

三、種子(苗)檢查、檢測及驗證

一 進口基因改造農糧產品產業應用 追溯與出口邊境管理措施研究

陳哲仁、周明燕、張惠如

國內雖然尚未許可任何基改作物商業生產，但由於曾發生過試驗階段基改木瓜汙染事件，為避免農民自行留種或其他原因之汙染可能性，因此，持續針對木瓜執行輸出農產品檢測。本年度共收到 58 件出口木瓜農產品抽檢樣品，包括木瓜種子出口 52 件及果實出口 5 件以及種苗出口一批，累計出口種子 4,977.75 公斤、果實 4,626.7 公斤以及種苗 60 株，從登載資料顯示我國木瓜種子銷往全球各主要栽培國家，且自本年起泰國重新開放我國木瓜種子進口，惟種子苗類產品需檢附非基改清淨證明使得進口，從出口量粗估計產值規

模達 4 億元以上(表 3-1)。出口木瓜農產品抽檢自 104 年 9 月起開辦，累計有 289 件抽檢樣品，都未檢出含有基改成分，抽檢工作仍需持續進行，以維護國產木瓜非基改優質形象。

我國飼料所需之玉米及黃豆 95% 以上仰賴進口，且畜禽配合飼料約含 60% 玉米及 20% 黃豆粕，實務面尚無法以國產雜糧完全取代進口飼料使用。現行飼料用玉米及大豆貨品輸入申報貨號已根據食用與飼料用區別，並自 106 年起項下全面細分基改或非基改類別，本年收到進口基改大豆 89 件、基改玉米 91 件、非基改大豆 40 件以及非基改玉米 6 件以及基改棉籽粕 2 件。對於申報為基改產品者，分析六項常見基改成分進行篩檢，其中進口基改大豆品種檢測結果發現，主要流通以

表 3-1、出口木瓜種子、種苗以及果實抽檢數量

年度 \ 批次	種子 (公斤)	果實 (公斤)	種苗 (株數)
104*	27(3334.49)	8(2508)	0
105	44(3436.73)	23(6888)	1(44)
106	49(4986.42)	19(8154)	3(49)
107	50(3317.27)	6(4486)	0
108	52(4977.75)	5(4626.7)	1(60)

* 自 104 年 9 月開辦出口木瓜農產品檢測

Monsanto 公司抗殺草劑品種為主，包括 MON89788 及 MON87708 等，可以針對 tE9 基改元件 (element) 進行篩檢；本年度收次收到基改棉籽粕產品，除了進行篩檢並進行品系專一性檢測 (event-specific)，

檢出 DAS24236-5、DAS21023-5 以及 GHB641 三個品系 (表 3-2)；此外，針對輸入申報為非基改飼料者採取篩檢及品系專一性兩階段檢測全數未檢出有效訊號，故可視為合格產品。

表 3-2、進口基改棉籽檢測結果

1080522	高雄檢疫局	CaMV35S	FMV	Epsps	PAT	GHB614	DAS24236-5	DAS21023-5
1	607p809191	+	+	+	+	+	+	+
2	607p814278	+	+	+	+	+	+	+

二 新世代基因改造生物檢監測體系之建構

陳哲仁、周明燕、林如玲、張惠如

CRISPR/Cas9 (Clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated protein9) 系統可以對基因組序列進行定點編輯，具有操作簡單、效率高及低成本等優點，它能造成物種本身基因序列的缺失、插入或替換，而無須引入外源基因造成新性狀，提供作物育種新的途徑，是目前最受矚目的基因重組技術。自 2013 年起首度在植物系統應用後，已在超過 16 項作物的 81 個目標基因上進行作物性狀改良的運用，並以水稻的相關研究最多，從近期刊篇數及專利取得數可以得知 CRISPR/Cas9 基因編輯技術在中國大陸及美國有最多的發表，進一步從文章引用數及產業應用落實則可以明顯看

出，雖然中國大陸大量將 CRISPR/Cas9 基因編輯技術投入農林漁牧發展，惟美國仍是全球性的技術領先者 (圖 3-1)，本年已完成彙整資料發表「CRISPR/Cas9 技術於作物改良應用之進展」及「中國大陸基因編輯作物發展進況」報告兩篇。

本年 10 月接受美國在臺協會邀請，由衛福部及本會組團赴美考察美國新興農業生物基因工程技術之產業與政策，參訪三家代表性公司 Corteva(DuPont 及 Dow 公司合併拆分新成立農業公司)、Bayer(併購 Monsanto 公司)、Calxyt 公司 (圖 3-2)，並與美國 USDA 和 FDA 研究人員進行座談，瞭解有關精準農業技術開發 (含 CRISPR/Cas9 基因編輯技術) 及管理。Corteva 及 Bayer 公司是傳統國際種苗企業，也持續進行基因編輯作物開發，兩者皆指出基因編輯技術是目前新品種開發的重要技術，可大幅縮短品

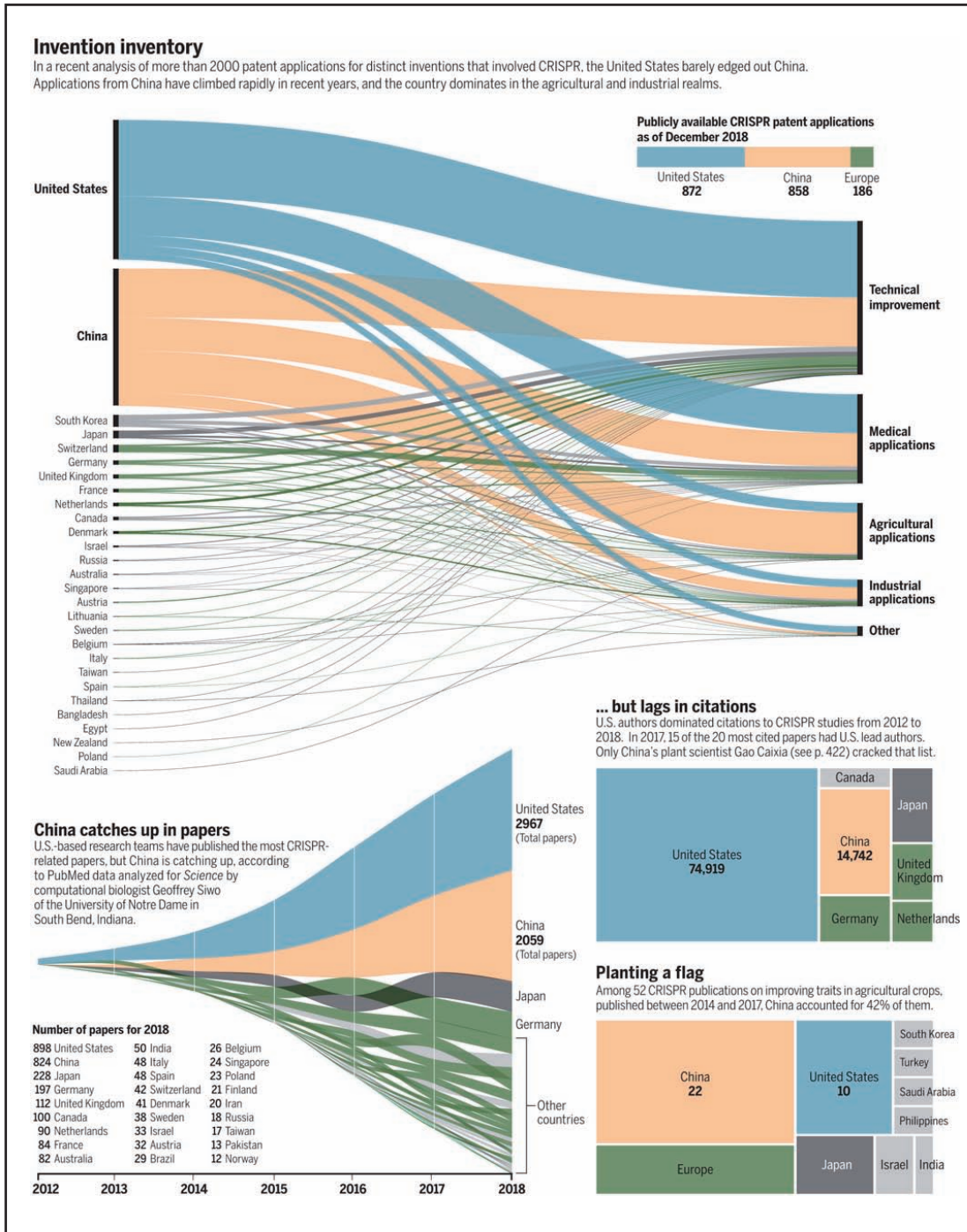


圖 3-1、各國之基因編輯技術專利申請數(上)、基因編輯植物技術報告發表數(左下)以及引用次數與基因編輯重要農藝作物性狀的發表數(右下)。藍色代表美國，土黃色代表中國大陸，綠色代表歐盟，深灰色代表日本，淺灰色代表其他國家。(Jon Cohen, 2019a)

種開發時間與研發成本，惟傳統基因轉殖技術仍會持續使用；Calxyt 公司是新創公司在今年 2 月首先推出高油酸大豆壓製油品，本次參訪可預期未來美國基因編輯作物會逐步增加。會後也收到種子公司提供之歐盟 ENGL 團隊本年 3 月所發布之評估報告「Detection of food and feed plant products obtained by new

mutagenesis techniques」，結論指出僅能針對已知具有獨特性 DNA 修飾的基因編輯作物進行檢測，對於市面流通的未知基因編輯作物則無法檢測，惟有研究指出可以利用基因編輯作物開發過程中留下的痕跡 (scars) 如表徵遺傳 (epigenetic) 方面的改變作為檢測上的標的，後續將進行實測試能否作為基因編輯作物檢測使用。



Dr. Kevin Diehi 帶領參訪團綜覽 Corteva Agriscience 營運事務及理念。



Dr. Masha Fedorova(Corteva) 簡報基因編輯技術 CRISPR 之國際新況。



參訪團與拜耳研究團隊座談有關基改作物與農藥之生物安全評估。



參訪團與 Calxyt 公司研發及行銷團隊合影。

圖 3-2、108 年度赴美研習新興農業生物基因工程技術與相關產業管理機制之產業參訪考察。

三 加強基因轉殖植物安全管理 - 基因轉殖植物之檢測

周明燕、陳哲仁、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，針對較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污染。

