

出國報告 (出國類別:考察)

新興技術-微生物體學(Microbiome)  
於營造洛神葵有機友善環境耕作  
之應用研究

服務機關:行政院農業委員會臺東區農業改良場

姓名職稱:王誌偉助理研究員

派赴國家/地區:美國/堪薩斯州曼哈頓

出國期間:108年11月23日至108年12月11日

報告日期:109年2月3日

# 摘要

本次出國行程赴美國堪薩斯州立大學生物學系 Sonny T.M. Lee 助理教授實驗室參訪，學習 Lee 教授在土壤微生物菌相的研究專長與經驗，從實驗計畫的構思、材料的取得、試驗設計、使用的相關技術、實驗方法與資料分析等全方面的學習，以期未來將其經驗與技術應用於營造洛神葵等作物有機與友善耕作的土壤環境等相關研究。Lee 教授提點我們常用的 16S rRNA 基因來進行環境微生物體學的技術(以下簡稱 16S)有其限制，因為 16S 只有看微生物基因體的特定片段，所以能看到的環境微生物的解析度較低，只能知道樣本中哪個微生物屬等級分類地位的種類比較多或比較少，對於想要了解更精確的微生物菌種，這樣的資訊已經不夠了，並建議我們未來的研究要納入 shotgun metagenomics 的方法。在 Lee 教授的協助分析本計畫所得到的微生物菌相資料，我們發現荖葉園可能因為長期施用化學農藥與化學肥料，導致田區土壤微生物相多樣性較實施有機耕作的田區貧乏。期間亦參訪了堪薩斯州立大學植物病理學系 Sanzhen Liu 副教授實驗室，了解該系所在植物病害相關之基礎研究與農業推廣工作之分工與教學等。從 Ari Jumpponen 教授的訪談學習到土壤微生物體學實驗的許多重要觀念與技巧，與 Thomas Platt 助理教授的討論得知拮抗細菌高通量快速篩選平台之研發。本次參訪行程收穫豐碩，可作為本場未來農業科技計畫研究方向之參考。

關鍵字:美國堪薩斯州立大學、微生物體學、土壤微生物相

## 內容

壹、目的.....	1
貳、行程.....	1
參、參訪內容.....	2
一、環境介紹.....	2
二、背景知識-環境基因體學(metagenomics)的概念.....	3
三、微生物相(microbiota)與植物病害的發生(摘錄自 Eric Kemen, 2014 之文章, 發表於 Current Opion in Plant Biology 20:75-81) ....	6
四、微生物體(microbiome)在作物抑病土的應用研究(摘錄自 Cha J.Y.等 人於 2016 的文章, 發表於 The ISME Journal 10:119-129) .....	7
五、世界土壤微生物相計畫(Earth Microbiome Project, EMP)(摘錄自 <a href="http://www.earthmicrobiome.org/">http://www.earthmicrobiome.org/</a> ).....	10
六、Konza Prairie Biological Station (KPBS), 堪薩大草原生物研究站 之介紹.....	11
七、Flint Hills Discovery Center 與 Big bluestem 之介紹 .....	13
八、Big Bluestem 的生態研究: 摘錄自 Gray M.M. 等人於 2014 年的研究, 發表於 Molecular Ecology 23:6011 - 6028 .....	15
九、Sonny T.M. Lee 教授實驗室研究之介紹 .....	17
十、環境基因體學研究流程與相關分析軟體介紹.....	19
十一、生物資訊分析與圖表製作-以洛神葵土壤根圈樣本之次世代定序資料 為例.....	22
十二、Sanzhen Liu 教授實驗室參訪 .....	23
十三、Ari Jumpponen 教授實驗室參訪 .....	24
十四、Thomas Platt 助理教授實驗室參訪.....	25
十五、當地消費與農產品訪查.....	26
十六、K-State Insect Zoo 堪薩斯州立大學昆蟲博物館參訪 .....	27
十七、後記.....	28
肆、心得及建議.....	29
伍、參考資料.....	30
陸、致謝.....	31

## 壹、目的

本次訪查為執行科發基金「提高農產品品質及櫥架壽命」之子計畫「新興技術-微生物體學(Microbiome)於營造洛神葵有機友善環境耕作之應用研究」，赴美國堪薩斯州立大學生物學系 Sonny T.M. Lee 助理教授實驗室參訪，學習 Lee 教授在土壤微生物菌相的研究專長與經驗，從實驗計畫的構思、材料的取得、試驗設計、使用的相關技術、實驗方法與資料分析等全方面的學習，以期未來將其經驗與技術應用於營造洛神葵等作物有機與友善耕作的土壤環境等相關研究。

## 貳、行程

日期	考察重點與地點
11月23日(六)	去程。臺灣(桃園國際機場)→韓國(仁川國際機場)→美國(達拉斯國際機場)→堪薩斯州(曼哈頓機場)
11月24日(日)	參訪堪薩斯州立大學校園
11月25日(一)	研習微生物體學於營造作物有機及友善環境耕作之應用相關研究(Dr. Sonny T.M. Lee 實驗室)
11月26日(二)	研習微生物體學之試驗設計方法(Dr. Sonny T.M. Lee 實驗室)
11月27日(三)	研習微生物體學之土壤採樣方法(Dr. Sonny T.M. Lee 實驗室)
11月28日(四)	土壤 DNA 之萃取與實務操作(Dr. Sonny T.M. Lee 實驗室)
11月29日(五)	土壤 RNA 之萃取與實務操作(Dr. Sonny T.M. Lee 實驗室)
11月30日(六)	參觀 Konza Prairie Biological Station 堪薩大草原生物學研究站
12月1日(日)	參觀 Flint Hills Discovery Center
12月2日(一)	微生物體學相關技術與研究方法(Dr. Sonny T.M. Lee 實驗室)
12月3日(二)	微生物體學相關生物資訊分析技術(Dr. Sonny T.M. Lee 實驗室)
12月4日(三)	生物資訊分析-以洛神葵土壤根圈樣本之次世代定序資料為例(Dr. Sonny T.M. Lee 實驗室)

12月5日(四)	Sanzhen Liu 副教授實驗室參訪，KSU 植物病理學系，研究方向為以基因體學探討重要作物與植物病原菌之關係
12月6日(五)	Ari Jumpponen 教授實驗室參訪(專長為真菌與寄主之交互作用)
12月7日(六)	當地農場市集與超市農產品販售種類與價格調查
12月8日(日)	文獻閱讀與資料整理
12月9日(一)	微生物體學圖表製作與資料呈現(Dr. Sonny T.M. Lee 實驗室)
12月10日(二)	返程。堪薩斯州(曼哈頓機場) → 美國(達拉斯國際機場)
12月11日(三)	→ 韓國(仁川國際機場) → 臺灣(桃園國際機場)

## 參、參訪內容

### 一、環境介紹

堪薩斯州位於美國正中央，面積為 213,096 平方公里(約為臺灣的 5.89 倍)，但人口只有約 290 萬。一月平均氣溫約-5°C~5°C，夏季 21°C~33°C，年雨量 410-1,200 mm，特別是每年約有超過 275 天的晴天，是美國本土排名第 10 名日照最多的地區。研習期間氣溫最低約-6°C，最高約 12 °C，然當地因為濕度較低，室外氣溫 1°C 時的體感溫度跟臺灣霸王級寒流來時約 8 °C 的感覺差不多，中午有陽光時體感溫度可以達相當於臺灣的 16-18°C，大部分時間白天都是陽光普照，天空呈現一大片藍色。穿著上以一般冬天長袖穿著再加上一件較厚有帽子的防風外套即可。

堪薩斯州立大學(簡稱 KSU)為該州排名第二名的州立大學，於 1863 年成立，是美國知名百年大學之一，學生人數約 1.8-2.3 萬，素有公立長春藤名校之美譽，在世界大學的排名上約為第 471-480 名，於美國前 250 的大學排名約為第 163 名。KSU 因為歷史悠久，校內充滿花崗岩建造的百年建築與參天老樹，校園環境相當優美(圖 1)。

本次參訪的對象-Sonny T.M. Lee 助理教授，服務於 KSU 的生物學系，系館的外觀如圖 2，是一棟很有歷史的建築。Lee 教授將實驗室依使用功能區分為 3 間，包含生物資訊、微生物學、分子生物學三間實驗室，分別進行資料分析、微生物培養、與核酸萃取等分子生物學實驗。其實美國很多大學的實驗室都很老舊，包括筆者參觀過的長春藤名校-康乃爾大學昆蟲學系，其實實驗室環境與設備跟筆者看過的本國的國家衛生研究院、中央研究院、高雄區農業改良場或是本場的實

驗室，設備環境並沒有比較高級或特別，但是這些地方還是可以把研究做得很好，讓我們省思要更加珍惜自己擁有的好的工作環境。



圖 1、堪薩斯州立大學校內充滿花崗岩建造的百年建築與參天老樹，校園環境相當優美



圖 2、KSU 生物學系之系館



圖 3、KSU 生物學系之系館大門



圖 4、Sonny T.M. Lee 教授生物資訊實驗室

## 二、背景知識-環境基因體學(metagenomics)的概念

要了解什麼是環境基因體學要先知道 microbiota(微生物相)的定義，microbiota 泛指「一群」棲息在植物或動物體內部與表層，或是環境中（例如土壤、深海、居住物等），肉眼看不見的微小生物。這些微小生物包括了細菌、真菌、病毒或原生生物，其與宿主之間發展出互利共生（symbiosis）、片利共生

(commensalism) 或致病 (pathogenesis) 關係。環境基因體學(Metagenomics) 指的是研究從環境中獲取的基因體遺傳物質，從土壤、水、人體腸道組織或甚至外太空等環境中萃取微生物的核酸物質，經過大量的定序與生物資訊分析後，以了解這些微生物的菌種組成與比例等資訊(圖 5)。Metagenomics 可以用 targeted metagenomics 和 shotgun metagenomics 兩種方法，以次世代定序為基礎來進行研究，研究的步驟如圖 6 所示。Targeted metagenomics 的方法是先利用聚合酶連鎖反應(PCR)將微生物基因體特定區域的片段專一性增幅後進行定序，例如最常使用的是微生物 16S rRNA 基因，shotgun metagenomics 則是將環境微生物 DNA 萃取出來後，直接將 DNA 片段打碎成小片段後進行定序，最後再將小片段組合成各個微生物的基因體，能提供的資訊較為完整，可以知道該微生物在群體中的生物功能為何。Lee 教授認為我們常用的 16S rRNA 基因來進行環境微生物體學的技術(以下簡稱 16S)已經有點過時了，因為 16S 只有看微生物基因體的特定片段，所以能看到的環境微生物的解析度太低，頂多只能知道樣本中哪個微生物屬等級分類地位的種類比較多或比較少，對於頂尖期刊來說，這樣的資訊已經不夠了，他認為要用 shotgun metagenomics 的方法才是未來趨勢。簡單舉例，美國菌種保存中心(ATCC)收集的大腸桿菌菌株有多達 30 多株標準菌株，其中有些具致病性有些則沒有，如果只用 16S 的方法來看這些菌株，結果會全部都一樣，沒有鑑別力。但是如果用 shotgun metagenomics 的方法，就有辦法區分樣本中的大腸桿菌是否為具有致病力的菌株，也就是可以知道環境微生物中確切哪個微生物種或種以下的分類地位(例如品系， strain)扮演重要角色，但是要真正做到 shotgun metagenomics 要花較大的成本進行更高通量的次世代定序，礙於成本問題，能分析的樣本數量較少，而且需要的生物資訊處理能力更高，所以其實兩種方法各有其優缺點。Lee 教授建議進行研究時可以先收集好大量樣本，利用 16S 進行初步分析，如果看到值得進行 shotgun metagenomics 的樣本時，可再進一步深入研究。另一個常見的名詞-微生物體(Microbiome)一詞源自 metagenome，在 2001 年由微生物學家 Joshua Lederberg (1958 年諾貝爾獎生醫獎得主) 建議使用：凡是以「基因體」為角度論述微生物相即可稱為微生物體。簡單來說環境中形形色色的微小生物們形成的生態群落稱為 microbiota，若利用序列分析方法，將這些微生物集體基因組定義，則另稱為微生物體(microbiome) (圖 7)。

