



教師指導學生專題製作與論文競賽補助 成果報告

一、申請補助計畫基本資料

申請教師	黃祥恩	核定經費	10,000
單位系所	生命科學系	經費執行情況	<input checked="" type="checkbox"/> 已請購核銷完畢 <input type="checkbox"/> 尚未請購核銷 <input type="checkbox"/> 經費餘款_____
計畫執行年度/學期	112 年度 上 學期	參賽期程	112 年 10 月 13 日 ~ 112 年 10 月 15 日
參加競賽/學術活動名稱	2023 植物學年會-海報組	作品名稱	Utilizing a thermal cycling sterilization method to activate ferredoxin-like protein expression in <i>Bacillus thuringiensis</i> HS1 enhances tomato resistance to biotic and abiotic stresses
指導參賽學生姓名	錢怡安	班級	生命科學系四年級
競賽性質	<input checked="" type="checkbox"/> 國際性 <input type="checkbox"/> 校際 <input type="checkbox"/> 校內(院級以上)	參賽地點	中央研究院
系所主管簽章		日期	
學院院長簽章		日期	



二、參賽作品：(論文摘要或作品說明)

Utilizing a thermal cycling sterilization method to activate ferredoxin-like protein expression in *Bacillus thuringiensis* HS1 enhances tomato resistance to biotic and abiotic stresses

Yi-An Cian¹, Jia-Ying Lin¹, Ching-An Chang¹, Hsiang-En Huang¹

¹Department of Life Sciences, National Taitung University, Taiwan R.O.C

Abstract

The *Bacillus thuringiensis* HS1 strain was pursued as an alternative to genetic modification to enhance the resistance of plant to disease and environmental stressors by increasing ferredoxin (Fd) expression. Nonetheless, live HS1 cells have raised biosafety concerns, as evidenced in previous reports. This study developed a thermal cycling sterilization method to inactivate the HS1 strain, designated as HS1-5S-10X. The experimental outcomes indicated that both HS1 and HS1-5S-10X caused the expression of the majority of Fd genes in tomatoes, including *FdA*, *FdB*, *FdC*, and *FdD*. However, it hindered the expression of root-type *FdE*. HS1-5S-10X effectively enhances the resistance of tomatoes against the anthracnose fungus *Colletotrichum karsti*. In addition, it enhances the tomato's resistance to salt stress, heat, and flooding conditions. Furthermore, both HS1 and HS1-5S-10X treatments raised the expression of ethylene biosynthesis-related genes *SIACS1* and *SIACO1*, while reducing the gene expression of the ethylene signal transduction gene *SIERF1*, with an increase in *SIERF1* gene expression observed solely under flooding stress caused by HS1 treatment. This indicates a correlation between the induced resistance by HS1 and ethylene biosynthesis. However, the effects of ethylene only become evident under flooding stress. The expression of *SIZEP* gene was raised in terms of ABA biosynthesis genes, while the expression of *SIABA2* gene was lowered, especially under flooding stress caused by HS1 treatment. This suggests that HS1 treatment affects the initial stages of xanthoxin biosynthesis in the ABA metabolic pathway. However, under flooding stress, both the *SIZEP* and *SIABA2* genes were significantly suppressed, which affects ABA biosynthesis. HS1-5S-10X exhibited a comparable influence pattern to HS1, although with slightly delayed or weakened effects. These research findings emphasize that the deactivation of HS1-5S-10X indeed retains the ability to induce broad-spectrum resistance in tomatoes, thereby reducing the risk of biological contamination linked to direct HS1 application.

Keyword

Ferredoxin-like protein genes, *Bacillus thuringiensis*, tomato



三、參加之競賽活動：(請依據參加活動次數，依序附上相關活動簡章或海報、議程與參加證明等佐證資料)

Utilizing a thermal cycling sterilization method to activate ferredoxin-like protein expression in *Bacillus thuringiensis* HSI enhances tomato resistance to biotic and abiotic stresses

Yi-An Cuan, Jia-Ying Lin, Ching-An Chang, Hsiang-En Huang
Department of Life Sciences, National Taitung University