本計畫配合農糧署執行基因轉殖作物安全監控，本年度共抽檢木瓜種苗生產業者 15 家(表 3-3)、玉米種子業者 7 家、種植前玉米種子抽驗 16 批，木瓜田間栽培區不定期抽檢南投共計 2 區，確保我國無基因轉殖作物田間種植。基因轉殖作物邊境安全管制業務共完成 109 件抽檢檢測，其中木瓜鮮果 5 件、木瓜種子 49 件、木瓜種苗 1 件；玉米種子 52 件、大豆種子 2 件皆無檢出目標基因片段(表 3-4)。各小組成員檢測能力維持測試，針對木瓜葉片、木瓜種子、大豆種子、玉米進行盲樣能力試驗，其中木瓜葉片及種子皆 100% 符合。

表 3-3、108 年度國內種苗業者及栽培監測一覽表

	木瓜栽培園	木瓜種苗業者	玉米種子業者	玉米種植前監測(批)
新北市			2	
新竹市		1		
南投縣	2	4		
台中市		2	1	
雲林縣		1		
嘉義市		1	2	
嘉義縣		3		4
台南市			2	12
花蓮縣		3		
總計	2	15	7	16

表 3-4、108 年度基因轉殖作物邊境管制抽檢一覽表

	件數	抽樣總量
木瓜果實	5	
木瓜種子	49	3,486.7 公斤
木瓜種苗	1	
玉米種子	52	80,188 公斤
大豆種子	2	65,700 公斤

四 基因改造植物性飼料或飼料添加物查驗登記之檢驗

陳哲仁 張惠如

依飼料管理法相關條文申請飼料用途許可證明文件，屬基因改造植物性飼料或飼料添加物者（如玉米、大豆、棉花、油菜及苜蓿等）應依本會通知之申請期限內，繳交參考品及檢驗方法。本場自 105 年起受本會畜牧處委任執行參考樣品及檢驗方法等資料之收件及保存事宜。本 (108) 年度共收玉米、棉花以及苜蓿共 3 件基因改造參考樣品，累計已收到 317 件參考樣

品（含非基因改造對照樣品），全部樣品妥善保存於常溫濕度控制環境中。並且參照歐盟公告之基因改造作物檢測方法之基本要求，進行各項申請案業者自行提供之定性及定量檢測方法確認。本 (108) 年度完成玉米 (MON87427xMON89034xMON810xMIR162xMON87411x MON87419) 及大豆 (DP-305423-1xMON87708xMON89788) 各 1 件（表 3-5），檢測方法確認，累計已建立 158 件基改作物檢測方法，另有基改玉米及混合型棉花各 1 件於 12 月下旬收到，故不即於年度內完成，預計順延至來年第一季內完成。

表 3-5、108 年度進口基因改造植物性飼料查驗登記檢驗累計完成件數

報告編號 ^a	品系名稱	送樣單位	定量檢測 ^b	參考樣品檢驗
108DAI-GM030601	DP-305423-1xMON87708xMON89788	台灣杜邦股份有限公司	通過	符合
108DAI-GM112801	MON87427xMON89034xMON810xMIR162xMON87411x MON87419	香港商孟山都遠東股份有限公司臺灣分公司	通過	符合

^a 依報告簽發次序排列。

^b 已通過單一品系方法查驗檢驗者，混合品系直接進行定量檢測，略過定性檢測。

五 番茄細菌性斑點病分子標誌建立與應用

周明燕、陳哲仁、邱燕欣

番茄細菌性斑點病由 *Xanthomonas* spp. 所引起，在 27~30℃、相對濕度 80% 的高溫高濕環境下最適合發病，在露天栽培田區容易出現病害，近年來，在設施栽培下也陸續出現感染危害，並逐漸加劇，嚴重時影響產品品質及產量(圖 3-3)。本研究針對番茄細菌性斑點病強勢菌系 *X. perforans* 生理小種 race T3 抗病基因 Rx-4 及 Xv-3 個別進行 SCAR 分子標誌開發。Rx-4_#14 經 PCR 後，可以分別將抗 / 感病材料擴增出 367bp 及 273bp 條帶；Xv-3_#15 經 PCR 後，可以分別將抗 / 感病材料擴增出 828bp 及 258bp 條帶

(圖 3-4)，檢測結果與文獻 InDel 標誌 PCC12 結果相吻合。

番茄材料同時接種 *Xanthomonas perforans* (2-5) 及進行抗病基因檢測，評估分子標誌檢測結果與抗病表現型吻合程度，藉此驗證分子標誌與抗病性之關聯度，罹病級數依據 Horsfall and Barratt (1945) scale 分為 12 級。接種結果 A68 罹病度 2.8 級、感病對照材料 KY301 罹病度 8 級(圖 3-5)，與分子檢測結果相符(表 3-6)。利用分離後代單株估算分子標誌與抗病表現之關聯度，估算結果顯示抗感病抗病基因 Rx-4 分子標誌關聯度 60.9%，抗病基因 Xv-3 分子標誌吻合度 55.1%(表 3-7)，顯示抗病基因 Rx-4 分子標誌抗性解釋度優於 Xv-3 且可以應用於育種材料抗病性早期篩選。

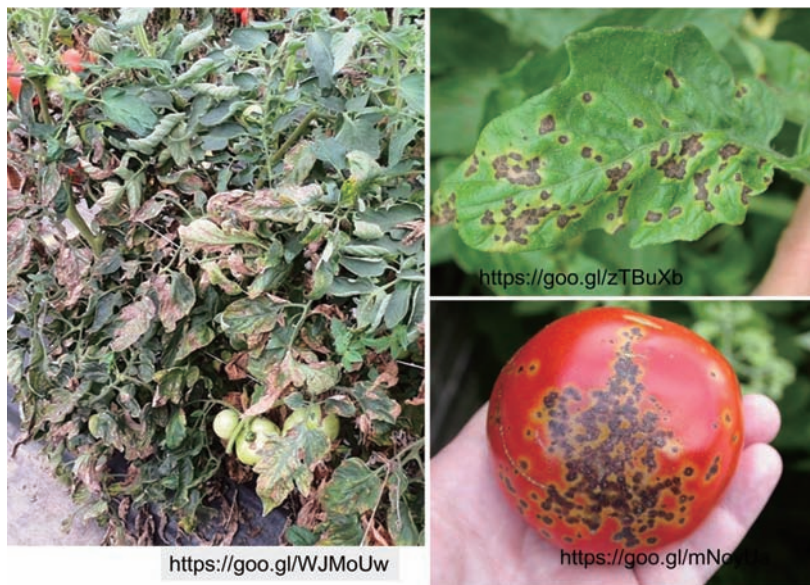


圖 3-3、番茄細菌性斑點病(Tomato Bacterial Spot)由細菌 *Xanthomonas* spp. 所引起，可藉由動物、人、昆蟲、農具、土壤粒子、水源汙染等傳播。氣溫 24-30℃ 的高濕環境最容易發病，危害植株及果實，嚴重時影響果實品質及產量。

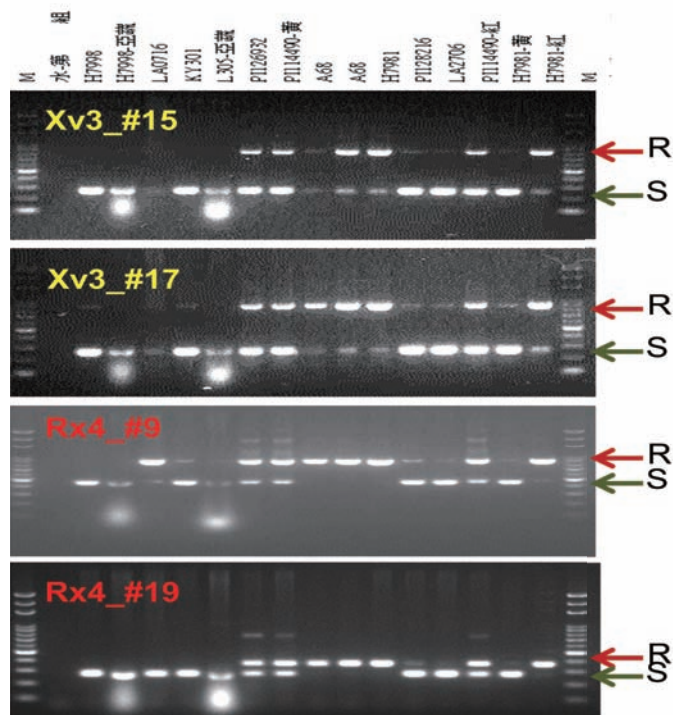


圖 3-4、番茄抗感病材料 DNA 以新開發 SCAR 標誌 Xv-3_#15、Xv-3_#15 及 Rx-4_#9、Rx-4_#19 PCR 增幅後，具有明顯清晰多型性條帶，結果與文獻引子 PCC12 吻合。

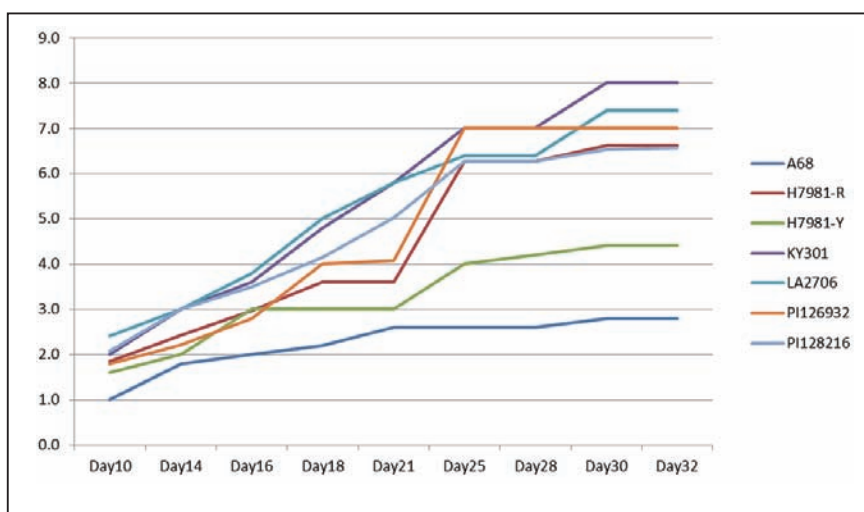


圖 3-5、番茄抗感病材料接種後罹病曲線圖，抗病對照材料 A68 罹病度 2.8 級、感病對照材料 KY301 罹病度 8 級，罹病級數依據 Horsfall and Barratt (1945) scale 分為 12 級。