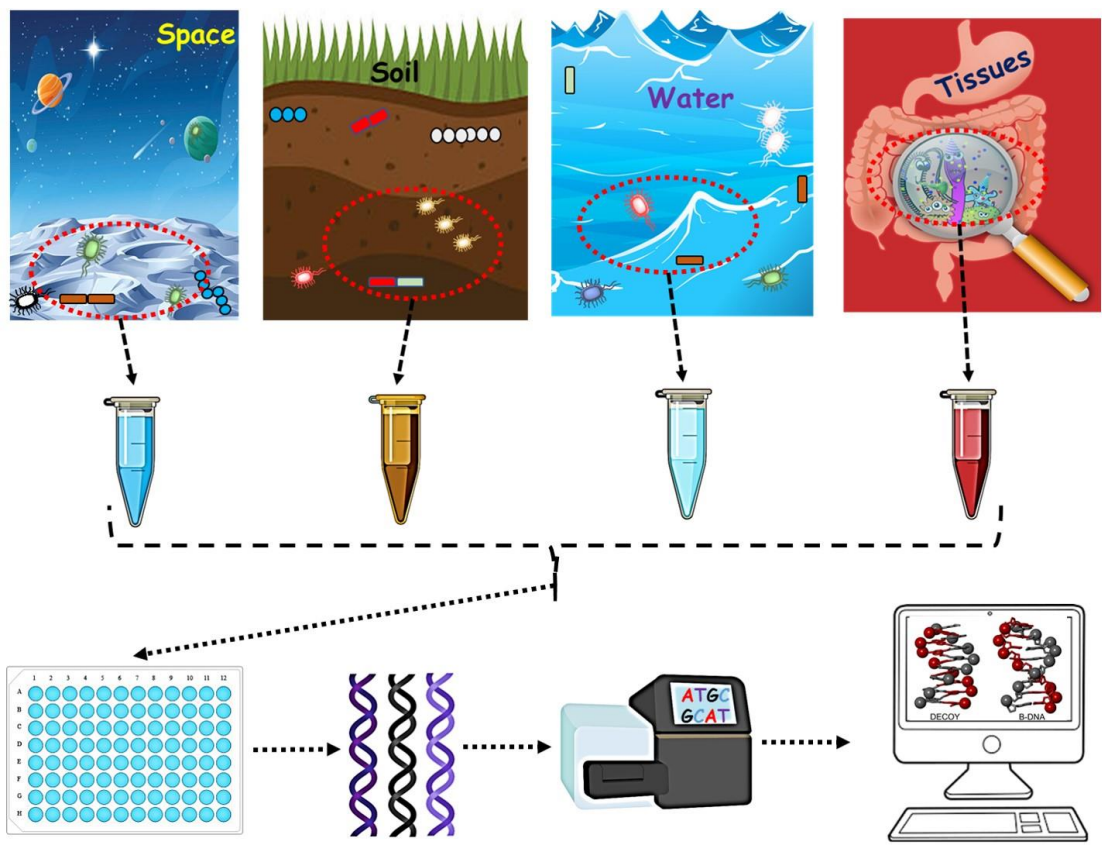


圖 5、環境基因體學(metagenomics)研究示意圖(圖片引用自以下網址：<https://www.sciwri.club/archives/7530>)

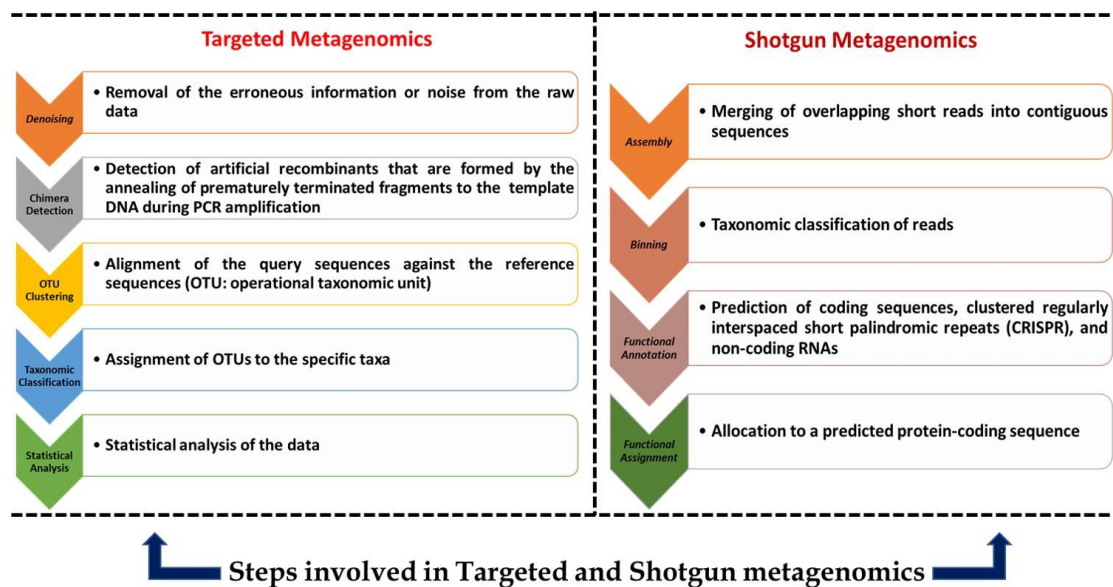


圖 6、環境基因體學(metagenomics)兩種常用的實驗方法與步驟(圖片引用自下列網址：<https://www.sciwri.club/archives/7530>)



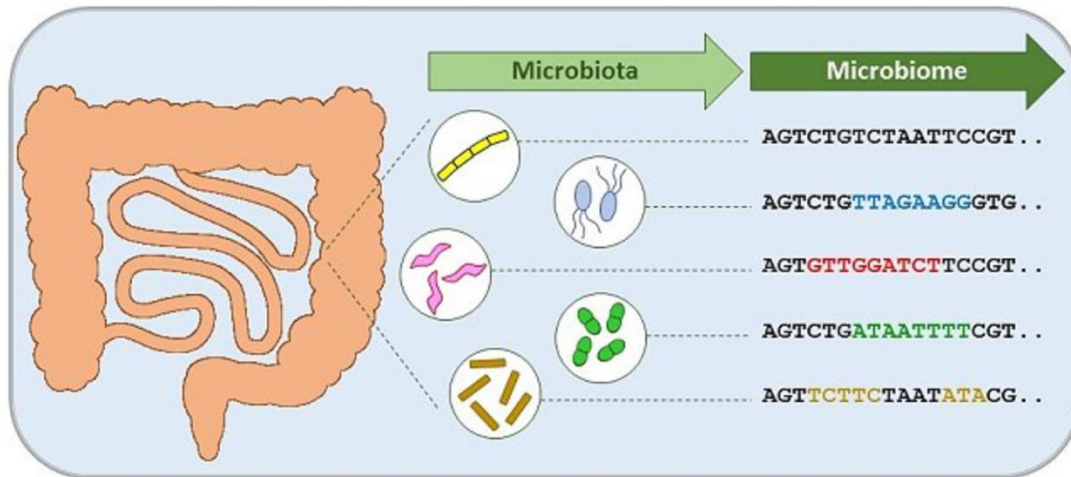


圖 7、以人體腸道微生物為例說明 Microbiota 跟 Microbiome 兩個重要詞彙定義的差異。(引用自 NHRI communications 第 733 期)

### 三、微生物相(microbiota)與植物病害的發生(摘錄自 Eric Kemen, 2014 之文章, 發表於 Current Opinion in Plant Biology 20:75-81)

傳統的植物病理學, 我們通常只看單一植物病原菌與寄主之間的反應, 研究一個植物病原菌的最基本觀念-柯霍氏法則, 要完成的驗證只有純化的單一病原菌及其是否對寄主植物能否有致病性。但是如果考量寄主植物與病原菌個別的微生物組, 則彼此間的關係將變得複雜許多, 如圖 8, 傳統的寄主與病原微生物的關係如圖紅線所示, 但是寄主與病原微生物本身也會跟自己的微生物相(真菌類微生物、原核類微生物與病毒等, 藍色線所示)有互動關係, 兩方的微生物相之間也會有互動關係(紫色線所示)。所有的互動形成一個複雜的網路。

一般傳統的植物病原菌接種實驗常發現高濃度病原菌較低濃度病原菌造成寄主較嚴重的病害(圖 9、a, b), 但是如果寄主表面存在對病原菌不利的微生物, 則無論病原菌濃度高低皆不易造成病害(圖 9、c, d), 相反的如果寄主表面存在對病原菌有利的微生物, 則病原菌濃度愈高造成愈嚴重的病害(圖 9、e, f), 如果存在跟植物病原菌有關的微生物(圖 9、藍色桿狀), 則即便病原菌濃度低也可以容易造成病菌感染(圖 9、g, h), 當前臺灣農業界火紅的微生物農藥-液化澱粉芽胞桿菌防治病害的原理之一應該就是該有益細菌較有利於寄主作物而不利於植物病原菌, 因此讓作物比較不會發生病害。再者, 我們是否可以透過分析健康作物與罹病作物的微生物相的差異, 找到更多不同微生物菌種來建立健康的作物生長環境? 這是筆者一直想追尋的答案之一。

