三、種子 (苗) 檢查、檢測及驗證

一 建立花椰菜產業導向性狀精準高效選育技術

龔美玲、張倚瓏

消費者市場偏好潔白花球的花椰菜，栽培者欲極力避免黃化、紫斑等花球劣化情形發生，透過適當處理，例如綁帶束葉或覆蓋不織布，將花球遮光是最有效維持花球潔白並提升品質的方法；因此若能選育強光照射下花球顏色仍能維持潔白的品系，即能節省不少農業人力，故本計畫進行下列技術開發與研究。

1. 開發花椰菜白 / 黃花球顏色調查之專用色卡

本計畫前期使用傳統色卡 (RHS Large Colour Chart (6th) FAN 4 色卡中的 Grayed-yellow group 160) 調查白 / 黃花球顏色，分成 A (Moderate yellow)、B (Light yellow)、C (Pale greenish yellow) 及 D (Pale yellow)，但發現僅有 4 種分類在判定仍有模稜兩可的情形，以及色卡本厚重在田間使用上較不便利。因此本年度透過蒐集並栽種市售早中晚生等 20 個白花椰菜品種，分別取得束葉與不束葉的花球顏色影像，為了避免不同時間及環境中的色溫差異影響顏色觀察，透過測光法、自定義白平衡等方式處理後，取得第 1 版參考色票共 30 色，有別於對花球是白或淡黃色之直覺印象，實際提取的顏色更接近黃綠色色階。參考色票輸出後反覆進行「取樣、紀錄、調整、製樣、比對」等步驟篩選，色卡製作形式參考常用 RHS 色卡之形式，開發過程中發現由於花椰菜花球上的花序原基是具有高度變化的立體結構，在光影影響下彷彿有數種顏色深淺不一的斑點，導致使用純色色卡有比對判讀上的困難，因此本案開發之色票加入光影變化使容易判讀，田間驗證結果圖 3-1 所示。目前第一版色卡組合包含封面、封底、中英文說明、遮光 3 個色票及照光 4 個色票 (圖 3-2)。

2. 花椰菜花球顏色基因定位

本年度利用雙限制酶酶切後，篩選特定長度片度進行簡化基因組定序 (Double digest restriction-site associated DNA sequence, ddRAD-seq)，分析 106 株 F_2 之變異標記 (SNPs) 基因型，結合 110 年秋作之外表型調查資料，進行光照下花椰菜花球顏色相關之 QTL 定位。序列資料與 NCBI 之野生甘藍參考序列 TO1000 (Parkin et al., 2014) 比對，篩選後共獲得 5,683 個變異位點，並以 2,630 個分子標誌建立 9 條染色體的連鎖群圖譜，圖譜總長 1231.8 cM (圖 3-3)。分析結果發現此分離族群與親本在第 4 與第 8 條染色體上出現大量異質結合基因型的情況，使得子代的分離

情況偏離孟德爾的分離比，因此排除大量的分子標誌。本次 QTL 定位分析中沒有偵測到超過顯著水準之影響花球顏色的基因，但在第 5 條染色體上出現接近顯著水準的訊號。

圖 3-1、111 年秋作花椰菜 H7 品種之遮光 (左) 與照光 (右) 下花球與色卡共同攝影

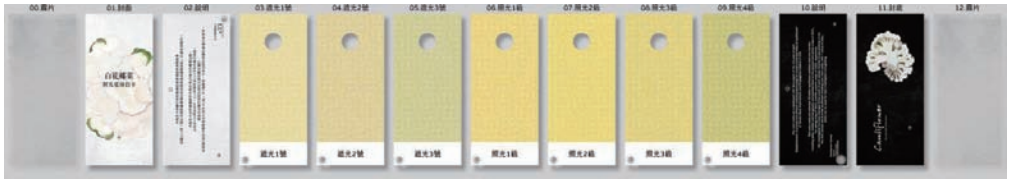


圖 3-2、花椰菜花球色卡組成

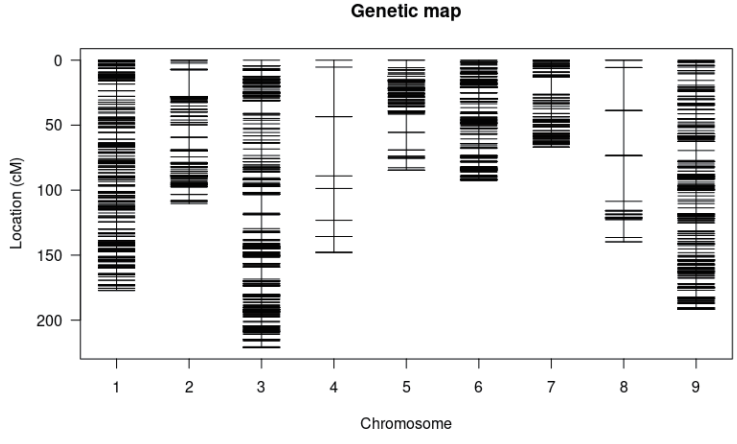


圖 3-3、以 2,630 個分子標誌建立花椰菜連鎖群圖譜

二 茄科作物土傳病害抗、感病品系根部微生物群分析與應用

林如玲、周明燕、張惠如

臺灣地處熱帶與亞熱帶，氣候高溫多濕，作物栽培易受病蟲害影響，由於土地密集耕作且長期依賴肥料與農藥，使得土壤地力衰退。因全球暖化及極端氣候頻度增加，使得栽培環境的變化遠快過於作物本身的調適，造成農作生產極不穩定。抗病育種雖為對抗病蟲的有效策略，但需要較長的研發時間。研究報告指出，植物根部微生物群落的組成，對植物的生長及抗逆境脅迫有重要影響。因此，應用微生物資源的調整，被視為農業環境急劇變動下生產調整的可行方向。近期研究發現，植物能型塑其根圈微生物群組，不同的植物種類具有特定的微生物群落，且在受到病原體或昆蟲攻擊後，植物本身能夠募集保護性微生物，並增強微生物活性以抑制根圈的病原體。因此植物根部的微生物群落，可被視為植物的第二基因組，為宿主植物提供了微生物衍生的化合物及性狀，對植物健康至關重要。本計畫擬透過對茄科作物土傳病害抗、感病品系根部土壤進行全基因體學定序，比較抗、感病植株根部的微生物相差異，篩選可能的分子標的，並藉由培養方法分離關鍵的微生物群，測試對植物健康生長的影響，以期能提高番茄植株對環境的適應力。本年度我們以具有根瘤線蟲及青枯病抗、感病基因型的番茄植株根圈土壤進行了 16S rDNA 全基因體定序，分析了抗、感病基因型番茄根圈土壤細菌群落組成 (圖 3-4)，同時

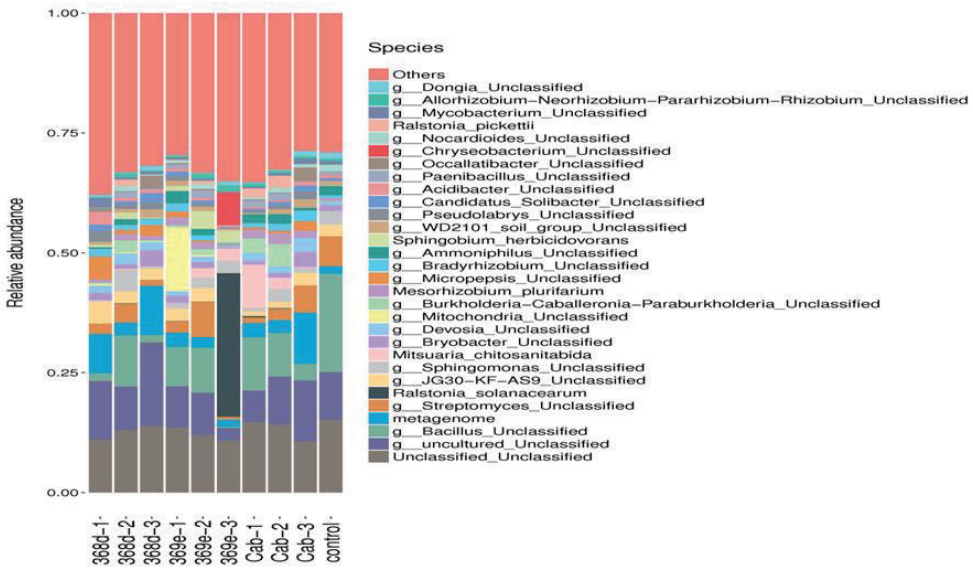


圖 3-4、根瘤線蟲抗、感病基因型番茄根圈土壤細菌群落組成及豐度分析

進行了群間差異性分析 (圖 3-5)，並以傳統培養方法進行根圈細菌分離與分子鑑定 (圖 3-6)，同時也收集了市場上常用的番茄根砧材料進行根部土壤 DNA 萃取，後續除對根砧材料繼續進行土壤 DNA 全基因體定序，亦將持續以培養方法分離關鍵的微生物群，並對這些分離株進行促植物生長因子測試。