Abstract

The *Bacillus thuringiensis* HSI strain was prepared as an alternative to genetic modification to enhance the resistance of plant to disease and environmental stresses by increasing ferredoxin (Fd) expression. Meanwhile, the HSI cells have raised bioactive compounds, as analyzed in previous reports. This study developed a thermal cycling sterilization method to activate the HSI strains, designated as HSI-55-10X. The experimental outcomes indicated that both HSI and HSI-55-10X caused the expression of the majority of Fd genes in tomatoes, including FdA, FdB, FdC, and FdD. However, it hindered the expression of most type FdE. HSI-55-10X effectively enhanced the resistance of tomatoes against the pathogenic fungus (*Colletotrichum* spp.). In addition, it enhanced the tomato's resistance to salt stress, heat, and flooding conditions. Furthermore, both HSI and HSI-55-10X treatments raised the expression of ethylene biosynthesis-related genes (ACC1 and ACC2), while reducing the gene expression of the ethylene signal transduction gene (ETR1), with an increase in ETR1 gene expression observed solely under flooding stress caused by HSI treatment. This indicates a correlation between the reduced occurrence by HSI and ethylene biosynthesis. However, the expression of ETR1 gene was raised in stress of ABA biosynthesis genes, while the expression of ETR1 gene was lowered, especially under flooding stress caused by HSI treatment. This suggests that HSI treatment affects the related genes of endogenous biosynthesis to the ABA signaling pathway. However, under flooding stress, both the ETR1 and ETR2 genes were significantly upregulated, which affects ABA biosynthesis. HSI-55-10X exhibited a comparable influence pattern to HSI, although with slightly delayed or weakened effects. These research findings emphasize that the development of HSI-55-10X could reduce the ability to induce broad spectrum resistance in tomatoes, thereby reducing the risk of biological contamination linked to direct HSI application.

Development of HSI-55-10X

Strain	Medium	HT (hr)	HT (min)	Temperature	Survival (%)	Germination (%)
HSI-55	7%	50°C	1 min	50°C/24h	100	100
HSI-55	7%	50°C	1 min	50°C/24h	100	100
HSI-55	7%	50°C	1 min	50°C/24h	100	100
HSI-55	7%	50°C	1 min	50°C/24h	100	100
HSI-55	7%	50°C	1 min	50°C/24h	100	100
HSI-55	7%	50°C	1 min	50°C/24h	100	100

The isoproteins of Fd in Tomatoes

HSI-55-10X increase tomato biotic and abiotic resistance

HSI-55-10X increase tomato resistance to Colletotrichum leaf blight

HSI-55-10X increase tomato resistance to salt stress

HSI-55-10X increase tomato resistance to heat stress

HSI-55-10X increase tomato resistance to flooding stress

Both HSI and HSI-55-10X increase tomato resistance to heat stress

Both HSI and HSI-55-10X increase tomato phenoloxidase efficiency under heat stress

HSI-55-10X increase tomato resistance to flooding stress

Both HSI and HSI-55-10X increase tomato phenoloxidase efficiency under flood stress

Ethylene (ET)-Related Genes altered by HSI and HSI-55-10X

Gene	HSI	HSI-55-10X
ACC1	↑	↑
ACC2	↑	↑
ETR1	↓	↓
ETR2	↑	↑

The expression of ET related gene altered by HSI and HSI-55-10X

Gene	HSI	HSI-55-10X
ACC1	↑	↑
ACC2	↑	↑
ETR1	↓	↓
ETR2	↑	↑

The expression of ABA related gene altered by HSI and HSI-55-10X

Gene	HSI	HSI-55-10X
ACC1	↑	↑
ACC2	↑	↑
ETR1	↓	↓
ETR2	↑	↑

The expression of ABA related gene altered by HSI and HSI-55-10X

Gene	HSI	HSI-55-10X
ACC1	↑	↑
ACC2	↑	↑
ETR1	↓	↓
ETR2	↑	↑

NTTU x LS x MPP



Time	Oct. 13 (Fri.)	Oct. 14 (Sat.)			Oct. 15 (Sun.)			Oct. 16 (Mon.)
9:00-10:00		Plenary talks			Plenary talks			Sightseeing tours
10:20-12:00		Session I			Session IV			
		Vegetative growth	Photosynthesis	Nutrient transport	Abiotic stresses	Plant hormone and peptide signaling	Regulation of gene expression	
12:00-13:20		Lunch			Lunch			
13:20-15:00	Registration opens till 18:00	Session II			Poster and social hour			
		Reproductive growth	Metabolism	Cell cycle and regeneration				
15:20-17:00	14:30-16:30 TSPB meeting	Session III			Session V			
		Non-vascular plants	Photomorphogenesis and photoperiodic response	Cell organization and membrane trafficking	Plant-microbe interaction	Ecophysiology and crop improvement	Genome and evolution	
17:00-18:00	Keynote 1	Flash talks			Keynote 2			
18:00-19:20		Dinner						
19:20-21:00	Welcome Reception	Poster and social hour			Gala dinner			