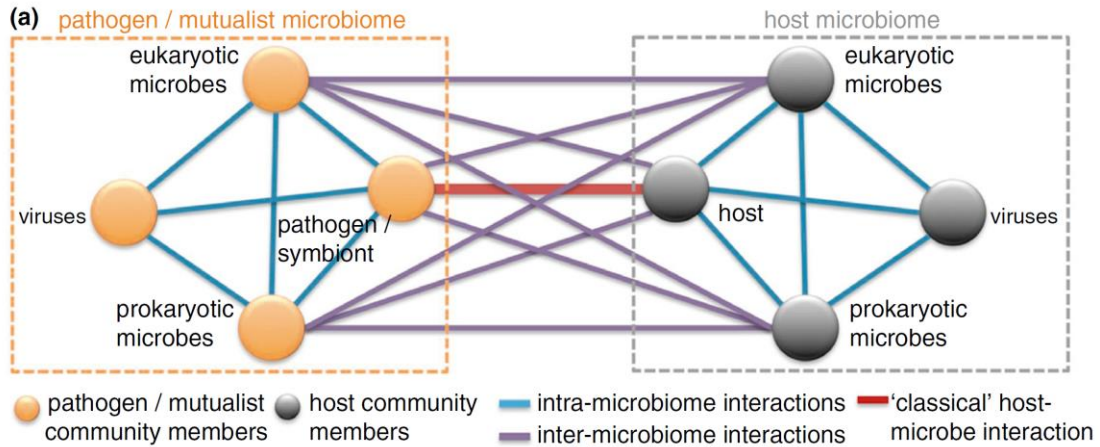
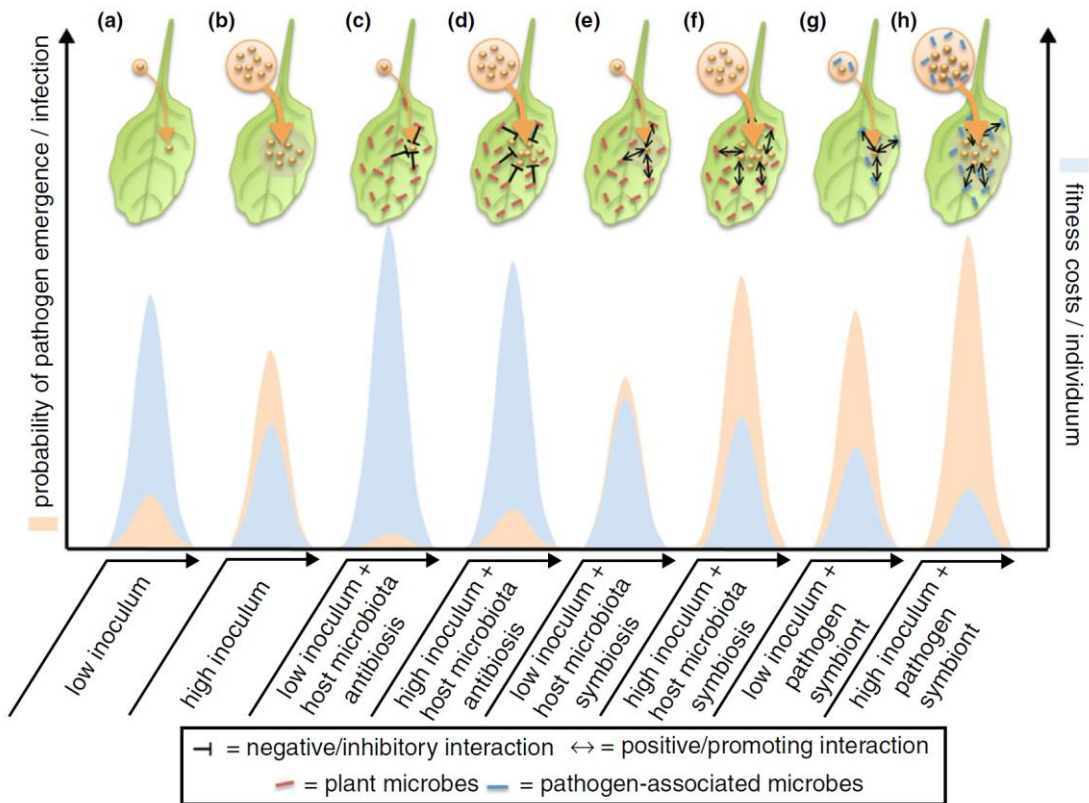


圖 8、考量病原菌與寄主本身的微生物體後，病原菌與寄主的關係將更為複雜。



Current Opinion in Plant Biology

圖 9、其他微生物的影響於病原菌感染寄主時。

#### 四、微生物體(microbiome)在作物抑病土的應用研究(摘錄自 Cha J.Y.等人於 2016 的文章，發表於 The ISME Journal 10:119-129)

植物病害的抑病土壤(plant disease-suppressive soils)是植物根圈微生物對抗土壤傳播性病原菌最好的例子，在連續種植感病作物的情況下，這些抑病土壤的微生物組成與活性讓植物病原菌無法存在、建立族群或呈現靜菌狀

態，因此病害發生輕微或者不發生，或者即便病原菌一開始建立族群造成病害但隨後病勢即下降。隨著有機農業、永續農業或化學農藥殘留疑慮等議題下，抑病土的研究愈來愈多。一般而言，抑病土可以區分成一般性(*general*)與專一性(*specific*)兩種，一般性的抑病土是因為整個土壤微生物相組成而來的競爭與拮抗等活性造成抑病作用，對大多數的病原菌提供多種作物一定基本程度的保護效果，其特性為通常無法移植、會因為蒸氣處理而減弱其抑病效果，但會因為增加土壤微生物活性的耕作措施而增加其抑病效果。相對的，專一性的抑病土，通常是導因於土壤中特定一群的微生物針對特定作物的特定病害。一般來說，專一性疫病土最低只要加入 1%到導病土(*conductive soil*)就可以發揮抑病的作用，而且一旦滅菌後抑病效果即消失。

Cha J.I. 等學者(2016)利用連續種草莓 15 年的尖鏟孢菌引起的萎凋病的抑病土(代號" S" )與只連續種草莓 3 年的導病土(代號" C" )作為材料，首先，先進行確定抑病土活性的實驗，將抑病土進行 80°C 熱處理 1 小時(代號" S80" )，或者混合 10%抑病土與 90%導病土(代號" CS" )，第 3 次的栽培接種實驗則增加利用加碼放射線照射將抑病土所有微生物殺死(代號" SR" ) 的處理。使用上述處理的土壤進行 3 輪的草莓種植與接種尖鏟孢菌的實驗，並調查病害發生的罹病度，每次實驗收集根圈土壤進行微生物相分析。典型的草莓萎凋病病徵如圖 10 所示，造成生長阻礙、花冠腐爛與葉片畸形等(圖 10、a, b, c) 。隨著 3 次連續種植與接種，導病土(代號" C" )維持高萎凋病罹病度，抑病土(代號" S" )則維持低萎凋病罹病度，混合抑病土與導病土(代號" CS" )與將抑病土進行熱處理(代號" S80" )之罹病度則逐漸下降到跟抑病土相似，加碼放射線照射將抑病土所有微生物殺死(代號" SR" ) 的處理則罹病度跟導病土一樣高，該實驗結果證實抑病土的抑病活性，該抑病特性可以被轉移且隨著種植次數增加而活化。

該研究同時也使用 *target metagenomics* 的方法來分析這些土壤樣本裡面微生物相組成，樣本總共包含上述 4 種處理，每處理進行 3 輪的種植，最後一輪再多加 1 個加碼放射線照射將抑病土所有微生物殺死的 SR 樣本，總共 13 個土壤樣本。利用 PCR 增幅土壤樣本核酸萃取中所有微生物的 16S rRNA 基因 V1-V3 的變異區間進行研究。微生物相資料先以非度量多維度分析(*Non-metric Multidimensional Scaling, NMDS*)統計分析樣本間微生物族群的組內與組間差異，以及差異的多寡，可以發現樣本微生物族群的差異性會根據其抑病或感病特性而被歸類在同一群，例如較感病的 1C、2C、1CS 和 SR 差異性較小而較相近，較抑病的 1S、2S、3S、2S80 與 3S80 較相近，中等抑病的 3C、2CS 與 3CS 較相近(圖 11)。該研究發現抑病土會因為熱處理而減弱其抑病特性，但是隨著種植的循環期增加抑病土的功能會逐漸回復。根據微生物相分析的結果前 15 種在抑病土較導病土多的微生物如表 1，從這 15 個微生物種類來看，只有放線菌類 *Actinobacteria* 有耐熱的特性，該研究團隊隨即從抑病土利用放線菌的選擇性