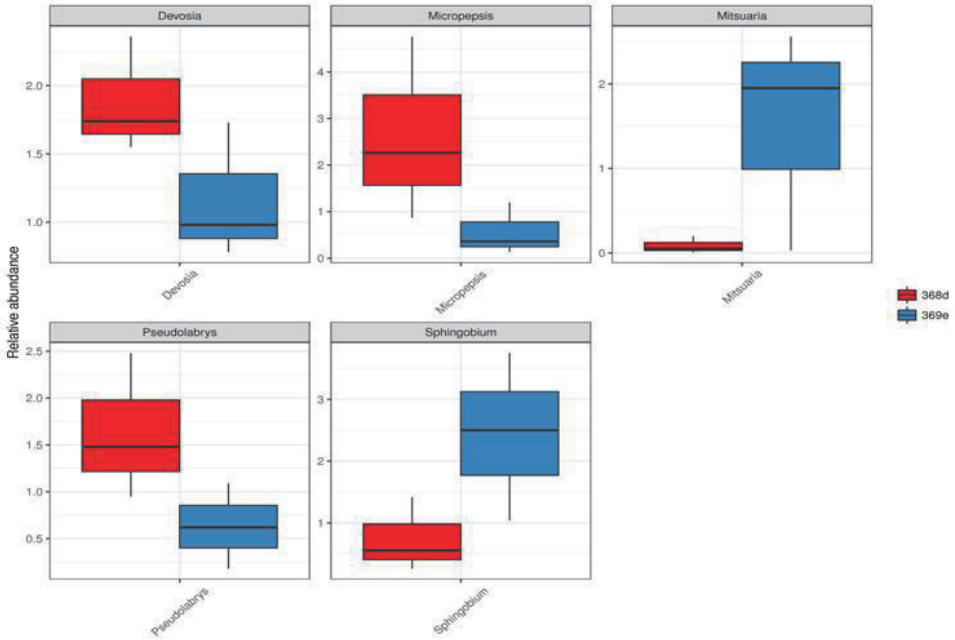


圖 3-5、根瘤線蟲抗、感病基因型番茄根圈土壤細菌組間差異性分析

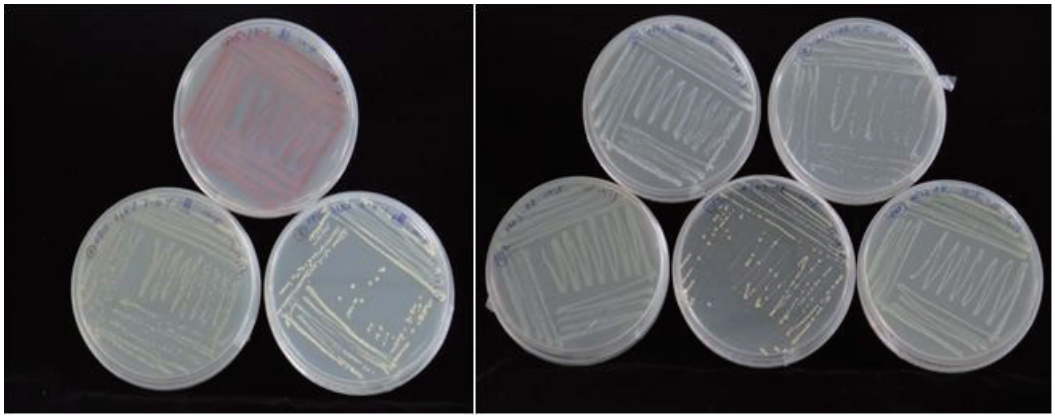


圖 3-6、番茄根圈土壤細菌分離

三 甜瓜之新興輔助作物選育技術開發

林如玲、龔美玲、張惠如

甜瓜栽培容易受到馬鈴薯 Y 病毒屬 (Potyvirus) 感染，阻礙植株生長，降低品質，造成嚴重減產。然而，由於缺乏抗病毒品種，甜瓜育種遲遲無法推展。近期 CRISPR/Cas9 等新興植物育種技術，提供了對植物本身基因組特定序列進行編輯的途徑，提供取得作物新性狀的目的。本計畫以甜瓜的真核轉譯起始因子 eIF4E 蛋白為標的，因為植物病毒在入侵宿主時需要宿主 eIF4E 蛋白的參與以調介其複製過程，當此蛋白不能表現時，植株可對多種植物病毒產生廣泛抗性。本計畫擬透過 CRISPR/Cas9 技術，造成甜瓜 eIF4E 基因序列的改變或缺失，進而產生病毒抗性。前年度構築了 4 個 CRISRP 表現載體，本年度利用原生質體短暫性表現評估 (圖 3-7)，對 4 個 CRISPR 載體的基因編輯效率進行比較 (圖 3-8)，選取 2 個編輯效果較優的表現載體，以甜瓜子葉培植體進行農桿菌介導的甜瓜轉殖，共得到 328 株再生株 (圖 3-9)，並對這些再生株進行了轉基因確認及其 eIF4E 基因定序。雖說尚未得到成功基因編輯的植株，但後續將透過載體及再生培養過程的優化持續進行篩選。

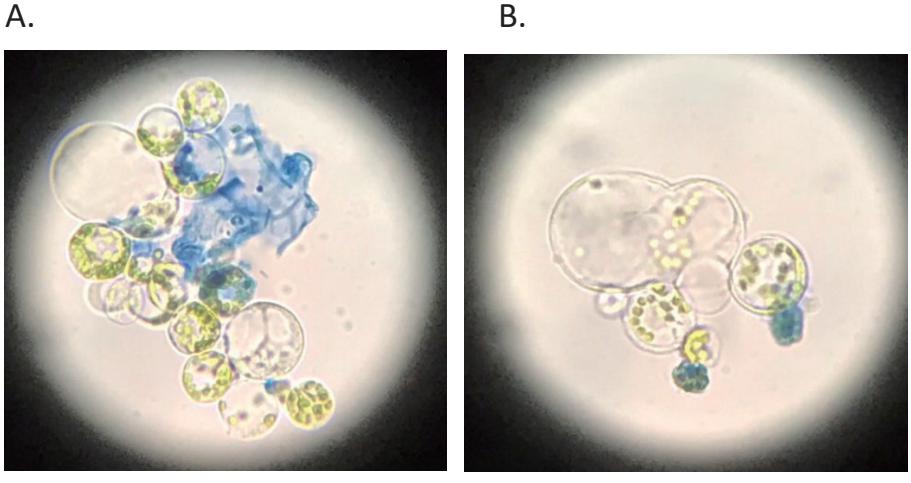


圖 3-7、甜瓜原生質體短暫性表現評估，經 PEG 轉殖後 24 小時 (A) 及 48 小時 (B)

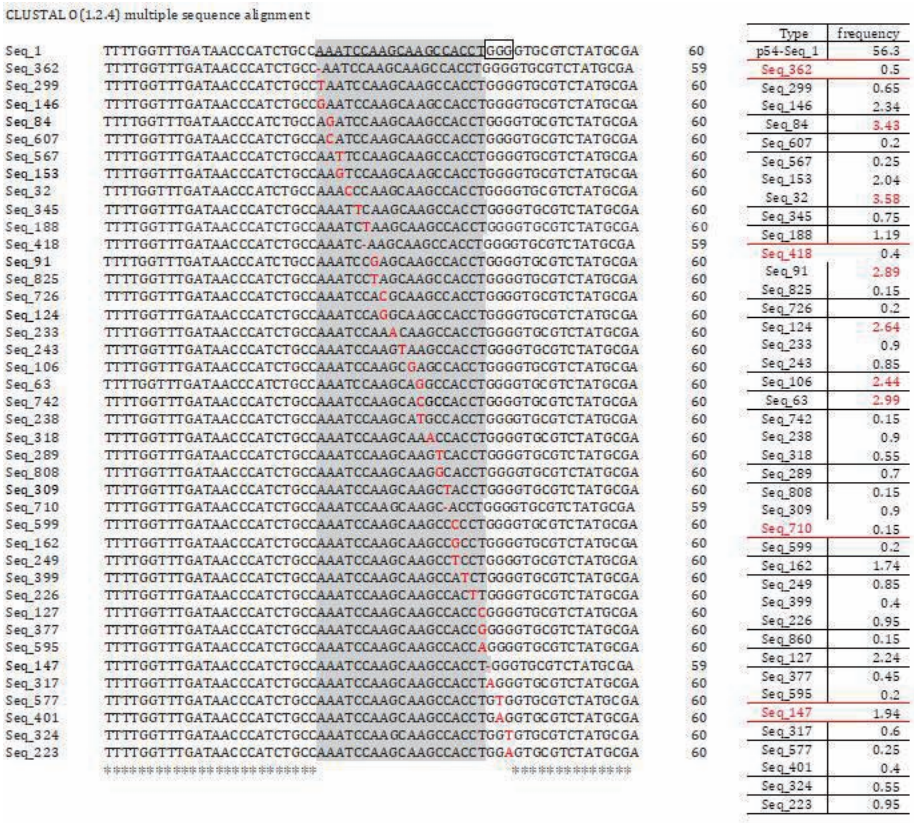


圖 3-8、CRISPR 表現載體基因編輯效率評估

圖 3-9、轉殖株再生 (A、B) 及繼代 (C)