表 3-6、分子標誌檢測接種材料分子背景之感病比例

	Rx-4_#9	Rx-4_#14	Xv-3_#5	Xv-3_#19
A68	0	0	0	0
H7981-R	0.29	0.16	0.16	0.18
H7981-Y	1	1	1	1
KY301	1	1	1	1
LA2706	1	1	1	1
PI126932	0.15	0.13	0.14	0.13
PI128216	0.24	0.26	0.24	0.21

表 3-7、分子標誌檢測結果與抗病性之關聯程度

	Rx-4_#9	Rx-4_#14	Xv-3_#5	Xv-3_#19
AVERAGE	57%	65%	55%	56%
SD	50%	48%	50%	50%
SUM	51	71	59	63
Count	89	110	107	113

六 番椒細胞質雄不稔分子標誌之建立

龔美玲

番椒為茄科作物的第二大宗貿易種子，且普遍應用細胞質核互作雄不稔系統(Cytoplasmic-genetic male sterility, CGMS)生產一代雜交種子，以母本無法產生花粉(即雄不稔)之方式(圖 3-6)，達到省去人工去雄作業之目的。本研究針對番椒粒線體 *atp6-2* 基因序列上之 SNP 位點設計成對偶基因專一性標誌，以及參考 CMS-

SCAR₁₃₀ 標誌(Ji *et al.*, 2014)的多型性序列，設計成四引子標誌，分別命名為 CA-CMS-tss1 及 CA-CMS-tss2。測試結果與已知參試品種之稔性表現穩合，以 59℃ 為最佳黏合溫度。兩組標誌的專一性較文獻標誌 *atp6*-SCAR、*coxII* SCAR (Kim and Kim, 2005) 及 03*atp6*-2S+03Ψ*atp6*-2A (許, 2007) 佳(圖 3-7)。另有報告指出 CMS-SCAR₁₃₀ 的檢測結果較 *orf507* (Gulyas *et al.*, 2010; Deng *et al.*, 2012)、Ψ*atp6*-2 (Kim and Kim, 2006) 及 accD-U (Jo *et al.*, 2009) 等標誌來的可靠 (Sun *et al.*, 2017)，但因

CMS-SCAR₁₃₀ 的多型性僅相差 10 bp，需要搭配高解析度的電泳分析。

本研究所開發之 CA-CMS-tss1 標誌除了可能在部分品系無法增幅出目標產物外，其餘測試樣品結果皆與 CA-CMS-tss2 相同。兩組番椒細胞質稔性分子標誌經過

最佳化測試，在雄不稔及雄可稔細胞質品系皆有專一性條帶，可降低誤判機會，提升檢測精準度。此外本研究所改良之分子標誌適用水平電泳分析，較符合目前臺灣設有分子實驗室的種子公司所採用之設備，因此具產業推廣發展潛力。



圖 3-6、辣椒花。左為雄可稔，花藥上帶有白色花粉；右為雄不稔，花藥上沒有花粉。

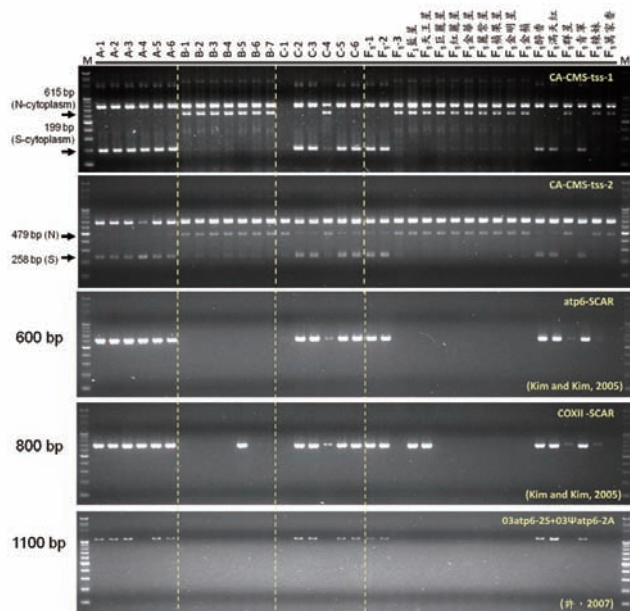


圖 3-7、本研究開發之番椒雄不稔分子標誌 CA-CMS-tss-1 及 CA-CMS-tss-2。(N) 代表雄可稔細胞質，(S) 代表為雄不稔細胞質。

七 高粱細胞質雄不稔分子標誌開發

龔美玲

高粱台中 5 號為利用細胞質核互作雄不稔系統 (Cytoplasmic-genetic male sterility, CGMS) 所生產之雜交品種，目前尚無相關文獻發表高粱雄不稔細胞質 (S) 之專一性分子標誌。本研究發現台中 5 號雄不稔母本 80A 位於粒線體基因體上之 *atp1-1* 基因的 3'UTR 區域有 27 bp 的序列缺失，並可成功設計分子標誌，但須要搭配高解析度電泳分析 (圖 3-8)。為進一步探討 *atp1-1* 基因 3'UTR 序列差異，本研究利用 NCBI 高粱 BTx623 雄可稔粒線體

參考序列分段設計 4 條反向引子進行測試，結果其中 3 組引子僅在雄可稔細胞質 (N) 可增幅產物，剩下 1 組引子則在 S 及 N 細胞質分別有 401 bp 及 701 bp 之產物 (圖 3-8、圖 3-9)。定序結果顯示雄不稔的 *atp1-1* 基因 3'UTR 端之序列有 2 個 SNP 及三段缺失 (deletion)，大小分別為 27 bp、281 bp 及 30 bp，281 bp 為雄可稔的專一序列，而在此區段雄不稔則有 38 bp 的專一序列，缺失的 27 bp 為一重複列序列，含有終止密碼子 TGA，在雄可稔 *atp1-1* 基因 3' 端連續重複兩次，缺失的 30 bp 中也有同前類似的重續序列情形 (圖 3-10)。

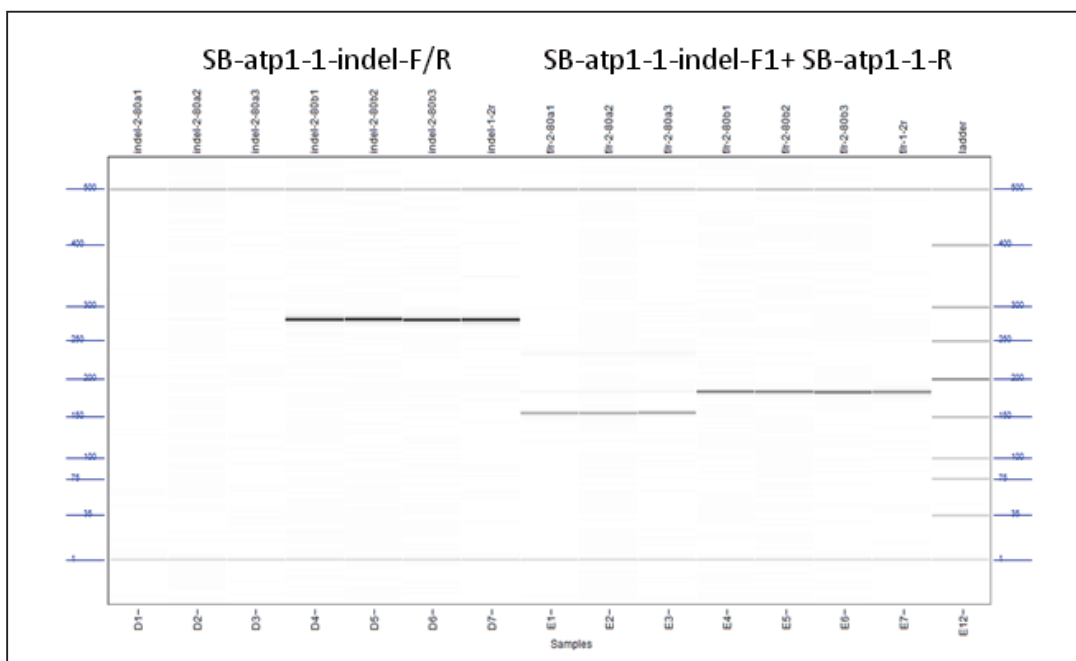


圖 3-8、高粱 *atp1-1* 基因 3'UTR 之分子標誌 SB-atp1-1-indel-F/R(左) 及 SB-atp1-1-indel-F+ SB-atp1-1-R(右) 之毛細管電泳測試結果，黏合溫度分別為 50°C 及 53°C。樣品順序依序為高粱台中 5 號雄不稔母本 80A (3 重複)、維持親 80B (3 重複) 及父本為 2R。