培養基篩選到 *Streptomyces sp.* S4-7 這個菌株，隨後也透過接種實驗證實此菌株可以抑制萎凋病病害發生(圖 12)。

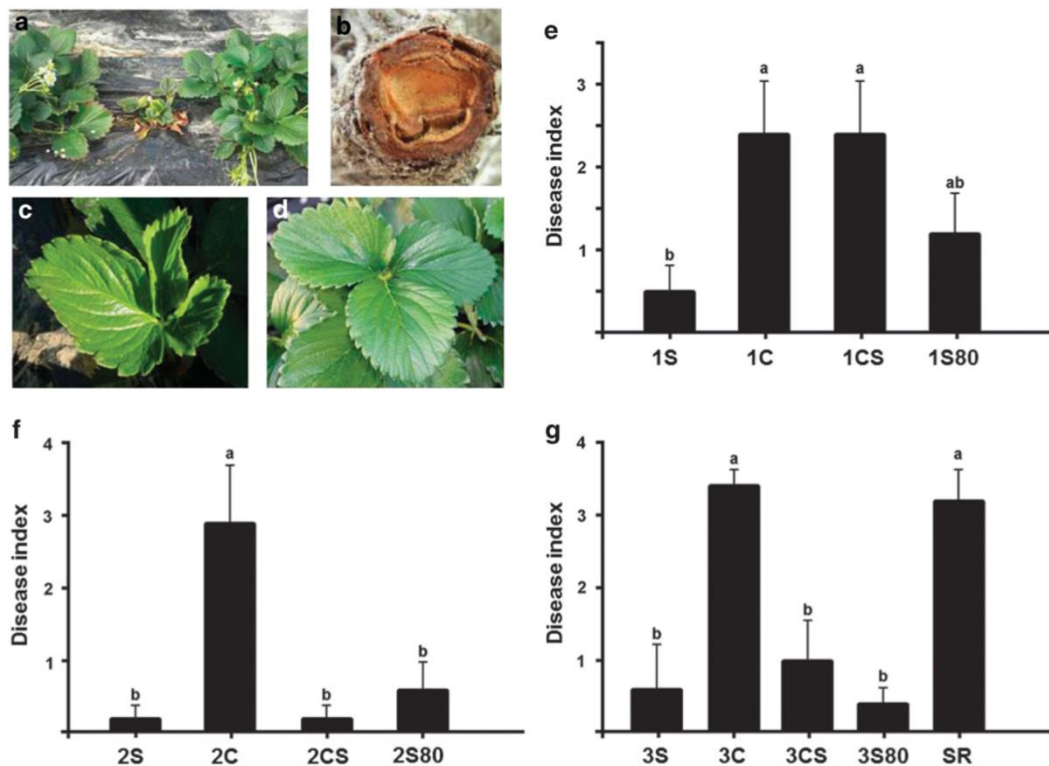


圖 10、抑病土活性的實驗。

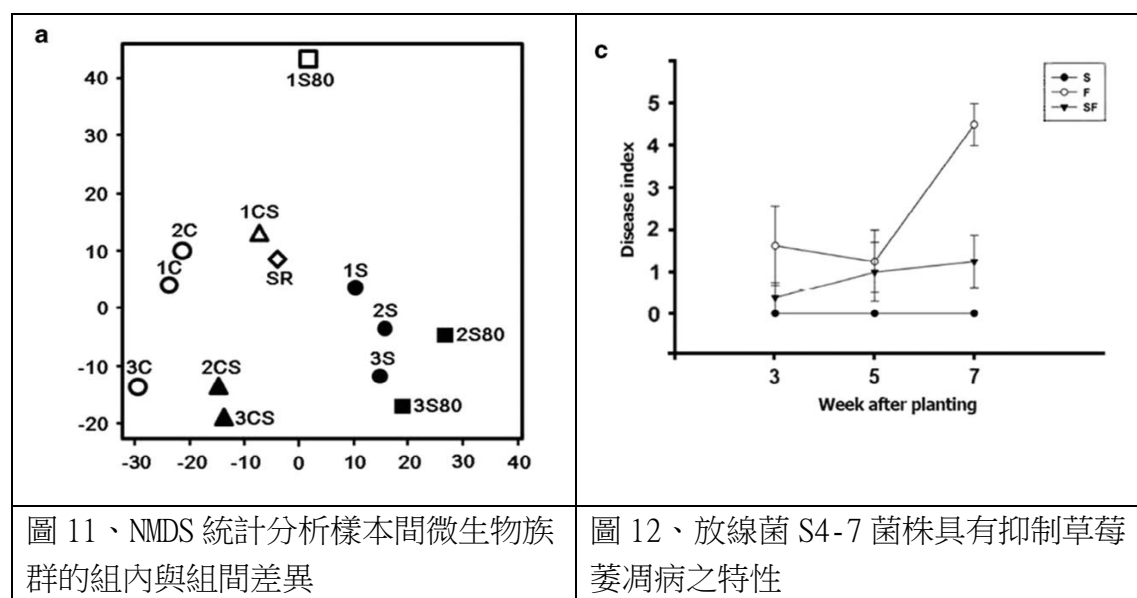


圖 11、NMDS 統計分析樣本間微生物族群的組內與組間差異

圖 12、放線菌 S4-7 菌株具有抑制草莓萎凋病之特性

表 1、經過微生物相分析後，前 15 種在抑病土較導病土多的微生物。

**Table 1** Top 15 OTUs more abundant in suppressive soils<sup>a</sup> than in conducive soils<sup>b</sup>

Phylum	Family	Strain	Representative OTU	Accession number
Proteobacteria	Bradyrhizobiaceae	<i>Chelatococcus</i> sp. 91214		DQ020478
	Hyphomicrobiaceae	Uncultured bacterium		EU881311
	Rhodobacteriaceae	Uncultured bacterium		EU881312
	Xanthobacteraceae	Uncultured bacterium		DQ158100
	Unknown	Uncultured bacterium		FJ479309
Gemmatimonadetes	Gemmatimonadaceae	Uncultured bacterium		EF612383
Acidobacteria	Unknown	Uncultured <i>Acidobacterium</i> sp.		EU223942
		Uncultured soil bacterium		AY493920
Actinobacteria	Micrococcaceae	<i>Agromyces</i> sp. IY07-20		AB546308
	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i> sp. SXY07		GU045526
		<i>Streptomyces</i> sp. M1037		EU876686
		Uncultured bacterium		EU132972
	Unknown	Uncultured bacterium		FJ478592
Nitrospirae	Unknown	Uncultured actinobacterium		FJ542993
		Uncultured bacterium		FJ592805

Abbreviation: OTU, operational taxonomic unit.

<sup>a</sup>1 S, 1S80, 2 S, 2SC, 2S80, 3 S, 3CS and 3S80.

<sup>b</sup>1C, 2C and 3C.

## 五、世界土壤微生物相計畫(Earth Microbiome Project, EMP)(摘錄自 <http://www.earthmicrobiome.org/>)

2011 年 Rob Knight 推動此大型的土壤微生物相研究計畫，全球總共參與機構合計 161 個，收集分析超過 20 萬個土壤樣本，本計畫的精神在於建立一個大型全球土壤微生物相的資料庫，提供全球相關研究參考，網頁介紹如圖 13。EMP 提供土壤微生物相分析標準的作業流程，包括土壤樣本的採樣、運送、核酸萃取、次世代定序與資料分析等詳盡的方法。跟 Lee 教授討論了一些筆者跟國內研究機構合作的一些研究成果後，Lee 教授給了相當多專業的建議，例如我們一開始實驗設計時，應該多參照 EMP 的方法，例如 EMP metagenome 做的是 16S rRNA 的 V4 變異區域，我們應該也要按照此方法進行實驗，這樣所得到的序列與分析資料才能跟這個龐大的資料庫做比較，一旦實驗流程所使用的引子對不同，獲得的序列數據便不同，因此我們實驗獲得的數據就無法跟人家做比較，Lee 教授建議試驗進行前應該要把這些因素考量進去。另外就試驗的採樣設計他也提供專業的建議，例如我們採樣兩塊不同區域果園的土壤，每個果園分別採 10 棵健康果樹跟 5 棵不健康果樹的土壤進行分析比較，他認為我們的生物重複性(不同果園)太少，實驗重複性(每果園採樣之樹木數量)太多，而且健康與不健康果樹的數目要一樣，否則統計上健康的果樹樣本雖然有 10 棵，最後也只能採用 5 棵果樹來跟不健康果樹的 5 棵作比較。與其兩塊不同果園每塊果園採樣 10 棵果樹，不如 7 塊不同果園每個果園採樣 3 顆果樹，如此一來，雖然樣本數量差不多，但是統計上代表的生物重複性將更加足夠，所得到的分析資料也更加有意義。最後就我們得到的資料，他也提出獨到的見解，例如我們發現有些細菌菌種在健康果樹特別多，但是不健康果樹較少，他認為我們使用 16S 的方法不可能可以鑒定到細菌種等級的分類地位，頂多只能說這些屬的細菌可能在健康果樹的分布較多。

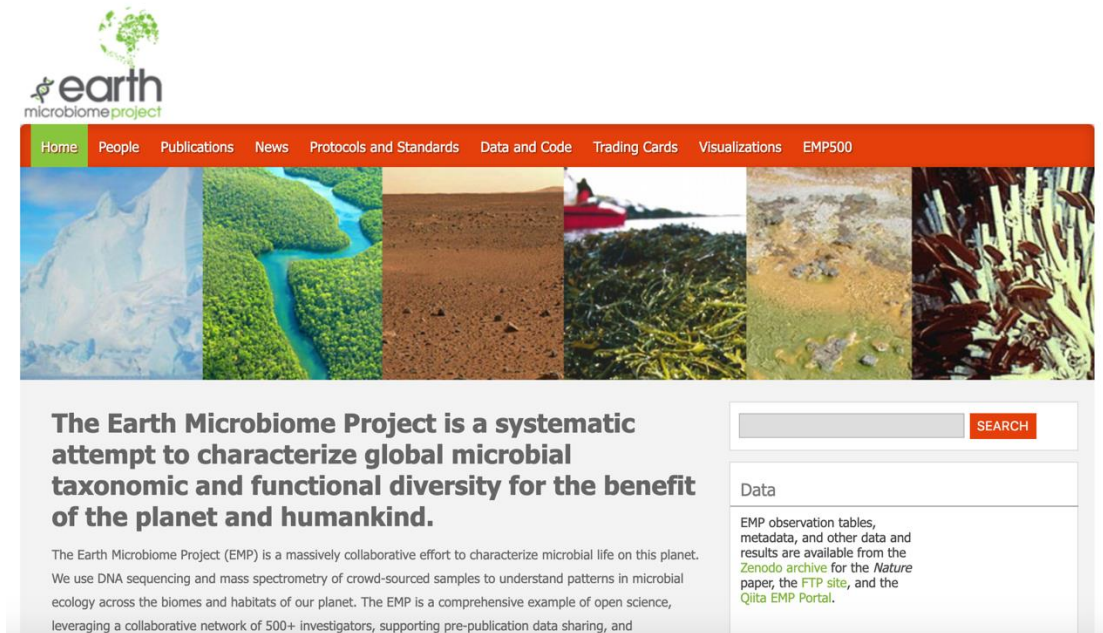


圖 13、世界土壤微生物相計畫之網站。

## 六、Konza Prairie Biological Station (KPBS)，堪薩大草原生物研究站之介紹

Konza 這個字是來自於該地區原住民族的名稱，Konza Prairie 堪薩大草原是堪薩斯州政府與堪薩斯州立大學所擁有的自然保護區，佔地約 3,487 公頃(圖 14)。這片保護區位於堪薩斯州 Flint Hill 的東北邊，整個 Flint Hill 區域約佔地超過 160 萬公頃。這個區域綿延了整個堪薩斯州東部，有大面積的草原相，草原每 1-3 年會因為閃電及乾旱等因素發生大火，大火的發生對於草相的維持反而扮演著重要的意義。草原的長草對於大火相當的適應，火燒過後反而讓這些長草長得更好。再者，大火會將外來種的植物或灌木燒死，得以維持此壯麗的草原風貌，有些分水嶺的區域可能因為大火比較燒不到或其他因素，而讓整個大草原可以看到一些小區塊的灌木林生長。這個保護區設立的重要目的就是教育、生態研究(探討這些大火發生與草相維持等等的機制)與保護這片草原(圖 15)。另外值得一提的是，有證據顯示 Flint Hill 在地質年代久遠前，這個自然保護區過去可能是一片內陸海，造成整個區域的地質結構為石灰岩與頁岩交替層疊，從步道大大小小的石塊裡經常可以看到海洋動物的化石痕跡(圖 16)。因為地形上的陡峭與石灰岩層的交疊讓這片大片的土地不容易開發與耕作，從未人為耕犁等破壞讓，這片自然保留區得以維持其自然風貌至今，意外提供了絕佳的研究場域來探討大自然如何讓此草原風貌維持的奧秘。從 1971 年開始，科學家在 KPBS 的研究發表了超過 1,680 篇的科學文獻，超過 260 位碩士或博士生從該單位相關研究

取得學位，現今仍有來自聯邦政府、州政府或私人機構，超過 8 億 4000 萬台幣的研究經費投入 KPBS 的相關研究。



圖 14、Konza Prairie Biological Station(KPBS)堪薩大草原生物研究站之俯瞰，為幅員遼闊的美景。



圖 15、Konza Prairie Biological Station(KPBS)堪薩大草原生物研究站之介紹牌。



圖 16、KPBS 地質為覆蓋一層含石灰岩的淺層土壤，且地形坡度大，因此不適合耕作。步道大大小小的石塊裡經常可以發現海洋生物的化石痕跡。

## 七、Flint Hills Discovery Center 與 Big bluestem 之介紹

Flint Hills Discovery Center 是由當地政府資助所建立類似博物館的地方，參觀門票含稅約 10 美元，裡面介紹堪薩斯州重要的地形-Flint Hill 的種種科普知識，並且有很新的研究成果轉換成科普文字，並且做成淺顯易懂的展示品與互動遊戲讓一般民眾與小朋友能了解，相當具有教育意義。舉例來說，展館裡面有介紹當今火紅的人體腸道微生物相的研究，也有展示一些常見微生物，像是枯草桿菌、大腸桿菌與乳酸菌等等微生物的模型，有作成實物玻片放在展示用的顯微鏡供民眾觀看。可見當地政府對科普教育推廣的用心，值得我們在農業研究與推廣上來效法與深思(圖 17-22)。