四 分子標誌輔助番茄抗病育種前景、背景選拔模式建構

周明燕、龔美玲、周佳霖

分子輔助育種技術能夠協助克服部分表現型選拔所遇到的限制因素，而且 DNA 偵測可以在植物任何一個生長階段進行，提供選拔材料的遺傳背景資訊，育種者可以進行更有效率的早期選拔。應用分子技術輔助抗病育種已經是育種界習用工具，我國番茄育種業者也漸漸能接受該項技術，特別在抗病品種開發上。前景選拔 (foreground selection) 是根據功能性基因位置開發之分子標誌或緊密連鎖的分子標誌作為篩選依據，可導入一個或是堆砌數個標的基因，尤其對於形態不容易鑑定的性狀如抗病性，或需要堆砌數個不同數量性狀的基因的新品種開發，利用前景選拔都是非常有效率的；然而導入抗病基因，透過只是完成抗病育種選拔的第一階段，後續回復特定親本基因體的回交育種仍然需耗費巨量人力及時間。有別於傳統的分子標誌輔助育種，以分子標誌進行前景選拔後，觀察帶有特定基因之分離族群田間表現園藝性狀進行挑選，背景選拔 (background selection) 則是利用均勻分布於全基因體之多型性分子標誌作為篩選依據，以回復特定親本之基因型，特別適用於輔助回交育種，可提升回交效率，大幅縮短育種時程。目前國內大多數番茄育種業者對於前景選拔及背景選拔技術整合運用仍只停留在理論認知，若能建立一套整合模式，妥適運用分子工具，對業界品種研發效率提升將更有助益。

本研究藉由與業界合作，應用分子標誌前景及背景遺傳分析，針對番茄萎凋病抗病基因 I-3 導入及回交選育協作，整合前景及背景選拔策略，建立一套分子協作育種模式。研究先期已完成 *I-3* 基因型分析序列特徵化增幅區域 (SCAR) 分子標誌開發，作為抗病育種抗病基因前景選拔之分子檢測工具，配合大量雜交後裔篩選需求，進一步將該標誌轉換成適合競爭性等位基因特異性 PCR (KASP) 基因分型系統標誌，可將抗感病基因型分成 RR、RS、SS 三群 (圖 3-10)，分析結果更容易判讀。

另一方面，透過不同篩選策略從番茄 SNP 文獻資料庫 (Sim et.al.,2012) 篩選適合之候選 SNPs 設計成 SNP 標誌，針對雜交親本 DAN 進行多型性 PCR 分析，期望能找到具多型性且均勻分布於 12 條染色體的背景選拔分子標誌群。本研究背景選拔分子標誌設計經三次掏選候選 SNPs 群，設計引子及多型性測試，共獲得 32 組適用分子標誌，分散於番茄 12 條染色體 (圖 3-11)，其中 Ch08、Ch11 各有 5 組標誌、Ch09 有 4 組、Ch02、Ch03、Ch12 各 有 3 組，Ch05 仍未找到適用之標誌。32 組背景選拔分子標誌在染色體之分布位置如圖 3-12 運用分子標誌協助回交選育可以協助育種者更精準有效率地在每個世代篩選遺傳背景與恢復親最相似之後裔單株，

但此理論要達到實際應用程度，則須視遺傳背景分析所需分子標誌群能否均勻分配在每一對染色體上，一般每一對染色體約需 4~8 個均勻分布之分子標誌，本研究以此為預設目標進行候選 SNPs 群篩選及設計引子進行多型性測試，經過數百組 SNP 引子測試，僅獲得具多型性標誌 32 組，且在 Ch05 染色體上一直無法設計出適合之分子標誌。後續將調整候選 SNPs 探勘策略，運用目前新開發之 ddRAD seq 技術，將兩個親本 DNA 定序後，探勘 SNP 變異位點 (variant calling)，或許將能更有效率建立所需分子標誌群。

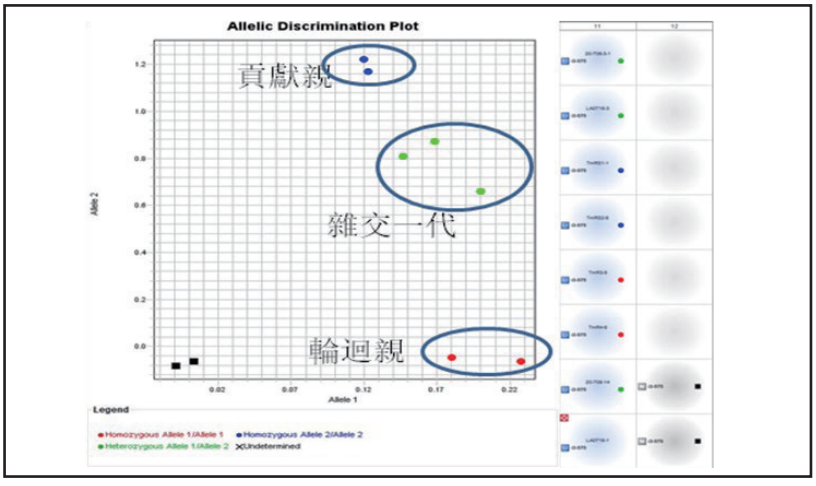


圖 3-10、因應後續大量後裔檢測 I-3 抗病基因篩選需求，將原設計之 SCAR 分子標誌轉換成 KASP 標誌，初步測試顯示檢測結果穩定，運用 KASP-I3 分子標誌檢測抗病基因，不必經過膠片電泳程序，直接判讀結果，可以進行大量樣品檢測，提高效率

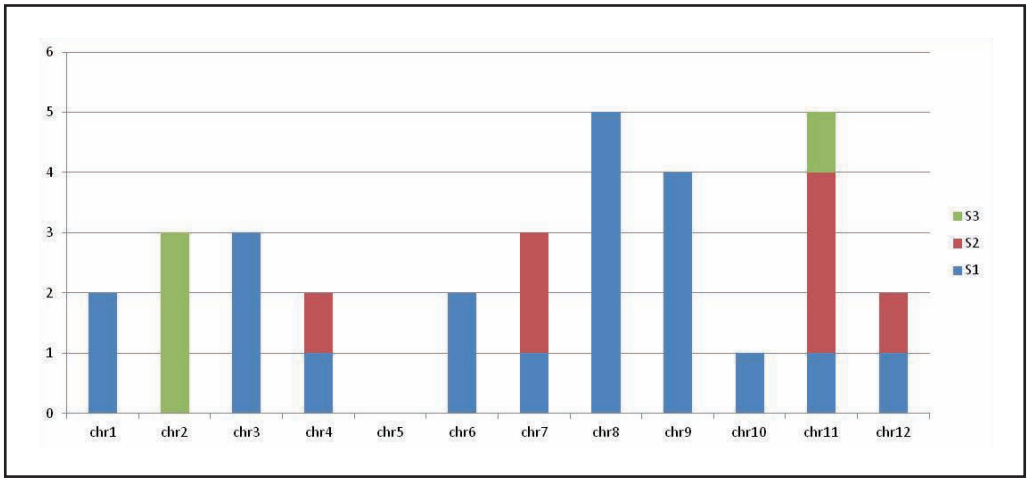


圖 3-11、因應後續大量後裔檢測 I-3 抗病基因篩選需求，將原設計之 SCAR 分子標誌轉換成 KASP 標誌，初步測試顯示檢測結果穩定，運用 KASP-I3 分子標誌檢測抗病基因，不必經過膠片電泳程序，直接判讀結果，可以進行大量樣品檢測，提高效率

