX gene. *Plant Physiol. Biochem.* 131: 70-77.
- Nonaka, S., Arai, C., Takayama, M., Matsukura, C., Ezura, H. 2017. Efficient increase of -aminobutyric acid (GABA) content in tomato fruits by targeted mutagenesis. *Sci. Rep.* 7:7057.
- Ozseyhan, M. E., Kang, J., Mu, X., & Lu, C. 2018. Mutagenesis of the FAE1 genes significantly changes fatty acid composition in seeds of *Camelina sativa*. *Plant Physiol. Biochem.* 123:1-7.
- Potrykus, I. 2013. Genetic modification and the public good. *European Review*, 21, S68-S79.
- Pramanik, D., Shelake, R. M., Park, J., Kim, M. J., Hwang, I., Park, Y., et al. 2021. CRISPR/Cas9-mediated generation of pathogen-resistant tomato against tomato yellow leaf curl virus and powdery mildew. *Int. J. Mol. Sci.* 22 (4):1878.
- Rauf, S., da Silva, J., Khan, A., Naveed, A. 2010. Consequences of plant breeding on genetic diversity. *Int. J. Plant Breed.* 4(1):1-21.
- Rodríguez-Leal, D., Lemmon, Z. H., Man, J., Bartlett, M. E., Lippman, Z. B. 2017. Engineering quantitative trait variation for crop improvement by genome editing. *Cell* 171:470-480.
- Salvi, S., and Tuberrosa, R. 2015. The crop QTLome comes of age. *Curr. Opin. Biotechnol.* 32:179-185.
- Serin, E. A., Nijveen, H., Hilhorst, H. W., and Ligterink, W. 2016. Learning from co-expression networks: possibilities and challenges. *Front. Plant Sci.* 7:444.
- Thomazella, D., Brail, Q., Dahlbeck, D., Staskawicz, B. 2016. CRISPR-Cas9 mediated mutagenesis of a DMR6 ortholog in tomato confers broad-spectrum disease resistance. *BioRxiv* 064824.
- Thomazella, D., Seong, K., Mackelprang, R., Dahlbeck, D., Geng, Y., Gill, U. S., et al. 2021. Loss of function of a DMR6 ortholog in tomato confers broad-spectrum disease resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 118 (27):e2026152118.
- Tieman, D., Zhu, G., Resende Jr, M. F. R., Lin, T., Nguyen, C., Bies, D., Rambla, J. L., Beltran, K. S. O., Taylor, M., Zhang, B., Ikeda, H., Liu, Z., Fisher, J., Zemach, I., Monforte, A., Zamir, D., Granell, A., Kirst, M., Huang, S., Klee, A. H. 2017. A chemical genetic roadmap to improved tomato flavor. *Sci.* 355:391-394.
- Vu, T. V., Sivankalyani, V., Kim, E. J., Doan, D., Tran, M. T., Kim, J. 2020. Highly efficient homology-directed repair using CRISPR/Cpf1-geminiviral replicon in tomato. *Plant Biotechnol. J.* 18 (10):2133-2143.
- Waltz, E. 2016. Gene-edited CRISPR mushroom escapes US regulation. *Nature*, 532(7599):293.
- Wang, H., Wu, Y., Zhang, Y., Yang, J., Fan, W., Zhang, H., Zhao, S., Yuan, L., & Zhang, P. 2019. CRISPR/Cas9-based mutagenesis of starch biosynthetic genes in sweet potato (*Ipomoea Batatas*) for the improvement of starch quality. *International Journal of*



- Molecular Sciences, 20(19), 4702.
- Wang, Y., Cheng, X., Shan, Q., Zhang, Y., Liu, J., Gao, C., Qiu, J. L. 2014. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nat. Biotechnol.* 32:947-951.
- Ye, J., Wang, X., Hu, T., Zhang, F., Wang, B., Li, C., Yang, T., Li, H., Lu, Y., Giovannoni, J. J., Zhang, Y., & Ye, Z. 2017. An InDel in the promoter of Al-ACTIVATED MALATE TRANSPORTER9 selected during tomato domestication determines fruit malate contents and aluminum tolerance. *The Plant Cell*, 29(9):2249-2268.
- Zhao, P., You, Q., Lei, M. 2019. A CRISPR/Cas9 deletion into the phosphate transporter SIPHO1;1 reveals its role in phosphate nutrition of tomato seedlings. *Physiol. Plant* 167 (4):556-563.
- Zsögön, A., Čermák, T., Naves, E. R., Notini, M. M., Edel, K. H., Weinl, S., et al. 2018. De novo domestication of wild tomato using genome editing. *Nat. Biotechnol.* 36:1211-1216.

Application and Potential of Precision Breeding in the Vegetable Industry

I-Chun Pan

Horticulture Department, National Chung Hsing University
icp@dragon.nchu.edu.tw

Abstract

Traditional breeding typically involves selecting phenotypes from the hybrid offspring of natural mutants. Compared to traditional breeding, marker-assisted selection uses the genotype of hybrid crops for selection, improving the accuracy of screening. Genetic transformation breeding can precisely introduce target traits but cannot control the insertion site of foreign genes on chromosomes. In contrast, CRISPR gene editing can insert foreign genes at specific locations to achieve precise genetic transformation. It can also produce plants that do not contain foreign genes and create mutations indistinguishable from natural variations at specific chromosomal sites, classified as SDN1-type plants. Gene editing technology can edit multiple genes simultaneously, overcoming species barriers and serving as a powerful tool for breeding polyploid crops. It has been applied to increase crop yields, enhance environmental tolerance, extend shelf life, improve nutritional content, and increase food safety. In the future, this technology is expected to facilitate design breeding and contribute to sustainable agriculture. Due to the low cost and immense potential of gene editing technology, along with the exemption of SDN1-type products from genetic modification regulations in most countries, gene editing has become a key development focus for many nations. Global warming poses a significant threat to human environments and survival. Effective use of various breeding methods will help address environmental issues and improve the quality of life.

Key Words: Precision Breeding, Genome Editing, CRISPR