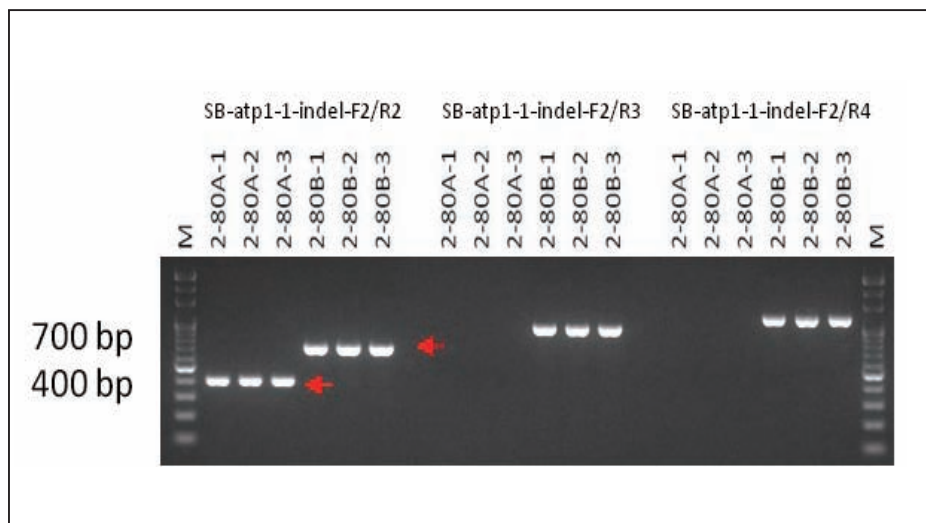


圖 3-9、高粱 *atp1-1* 基因 3'UTR 之分子標誌測試結果，黏合溫度為 55°C。

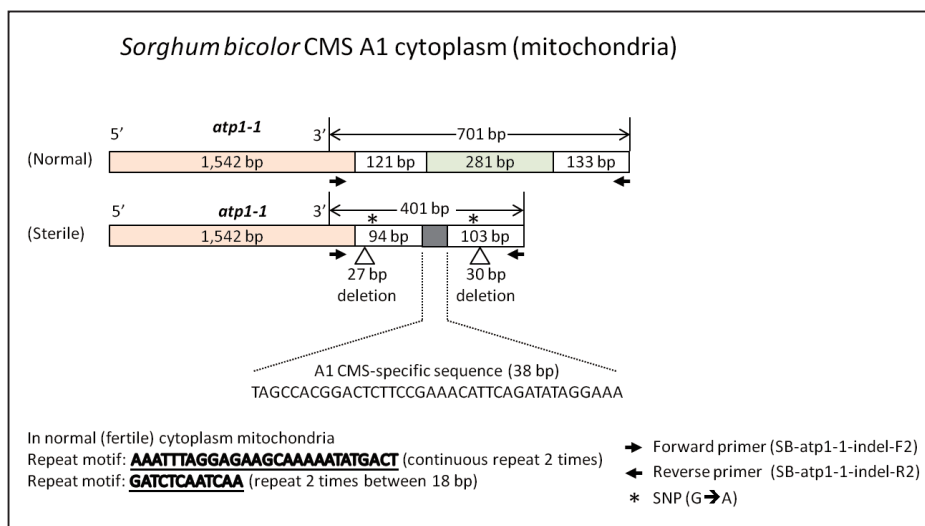


圖 3-10、高粱雄可稔與雄不稔細胞質粒線體 *atp1-1* 基因之序列比較。

八 建立番茄抗病與西瓜商業品種純度 SNP 分子標誌檢測技術平臺

張惠如、龔美玲

本計畫利用番茄與西瓜基因組資料分別進行抗病基因與品種純度 SNP 分子標誌篩選開發，本年度針對番茄抗捲葉病毒(ty-5)、抗黃萎病(Ve2)、抗青枯病(Bwr-12)、抗細菌性斑點病(Rx4)基因相關序列資料，所探勘之 SNP 位點進行引子組設計，並利用已知抗病型之番茄試驗材料，經過 PCR- 膠體電泳篩選後，挑選具識別性之 SNP 位點，再將包含此識別性 SNP 位點左右序列，以 TaqMan® 分析設計工具設計具螢光標記之 SNP 引子組，並利用 Real-time PCR 進行分析。根據分析結果可知 ty-5、Ve2、Bwr-12、Rx4 基因皆至少建立一組關連性 SNP 分子標誌可將抗感病(RR, RS, SS)材料分群(圖 3-11)。另外，發現有些位點無法分析基因型，經過定序結果發現，可能原因應來自於 TaqMan SNP 分子標誌之引子或探針位置出現緊

鄰出現的 SNPs 或者該位點上有 2 種以上之基因型；或是附近比較多重複序列，而造成專一性探針無法雜合或造成引子黏合效率不佳。本研究也針對前年度所篩選出具多型性的 63 個西瓜 SNP 候選標誌，其分佈位置涵蓋西瓜 11 條染色體，利用向種苗業者蒐集到的 22 個西瓜常用雜交親本品種，進一步篩選及評估該批標誌之應用性。次要對偶基因頻度(Minor Allele Frequency, MAF)大於 0.428 者共計 18 組，其中 MAF 大於 0.47 者有兩組，優先選入組合。根據分群結果，最少需選出 6 個關鍵 SNP 標誌方能區分所有參試品種，計有 WM_SNP_1.4、WM_SNP_2.5、WM_SNP_4.2、WM_SNP_4.3、WM_SNP_4.5 及 WM_SNP_5.1 組成西瓜商業親本 SNP 品種鑑定及純度檢測套組，其對應各親本品種之基因型如表 3-8。預期該套組方便業者篩選使用，可提高種苗品質管效率及準確度，並作為因應目前種子公司在國外採種之品種混雜風險的控管工具。

表 3-8、SNP 檢測套組對 22 個參試親本品系之基因型列表

Marker ID 親本名稱	WM_SNP_4.3	WM_SNP_1.4	WM_SNP_4.5	WM_SNP_2.5	WM_SNP_4.2	WM_SNP_5.1
UK48	C	C	A	A	A	G
Fry 1w	C	C	A	A	G	G
UC4	C	C	A	G	A	G
LS20	C	C	G	A	G	G
UC8	C	C	G	G	A	G
RA108	C	C	G	G	G	A
ITL004 CS	C	T	A	A	G	A

表 3-8、SNP 檢測套組對 22 個參試親本品系之基因型列表 (續)

Marker ID 親本名稱	WM_SNP_4.3	WM_SNP_1.4	WM_SNP_4.5	WM_SNP_2.5	WM_SNP_4.2	WM_SNP_5.1
AP2111	C	T	A	A	A	G
英風 F8	C	T	A	G	A	G
Cby F	C	T	A	G	A	A
WT1	C	T	G	A	A	A
1015	C	T	G	A	G	A
D27	T	C	A	A	G	G
UK76	T	C	A	G	A	G
RB308	T	C	A	G	G	G
UC3	T	C	A	G	G	A
556-2F	T	C	G	A	G	G
Harris cs	T	C	G	G	G	A
WT41 bb	T	T	A	A	A	G
UK75	T	T	A	G	G	G
UC12	T	T	G	G	A	G
YVRas	T	T	G	G	G	A

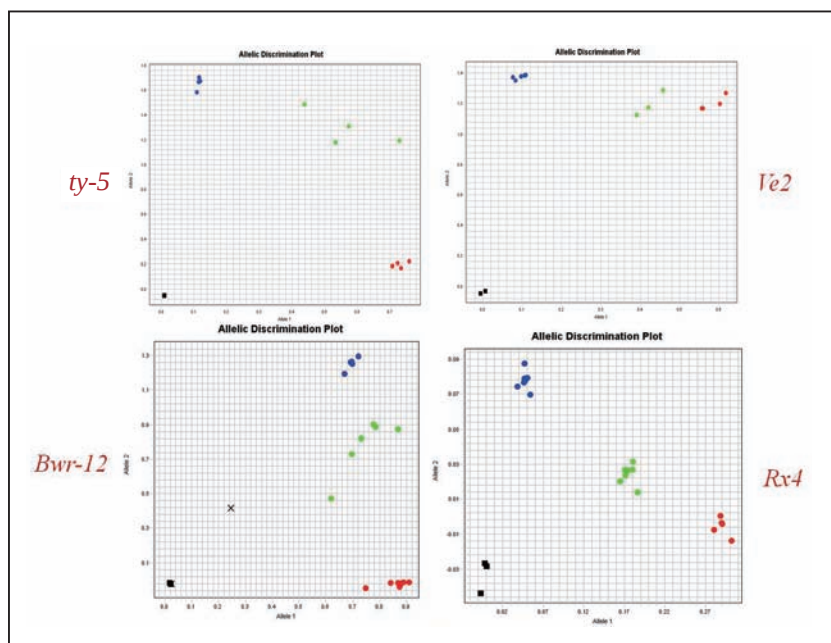


圖 3-11、利用 Real-time PCR 分析番茄抗病基因 SNP 分子標誌識別性
 圖上排左：番茄抗捲葉病毒基因 (*ty-5*)、圖上排右：抗黃萎病基因 (*Ve2*)、圖下排左：
 抗青枯病基因 (*Bwr-12*)、圖下排右：抗細菌性斑點病基因 (*Rx4*)。

九 甜瓜抗 potyvirus 病毒群 CRISPR/Cas9 技術開發

林如玲、陳哲仁、龔美玲、張惠如

甜瓜栽培容易受到馬鈴薯 Y 病毒屬 (Potyvirus) 之侵害，使植株生長受阻，造成產量及品質下降。抗病育種為防治病毒病最有效的方法，但因栽培種甜瓜缺乏適當抗病種原，無法藉由傳統雜交育種取得抗病品系。相關研究指出植物真核轉譯起始因子 eIF4E 參與調介植物病毒入侵宿主的複製過程，利用 RNA 干擾技術使甜瓜 eIF4E 基因靜默，可對多種植物病毒產生

廣泛抗性。近期 CRISPR/Cas9 技術已日臻成熟，提供了對植物本身基因組特定序列進行編輯的工具，能達到對作物獲得新性狀的目的。本計畫利用 CRISPR/Cas9 技術，希望造成甜瓜 *eIF4E* 基因序列的缺失或插入，進而產生病毒抗性。本年度建立了甜瓜培植體再生系統，並利用農桿菌導入 sgRNA 和 Cas9 表現載體，成功的誘導出再生植株 (圖 3-12)，經轉基因確認 (圖 3-13) 及標的基因定序 (圖 3-14)，得到 1 株轉殖株在預期的標的位點上疑似產生了核苷酸取代，未來擬利用本系統得到更多的突變株以進行病毒抗病性篩選。

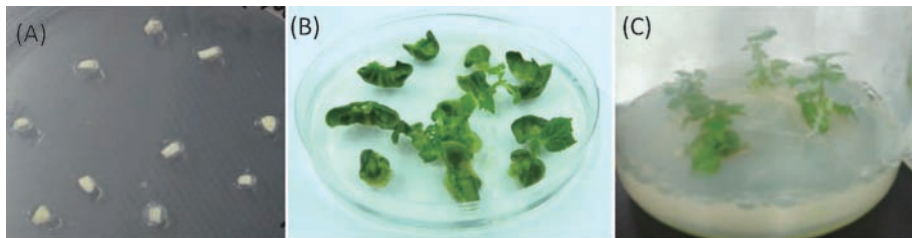


圖 3-12、甜瓜子葉經農桿菌感染並誘導產生不定芽及植株再生情形

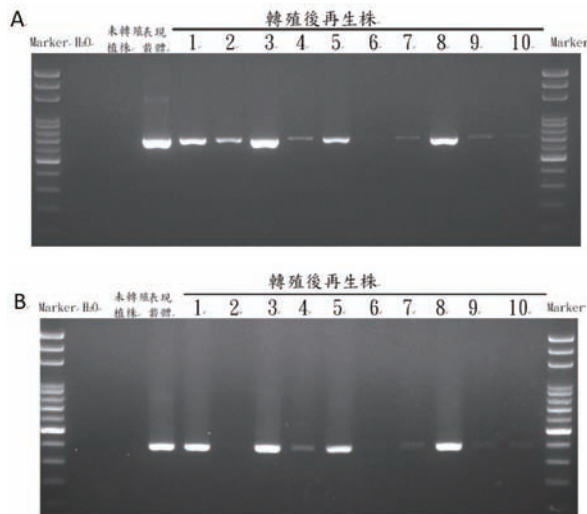


圖 3-13、以篩選抗生素 *nptII* (A) 及 *Cas9* (B) 基因專一性引子對 PCR 進行再生株轉基因確認

	sgRNA 標的靶位	PAM	
M252	AGGAAGATGAGGAACCTGAGGAAGGTGAGAT	TGTCGG	CGATGACGACCTTGACTCCTCCA 169
M248	AGGAAGATGAGGAACCTGAGGAAGGTGAGAT	TGTCGG	CGATGACGACCTTGACTCCTCCA 168
M243	AGGAAGATGAGGAACCTGAGGAAGGTGAGAT	TCGTGG	CGATGACGACCTTGACTCCTCCA 168
M244	AGGAAGATGAGGAACCTGAGGAAGGTGAGAT	TCGTGG	CGATGACGACCTTGACTCCTCCA 168
M245	AGGAAGATGAGGAACCTGAGGAAGGTGAGAT	TCGTGG	CGATGACGACCTTGACTCCTCCA 168
M246	AGGAAGATGAGGAACCTGAGGAAGGTGAGAT	TCGTGG	CGATGACGACCTTGACTCCTCCA 168
Control	AGGAAGATGAGGAACCTGAGGAAGGTGAGAT	TCGTGG	CGATGACGACCTTGACTCCTCCA 180