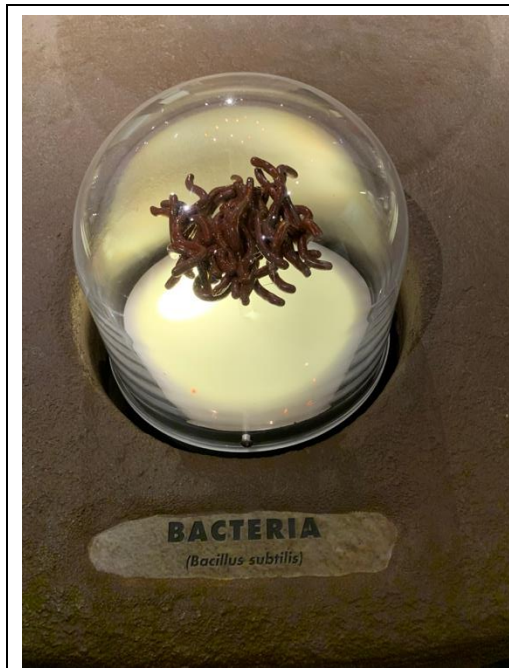


圖 17、枯草桿菌之模型

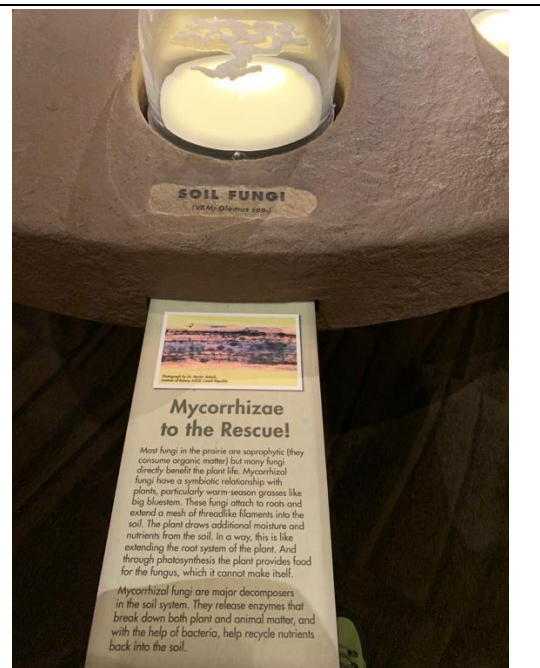


圖 18、菌根菌之介紹與模型

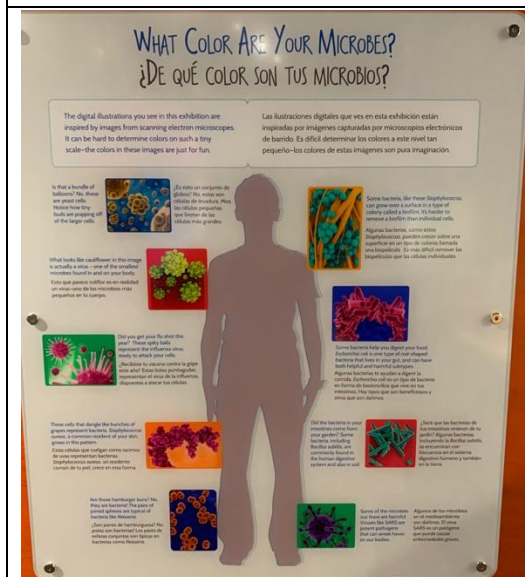


圖 19、人體微生物相的科普知識



圖 20、DNA 序列配對的互動遊戲

展館裡面剛好有介紹本次參訪 Lee 教授的研究材料-Big Bluestem，為 Flint Hill 區域內一種很重要的草，學名為 *Andropogon gerardii*，一般可以長到 180-210 公分高，生長好的年份甚至可達 240-300 公分高。其根系喜愛深土、肥沃且乾旱的土壤，地上部粗蛋白含量達 16-18%，是一種高品質的牧草。來自地下根系或地下部葉芽的新生長讓 Big bluestem 可以從春天的大火後快速的回復生機。其深達 3.6 公尺纖維性高且鬚根豐富的根系，加上在 2-5 公分土壤表層的豐富纏繞，使 Big bluestem 的生長提供土壤免於被侵蝕的保護，是水土保持計畫相當重要的草種。歷經嚴寒後，Big bluestem 的葉片會轉為鐵鏽色，有別於另外兩種草-small bluestem 與 Indian grass，使冬天別有一番色彩。



圖 21、Big Bluestem 之介紹



圖 22、Big Bluestem 根部在地面下可長達 3.6 公尺。

## 八、Big Bluestem 的生態研究：摘錄自 Gray M.M. 等人於 2014 年的研究，發表於 *Molecular Ecology* 23:6011 - 6028

要介紹 Lee 教授的研究前，必須先介紹同為生物系的另一位教授 Loretta C. Johnson 在 Big Bluestem 的生態研究，從上述 Flint Hills 的介紹可以知道大草原是整個堪薩斯州重要的地貌，Big Bluestem 更是大草原裡面非常重要的長草種類，從伊利諾伊州南部到堪薩斯州中部綿延約 1,150 公里，從最東邊較大的年降雨量與潮濕氣候到最西邊的乾旱，提供了一個大自然造成的氣候上與地理上的漸層差異，而且大約一萬年前這些大草原就已經存在，提供足夠的演化上時間讓不同區域的草相因為氣候或生態上的選汰壓力而產生不同的表徵，整個區域分布的同為是 Big Bluestem 的草種，東邊的草(伊利諾伊州南部)(Southern IL Ecotype, SIL)長得又高又大，地理中間位於勘薩斯州東部(Eastern KS Ecotype, EKS)的草則次之，而較西邊堪薩斯中部的草(central KS Ecotype, CKS)相對較矮小但卻較耐旱，研究人員採集了這三個地方不同生態種的種子，其樣本採樣地點與相對位置可以參考圖 23。並且分別在這三個地方建立種植實驗，分別種植了三個不同的生態種，想要了解在環境的選汰壓力下是否能改變其生態種的特性，例如從西部乾旱的生態種的草到了東部雨水較多是否就長得更好，從圖 25 可以看到，即便在雨水量較多的 SIL 地點，來自較乾旱的 EKS 與 CKS 兩種生態種其地上部的生物量皆明顯比 SIL 生態種少。後來這個移植的實驗持續一直進行到現在超過 10 年，研究團隊也觀察到長年下來環境的改變已經讓這些不同生態種的表徵跟著改變，但是尚未有從微生物相的角度來研究這些不同生態種因應環境所造成的改變，而 Lee 教授則因此有累積超過 10 年移植實驗的樣本可以拿來進行後續微生物相的分析實驗。

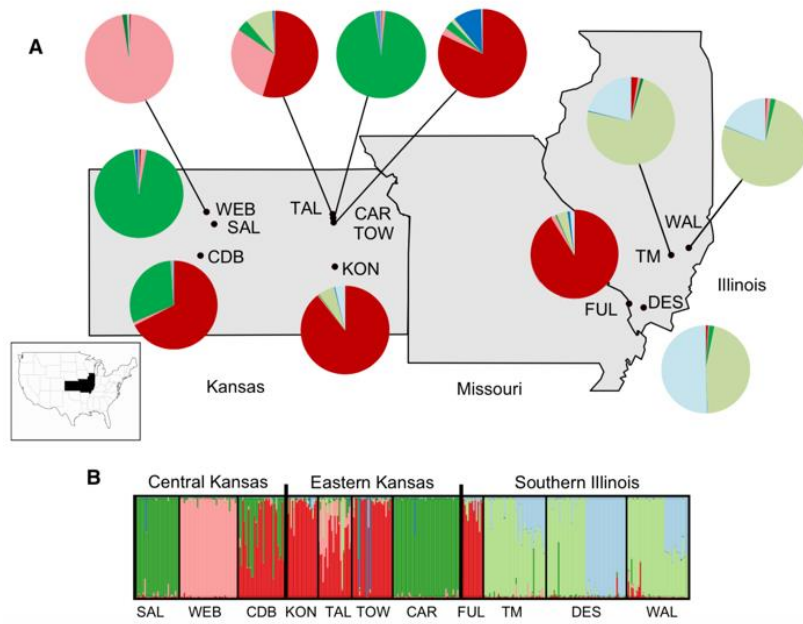


圖 23、3 種生態種 CKS(Kansas 中部)、EKS(Kansas 東部)和 SIL ecotype(Illinois 南部)之相對分佈位置參照圖



圖 24、三種同為 Big Bluestem 但不同生態種(Ecotype)之樣本在田間之試驗照片

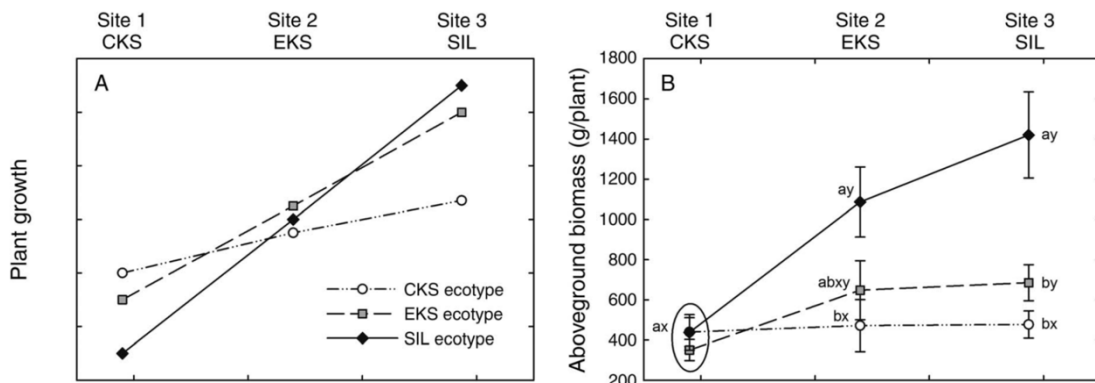


圖 25、3 種生態種的 Big bluestem 分別在 3 個代表的地理位置的生長實驗

## 九、Sonny T.M. Lee 教授實驗室研究之介紹

Lee 教授實驗室目前有 1 位印度籍博士後研究學者、2 位博士班研究生與 4 位大學部的專題生，另外近期還會有一位研究助理，以研究人力來說，約是台灣一般研究室的人力，不過 Lee 教授研究的領域跨越相當廣，包括豬的腸道菌相、人類的腸道菌相與 Big bluestem 的菌相研究。本段介紹以其在此草原重要草種之抗旱相關研究為主。

前段介紹 Loretta C. Johnson 在 Big Bluestem 的生態研究，利用易地種植的試驗，超過 10 年下來發現環境因素的改變讓耐旱的生態種也可以長得比較高大，或者原本不耐旱的生態種也變得比較耐旱，Lee 教授則是從根圈微生物相與葉表微生物相的角度來觀察這些不同生態種的改變，以應用的角度來說，了解何種微生物可以讓 Big Bluestem 變得比較耐旱，未來就可以應用這些微生物的添加讓乾旱地區的草原復育能更加成功。但是要達到這樣的目標需要好幾個基礎的研究才能達成。首先他們必須先從溫室實驗的材料分析耐旱與不耐旱的微生物相差異，目前初步的數據確實已經看到一些微生物相的差異，之後他們會利用換土的實驗探討是否因為土壤的因素讓草種變得耐旱並且同時分析微生物相的改變。上述實驗都成功了，才會進一步在野外進行相同的實驗，探討野外發生的改變是否也跟溫室一樣。私底下詢問 Lee 教授未來的目標是否為研發出一種或數種微生物添加劑，可以讓 Big bluestem 抵抗耐旱環境。Lee 教授坦承，微生物相分析確實可以找到一些菌種上的差異，但是這些菌種是否能成功分離培養出來，並且添加到作物土壤就可以成功達成我們要的耐旱表現，他認為這樣的目標變因太多，會是期許的目標，但是不會放到研究計畫要達到的目標。學術研究還是以科學的方法進行現象的探討為主。