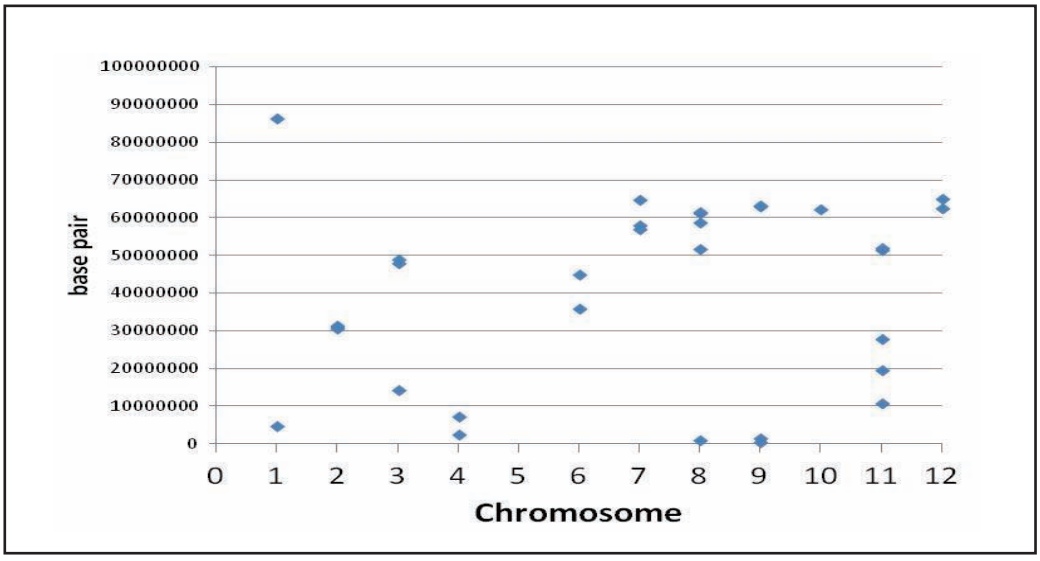


圖 3-12、背景選拔分子標誌群建立，共完成 32 組適用背景選拔分子標誌群，該標誌群在 12 條染色體之分布位置

五 加強基因轉殖植物安全管理 - 基因轉殖植物之檢測

周明燕、曾一航、張惠如

根據我國植物品種及種苗法與其相關管理法規，有關基因轉殖作物在上市前除須進行生物安全評估外，上市後，產品除須標示外，亦須接受主管機關監控，以維護國內生態環境與消費者之安全。有關基因轉殖作物之進出口管理，現階段採行邊境管制及境內源頭管理措施，針對可能進口之基因轉殖作物包括大豆、玉米、水稻、馬鈴薯、油菜及木瓜等作物，在進出邊境時採樣偵測，同時針對高風險作物對國內種苗業者進行源頭抽檢，以確保我國作物生產不受基改作物汙染。

本年度國內業者及田間監控部分共抽檢木瓜種苗生產業者 9 家、累積採樣數 15 件；玉米種子業者 4 家、累積採樣數 10 件 (表 3-1)；進出口種子監測部分共完成出口木瓜種子 17 件、進口玉米種子 37 件、進口大豆種子 2 件，總計 56 件抽檢樣品，皆無檢出目標基改片段，確保我國田間無基因轉殖作物種植及被汙染風險。各小組成員檢測能力維持測試，針對木瓜葉片、木瓜種子、大豆、玉米、油菜進行盲樣能力試驗，除油菜外，團隊定性檢測結果皆 100% 符合。(圖 3-13)

表 3-1、111 年度國內種苗業者及栽培田監測一覽表

	木瓜栽培園	木瓜種苗業者	採樣數	玉米業者	採樣數
新北市		1	2		
新竹縣				1	6
台中市				2	6
南投縣		1	1	1	1
嘉義縣		3	5		
台南市		2	5		
	0	9	15	10	10

圖 3-13、背景選拔分子標誌群建立，共完成 32 組適用背景選拔分子標誌群，該標誌群在 12 條染色體之分布位置

六 耐旱甜玉米及耐熱番茄分子標誌選育應用技術建立

曾一航、張惠如

本計畫利用二個耐旱關聯 CAPS 標誌進行食用玉米參試種原基因分型，結果顯示品種 A 及 B 具有高耐旱潛力，品種 D 及 E 所具耐旱潛力則相對較低。然根據萌芽時期及幼苗時期之耐旱能力調查資料，均顯示品種 E 之耐旱表現較佳，而品種 A 及 B 則相對不耐旱。此衝突結果之實際成因雖仍待探討，然因參試品種 E 確於調查生育階段 (萌芽時期及幼苗時期) 呈現明顯耐旱性 (表 3-2)，故可作為耐旱能力評估比對標準或耐旱育種材料構成使用。在耐熱番茄分子標誌建立部分，則利用 152 個番茄試驗材料種植後觀察其相關性狀，並進行 DNA 萃取及 ISSR 分析，藉以評估材料間的遺傳歧異度，分析結果顯示在野生種番茄間的遺傳歧異度最大。另本年度亦完成包括野生種番茄等 50 個試驗材料的 ddRAD-seq 文庫建立。(圖 3-14)

表 3-2、食用玉米參試種原耐旱潛力評級綜合比較

材料編號	耐旱試驗參試編號	dhn1	rsp41	耐旱潛力 (分子標誌評級)	耐旱潛力 (萌芽時期評級)	耐旱潛力 (V2時期評級)
ZM-00004	A	A	G	★ 高	-47%	2
ZM-00005	B	A	G	★ 高	-17%	0
ZM-00025	C	A	A	中	-13%	–
ZM-00024	D	G	A	低	-7%	–
ZM-00003	E	G	A	低	★ -3%	★ 6
ZM-00001	F	A	A	中	–	1

圖 3-14、番茄蒐集系材料性狀調查 (高溫環境下之開花結果情形)

七 精準農業生技作物檢監測體系之研究

曾一航、張惠如

本計畫主要目標係在提升我國對於生技改良作物之檢監測量能。在基因改造作物品項檢測方法建立上，已完成玉米基改品項 MON89034 之定性 / 定量檢測技術建立，其定性偵測極限可達 0.05%。在基因轉殖元件檢測技術優化部分，則針對 CaMV 35S promoter 及 NOS terminator 在參試大豆基改品項之偵測覆蓋率不足 (33.33%) 情形，以新設計引子對將其提升至 83.33%。在基因改造品項檢測能力試驗方面，團隊所屬各實驗室對於棉花、玉米、馬鈴薯及大豆之最終平均檢測正確率為 100%，僅實驗室 B 於大豆盲樣第 1 次檢測結果出現不符狀況 (大豆：GTS40-3-2 偽陽性、DAS-68416-4 偽陽性)；而參與外部機構 (FAPAS、ISTA) 相關能力試驗之檢測結果均為正確。另在 111 年度基因改造作物檢監測作業執行結果中，國外進口作物 (硬質玉米、大豆) 方面尚未發現明顯異常情形，惟篩選檢測流程應就偵測覆蓋率再予優化。(圖 3-15、圖 3-16)

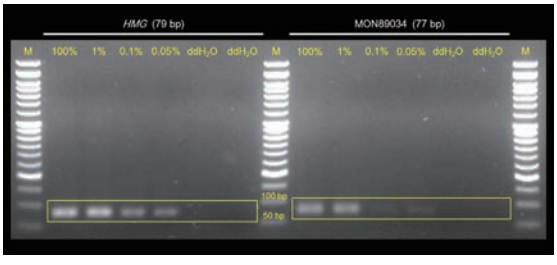


圖 3-15、基因改造玉米品項 MON89034 之定性檢測分析結果

備註：上圖中「M」為 marker，「ddH2O」為二次水；圖 3-15 (左) 依序為不同濃度 (100%、1%、0.1%、0.05%) 之基因改造玉米品項 (MON89034)PCR 擴增產物 (擴增標的：HMG；79 bp)；上圖 3-15 (右) 依序為不同濃度 (100%、1%、0.1%、0.05%) 之基因改造玉米品項 (MON89034)PCR 擴增產物 (擴增標的：MON89034 偵測片段；77 bp)。