圖 3-14、sgRNA 標的靶位基因序列分析，在 eIF4E 基因 exon 1 第 120 個位點核苷酸序列發生改變，由 C 變成 T。

十 番木瓜採種副產物之加值化應用技術建立

周明燕、周佳霖、張惠如

為了維護地球有限資源，產業朝向永續發展是國際共識，在農業生產部分，提高循環利用，節能減廢，朝向永續農業發展也漸成趨勢。種子為農業生產的基石，也是農作物生產不可或缺的一環，但是，種子只佔作物的極小一部分，在種子生產過程作業後常伴隨大量果殼、果皮、果肉、植株等非目標產物或可稱為採種副產物產生。依據 106 年農業統計資料顯示，木瓜種植面積 2,563 公頃，出口木瓜種子 4.2 噸，估計我國每年木瓜採種產生的果肉副產物即逾 800 公噸。為了響應節能減廢、循環利用的永續農業精神，本場盤點木瓜採種生產鏈中可能產生減廢點、可再利用的副產物、相關技術與市場需求分

析，並進行副產物加值化應用技術開發。

番木瓜果實含有多種酵素、蕃茄紅素、木瓜鹼、 β -胡蘿蔔素與維生素等營養成分，風味也為許多國人接受，然而市面木瓜食品加工品項仍以木瓜酵素為主要產品，本研究朝向利用木瓜果肉開發發酵技術及果膠萃取技術開發，開發木瓜果實加工副產品，提高木瓜產業經濟效益。

本年度進行木瓜果肉醱酵酒的製作測試，結果顯示由於木瓜本身甜度不夠，需額外添加醱酵糖來提升糖度以避免酒精濃度過低和醱酵不完全。另外木瓜本身香氣不夠，醱酵後之木瓜醱酵酒的氣味具有木瓜腥味，口感偏酸（圖 3-15）。由於木瓜本身的特性可能較不適合直接用於水果醱酵酒的製作，未來可考慮將木瓜以類似外加果汁的水果啤酒方式來進行相關評估與測試。

番木瓜採種副產物果膠萃取以 70%

酒精漂洗萃取出之果膠，可溶出部分色素與雜質；於過濾前將樣品以超音波振盪器振盪 30 分鐘，結果果膠萃取效率無顯著

差異。成熟木瓜之果膠適合以熱酸法萃取，而萃取物以 70% 酒精漂洗可去除部分色素與雜質 (圖 3-16)。

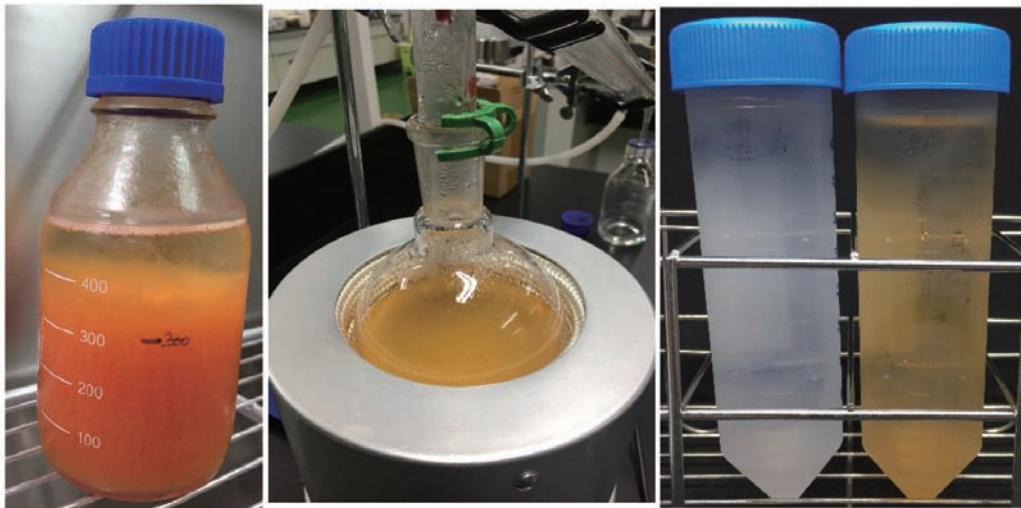


圖 3-15、以 V22 酵母發酵 (左) 口感優於 V68 酵母；發酵液口感偏酸，經蒸餾 (中) 後之蒸餾液口感優於發酵液

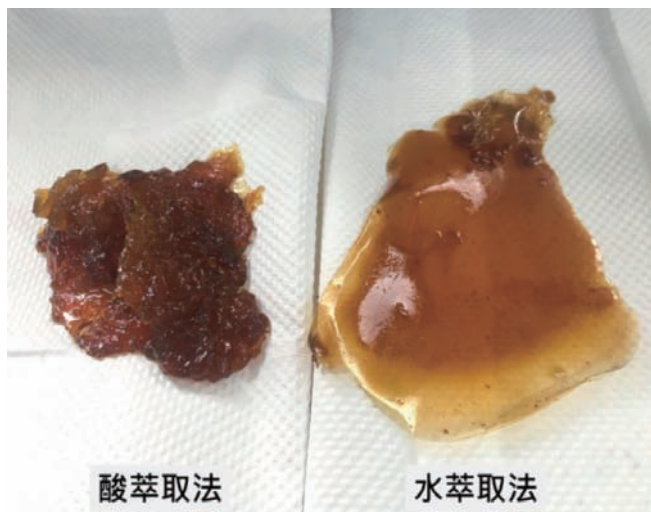


圖 3-16、評估兩種果膠萃取方法於不同成熟度番木瓜之萃取效率，建立番木瓜採種廢棄物果膠萃取技術。

十一 種子檢查業務成果

徐麗芬、許鑄云、蘇士閔、陳易徵

劉芳怡、李濡夙

108 年度本場種子檢查室受託，依據臺灣地區農作物種苗檢查須知辦理各項種子檢查業務，其中良種繁殖田間檢查作物種類有：水稻、落花生、大豆、玉米、

高粱及番茄等，共計 191 件，總面積為 97.83 公頃；室內檢查共計 1,002 件（如表 3-9）；另辦理市售種子品質查驗計 236 件；一般業者申請種子品質檢測計 307 件；核發出口種子 ISTA 檢驗證及英文報告共計 103 件（如表 3-10）；全年度種子檢查總件數為 1,648 件。

表 3-9、良種繁殖田間檢查面積及室內檢查件數

檢查作物類別	田間檢查面積（公頃）	室內檢查（件）	備註
水稻	49.75	925	含儲藏性 5 件
落花生	22.76	65	-
大豆	2.55	11	-
玉米	2.3	-	-
高粱	20.27	1	-
番茄	0.2	-	-
合計	97.83	1,002	

表 3-10、各項種子檢查申請案室內檢查件數

檢查種類	室內檢查（件）
市售種子品質查驗	236
一般業者申請（參考性）	307
ISTA 檢驗證	56
英文報告	47
合計	646

十二 水稻種子高效能供料及品種辨識系統之研究

許鑄云、鍾佩恩、張雅琪

為確保我國水稻優良種子品質供應，執行水稻三級良種繁殖制度之種子檢查工作，其中為維持水稻品種純度及縮短水稻品種檢查時間，本研究主要目的分成 2 部分，第 1 部分為以現有 5 個品種為基礎，擴增新的水稻品種，建立‘高雄 139 號’、‘高雄 145 號’、‘高雄 147 號’及‘臺東 33 號’等 4 個品種之影像比對處理技術。各水稻品種有效影像擷取率範圍為 92.5~98.2%，有效影像擷取率平均達

96.7%(表 3-11)；各水稻品種辨識成功率範圍為 85.5~89.2%，品種辨識成功率平均達 87.2%(表 3-12)。第 2 部分為多樣品自動進出料設備建置，可一次性擺放 7 個不同樣品，並於其中一樣品檢測完畢後自動進行下一樣品辨識。設計使用圓盤供料方式，旋轉供料盤將樣品送入供料桶中，並透過震動供料將種子送到輸送帶進行影像擷取。系統整體外觀如圖 3-17，其中種子影像辨識區域的主要構造包括：雜草型紅米影像擷取區域與收集盒、種子外觀形態影像擷取區域、種子出料分類區包含正確品種收集盒和不正確品種收集盒、人機介面之操作介面，以及人機介面之設定介面。

表 3-11、水稻品種有效影像擷取率結果

項目	高雄 145 號	高雄 139 號	高雄 147 號	臺東 33 號
總數(粒)	4,715	4,185	4,913	3,926
有效影像擷取率(%)	98.2	98.2	98.1	92.5

註：有效影像擷取率 = (總數 - 無效影像) / 總數

表 3-12、水稻品種辨識成功率結果

項目	高雄 145 號	高雄 139 號	高雄 147 號	臺東 33 號
總數(粒)	4,715	4,185	4,913	3,926
品種辨識成功率(%)	86.7	87.3	85.5	89.2