本次參訪獲 Lee 教授同意參觀其實驗室環境設備(圖 26)，抽取土壤 DNA 的儀器如圖，機型為 MP SUPERFASTPREP2，為手持式的振盪器，可以調整震盪速度，但一次只能容納兩個樣本的試管(圖 27)。他們使用的土壤 DNA 抽取試劑套組為 OMEGA 的 E.Z.N.A.®Soil DNA Kit(圖 28)，據 Lee 教授的說法，本試劑套組的價位較低，效果也不錯，文獻上常用的是 QIAGEN 的 power soil kit。此外，實驗室 -20°C、-80°C 冰箱與顯微鏡設備也是常見必備的實驗室設備(圖 29)。



圖 26、實驗室環境



圖 27、萃取 DNA 所使用的手持式破菌設備



圖 28、萃取土壤 DNA 所使用之套組與現場操作情形



圖 29、實驗室 -20°C、-80°C 冰箱與顯微鏡設備

## 十、環境基因體學研究流程與相關分析軟體介紹

前面有介紹過 metagenomic 的研究方法可分為 target specific 與 non-target specific 的方法，下圖 30 則是以更清楚的流程圖來說明比較研究細菌環境基因體學的研究方法跟其他”體學”(Omics)像是蛋白質體學或醣體學的差異，16S rRNA sequencing 的方法是 target specific，可以獲得的資訊是細菌各種分類物種的含量比例。Metagenomic sequencing 是直接從環境中萃取 DNA 直接進行定序分析，因此可以從定序得到的序列去預測有哪些基因，在定序量足夠的情況下可以進一步將基因組成各個細菌物種的基因體草圖。Metatranscriptomic sequencing 則是萃取 RNA 進行定序，因此可以從表現的基因來預測其功能。進一步以簡圖說明 metagenomic sequencing 則包括萃取 DNA、定序獲得各個 DNA 小片段序列、對各小片段進行基因註解、將小片段序列組裝為較長序列和最後再將較長序列組裝為各個細菌基因體的草圖(圖 31)。metagenomic sequencing 獲得大量序列資料後才是工作的開始，需要很多步驟才能得到最後想要的各種細菌基因體草圖，而每個步驟都有許多軟體可以使用如下圖 32 所示，例如有專門處理資料的軟體(preprocessing)、組裝序列的軟體(contig clustering)、基因預測的軟體(gene prediction)、分類地位註解的軟體(Taxonomic assignment)和功能性註解(Functional assignment)的軟體等。這些軟體大部分是免費的，但是許多都是需要程式碼來執行命令，因此需要有一點程式背景的知識才比較容易上手。以 Lee 教授本身經驗來說，他是透過自學

的方式學會這些 metagenomic sequencing 的軟體，後來更因為發現了部分軟體的缺失而獲得開發軟體實驗室的工作機會，進一步深造後才擁有這方面的專長。最後，Lee 教授推薦我使用一款比較容易上手的軟體-STAMP，這套軟體不需要使用程式編碼，使用視窗式的操作，將分析好的資料用複製貼上的方式即可將資料輸入程式內，之後也可以做一些簡單的差異性分析跟統計分析，是一套相當容易上手與使用的軟體(圖 33)。

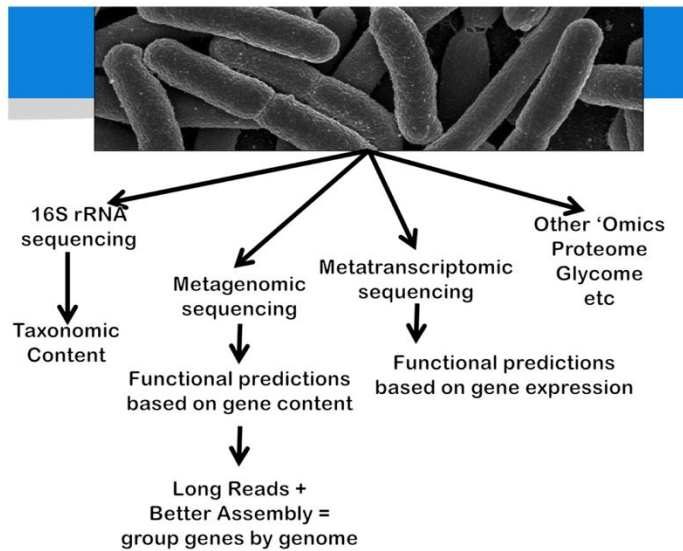


圖 30、環境基因體學依據不同材料來研究細菌的各種方法與流程與所能獲得的資訊

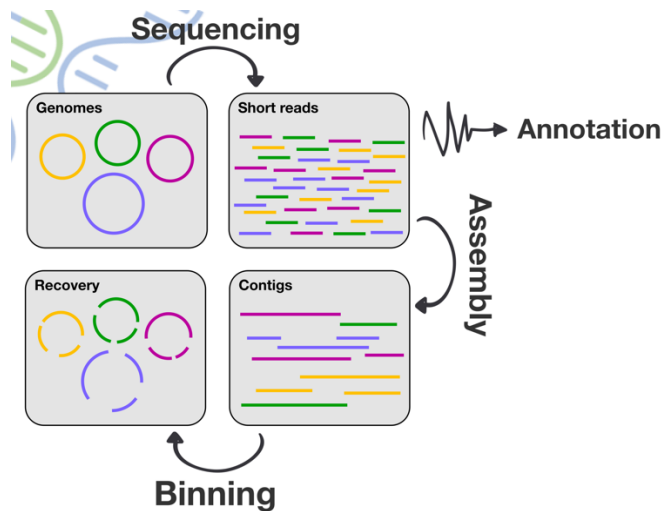


圖 31、Metagenomic sequencing 之簡略流程

# Metagenomics Processing

## Contig clustering

AbundanceBin  
CompostBin  
concoct  
crAss  
tetra

## Preprocessing

FASTQC  
FastX Toolkit  
fitGCP  
NGS QC Toolkit  
Non-pareil  
Prinseq  
QC-Chain  
Streaming Trim

## Gene Prediction

FragGeneScan  
GlimmerMG  
MetaGeneAnnotator  
MetaGeneMark  
MetaGun  
Orphelia  
Prodigal

## Taxonomic assignment

CARMA	myTaxa
FOCUS	PhylopythiaS
KRAKEN	phymmbl
LMAT	RAIphy
MEGAN	TACO
Metaplan Taxy	

## Functional assignment

CLAMS	Sequedex
DiScRIBinATE	SORT-ITEMS
genometa	SPANNER
GSMer	SPHINX
PPLACER	TaxSOM
RTMg	Treephyler

圖 32、Metagenomic sequencing 各個步驟可以使用的軟體

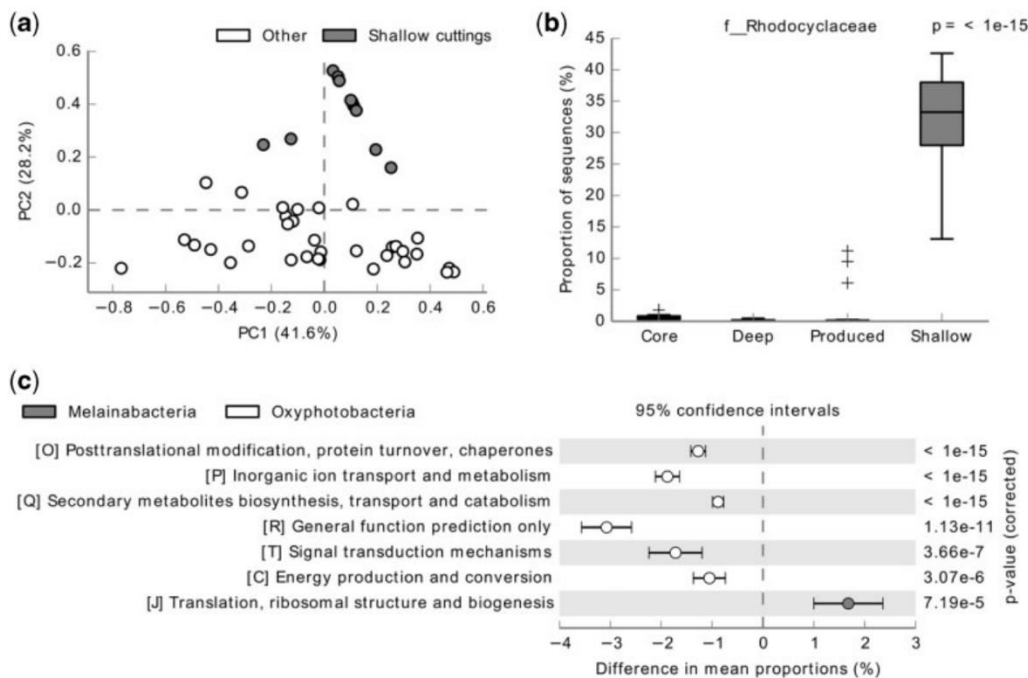


圖 33、STAMP 軟體可以分析輸出的圖表範例(Parks D.H.等人 2014 年)



## 十一、生物資訊分析與圖表製作-以洛神葵土壤根圈樣本之次世代定序資料為例

為執行本計畫「新興技術-微生物體學(Microbiome)於營造洛神葵有機友善環境耕作之應用研究」，我們在臺東轄區 3 處不同洛神葵田區進行根圈土壤採樣，每田區採集 10 株已出現萎凋病徵的植株之根圈土壤，並採集 10 株無病徵的植株作為健康植株對照，總共採集 60 個土壤樣本。之後進行土壤 DNA 萃取與 16S rRNA V6-V8 變異區間的專一性增幅(圖 34)。藉由筆者在臺灣中央研究院的指導教授-湯森林老師實驗室與本次參訪的 Lee 教授的協助下，我們完成了定序資料的分析，以 NMDS 統計分析樣本間微生物族群的組內與組間差異(圖 35)後發現了很有趣的現象，來自太麻里荖葉園改種的洛神葵田區(藍色標誌)，其樣本分佈較密集，表示樣本間的微生物相差異度較小，推測可能是荖葉園長期以密集施用化學農藥與化學肥料的耕作下，導致土壤微生物相貧瘠。再者，從採樣時土壤的分析(表 2)也可以看出此區土壤的磷( $P_2O_5$ )、鉀(K<sub>2</sub>O)、鈣(CaO)、銅與鋅等含量都比另外兩個試驗田區高出許多。相對的，知本有機專區的土壤(綠色標誌)樣本的分佈較廣，表示其樣本間的微生物相的差異度較大，推測有機耕作方式下，土壤微生物相確實因此較豐富。知本有機專區的萎凋病株(綠色圓圈標誌)點狀分佈較集中，顯示罹病植株之微生物相趨於比較相似且相較於健康植株較單一，以微生物相的角度來觀察罹病植株這樣單一且相似的現象也是很合理，人類病人的腸道菌群也有類似的現象。本場洛神葵試驗田的土壤樣本(紅色標誌)跟知本有機專區的分佈比較類似，但是分佈範圍較知本土壤稍微偏窄，推測可能是因為本場的試驗田管理採取一般合理化的施用化學農藥，因此微生物相的豐度沒有有機專區高，但至少明顯比荖葉園轉作洛神葵之田區高。本研究以微生物相分析提供科學數據證實長期的施用化學農藥與肥料的耕作下，土壤微生物相會趨於貧瘠。有機專區的微生物相較為豐富，適合以此區土壤來進行拮抗微生物分離的材料。