▲ 2023 台日聯合研討會植物學年會流程



P223	Dr. Haruka Shinkawa, Ishikawa Prefectural University, Japan	OsBHLH064 transcription factor is involved in iron homeostasis in rice and is subjected to degradation by OsHRZ ubiquitin ligases
P224	Ms. Yuan Hsin Shih, National Taiwan University, Taiwan	Arabidopsis WRKY63 is involved in vernalization-induced flowering by acting as a transcriptional activator of <i>COOLAIR</i> and <i>COLDIAIR</i>
P225	Dr. Shin-Lon Ho, National Chiayi University, Taiwan	Functional characterization of a corepressor OsTPR1 in rice
P226	Ms. Yi-An Cian, National Taitung University, Taiwan	Utilizing a thermal cycling sterilization method to activate ferredoxin-like protein expression in <i>Bacillus thuringiensis</i> H51 enhances tomato resistance to biotic and abiotic stresses
P227	Ms. Yu-Zhen Chen, National Taiwan University, Taiwan	Investigating the MAC3A interacting protein network in the regulation of RNA splicing
P228	Dr. Takanori Kobayashi, Ishikawa Prefectural University, Japan	Iron sensing and regulation of iron deficiency responses by iron/zinc binding to rice HRZ ubiquitin ligases
P229	Mr. Ting-Shuo Nien, National Taiwan University, Taiwan	Coculture affects the gene expression profiles of two cyanobacteria differentially acclimated in visible light and far-red light
P230	Mr. Okechukwu Ezech, Gifu University, Japan	Combination of two cis-elements regulating high light, cold and UV-B responses of <i>Arabidopsis thaliana</i>

▲ 2023 台日聯合研討會植物學年會參加證明 (擷取部分參加組別)



四、參賽準備與活動記錄



圖說明：
中央研究院人文社會科學館 大門口



圖說明：
四樓 海報牆 光合作用組



圖說明：
實驗室人員一起討論海報內容



圖說明：
觀摩他校海報作品



圖說明：
10月14日(週六) 海報展示會



圖說明：
觀摩 10 分鐘口頭演講



五、參加競賽成果 (參賽證明、得獎證明或學生心得)

錢怡安 同學：

這次是我大學期間的參加的第一個也是最後一個國際性研討會，很感謝 黃祥恩 老師給予我這次機會。我和實驗室同學及學弟妹參與這次活動，而我是參賽學生，心中難免會有些緊張，但老師讓我放輕鬆地去參與研討會。擔心的事情很多，但實際上是我想太多了，那裡的人都挺友善的，會嘗試用簡單的英文來表達他們的問題，就算語言不通也可以比手畫腳，過程中很搞笑，但也讓我感受到語言的重要性。

而在活動期間，實驗室的大家也一起去觀摩其他學校所做的作品，各自擅長的領域都不盡相同、五花八門的，我這次參與的組別為基因表現的調控 (Regulation of gene expression) 海報展示組，其實還有許多組別，例如：營養生長 (Vegetative growth)、光合作用 (Photosynthesis)、養分運輸 (Nutrient transport) 等組，大部分的內容對於我來說都是全新的領域，有嘗試去閱讀他們但奈何我所知有限，無法去真正解讀作者想傳達的內容，想等回到學校再詢問老師。而實驗室的各位也有聚在一起討論別校所張貼的內容，而其中最令大家印象深刻的是有一篇在說明利用「柯霍氏法則」分離病原菌後接種到植物葉片上，因為這個內容學校的分子植物病理學課程有教學過，能夠引起大家的共鳴，才發現原來不是每篇內容的艱澀難懂，還是有些我們所熟悉的老朋友。

另外我們還參與了 10 分鐘口頭演說的觀摩，演講者需要在限制的時間內將他們多日的成果發表出來，所以全是精華，雖然我很認真地聽，但是發現我英文聽力真的有些差強人意，大家講話的速度又是偏快的那種，搭配簡報內容去做配合，也只能懂個一半，有些可惜。

在活動的最後，遇到了以畢業學長來和我們問候，一開始挺搞笑的，我還在想說為什麼有人知道我的名字，原來同為黃祥恩老師的學生，學長很好奇老師有沒有來，可惜那時候老師已經回去了。那時候我們聊了很多，作為學長的他也給我們相當多的提點，包括碩班以及大學期間的建議，我們還相互交流了一下各自的實驗成果，也使我感嘆世界之小，處處遇到朋友。

而經過這次的研討會，使我知道自己的不足，而經過和他人的交流，也獲得許多的建議，包括很多人覺得海報上的字體偏小，這成為我日後修改海報的方針。內容、排版與重點是海報上缺一不可的東西，才能清楚地呈現辛苦多日的成果。另外也很感謝實驗室的同學及學弟妹這幾天的扶持，讓我在活動期間能有更多精力去應付來自各方的問題，學習了很多也獲得了值得銘記的經驗。



林佳盈 同學：

這次跟學長姐們一起來中研院參加台日聯合舉辦的研討會，在這裡可以看到很多來自不同國家的學者專家，大家研究的主題也都不盡相同。除了有公開演講之外，還有來自不同學校的學長姐們發表的三百多張研究海報。