註：辨識正確率 = 辨識正確數 / 總數



圖 3-17、水稻種子高效能供料及品種辨識系統外觀圖

十三

種子數位圖鑑平台之研究

許鑄云、張雅琪、鍾佩恩

本研究欲進行種子外觀特徵影像處理，以建置種子數位圖鑑平台，並運用於種子檢查及相關檢驗單位，希冀透過此平台快速檢查出雜草種子或不欲引入的植物種子，避免造成生物性公害的物種散佈，而此系統除了提供於相關檢查及研究人員使用外，並可提供於農民及一般民眾交流使用。本年度針對爵床科等 25 個科別共 149 種植物種子，使用顯微鏡在可控環境

下進行拍攝，每一種植物至少取得 25 張種子影像，其影像的組成包括各個角度的種子。從中篩選並使用訓練資料庫中類別的 60 類種子 2,400 張種子照片和 100 類種子 4,000 張種子照片，訓練神經網路分類器後，再對同樣測試資料庫 60 類種子共 600 張種子照片進行第一次測試，100 類種子共 1,000 張照片進行第二次測試，得到以下結果：第一次測試的平均辨識率為 98%，第二次測試的平均辨識率為 80.1%，兩次測試平均每張影像辨識時間都低於 1 秒。

十四 有機種子品質監測模式之研究

許鑄云、楊怡玟、鍾佩恩、許智婷

種子於生產、收穫、調製及儲藏的各階段，皆對種子活力維持具有重要影響。為生產優良大豆種子，評估種子調製流程中可能影響種子活力品質和造成農藥污染之原因，以建立大豆種子品質監測模式。本研究首先比較不同種子活力測定方法分別與標準發芽試驗(表 3-13)以及田間發芽試驗(表 3-14)之相關性，結果以電導度法相關性高，且試驗時間短。針對可能影響大豆種子品質的調製步驟設置 5 個抽樣點，分別為脫粒後、進料後、乾燥後、精選後及包裝完成後，利用電導度法測定不同調製步驟下的種子活力，並進行管制

圖的繪製，以確認產出的種子是來自穩定的調製過程(圖 3-18)。根據評估結果發現，以乾燥作業為調製流程中對種子品質影響較大的調製步驟(表 3-15)，因此在後續的調製作業中，可在適當的條件下，針對調製流程再進行調整，以強化種子調製技術而減小對種子品質的影響。另針對農藥殘留檢測進行探討，分別採取時間和空間隔離。在時間隔離上，和其他調製作業至少錯開 2 個月，而在空間隔離上，建議以下方式：1) 清潔用具獨立，2) 每次調製前後清潔設備，3) 操作員身著防護衣和鞋套，4) 使用類似洗機器的作法，將前面的幾十公斤種子捨棄不用。此外，未來在執行農藥殘留檢測工作，除 373 項農藥檢測外，建議須另外檢測二硫代胺基甲酸鹽類農藥。

表 3-13、不同活力檢測方法與標準發芽率之 Pearson 積差相關係數

活力檢測方法	Pearson 積差相關係數
TTC 法	0.9107
電導度法	-0.8369
人工加速老化法	0.5897

表 3-14、不同活力檢測法與田間發芽率之 Pearson 積差相關係數

活力檢測方法	Pearson 積差相關係數
TTC 法	0.8238
電導度法	-0.7775
人工加速老化法	0.3778

表 3-15、以拔靴法對乾燥後、精選後及包裝後的電導度之檢定結果

調製設備	電導度平均值之差值
乾燥後	6.12***
精選後	3.61
包裝後	-2.71

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

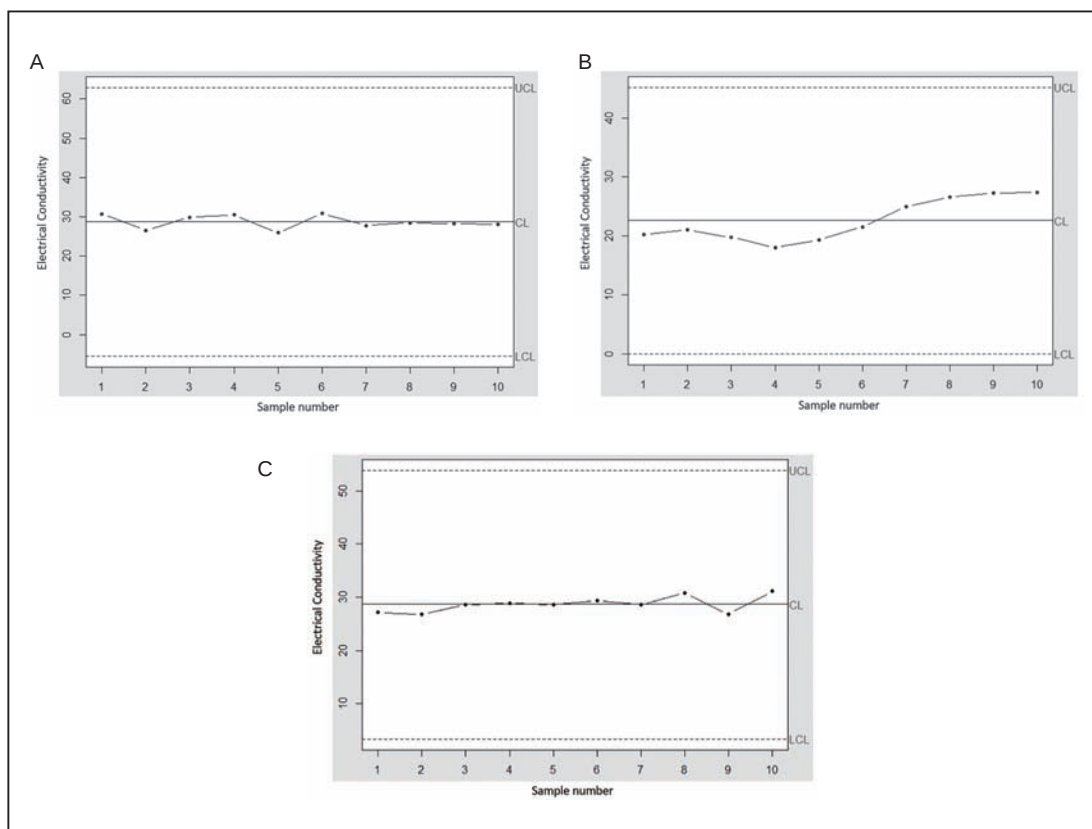


圖 3-18、調製步驟管制圖，A: 乾燥後，B: 精選後，C: 包裝後。

十五 熱帶果樹及蔬菜之健康種苗高效隔離生產環境建置

周佳霖、王亭今、吳慶德、陳金珠

因應氣候變遷與病蟲害危害加劇以及連作障礙等，種苗之生產栽培供應與栽培過程面臨風險提高的問題，因此發展保護隔離設施生產健康種苗有其必要。本年度完成屋頂天窗通風系統，熱空氣上升後排出溫室，有效避免熱障礙發生；完成側捲揚與背捲揚建置，有效阻隔雨天噴雨帶入

的病害；完成一區地面防鼠網建置，避免老鼠經地底挖洞進入溫室中；完成智慧環境控制系統，可即時監控、紀錄各項環境因子(溫、濕度、雨量、光照度等)並控制被動元件開啟或停止(圖 3-19)。此外，以去頂及荷爾蒙誘導方式打斷木瓜的頂芽優勢，促進側梢生成(表 3-16、表 3-17)，以建構嫁接/扦插採穗母株(圖 3-20)，惟在自然生成狀態之側枝較粗，恐不適合嫁接繁殖使用，未來將持續改進產生合適側芽的方法。

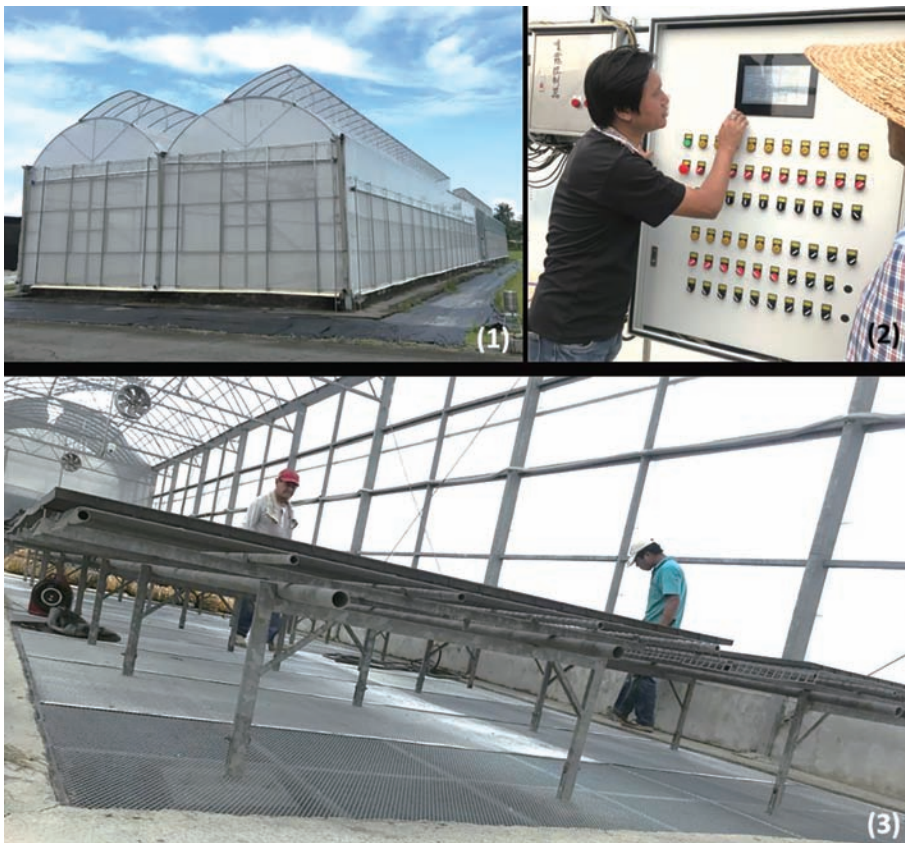


圖 3-19、屏東種苗研究中心高效隔離溫室環境改善情形。(1) 增設屋頂天窗通風系統、側捲揚與背捲揚；(2) 地面防鼠網建置；(3) 智慧環境控制系統。



圖 3-20、建構之番木瓜扦插 / 嫁接採穗母株 - 以半木質化時期於離地約 15 公分高處去頂，可有效生成多主幹

表 3-16、不同種苗成熟度與去頂高度之番木瓜側芽生成數。

品系	去頂高度 (公分)	側芽數	
		未木質化去頂	半木質化去頂
台農 2 號	15	1.56 ^a	2.39 ^b
	30	1.39 ^a	1.94 ^c
	55	1.22 ^a	1.61 ^c