圖 34、洛神葵微生物體學研究之採樣流程與 target specific metagenomic 之實驗流程

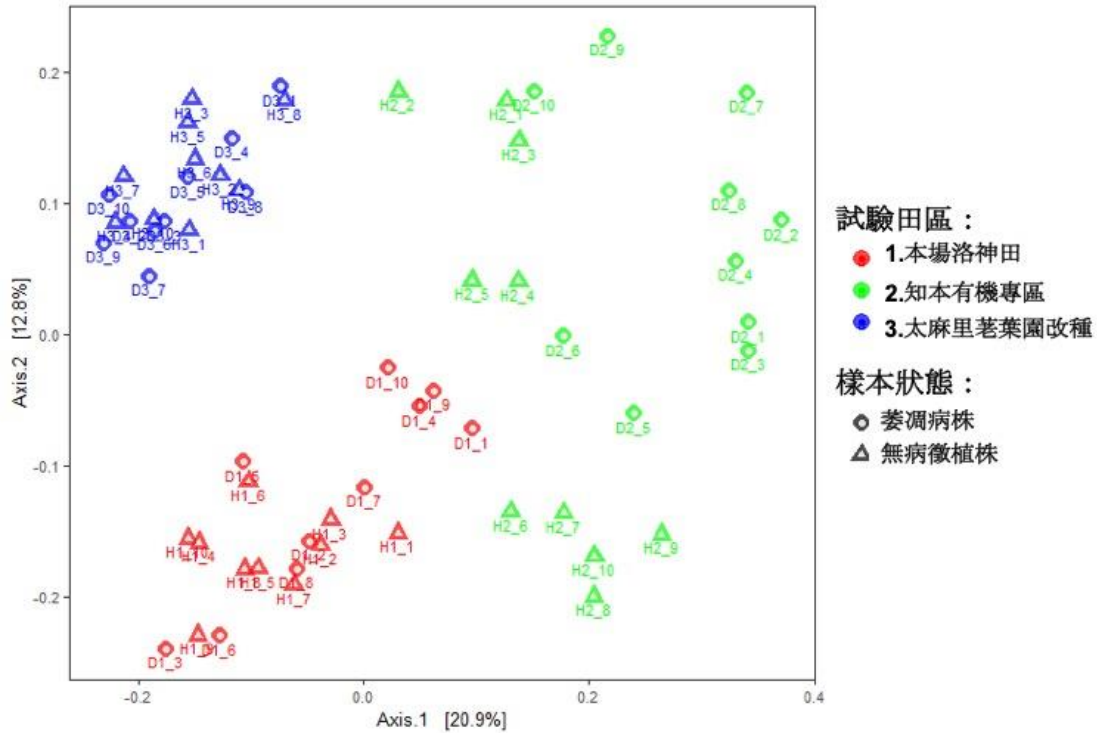


圖 35、NMDS 統計分析樣本間微生物族群的組內與組間差異

表 2、臺東 3 處洛神葵採樣地點之土壤分析結果

Soil sample	地點 Location	pH	有機質	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	CaO	MgO	EC	Fe	Mn	Cu	Zn
			Organic matter	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mS/cm	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
			%	濃度	濃度	濃度	濃度	濃度	濃度	濃度	濃度	濃度
I	Taitung city	6.81	1.97	157.94	93.91	2120.80	116.96	0.04	318.42	46.34	7.62	5.08
II	Zhiben	6.30	3.01	196.47	56.59	2275.89	147.03	0.08	724.39	94.27	11.38	3.89
III	Taimali	6.99	2.44	1078.92	116.44	6049.35	165.31	0.06	241.21	89.12	29.59	36.63

## 十二、Sanzhen Liu 教授實驗室參訪

本次參訪行程所幸透過 Lee 教授的幫忙，順道參訪了勘薩斯州立大學植物病理學系的教授 Sanzhen Liu(圖 36)，Liu 教授為中國籍，主要研究方向為用基因體學的方法研究作物的抗病基因，例如近年他們就從野生的小麥找到一個抗銹病的基因，並且建立分子標誌，提供育種人員進行抗病育種篩選。聽 Liu 教授講述才知道堪薩斯州立大學於 2013 年還得過美國研究院評選為全美大學植物病理學系第一名的殊榮(圖 37)。勘薩斯州為全美小麥產量第一名，其他重要作物包括玉米、苜蓿、黃豆與牧草等，跟很多其他美國大學的植物病理學系一樣，他們系上的老師有分研究型的老師跟做農業推廣的老師，研究型的老師要自籌研究經費，

有發表國際期刊論文的壓力，要做比較基礎的研究。做農業推廣的老師除了教書與訓練學生外，主要研究經費都由學校或農民相關的基金會提供，進行比較應用面的農業研究與推廣，例如病蟲害的診斷鑑定與偵測、病害發生的預警與農民作物發生病蟲害之用藥諮詢，工作內容有點像筆者個人在改良場的植物保護研究室。有機會應該可以實際參訪堪薩斯州立大學植物病理學系的農業推廣教師如何進行植物病害相關的推廣、研究與服務。



圖 36、堪薩斯州立大學植物病理學系系館外觀



圖 37、堪薩斯州立大學植物病理學系於 2013 年榮獲美國研究院評選為全美大學植物病理學系第一名

### 十三、Ari Jumpponen 教授實驗室參訪

Jumpponen 教授的研究領域為真菌學、真菌生態學、真菌與植物交互作用。其實驗室研究的方向為環境的選汰如何塑造現存的生物群落結構。為了回答這個

問題，他們用基因體學相關的工具深入的解讀各種不同環境下真菌與細菌的群落，包括氣候變遷下的草原土壤、冰河前緣、水流時有時無的小溪、人為的環境或大火焚燒後的森林生態系等。近年他們也研究了板栗枝枯病雜交抗病育種與一般感病品種幼苗根圈的微生物相，從不同抗性程度的幼苗也發現了一些和抗性品種幼苗有關的微生物相，其中之一的發現是菌根菌在具有抗病性的幼苗根圈比例特別高。Jumpponen 教授在土壤微生物相的研究具有好幾十年的經驗，筆者也藉此機會詢問他一個關於土壤採樣實驗上的技術問題，有時候我們採樣時如果土壤含水量較高或者土壤質地屬於比較黏性的土壤時，這時候土壤容易結塊，抽取土壤 DNA 時我們通常只有取 0.5 公克的樣本進行萃取，因此如果土壤結塊，一小塊結塊可能就超過 0.5 公克，會很容易造成取樣不均勻的問題，果然有經驗的 Jumpponen 教授馬上提供我 3 個他們解決此問題的策略：1. 使用萃取較多量土壤樣本的土壤萃取套組，像是有些土壤萃取套組每個反應使用 10 公克的土壤進行萃取，如此一來即可避免每一個小塊結塊土壤造成樣本間的差異。2. 將樣本多做幾個萃取反應，例如同一實驗處理的樣本萃取 10 個反應，之後再將這些 DNA 混合再一起。3. 以液態氮研磨方式讓土壤樣本顆粒變小且更加均一，之後再取適當的量進行 DNA 萃取。

#### 十四、Thomas Platt 助理教授實驗室參訪

Thomas Platt 助理教授主要的研究主題是以癌腫病菌 *Agrobacterium tumefaciens* 為材料探討微生物間的交互作用、基因體學與致病性等，和 Thomas 交談彼此的研究時，發現他們正在建立一個拮抗細菌的高通量快速篩選平台(圖 38)，一般拮抗細菌篩選，一個培養皿只能篩選一株細菌，中間為拮抗細菌，外圍是植物病原細菌或者被拮抗的目標細菌(圖 38 最左小圖)，利用他們研發的高通量方法，則一次可以篩選上千至上萬株以上的細菌，原理有一點類似過去研究基因表現用的微陣列方法(microarray)，這個篩選平台的設計跟作用原理可於國際文獻搜尋的到(圖 39)，和 Thomas 教授互相交換很多跟土壤微生物篩選的經驗與方法，獲益良多。

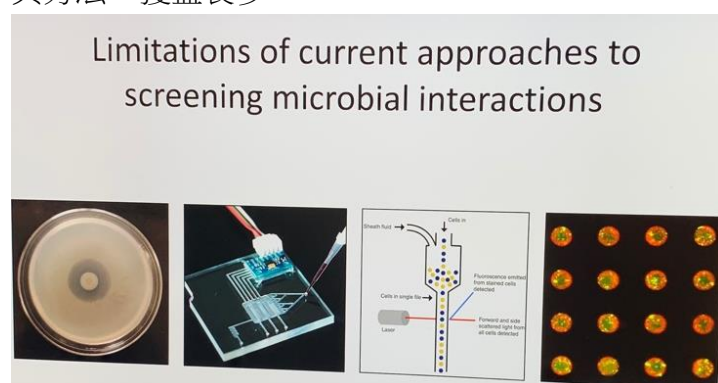


圖 38、拮抗細菌的高通量快速篩選平台

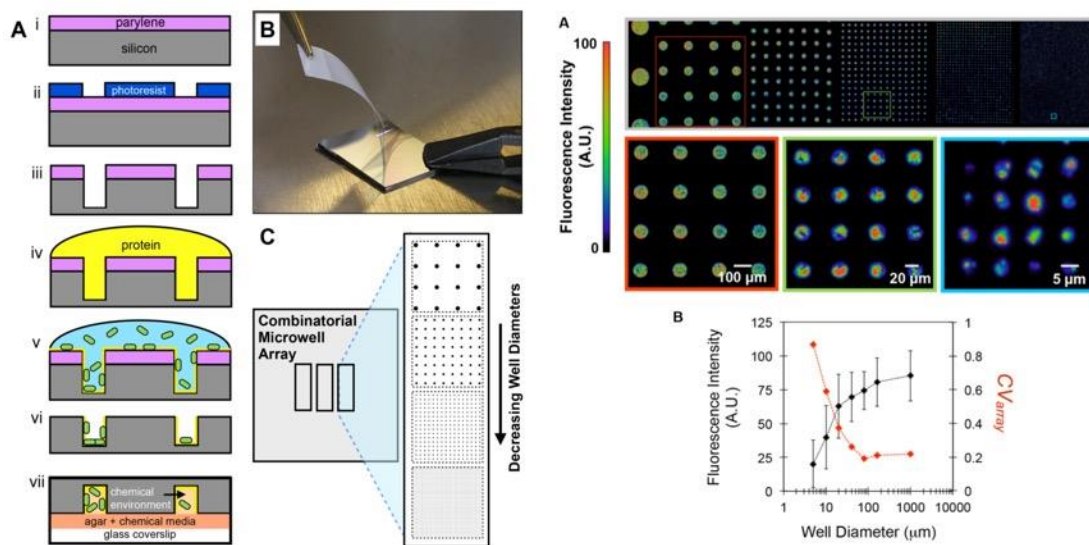


圖 39、拮抗細菌的高通量快速篩選平台之設計與原理(Hansen R.H. 等人 2016)