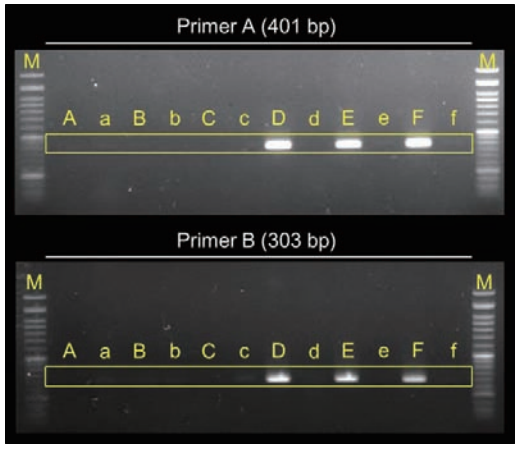


圖 3-16、番茄蒐集系材料性狀調查 (高溫環境下之開花結果情形)

備註：上圖中「M」為 marker，「A ~ F」分別為大豆基改品項 (GAT-40-3-2、DP-305423-1、DP-356043-5、DAS-68416-4、DAS-81419-2 及 DAS-44406-6)，「a ~ f」分別為大豆基改品項 (GAT-40-3-2、DP-305423-1、DP-356043-5、DAS-68416-4、DAS-81419-2 及 DAS-44406-6) 負對照參考物質；圖 3-16 (上) 為參試大豆基改品項以引子對 A 進行擴增之 PCR 產物 (401 bp)；圖 3-16 (下) 為參試大豆基改品項以引子對 B 進行擴增之 PCR 產物 (303 bp)。

八 糧食作物庫存條件研究

許鑄云、張雅琪

本研究欲建立水稻種子適當貯藏條件以建立種子安全庫存機制，提供糧食作物之貯藏條件和貯藏後的種子使用方法之標準作業流程。本試驗以水稻‘臺中秈 10 號’和‘臺南 11 號’種子於 3 種不同溫度、3 種不同包裝材質以及 4 種不同貯藏時間進行貯藏後調查其種子活力。‘臺中秈 10 號’和‘臺南 11 號’以編織袋＋ PE 夾鏈袋包裝處理其發芽根長較長，但貯藏 9 個月後有下降現象。‘臺中秈 10 號’與‘臺南 11 號’皆於 10℃溫度下，以 PP 編織袋＋ PE 夾鏈袋包裝貯藏 6 個月內，種子可保有較好的活力。溫度馴化處理試驗中，‘臺中秈 10 號’和‘臺南 11 號’於包裝材質處理方面均無顯著差異。‘臺中秈 10 號’平均發芽天數延長，其發芽速率指數則有降低現象，馴化溫度大於原先貯藏 10℃，其發芽速率指數皆有提升；‘臺南 11 號’在發芽速率指數方面，未經溫度馴化處理組的數值皆高於其他溫度馴化的處理組。不同貯藏時間的發芽率和水分含量試驗中，水含量變化不大，粳稻品種‘臺南 11 號’會因貯藏時間延長與發芽率成反比，而秈稻品種‘臺中秈 10 號’則不受貯藏時間影響。（圖 3-17、圖 3-18）

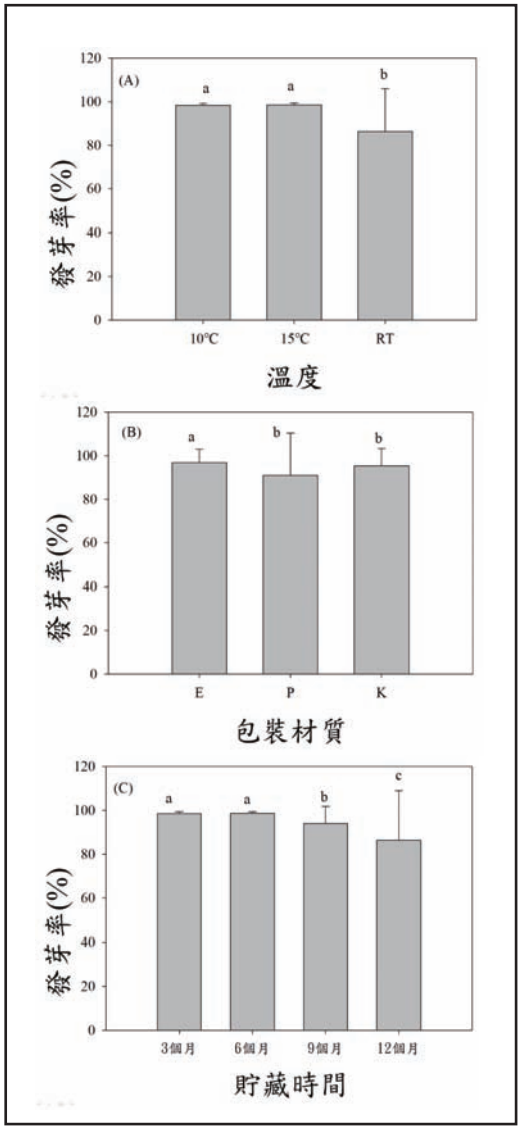


圖 3-17、‘臺中秈 10 號’種子經不同溫度 (A)、包裝材質 (B) 及貯藏時間 (C) 處理的發芽率表現。RT: 室溫；P:PP 編織袋；E:PP 編織袋 + PE 夾鏈袋；K: 牛皮紙袋。相同字母表示 LSD test ($p > 0.05$) 無顯著差異

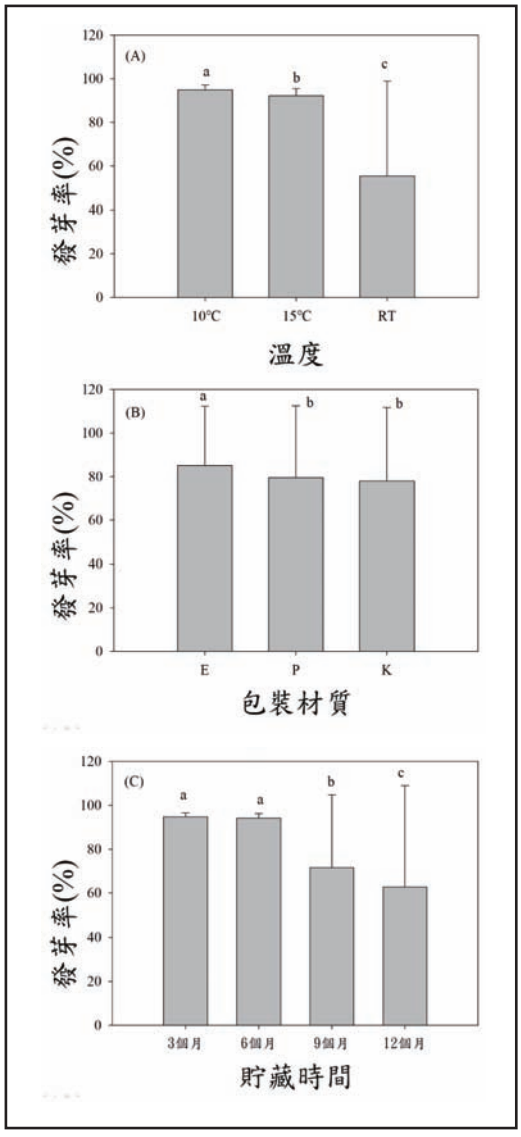


圖 3-18、臺南 11 號種子經不同溫度 (A)、包裝材質 (B) 及貯藏時間 (C) 處理的發芽率表現。RT: 室溫；P:PP 編織袋；E:PP 編織袋 + PE 夾鏈袋；K: 牛皮紙袋。相同字母表示 LSD test ($p > 0.05$) 無顯著差異

九 氣候變遷下瓜類田區關鍵雜草調查與管理調適策略

許鑄云、劉京育

本計畫調查不同瓜類田區雜草相變化，評估主要病害寄主雜草於氣候變遷下其種子和幼苗的影響。調查瓜類包括西瓜、甜瓜、絲瓜及胡瓜等田區，調查結果（圖 3-19）以馬齒莧 (*Portulaca oleracea*) 為主要病害中間寄主，因此以馬齒莧種子和幼苗進行溫度逆境和水分逆境等模擬極端氣候條件下之試驗。在恆溫下，馬齒莧種子最適合的發芽溫度為 32~38℃，發芽率與 20/30℃變溫相比並無明顯差異。高溫下不論是在 36℃、38℃或 40℃處理 2 天之馬齒莧幼苗在根長、根鮮重及根乾重皆顯著低於對照組，顯示高溫會對幼苗生長造成負面影響。馬齒莧種子在水分潛勢 0~-0.4MPa 之間，其發芽率隨著水分潛勢下降而顯著下降，在 -0.1MPa 時尚有 76%，在 -0.4MPa 則降低至 5.5%，當水分潛勢低於 -0.6MPa 時則不發芽；而在種子淹水逆境上，淹水 3 天之種子發芽率顯著較低。馬齒莧幼苗在乾旱和淹水環境處理下，在乾旱環境下的幼苗的各項性狀表現顯著較差，而在淹水環境下對其幼苗性狀則無明顯差異（圖 3-20）。綜合結果可得知，馬齒莧在 32~38℃時有著較高之發芽率，但種子易受水分潛勢影響而無法發芽，淹水處理也會降低種子發芽率，而馬齒莧幼苗在高溫下及乾旱逆境下不利於生長。