表 3-17、不同細胞分裂素濃度處理之番木瓜側芽生成數。

品系	營養劑 6 施用濃度	側芽數
台農 2 號	未施用	2.47 ^a
	0.1 mg/mL	2.20 ^a
	1 mg/mL	2.40 ^a
	10 mg/mL	1.87 ^a

十六 建置大宗蔬菜育苗生理參數與生產作業模式

薛佑光、張勝智

目前國內專業蔬菜穴盤育苗場進行種苗生產仍須使用大量的人工與經驗豐富的管理人員進行育苗的日常栽培管理。因此，須建構 ICT 智能育苗平台，整合與優化種苗生產，包括建立蔬菜作物育苗生育生理參數、環境條件參數等資料庫，建構周年育苗栽培曆及育苗排程，以減輕育苗者的管理負擔，提高種苗產銷作業效能。本年度於種苗場環控溫室與塑膠布網室完成 5 期大宗蔬菜甘藍(圖 3-21)與花椰菜，以及 2 期結球白菜與結球萵苣之穴盤育苗栽培試驗調查種苗生育生理參數資料調查及資料庫建立。同時記錄育苗環控溫室環境條件資料數據，以追溯溫網室條件對蔬



圖 3-21、溫室內甘藍苗生育情形。

菜育苗生長之影響，進行環境條件、栽培日數與生長量數據比對，作為下一年度建置育苗專家系統之依據，以調整育苗期之環控數值與建立栽培模式。

在溫網室設施部份完成種苗場自動化設施 4 號溫室環控及遠端監控系統之升級建置(圖 3-22)，包括溫室內外溫濕度、光照、風向、風速與雨感等感測器(圖 3-23、圖 3-24)，以及環控主機控制天窗、風扇水牆降溫、上下遮陰網系統等，並收集紀錄溫室微氣候環境條件包括空氣溫度濕度、光度等資料，進行溫室育苗生育氣候環境分析，包括即時監控、定時資料查詢及歷史資料庫、微氣候環境累積值分析包括積溫、溼度、照度及雨知感應等，作為蔬菜育苗生產設施遠端監測與控制管理系統建置與購置之依據，供育苗栽培技術智慧化改善運用。



圖 3-22、種苗場溫室環控系統主頁面。



圖 3-23、溫室外之溫濕度、光照、風向、風速與雨感等感測器。



圖 3-24、溫室內部溫度及濕度感測器。

十七 重要蔬菜種傳病原滅菌處理系統之開發

蘇士閔、邱凱瑩*、邱燕欣

江筱曄、陳姿瑜

近年來因全球種子貿易日趨頻繁，種傳病害越來越受重視。除國家檢疫的病原生物外，因種傳病害造成作物損失的病原項目也備受關注。一般多以檢測技術進行種傳病原之控管以確認種子健康與否，然而當生產出的種子不幸帶有重要種傳病原時，則需要有適合的滅菌技術進行種子處理，以維護種子的商品價值，為降低種子業者因帶菌種子無法銷售的損失，種子滅菌處理技術開發已是種苗產業發展的重要需求之一。因此本計畫期以高壓靜電場(圖 3-25)開發一套可應用於蔬菜種子的滅菌處理技術，盼協助種子公司拓展種子外銷市場。本計畫利用高壓靜電場處理十字花科蔬菜種子，在適當處理強度下可顯著降

低種子的帶菌率，甚至完全除滅種子上的病原菌，但是也會影響種子的發芽率。在大豆種子的試驗中，大豆種子對電場強度與處理時間的耐受性較佳，在適當處理強度與時間下，可明顯降低紫斑病菌的分離率，處理 5 分鐘以上更可完全除滅種子上的紫斑病菌。



圖 3-25、滅菌處理測試用之高壓靜電場產生器(明道大學提供)。

* 明道大學精緻農業學系副教授

十八 菇類栽培後介質之生物炭開發與產業加值研究

薛佑光、陳鈴淵

國內近年菇類量產造成大量太空包廢棄介質，每年超過 20 萬公噸，製作堆肥時程長消耗慢，需減少堆積與棄置問題，利用生物炭製程技術，大幅降低菇包剩餘介質重量與體積，並應用於菇類廢包堆肥添加物、土壤改良劑、作物栽培與育苗用介質添加物等之研發，提高廢棄菇包再生效益。本年度以芒果等 14 種修剪枝條燒製之生物炭 2% 添加於種苗場 pH 為 5.4-5.7、EC 為 0.1-0.15ms 之酸性紅壤中，分 2 批於 8 吋花盆於網室進行青梗白菜栽培(圖 3-26)，調查青梗白菜採收鮮重及乾重結果(圖 3-27)，第二期顯示以稻殼、芒果

枝條、刺竹、菱角殼、番荔枝枝條及綠竹等 6 種生物炭之產量最佳，平均值皆優於土壤對照組。種植第三、四期結果顯示，以稻殼炭、芒果枝條炭、刺竹炭、菱角殼炭、番荔枝枝條炭及綠竹炭等 6 種生物炭之產量較佳。

另以稻殼炭、果樹枝條炭及菇包炭三種生物炭資材作為果樹梨栽培土壤改良劑不同使用比例進行第一季試驗調查，於 4 月初樹冠冠幅環溝施入土壤(圖 3-28)，進行慣行栽培試驗，於 7 月底採收，調查產量與品質調查(圖 3-29)。產量依序為 3% 稻殼炭、2% 稻殼炭、1% 果樹枝炭、3% 菇包炭及 2% 菇包炭最佳。施用比例生物炭以 3% 最佳、2% 次之。所有處理之平均值皆優於對照組(表 3-18)。



圖 3-26、青梗白菜栽培情形



圖 3-27、青梗白菜生育情形調查



圖 3-28、梨樹栽培以菇包炭等 3 種生物炭環溝施入土壤。



圖 3-29、梨採收進行果品分級與調查。

表 3-18、梨單株平均產量調查

生物炭類別	生物炭比例 %	重複	A 級單株總重 (kg)	A 級單株粒數	B 級單株總重 (kg)	B 級單株粒數	C 級單株總重 (kg)	C 級單株粒數	單株總重 (kg)	單株總粒數
果樹修剪枝炭	1%	avg	6.8	11.8	25.1	74.4	10.4	47.4	42.3	133.6
果樹修剪枝炭	2%	avg	2.7	4.2	23.1	63.4	7.9	36.8	33.7	104.4
果樹修剪枝炭	3%	avg	4.9	7.5	24.0	65.5	7.3	32.0	36.1	105.0
稻殼炭	1%	avg	3.5	5.8	26.7	67.2	5.2	17.2	35.4	90.2
稻殼炭	2%	avg	3.4	5.8	31.7	84.2	9.1	40.8	44.2	130.8
稻殼炭	3%	avg	6.2	11.0	39.4	112.6	8.8	43.0	54.4	166.6
菇包炭	1%	avg	4.1	7.6	23.2	67.4	5.3	26.6	32.6	101.6
菇包炭	2%	avg	3.2	5.0	24.0	68.0	8.6	48.6	35.8	121.6
菇包炭	3%	avg	1.3	2.2	25.0	73.0	9.9	48.2	36.2	123.4
Control	0	avg	1.4	2.2	21.5	57.8	7.8	37.7	30.7	97.7

備註：梨果實重量等級：A 級為 300g 以上，B 級為 150g ~ 300g，C 級為 150g 以下。

十九 可可健康種苗標準化流程建立

周佳霖、王亭今、吳慶德、陳金珠

可可 (*Theobroma cacao* L.) 為軸根系作物，種植方式多以實生苗或嫁接苗為主，不論是實生苗或嫁接苗，都需使用種子育苗。可可果肉質地黏膩，包覆種子，若直接以帶有果肉之種子進行育苗，常造成育苗時微生物滋生造成育苗失敗；可可為異貯型種子，當種子水份含量過低時無法發芽；可可為軸根系作物，目前國內業者大多以 3 吋盆育苗，常造成移植時主根已盤根，影響可可樹定植後生育發展，加上國內種苗業者對可可不夠瞭解，常有以

果內發芽種子育苗導致可可農買到容易果內發芽的品種、以過小的育苗盆器育苗造成軸根無法順利定根，導致颱風期易倒伏、育苗環境不良，導致病蟲害隨種苗買賣而擴散等問題。本年度針對前述問題進行可可育苗之研究與改善，由結果知，去除果肉為可可育苗重要的步驟之一，可避免汙染情形並有助於發芽一致性與苗株整齊度 (圖 3-30)；可可種子儲藏以室溫至 15℃ 左右為佳，於冰箱冷藏隔天即失去發芽能力，不論何種環境條件，其儲藏期皆短，於 1 週後發芽率即明顯降低 (圖 3-31)；而可可的育苗盆器以 4.5 吋加高盆器為佳，能有最佳的根系表現 (圖 3-32)。