海報的內容有很多第一次看到的研究主題和方法，甚至連統計數據的方式也不一樣，還有使用不同的植物做實驗、利用電腦程式判斷植物生長情況進而給予輔助等等，都讓我覺得十分有趣。也有一些海報的主題或是部分的內容在實驗室或是實習時有做過的，在琳瑯滿目的海報之中會產生一種找到熟悉溫暖的感覺。

這次是我第一次跟學姊一起上海報，一開始覺得要跟其他更厲害的人報告我們的海報內容很緊張，還好最後這兩天的研討會都十分順利，也有遇到實驗室的碩班大學長，互相交流自己目前的實驗研究，還有吃到主辦方準備的茶點，覺得整個研討會的過程都十分愉快，來年再準備好下一張海報參加。

葉仁傑 同學：

這次植物研討會的參加，讓見識到很多專業的海報，有著專業教授所製作的，也有碩士的學生，其中也有看到前學長，在碩士所做的海報，經過學長的解釋，也可以大略了解學長在做什麼，但沒辦法了解那些實驗方法是怎麼做的，只能把檢測方法先記下來，之後再去 NCBI 找找相關的實驗方法。看其他的海報可以明顯看到我與他人的差距，就算是碩士做的，也感覺比我們做的還要專業，有很多是沒有看過的實驗方法，也有很多沒看過的數據檢測方式，只能記下來以後，讓我之後再去尋找相關的論文去學習，怎麼去看相關的數據，可以參考他們海報的製作方式，在之後讓自己有機會靠自己來這裡，在旁邊聽他們講解，可以參考他們講解的方式，在以後也有很多用處，這趟行程讓我有見識到自己的不足，也讓自己知道有哪些可以努力的地方。

沈鈺成 同學：

我非常高興能夠參加這次的植物學研討會，這次研討會辦的非常盛大，每天各個時段有不同國家不同研究方向的專家演講自己的研究成果，還有特定時段展出海報的時間，來自各個大學的學生還有專家的展出的成果海報，每個人都在自己的海報前供別人訪問、解釋、討論自己的結果，我從中看到了植物研究方面的多面性與看到很多不同的思考方向，也看到自己的許多不足之處，能夠向他們多多學習，之前只知道實驗室的從前學長姐們的研究方向，能看到更多研究思路，讓我以後能對未來研究及學習的方向提供了參考，例如：可以參考展會海報的檢測方法用在自己的實驗上，或是找出自己做出的實驗和他人的差別在哪，還有那些可以做的更好的，如果明年還有研討會的話，還能再去一次。



楊紹雍 同學：

今年參加了 TJPB2023 台日聯合研討會暨臺灣植物學年會，這是一個極具價值的學術盛事。會議不僅提供了一個平台，讓我們與來自台灣、日本以及其他國家的學生互相交流，還讓我們深入了解當前植物學領域的不同研究成果。在會議期間，我參加了多個研討會和講座，學習了關於植物生理學以及基因組學等各個方面的知識，此外，與其他與會者的互動也是一個重要的亮點。我有機會與來自不同國家的同行討論研究項目，分享經驗和見解。這種國際交流對擴展視野和建立合作關係至關重要。

最後，這次會議的組織和籌備工作非常出色。會議場地舒適，時間安排得宜，各項活動都順利進行，使參與者能夠充分參與和受益。

總而言之，TJPB2023 台日聯合研討會暨臺灣植物學年會是一個卓越的學術體驗，讓我更深入了解植物學的最新動態，並與同行建立了有價值的聯繫。我期待未來有更多這樣的學術盛會，以推動植物學研究的發展。

楊喬宇 同學：

在參加植物學的研討會中，我深刻地感到自己的不足。這個經驗讓我看到自己在各個層面的不足，幾乎像個孩子在玩遊戲一樣。當我看到其他人的研究成果時，我不禁感到自卑，因為我無法像他們一樣輕鬆地理解他們的報告內容。

從實驗架構到材料方法，再到結果，每一個細節對我來說都充滿挑戰。這些研究成果中的專業術語和複雜的數據似乎是一個巨大的障礙，讓我感到無法跨越。我不禁想問自己，即使現在開始改變，是否還有機會贏回失去的時間？

儘管困難重重，我仍然希望能繼續前進，不要成為一個毫無價值的存在。我認識到自己需要更多的學習和努力，需要不斷地提升自己的專業知識和技能。這是一個長期的過程，但我不想放棄。我要給自己一個交代，證明我可以克服這些挑戰，變得更有價值，並為植物學的研究領域做出貢獻。這是一條充滿艱辛的路，但我願意繼續掙扎下去，因為我相信，只要有決心，就沒有什麼是不可能的。