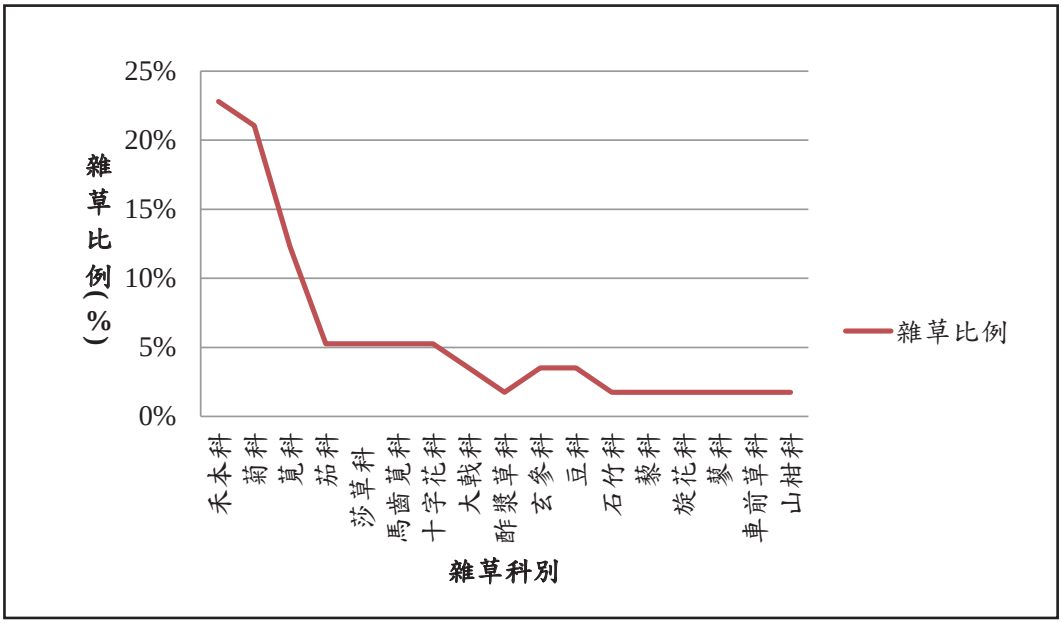


圖 3-19、瓜類田區雜草比例

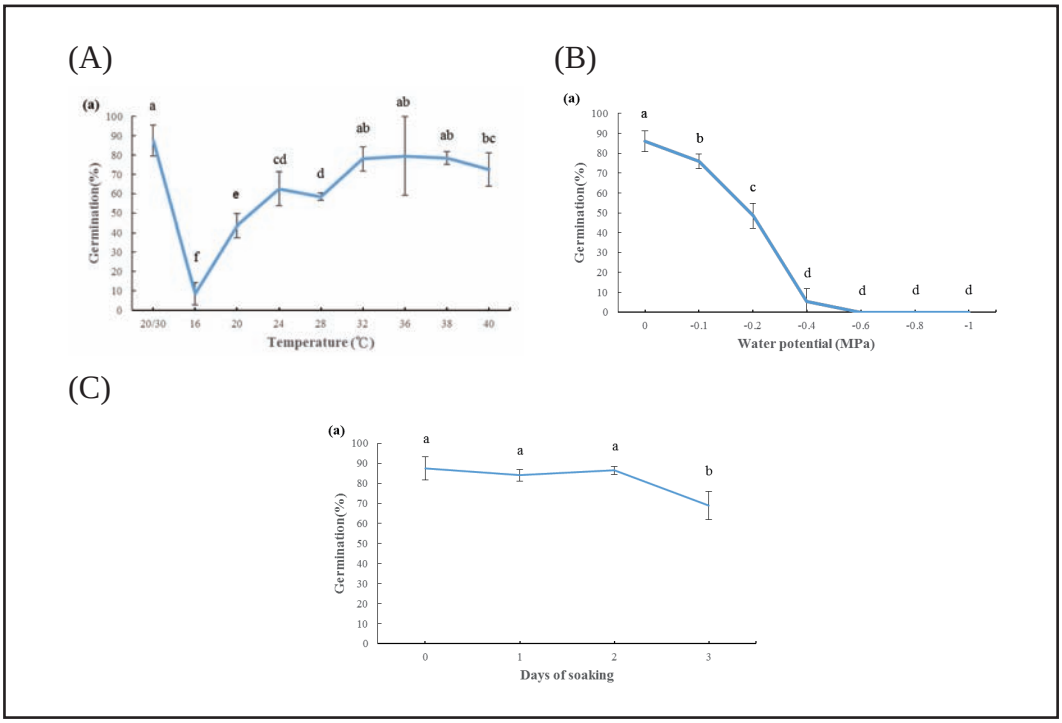


圖 3-20、馬齒莧種子在不同逆境下之表現。(A) 不同溫度 (B) 不同水分潛勢 (C) 不同淹水時間。各平均值上示以相同字母者為 5%水準下經 LSD 測驗未達顯著差異

十 智能辨識應用於種子品質快速預測

賴漢揚、楊怡玟

科技日新月異，許多工業領域之相關技術已逐步於農業領域應用，其中智慧化系統進行圖像識別已快速發展，將影像辨識技術應用到品種鑑別、農產品的外觀分類、分級和品質檢測等方面。高品質種子為種苗繁殖體系的基礎，目前較常使用的種子品質檢測方法包括標準發芽試驗、電導度試驗、幼苗生長試驗、加速老化試驗、寒冷測試及 TTC 染色法等，通常耗時長、需要專業器具或藥劑且觀測人員需經培訓，難以應用於即時調整機械操作條件提升種子品質。

本計畫透過智慧科技 AI 影像辨識智能管理系統的建置，評估運用於種子破損染色圖譜並快速判定種子品質作為種子品質參考。111 年度辦理的項目包括：1. 開發種子品質快速檢測簡易染色試劑組：透過開發簡易染色試劑組及其使用標準化作業流程 (如圖 3-21、圖 3-22)，於農地或工廠現場進行種子損傷染色流程測試 (圖 3-23)。2. 種子品質快速檢測系統及資料庫建置，並實際運用於調製種子檢測：進行不同調製階段玉米種子染色判定，分別為脫粒前、脫粒後、精選後，判定結果皆為 0~10% 損傷，為輕微損傷，若將精選後篩除的淘汰種子進行染色判定，其結果為 30~40% 損傷 (表 3-2)，顯示調製過程中會造成種子破損，而破損嚴重之玉米種子

圖 3-21、種子品質快速檢測簡易染色試劑組使用手冊 (上)

會在精選後被篩除，並顯示種子品質快速檢測系統能測定調製過程中的破損種子。

快速簡便的種子品質快速檢測系統流程，不只可以提升種子檢測效率，也可即時調整機械操作條件提升種子品質供應優良種子 (苗)，促進種苗產業發展。

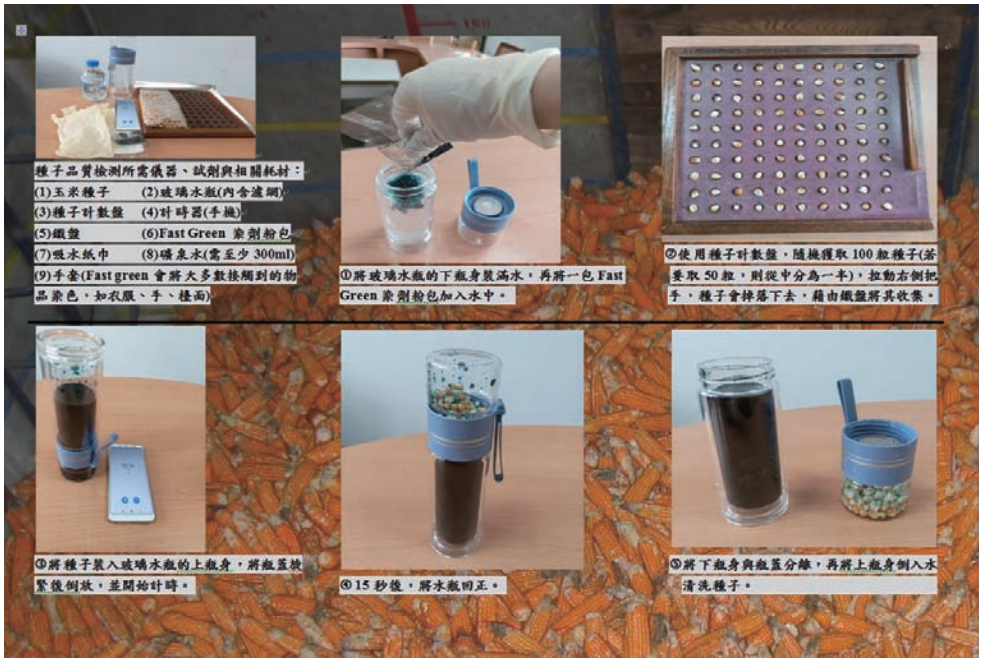


圖 3-22、種子品質快速檢測簡易染色試劑組使用手冊 (下)