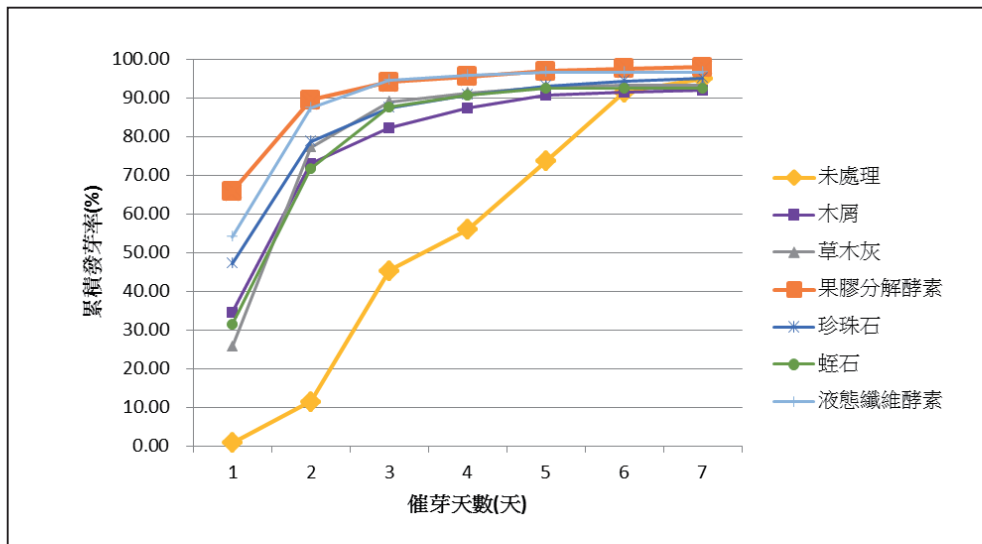


圖 3-30、以不同資材進行果肉去除之催芽天數與累積發芽率比較圖

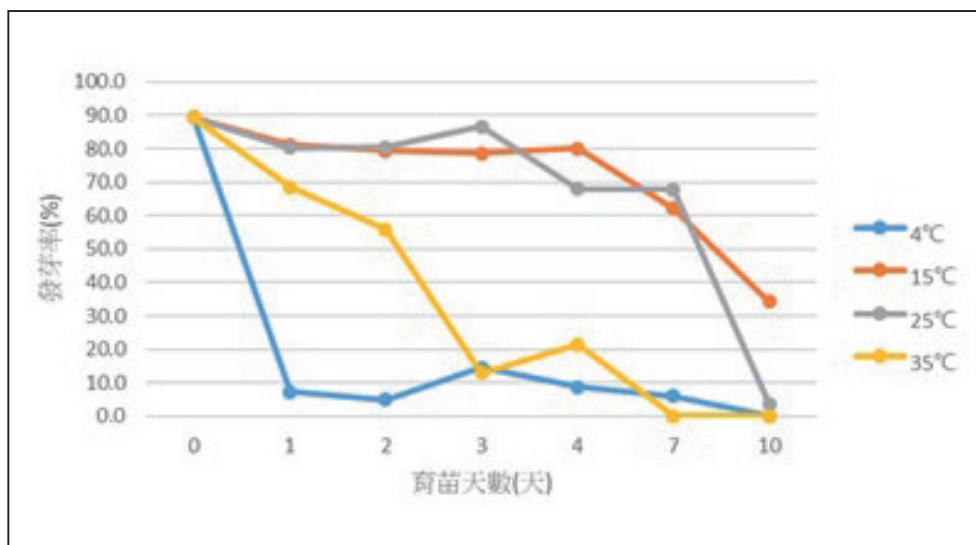


圖 3-31、不同儲藏溫度對可可種子發芽率之影響

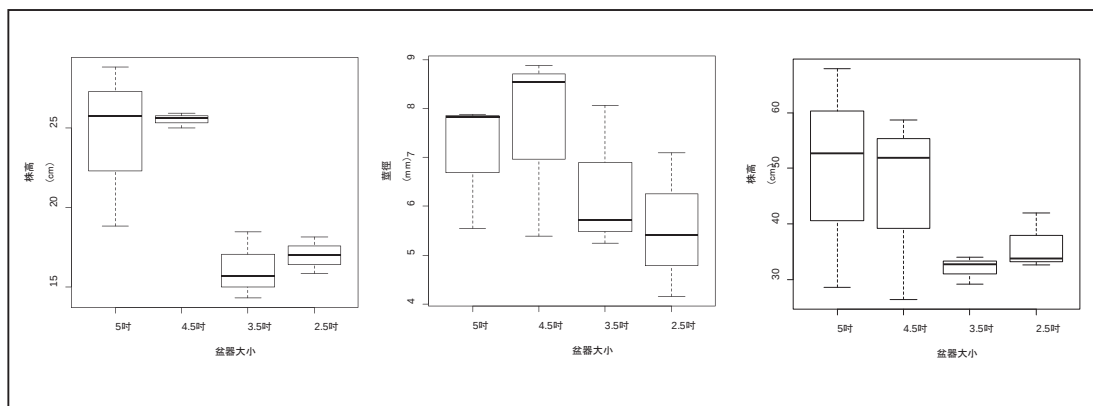


圖 3-32、不同盆器大小育苗之莖徑、株高與根長試驗結果分布圖

108 年度運用加工技術進行國產大宗農產品減廢之研究委辦計畫

龔美玲、謝昌衛、邱致穎、柯文慶

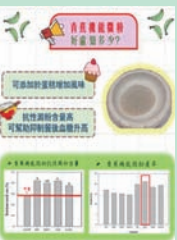
張惠如

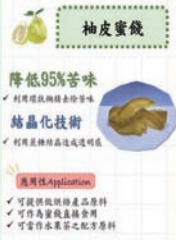
柚子與香蕉是我國大宗水果作物，但容易受天災、採收或運輸過程損傷、產品規格化或產銷調節的去商品化措施等因素，產生大量格外品，如果不再利用或僅用於製作堆肥，實屬資源的浪費。本委辦計畫委託國立中興大學食品暨應用生物科技學系謝昌衛教授執行，其研究團隊同時

邀集東海大學食品科學系邱致穎助理教授，以及大葉大學食品暨應用生物科技學系柯文慶講座教授共同參與研發。本計畫108年度總計開發12項加工製程技術與產品(詳如表3-19)，將柚子與香蕉的副產物或格外品處理為可貯存之半成品或多元加工產品，達到提升附加價值及減廢之目標，由於研究團隊規劃有低、中、高階之產品開發與製程改善，因而可推廣上至大型加工廠、下至小型農戶，期望藉此提高農民收益，並吸引農民投入加工產業以及增加工作機會。

表 3-19、108 年度委辦計畫成果一覽表

項次	產品	產品圖	關鍵技術	推廣	研發團隊
1	柚香精萃清潔露		1. 穩定起泡技術 2. 介面活性劑配方調製技術	1. 柚子產銷班 2. 清潔劑工廠	中興大學
2	香柚精萃保濕水凝霜		1. 配方調製技術 2. 乳化安定技術 3. 機能性萃取技術 4. 功效性試驗結果	1. 柚子產銷班 2. 化妝品工廠	中興大學
3	潤喉柚皮果		科學炮製熟成技術	1. 柚子產銷班 2. 一般食品加工廠	中興大學

項次	產品	產品圖	關鍵技術	推廣	研發團隊
4	香蕉莖太空包		1. 介質配方比例	1. 菇類栽培業者	中興大學
5	柚香白蘭地		1. 水果酒類發酵 2. 蒸餾技術 3. 外果皮處理技術 4. 酒類熟成技術	1. 酒類加工廠	大葉大學
6	柚子醬油		1. 醬油製麴 2. 柚子果醬調製 3. 壓榨醬汁調和	1. 一般食品加工廠 2. 柚子產銷班 3. 醬油工廠	大葉大學
7	柚子酵素		1. 自家分解 2. 無添加	1. 柚子產銷班 2. 一般食品加工廠	大葉大學
8	香蕉機能微粉製程改良(香蕉魔力纖)		1. 固色技術 2. 脫澀技術 3. 低溫乾燥技術	1. 農業產銷班 2. 一般食品加工業者	東海大學

項次	產品	產品圖	關鍵技術	推廣	研發團隊
9	美女蕉你做粉圓	 美女蕉你做粉圓 增加20%抗性澱粉 降低10%的糖量 粉圓加青蕉 圈出好滋味	1. 多酚萃取技術 2. 高纖粉圓配方調整 3. 滾圓乾燥技術	1. 一般食品加工業者 2. 保健食品業者	東海大學
10	柚香檸醬	 柚香檸醬 富含膳食纖維 ✓ 全果製作，全果營養 ✓ 柚子連到檸檬的甜滋味 應用性Application ✓ 全果糖餡之良伴內餡 ① 柚子全果糖餡比市售組富含纖維， ② 果糖纖維含量高，含糖量低，較市售 無糖版好。 ✓ 可當作水果茶之配方原料	1. 去苦技術 2. 特殊配方調整 3. 熬煮條件控制	1. 農業產銷班 2. 一般食品加工業者	東海大學
11	柚皮果乾	 柚皮蜜饯 降低95%苦味 ✓ 利用環狀糖精去除苦味 結晶化技術 ✓ 利用蔗糖結晶造成透明皮 應用性Application ✓ 可提煉成糖產品原料 ✓ 可作為蜜餞直接食用 ✓ 可當作水果茶之配方原料	1. 去苦技術 2. 直糖法加工技術	1. 農業產銷班 2. 一般食品加工業者	東海大學
12	柚香柚纖飲品	 柚香柚纖飲品 富含膳食纖維 看得見也吃得見果粒 柑橘類果汁的美妙搭配	1. 去苦技術 2. 果汁調和配方	1. 農業產銷班 2. 一般食品加工業者	東海大學

廿一 植物種傳病原檢測作業流程優化研究

蘇士閔、邱燕欣、陳姿瑜

本計畫之目的期能調整或改善種子樣品的前處理措施，以減少催芽與育苗步驟需耗費的金錢、時間與人力成本，也可避免育苗過程中出現外來汙染的風險。同時整合同一種子樣品、不同病原檢測之萃取過程，可減少種子公司樣品量的成本支出，也可降低實驗室檢測過程的耗材與時間支出。另外，部分仍以 ELISA 為主的病原檢測項目將建立靈敏度較高與檢測速

率較快的 PCR 檢測方法，可供申請者依需求選擇。本年度主要以優化本場胡瓜綠斑嵌紋病毒檢測作業流程 (CGMMV SOP) 與十字花科蔬菜細菌性黑腐病菌檢測作業流程 (Xcc SOP) 為主要目的。為改善 CGMMV SOP 之種子育苗步驟，以種子研磨取代育苗並以 RT-PCR 取代 ELISA，測試結果以引子對 CGMMV-F/CGMMV-R 表現較佳。為符合實務需求，於原有之 Xcc SOP 加入十字花科蔬菜細菌性斑點病菌 (Xcr) 之檢測步驟，包含種帶病原萃取、半選擇性培養基與多重 PCR，可同時檢測 Xcc 與 Xcr。



圖 3-33、靈敏度測試。CGMMV-F/CGMMV-R (523bp) 可偵測到 10^{-4} 濃度。CPUP/CLOW (687 bp) 可偵測到 10^{-3} 濃度。F5370/R6390 (976 bp) 可偵測到 10^{-2} 濃度。



圖 3-34、以專一性引子對 Xcc2f/Xcc2r、廣效性引子對 BAC16S-F/BAC16S-R (466 bp) 進行十字花科黑腐病菌 *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* 與十字花科細菌性斑點病菌 *X. c. pv. raphani* 之檢測測試。ddw 為無菌水 (空白對照組)、Xe 為茄科細菌性斑點病菌 *X. euvesicatoria* (負對照菌株)；H64 與 NSC6-2 為十字花科黑腐病菌 *X. c. pv. campestris*；XCRN1 與 Re1 為 *X. c. pv. raphani*。