2015 年國際種子檢查協會年會之「分子生物技術在種子品質及健康檢查之應用」研討會心得分享

楊佐琦場長[1]、沈翰祖副研究員兼課長[1]、郭寶錚教授[2]、楊雯如副教授[3]

行政院農業委員會種苗改良繁殖場[1]、國立中興大學[2]、國立台灣大學[3]

國際種子檢查協會（International seed Testing Association；ISTA）2015 年會於本(104)年 6 月 15 日至 18 日於烏拉圭蒙特維多召開，其中舉辦一場「分子生物技術在種子品質及健康檢查之應用」研討會，專題討論內容包括：1. 品種檢定(Varietal identification)、2. 基因改造(GMO)產品檢測、3 統計工具(Statistics tools)、4. 種子健康(Seed health) ，心得分述如下。

1. 品種檢定(Varietal identification)

報告品種委員會的研究成果，由於 ISTA 的工作主要目標在協助種子貿易及食品安全的維護，品種鑑定尤其重要。由於分子鑑定必須著重 DNA 分子標誌的多型性及再現性，又檢定的實驗室遍及世界各地、各實驗室所用的方法及儀器差異又很大，所以透過門檻循環數 (Cycle threshold, Ct) 整合成果降低實驗室差距非常重要，成就跨實驗室、跨國合作。品種委員會選擇玉米、大豆、水稻及小麥四種作物，執行了跨國研究計畫，參與國家有超過 10 個國家（含台灣）、20 個實驗室參與，整合出可以共用的

分子標誌，這些分子標誌的表現必須能吻合 ISTA 規則(ISTA rules)，通過能力測試(proficiency test, PT)、認證流程(Accreditation scheme)。目前發展的方法著重在簡單序列重複(Simple sequence repeats, SSRs)及單核苷酸多型性 (Single-nucleotide polymorphism, SNP)，後者咸信更有效率，為現今積極發展的技術。以玉米為例，基因組中(genome)中富含 SNPs，在 SNP 出現機率在 non-coding region 及 coding region 中分別約為 1/48 及 1/131。針對 SNPs，很多應用技術正在蓬勃發展，其中 SNP 晶片(Array)的發展是為處理大量資料，提高其分析效率。

2. 基因改造(GMO)產品檢測

隨著 DNA 的發現及研究發展，農桿菌的發現及其他生物技術的提升，複以栽培環境的劣化、氣候的變遷，基因改造對作物改良的已成為趨勢。由於次世代基因解技術的發展，人配對基因的掌控及利用飛快增加，因此未來 GMO 的檢測將更加複雜。GMO 作物的栽培初期在已發展國家較多，但 2011 年開始開發中國間所佔比例已經超越已開發國家。以作物別分析，大豆、玉米、棉花、榨油用油菜分別佔 50%、30%、14%、及 9%，其他作物僅佔 1%。在種子貿易前十名的國家中，有 6 個國家種植 GMO 作物，因此無論是 GMO 作物本身及非 GMO 作物的種子

品種鑑定及純度都是檢查的要項，其重要性越發彰顯提升。由於GMO 的栽培漸漸普及，因此非 GMO 作物的純度檢查中，建議低量（Low level presence, LLP）GMO 檢出為可容許。因此在 ISTA Rules 新增關於 GMO 的章節—第 19 章及手冊(Handbook)。本次研討會中並由巴西農業、畜產、及糧食部(以下簡稱農業部)報告其 GMO 的檢查系統，巴西農業部架構下，設立 CGAL(General Coordination of Laboratory Support，CGAL)統合其下有 6 個檢查據點研究資訊，其中位於 MAPA 分部有 2 個公家的實驗室及 2 個授權實驗室，全部都通過 ISO 認證、標準化 DNA 萃取、DNA 及蛋白質的定量及定性分析、PCR based 各項分析(如 qPCR) ，目前更著力在發展數位 PCR(digital PCR)以利於精準檢測 GMO 中所含有的外源基因拷貝數。歐洲的 GMO 檢察系統網稱為 ENGL (European Network of GMO Laboratory) ，連結於 JCR(Joint Research Centre)之下，其中檢查關於 GMO 食用及飼料用作物之部分稱為 ENGL-GMFF，其下設置個數個工作群組，統合各項測驗的方法、PT 測試等工作項目。

3. 統計工具(Statistics tools)

6 月 15 日下午 由 Jean-Louis Laffont 演講，講題為 “A tour

of statistics tools used in GMO test: seedcalc, tool for computing Measurement Uncertainty, tools using Bayesian statistics.”內容主要介紹常用於基因改造作物種子檢定的統計工具、量測不確定的計算以及如何利用 Bayesian 推論來提升準確度。

4. 種子健康(Seed health)

主要在闡述作物受細菌、病毒、真菌及線蟲危害可能造成產量的損失，有些病害會透過種子傳播，所以種子健康檢查非常重要，檢查技術規範在 ISTA 規範中已有詳細規定；新技術著重在引進各式的 PCR based DNA 檢測技術，發展組合式檢測—同時檢測多種病害，意在建立檢測 Barcode 系統。真菌性病害殘留在穀類作物的真菌性毒素(Mycotoxins)，對人體、對飼養的動物都是有害的，因此除少數較落後國家外，多數國家都有殘毒量規範。作物所含毒素之種類、含量受作物種類、種植區域、環境因子(如雨量)等因子影響。有關病害檢測方法，涵蓋取樣方法及檢測方法，取樣包含直接從種子上淋洗或從傾倒穀物揚起的塵埃，檢測方法則是傳統的 PDA 培養法，新近致力於發展 qPCR 檢測法，但效果仍未趨於穩定。