圖 3-22、Fast Green 染色後破損玉米種子

表 3-2、調製工廠玉米調製各階段品質判定結果

種子	未處理	脫粒後	精選後	精選後被篩除破碎玉米種子
損傷比例	0%~10%	0%~10%	0%~10%	30%~40%
預測發芽率	98.0%	98.0%	98.0%	69.0%
預測活力指數	5 級	5 級	5 級	4 級
吻合特徵百分率	99.9%	99.9%	99.9%	99.6%

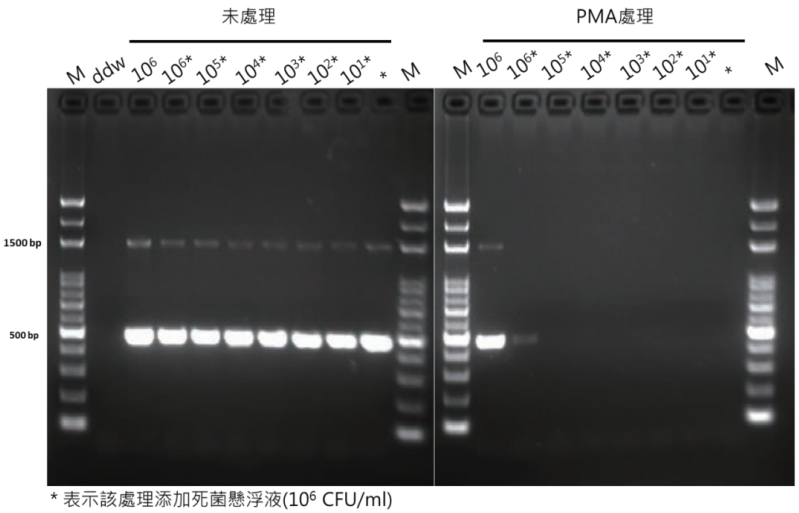
十一 種傳病原檢測流程優化暨種子滅菌處理技術開發之研究

蘇士閔、江筱曄、楊昕蓉

為因應種傳病原檢疫檢測效率與種子受種傳病原汙染時藥劑處理的需求，本計畫利用溴化丙錠 (Propidium monoazide, PMA) 可進入受傷或死亡之微生物體內與其 DNA 結合之特性，測試進行假單孢桿菌屬 (*Pseudomonas* spp.) 檢測時，以 PMA 取代培養步驟之可能性。經測試後，PMA 可有效抑制番茄細菌性葉斑病菌 (*P. syringae* pv. *tomato*, Pst)、十字花科蔬菜細菌性葉枯病菌 (*P. viridiflava*, Pv)、九層塔細菌性葉斑病菌 (*P. cichorii*, Pc) 死菌之 DNA 在 PCR 過程中增幅（圖 3-23），但每單位 PMA 能結合的 DNA 有限，應用時需添加之 PMA 最適用量持續測試中。而當細菌濃度過低時，添加 PMA 會使條帶不顯現。在滅菌處理方面，本計畫利用殺菌劑進行胡瓜種子之蔓枯病 (*Didymella bryoniae*) 滅菌處理技術開發。利用貝芬替、鋅錳乃浦、達滅芬、四氯異苯腈、邁克尼及亞托敏等六種殺菌劑進行測試。結果顯示，以 10X 及 100X 稀釋液之四氯異苯腈、邁克尼及鋅錳乃浦殺菌劑水溶液處理，皆可明顯降低胡瓜種子蔓枯病菌帶菌情形，但當邁克尼殺菌劑水溶液濃度提高時，不正常苗比率隨之提高，會出現對種子發芽的抑制作用，也嚴重影響幼苗出土率，因此須注意其適用濃度避免造成副作用發生。（圖 3-24、圖 3-25）(表 3-3)

表 3-3、不同濃度殺菌劑水溶液浸種對健康胡瓜種子幼苗出土率之影響

殺菌劑 / 稀釋倍數 (X)	幼苗出土率 (%)
四氯異苯腈 10	31 de
100	69 bc
1000	62 bc
邁克尼 10	23 e
100	69 bc
1000	77 ab
鋅錳乃浦 10	46 cd
100	62 bc
1000	62 bc
CK(無菌水)	100 a



* 表示該處理添加死菌懸浮液(10^6 CFU/ml)

圖 3-23、以十字花科蔬菜細菌性葉枯病菌 (*P. viridiflava,* Pv) 進行 PMA 搭配 PCR 檢測效果測試

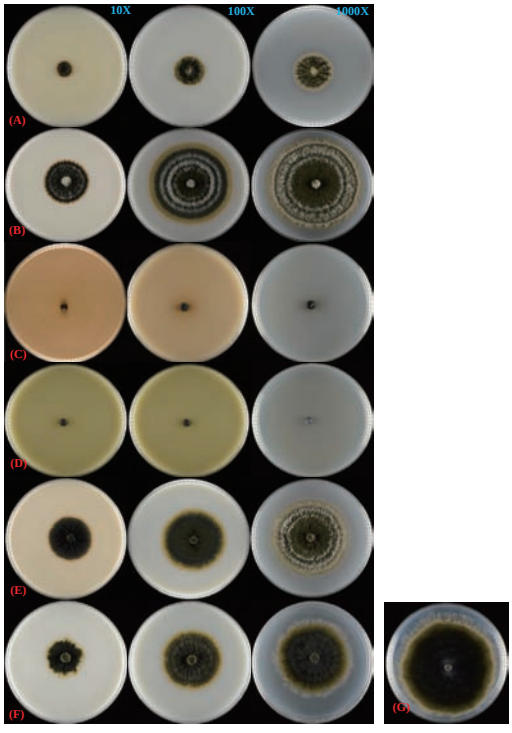


圖 3-24、不同濃度殺菌劑培養基對瓜類蔓枯病原菌絲生長的抑制情形，由左至右依 序為稀釋濃度 10X、100X 及 1000X。(A) 四氯異苯腈 (B) 貝芬替 (C) 邁克尼 (D) 鋅錳乃浦 (E) 達滅芬 (F) 亞托敏 (G) 對照組

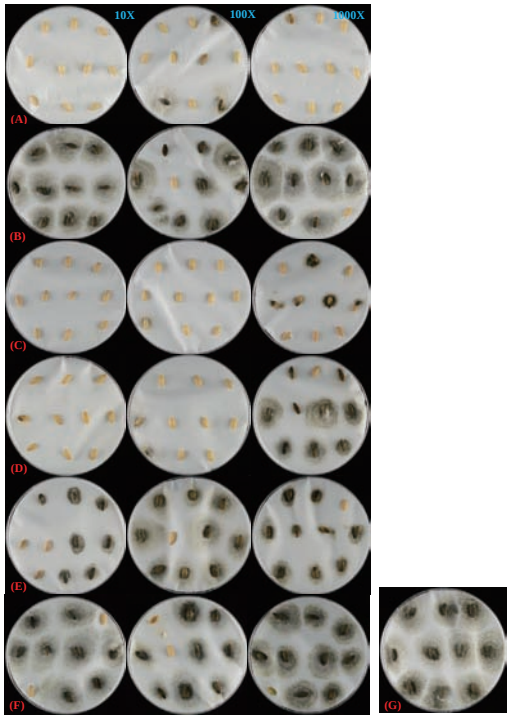


圖 3-25、以冷凍濾紙法測試不同濃度殺菌劑水溶液對胡瓜種子蔓枯病的防治情形，由左至右依序為稀釋濃度 10X、100X 及 1000X。(A) 四氯異苯腈 (B) 貝芬替 (C) 邁克尼 (D) 鋅錳乃浦 (E) 達滅芬 (F) 亞托敏 (G) 對照組