## 十五、當地消費與農產品訪查

在美國堪薩斯州曼哈頓當地，一般農產品價格都不高，因此大多數美國家庭會自己煮飯，較少去餐廳外食，因為餐廳提供的食物普遍價格不低，而且去餐廳吃飯要給服務生 15-20%的小費，例如一份生菜沙拉含 0.9%的稅金與小費後，價格大約落在 360-450 新臺幣之間，如果是一份排餐不含飲料跟其他副餐，大約要價 700-1200 元之間。而筆者在堪薩斯州立大學學校餐廳內中午常吃的餐點-炒麵加一份蔬菜約要價 210 元，已經是最便宜最省錢的餐點了。由圖 40 可以看到當地超市販賣的花椰菜、葉菜類與小番茄每台斤價格約 41、21 與 178 元，小番茄是由墨西哥進口，所以可能因此價格偏高。蔬菜的價格以美國當地人的收入與消費力來說應該算相當便宜。特別的是當地的鮮奶價格意外的低，包裝跟台灣家庭號一樣的 1 加侖(3.785 公升)只要 67 元新台幣，難怪大家都說美國人把牛奶當水喝，礦泉水價格確實也比牛奶貴多了。意外到了當地專門販賣亞洲食品的超市，發現當地販售的火龍果價格貴的驚人，約為每台斤 220 元台幣。也意外的看到該超市有販賣茗葉(圖 41)，但是沒有看到販售檳榔，推測可能是入菜用的。



圖 40、當地超市 walmart 沃爾瑪超市蔬菜水果價格



圖 41、超市水果與亞洲超市販賣之火龍果與萆葉

## 十六、K-State Insect Zoo 堪薩斯州立大學昆蟲博物館參訪

堪薩斯州立大學昆蟲博物館位於學校內離植物病理學系大樓不遠處，參觀門票為 3 美元，是一個極富教育意義的展館。展館展示了各種蝴蝶的標本，另有各種的蟑螂、竹節蟲、蠍子、蜘蛛等活體的昆蟲與節肢動物。有提供標本與連接電視的解剖顯微鏡供標本微細構造的觀察。特別的是展館內放置一個切葉蟻的生態箱，一邊是切葉蟻的巢穴，另一邊用透明塑膠管連結到仿森林的野地，因此可以看到切葉蟻辛勤的工作並且不斷的切下一片一片的葉子經由透明塑膠管帶回巢

穴。另外展場也有一個蜜蜂的生態箱，特別的是有看到一個塑膠管連結到外面的窗戶，推測應該是讓蜜蜂能實際的到野外採蜜，然後帶回巢穴透過透明壓克力箱看到蜂槽的內部運作情形(圖 42)。



圖 42、堪薩斯州立大學昆蟲博物館各種昆蟲展品

## 十七、後記

根據 Lee 教授的現身說法，美國大學學校都只有給教師 9 個月的薪水，因為學校認定大學老師每年寒暑假期間沒有上課教書，所以這 3 個月不給薪水是合情合理的。缺少的 3 個月薪水只能從自己的研究計畫經費來支應，也就是說如果拿不到研究計畫，這 3 個月的薪水便沒有著落，當然如果常常拿不到研究計畫，就不是沒 3 個月薪水那麼簡單了，因為一直沒有研究成果可是會被開除的。在頂尖的大學像是耶魯大學這種名校，學校給教授的薪水比例會隨著職級更少，例如新進助理教授可以領 9 個月薪水，副教授可能就只剩 6 個月，教授跟終身聘的教授可能就只能領 1-3 個月之類的，所以一旦拿不到研究計畫經費，即便是終身聘，可能也沒什麼薪水可以領。而且如果學校發現哪個教授連續幾年沒有拿到研究經費後，會把實驗室空間收回去給研究經費較多的教授使用。所以在美國當學校教授相當辛苦，要無時無刻籌措研究經費養活實驗室跟自己，更要固定有研究發表產出。特別的是，美國學校大學教授間有導師制度，會有一位資深的教授做為新進教授的導師(Mentor)，像是 Lee 教授的導師就是 Ari Jumpponen 教授，Ari 自

己本身也是做微生物體學的專家，當初就是看上 Lee 教授在環境基因體學方面傑出的研究，而且擁有最新的觀念跟技術，所以引介他進學校教書做研究。從 Lee 教授的研究方向發現這個研究題材是很有歷史跟傳承的，資深的教授 Loretta C. Johnson 已經累積數十年的題材，建立很好的生物學材料，Lee 教授的加入則運用更新的觀念與技術延續這些研究題材，相信這些研究在為來一定會有相當豐碩的產出。另外一個有趣的觀察是 Lee 教授的生活作息，Dr. Lee 每日大約 5 點就起床，這時候他會有約 3 小時的時間用來寫文章、計畫報告或研究計畫等需要專注力較強的工作，也因為這段時間不太會有其他人事物的干擾，因此他每天都可以很有效率的完成一些事情，之後他會進辦公室處理一些瑣事，像是回 E-mail、學生的討論和學校的行政事務等，美國的大學老師上下班時間頗為彈性，下午通常他會參加一些系上的演講或其他活動，晚上通常都 9 點左右就寢。我想每日可以在個人最有精神的一小段時間，然後可以不被任何事情打擾專心做一些寫作、思考或閱讀是很值得效法的作息。在堪薩斯州立大學學校附近約 600 萬台幣就可以買到不錯的房子，以美國人的薪水來說，房子的價位算是很低，只要有穩定的收入，要買房子不是太難的事。持有房子要繳的稅金每年約為 15 萬台幣，因此不會有人沒事買第二間以上的房子來放著繳稅金，或許也因為房屋的稅率高，當地租屋並不便宜，上述 600 萬台幣的房子，每月租金大約要近 4 萬台幣，如果是一般公寓租金約 2 萬，條件較差的套房大約也要 1.5 萬。相較於台灣的高房價，這邊的購屋壓力顯然輕鬆許多。小鎮的治安相當好，一般民眾出門是不鎖家門的，半夜走出去外面閒晃也不會有任何危險。

## 肆、心得及建議

- 一、本次參訪堪薩斯州立大學生物學系 Sonny T.M. Lee 助理教授實驗室，Lee 教授在微生物體學有相當豐富的研究經驗，研究過的材料包括海洋、珊瑚、人體腸道和草原土壤等，領域橫跨的範圍相當廣泛。生物資訊的分析方面，Lee 教授有相當豐富的經驗與獨特的方法，也因此榮獲堪薩斯州立大學生物學系的青睞而獲聘為助理教授，並給予優渥的研究經費進行堪薩大草原草種耐旱、生態等相關的研究。Lee 教授在攻讀博士學位時和中央研究院生物多樣性中心湯森林研究員有密切的合作關係。藉由本次參訪，順道把這份合作關係延伸到臺灣的農業界，筆者已經和 Lee 教授有一些合作的研究正在進行，希望未來能持續建立更深入且密切的合作關係。
- 二、與國內大學建立合作關係：微生物體學在國內農業應用方面的研究相對較少，筆者認為有相當多題材都可以使用微生物體學作為工具來進行。例如，如何



營造健康的土壤微生物環境、微生物農藥施用於環境後對土壤微生物相的影響、作物病害發生時微生物相的變化、作物抗病或園藝性狀優良品種所營造的微生物相等等，國外文獻已有許多這方面的研究，亦有找到一些特別的微生物菌種可以幫助作物抵抗病害。有國外文獻報導某個抗病的番茄品系其根圈會特別吸引一個特定的微生物菌種來幫助其抵抗病害。筆者相信國內農研單位(如各轄區試驗改良場等)都有許多珍貴有趣的題材，但是微生物體學的研究除了前段試驗設計與材料收集、核酸萃取與昂貴的次世代定序，得到大量的序列資料後，更需要後端專業的生物資訊分析來解讀其中的奧秘。國內農研單位在生物資訊分析的能力可能普遍較為不足，因此建議政府農研單位與大專院校教師建立合作關係，共同發揮所長。

三、研提相關研究計畫:微生物體學的方法為當今研究微生物學相關新穎且不可或缺的工具之一，建議未來研提計畫或者設計試驗時，可以將此研究方法納入，相信一定可以得到與以往傳統研究方法不同的結果或角度。

四、農業相關的微生物菌相調查:臺灣面積雖小，但橫跨了亞熱帶與熱帶，地勢起伏，高山林立，垂直高差接近 4000 公尺擁有多樣化的生態系，相信土壤的微生物生態系也具有一樣的多樣性。如果能依據不同的作物、農業操作模式(慣行農法或有機農法)、地理位置等不同的因素來建立作物土壤微生物的資料庫，相信對農業研究一定有相當大的助益。

## 伍、參考資料

1. 世界土壤微生物相計畫(Earth Microbiome Project, EMP):  
<http://www.earthmicrobiome.org/>
2. Cha JY, Han S, Hong HJ, Cho H, Kim D, Kwon Y, Kwon SK, Crusemann M, Bok Lee Y, Kim JF, Giaever G, Nislow C, Moore BS, Thomashow LS, Weller DM, Kwak YS. 2016. Microbial and biochemical basis of a Fusarium wilt-suppressive soil. ISME J 10:119-129.
3. Dr. Ari Jumpponen 網頁資料：<https://www.k-state.edu/biology/people/tenure/jumpponen/index.html>
4. Dr. Sanzhen Liu 網頁資料：<https://www.plantpath.k-state.edu/people/faculty/liu/index.html>
5. Gray MM, St Amand P, Bello NM, Galliard MB, Knapp M, Garrett KA, Morgan TJ, Baer SG, Maricle BR, Akhunov ED,

- Johnson LC. 2014. Ecotypes of an ecologically dominant prairie grass (*Andropogon gerardii*) exhibit genetic divergence across the U.S. Midwest grasslands' environmental gradient. *Mol Ecol* 23:6011-6028.
6. Mendola ML, Baer SG, Johnson LC, Maricle BR. 2015. The role of ecotypic variation and the environment on biomass and nitrogen in a dominant prairie grass. *Ecology* 96:2433-2445.
  7. Kemen E. 2014. Microbe-microbe interactions determine oomycete and fungal host colonization. *Curr Opin Plant Biol* 20:75-81.
  8. Konza Prairie Biological Station (KPBS) 堪薩大草原生物研究站網頁：<https://kpbs.konza.k-state.edu/>
  9. Parks DH, Tyson GW, Hugenholtz P, Beiko RG. 2014. STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. *Bioinformatics* 30:3123-3124.

## 陸、致謝

本次出國計畫承蒙行政院國家科學技術發展基金管理會補助計畫「提高農產品品質及櫥架壽命」(MOST 108-3111-Y-225-008)「新興技術-微生物體學(Microbiome)於營造洛神葵有機友善環境耕作之應用研究」補助，感謝本場長官與同仁支持與協助，使計畫執行順利。