十一 種苗產業資訊及種子滲調促進作物逆境耐受性之研究

陳易徵、黃玉梅、吳翰儀、黃亭瑜
李幼寬

本試驗使用前年度於高溫逆境表現較佳之 7 組滲調處理條件，於本年度進行鹽分逆境與耐貯試驗。試驗結果顯示，不同滲調條件處理效果於 5 個受試品種番茄種子發芽表現各異。以電導度 5 mS/cm 鹽水澆灌模擬鹽分逆境之穴盤育苗試驗結果顯示使用 0.75% KNO_3 處理 24 小時之受試種子發芽表現較佳；當澆灌鹽水電導度提高至 10 mS/cm ，則以 50 ppm 水楊酸處理 24 小時之供試種子生長表現較佳；在耐貯表現方面，使用 0.75% KNO_3 處理 24 小時，於 9 個月儲藏期間 4 次發芽試驗之發芽率、GT50 與 MGT 與對照組無顯著差異；但經 50 ppm 水楊酸處理 24 小時的番茄種子在耐貯試驗的 4 次發芽試驗中則有發芽能力顯著下降之情形。前年度測試不同滲調處理條對於高溫逆境試驗結果亦顯示 0.75% KNO_3 處理 24 小時之受試種子發芽能力最佳，為 5 種受試番茄種子抗高溫及鹽份逆境之最佳滲調處理條件。(表 3-7)

表 3-4、不同滲調介質對於番茄種子鹽逆境穴盤育苗出苗率之影響

種植月份 / 滲調處理	二月	三月	五月	六月	八月	十月
H_2O 12 hr	●	●●	●	●●●		
0.75% KNO_3 12 hr	●	●●●		●●●	●●●	
0.75% KNO_3 24 hr	●	●●		●●	●●●	
300 mM NaCl 24 hr	●	●●		●●	●●●	●
75 ppm GA3 12 hr		●●●		●●		●●
50 ppm SA 24 hr	●		●	●●●		●●●
0.5% Chitosan 24 hr		●●	●	●●●	●	●●

促進：●

表 3-5、不同滲調介質對於番茄種子鹽逆境穴盤育苗生物量之影響

種植月份 / 滲調處理	二月	三月	五月	六月	八月	十月
H_2O 12 hr		●●●●	●●●	●●●●	●	
0.75% KNO_3 12 hr	●	●●●● ●			●●	●●
0.75% KNO_3 24 hr	●●●●	●●●●	●	●●●	●●●	●●
300 mM NaCl 24 hr	●●●●	●●	●	●●●●	●	●
75 ppm GA3 12 hr		●●●● ●●	●●	●	●	●●
50 ppm SA 24 hr	●	●●●● ●●●	●●	●●●		●●●
0.5% Chitosan 24 hr	●	●●●● ●	●●●	●●	●	●●●

促進：●

表 3-6、不同滲調介質對於番茄種子儲藏後發芽率之影響

耐貯月份 / 滲調處理	0月	2月	6月	9月
H_2O 12 hr	-	-	-	-
0.75% KNO_3 12 hr	-	●	-	-
0.75% KNO_3 24 hr	-	●	-	-
300mM NaCl 24 hr	▲	-	-	-
75 ppm GA3 12 hr	-	▲	▲	-
50 ppm SA 24 hr	▲	-	-	-
0.5% Chitosan 24 hr	▲	-	-	▲

正影響：●
無影響：-
負影響：▲

表 3-7、不同滲調介質對於番茄種子儲藏後發芽速度之影響

耐貯月份 / 滲調處理	0月	2月	6月	9月
H_2O 12 hr	-	●	●	●
0.75% KNO_3 12 hr	●	●	-	-
0.75% KNO_3 24 hr	●	●	●	●
300mM NaCl 24 hr	●	-	●	●
75 ppm GA3 12 hr	●	-	▲	-
50 ppm SA 24 hr	▲	-	▲	-
0.5% Chitosan 24 hr	-	-	-	●

正影響：●
無影響：-
負影響：▲

十三 自動化幼苗評鑑系統建構與種子檢測平台整合

陳易徵、鄭若蘋、周伯頤、黃國益

本計畫利用影像辨識技術，藉由以專業訓練檢查人員判斷做為依據之種子幼苗類神經網路辨識輔助系統，使檢測結果符合國際規範並減少檢測人力負擔。本計畫並配合高效檢測設備建置（圖 3-26、圖 3-27）及與現有種苗多元服務平台結合，提供申請者即時且正確之檢測結果，降低農民及業者因檢測時程延宕造成之生產或商業貿易損失。本計畫累積擷取 18,140 筆水稻幼苗影像，並完成以人力及影像辨識比對幼苗影像 13,260 筆以上，以混淆矩陣 (confusion matrix) 分析，在苗齡 11 日之後 Accuracy、Precision 及 Recall 皆可達 90% 以上（表 3-8）。本年度完成自動化幼苗影像擷取裝置移機至本場並與現有種苗檢測多元服務平台整合，相關教育訓練（圖 3-28）亦已完成。

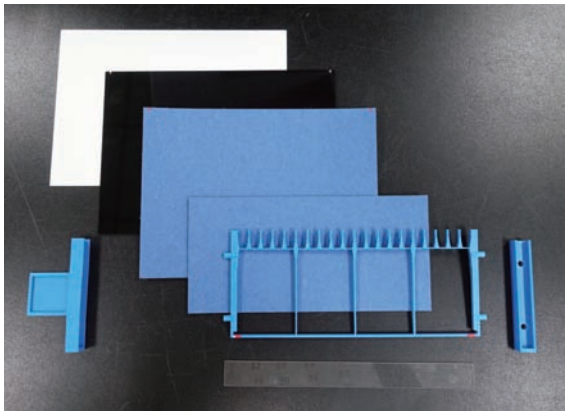


圖 3-26、幼苗生長盤：包含白色或黑色壓克力底板、深藍色濾紙、20×1 藍色框架、固定扣、透明壓克力板

圖 3-27、水稻幼苗數位化影像評鑑系統—硬體：由左至右分別為進料輸送帶、檢測區及出料區

表 3-7、水稻於苗齡 10 日與苗齡 14 日之 Accuracy、Precision、Recall 比較

苗齡 (日)	Accuracy (%)			Precision (%)			Recall (%)		
	粳稻 (J)	籼稻 (I)	平均	粳稻 (J)	籼稻 (I)	平均	粳稻 (J)	籼稻 (I)	平均
10	88.4a	94.9a	90.5a	87.3b	98.4a	93.3b	92.7a	100.0a	91.7a
14	88.3a	94.4a	91.6a	96.1a	99.5a	97.9a	87.3b	98.8b	91.0a

同一欄中不同的小寫英文字母表示在顯著水準 5% (α=0.05) 時具有顯著差異

圖 3-28、於本場種子檢查室辦理水稻幼苗數位化影像評鑑系統教育訓練

十四 雜交玉米重要病毒檢定技術建立

邱燕欣、王慧如

玉米是一年生的草本植物，是全世界總產量最高的重要糧食作物。臺灣種植硬質玉米的面積曾高達六萬公頃，年產量二十五萬噸，直到加入 WTO 後，面積才慢慢縮減。為提高國內糧食自給率，減少外匯支出，國內將逐年增加飼料玉米種植面積，提昇國產飼料玉米自給率，並達到增加農民收入及提高休耕農田利用效率之政策目標。因疫情影響，國際船期不穩定，因此進口種子穩定到貨時間受到影響，私人業者的庫存價格波動，也易造成農民負擔。為因應氣候變遷與需求，多試驗改良場投入玉米品種選育。因此國內生產種子品質再度受到關注。本場於 111 年度建立玉米重要病毒 maize chlorotic mottle virus (MCMV) 之檢定技術，並撰寫標準化檢定作業流程。玉米葉片的樣品處理的最適處理比較上，以半自動萃取儀萃取品質較好，OD260/280 檢定比值高於 1.8，且操作穩定。惟其葉片較為硬質，取樣後上機前須先進行液態氮，冷凍預先處理，加速組織破裂程度。傳統 trizol 法雖可獲得較大量核酸，但考量人力執行量及穩定度，仍考量半自動萃取儀較佳。完成臺中新社（圖 3-29）、嘉義、屏東等地玉米樣品收集，包括本場生產雜交一代種子之父母本種子各 6 樣品，本場栽種之父母本皆無檢出。

圖 3-29、本場 111 年生產雜交一代種子之父母本及種子，經過血清檢定，皆無檢出 MCMV