

行政院及所屬各機關出國報告書

(出國類別：研習)

基因改造作物種子檢查與品種鑑定技術

服務機關：台灣大學農藝系

出國人員 職稱：副教授

姓名：胡凱康

出國地區：德國、丹麥、瑞士

出國期間：九十二年九月三日至十月三日

報告日期：九十二年十二月三十一日

Fo/
CO9205492

系統識別號:C09205492

公務出國報告提要

頁數: 34 含附件: 是

報告名稱:

培育農業高科技人才—研習基因改造作物種子檢查與品種鑑定技術

主辦機關:

行政院農業委員會

聯絡人/電話:

蔡慶雄/23126988

出國人員:

胡凱康 行政院農業委員會 台灣大學農藝系 副教授

出國類別: 考察 研究

出國地區: 丹麥 西德 瑞士

出國期間: 民國 92 年 09 月 03 日 -民國 92 年 10 月 03 日

報告日期: 民國 92 年 12 月 31 日

分類號/目: F0/綜合(農業類) F0/綜合(農業類)

關鍵詞: 種子檢查技術,GMO 種子檢定技術,品種檢查,品種鑑定,純度檢定

內容摘要: 為因應國際種子檢查協會對於會員檢查室品質保證系統的認證要求,及國際間對 GMO 種子檢查的需求,赴德國及丹麥種子檢查室研習相關技術,並考察其種子檢查體系及品質保證系統之執行情形。結論如下:1.與德國及丹麥的種子檢查系統比較,我國的種子檢查制度,似有進一步發展的空間。2.發證機關與檢查機關分立,是一個可供借鏡的系統。3.對於國內與國際種子採用一貫的品保系統,有助於品保的落實執行。4.我國應及早因應 GMO 種子的問題。5.我國應多派技術性人員參與國際組織,以確保我國的會籍。

本文電子檔已上傳至出國報告資訊網

研習基因改造作物種子檢查與品種鑑定技術報告

壹、研習目的

世界上許多國家的基因改造作物（GMO）相繼問世，基因改造種子在一般種子中的混雜情形，也逐漸成為國際間種子貿易上的重要問題。為因應這個問題，ISTA 的 GMO 工作小組已經決定將於國際種子檢查規則中增列基改種子的檢查標準，並要求會員實驗室通過其主持的可靠度測驗。

農委會中部辦公室種子檢查室負責我國農作物良種繁殖田之種子、種苗檢查業務，於民國 51 年加入國際種子檢查協會（ISTA）成為會員，並於民國 90 年第一次通過每三年一次的稽核，取得核發 ISTA 國際種子檢驗證之授權。為確保種子檢查室能夠在未來的稽核中順利通過，以保障我國業者在國際間種子貿易的利益，宜派員參加研習，學習先進檢查技術與瞭解檢查標準。除此之外，在世界貿易組織（WTO）的架構之下，品種保護的概念也已落實於各國之間，在國際間種子貿易上成為受到重視的問題之一。而品種的鑑別與實質衍生品種的認定，也有逐漸採用分子技術的趨勢。為了保障我國外銷種子產業的利益，並促進國內植物育種工作的持續發展，亦有必要派員參加 ISTA 舉辦之「品種檢查研討會」，進一步瞭解分析技術之進展，以採取與國際間通行標準同步的品種保護策略規劃。

貳、出國日期

中華民國九十二年九月三日至十月三日，為期三十一天。

參、出國人員

<u>姓名</u>	<u>職稱</u>	<u>服務單位</u>
胡凱康	副教授	台灣大學農藝系

肆、行程

日期	地點	研習項目
9/2-9/3	台北—曼谷—阿姆斯特丹— 斯圖加特—Augustenberg	
9/4-9/24	LUFA, Augustenberg, 德國	種子檢查技術、GMO 檢定技 術、相關品保程序
9/25-9/28	Lyngby, 丹麥	種子檢查技術、相關品保程序
9/29-10/1	蘇黎世, 瑞士	ISTA 品種檢查研討會
10/2-10/3	蘇黎世—阿姆斯特丹—曼 谷—台北	

伍、研習心得

一、研習地點簡介

(一)、LUFA (State Agricultural Testing and Research Station), Augustenberg, Baden-Wuerttemberg, 德國

巴符省 (Baden-Wuerttemberg) 位於德國西南，土地面積 35,752 平方公里，經濟以工業為主，人口 10,680,000 人，其中農業人口占 2.3%，農業相關產值占全省 0.8%。此次參加研習的 LUFA (State Agricultural Testing and Research Station) 位於 Augustenberg，屬於營養與鄉村部 (Ministry of Nutrition and Rural Area)，負責該省農業相關的各項檢查。組織架構如附件一。

其中，種子檢查室 (Seed testing and applied botany laboratory)，即為此次研習的主要地點，主持人 Dr. Leist 為本屆國際種子檢查協會 (International Seed Testing Association; ISTA) 主席。實驗室內大略可分為純潔度、發芽、品種檢查、GMO 檢定與品管部門，員額約 15 人，但有部分為半職人員，因此經常在早晨出現的人員超過 20 人。每年檢查的各種作物採種田超過一萬五千公頃，近三年採種田面積如附件二。研習的項目包括種子檢查技術、GMO 檢定技術，及各項檢查的品保系統。

(二)、Danish Plant Directorate, Lyngby, 丹麥

丹麥農部位於首都哥本哈根以北約 10 公里的 Lyngby 市，研習的地點為其所屬種子檢查室，全部農部的職員超過 500 人，其中約有半數配置於各地區。與種子檢查有關的人員超過 70 人，半數為駐外的田間檢查及取樣人員。每年檢查的樣品件數超過二萬五千件，執行的檢查項目超過十萬次。組織架構如附件三。研習的主要項目為種子檢查技術與品管程序。

(三)、ISTA (International Seed Testing Association)秘書處，蘇黎世，瑞士

參與國際品種檢查研討會，與會人員來自 10 個國家，共 20 人，參加人員名冊如附件四。

二、種子檢查技術

LUFA 種子檢查室歷史悠久，實驗室運作嚴謹，除水分檢查委外由 LUFA 的另一分析部門辦理之外，其餘包括樣品登錄、分樣、儲藏、純潔度檢查、發芽率檢查都完全依據 ISTA 所頒佈國際種子檢查規定辦理，因為檢查流程與我國農委會中部辦公室所屬種子檢查室者極為相近，在此不再贅述。在兩個多星期的研習過程中，印象最深刻的包括品種純度檢查與品保系統。

品種檢查的目標為協助種子生產者維持所生產種子的品種特性，雖然所採用的技術也有用於品種鑑定者，但是與品種鑑定最大的不同，在於(1)其所要解決的問題層次較為有限，通常只限於雜交種子與母本種子的區分，或是在自交系中是否有其他品種的機械混雜；(2)因為要處理的種子量極多，分析的時間有限，因此在採用的技術上，必須要特別注意速度與量產的能力。

以玉米的雜交種子為例，他們採用的是以等電點聚焦電泳系統分析儲藏性蛋白的方法，由於自行研發半自動的種子粉碎機，目前的工作容量為一個熟練的技術員，每天可以分析 1600 粒種子。由於分析的速度快，目前已經可以做到「收穫前」的檢查，換句話說，一塊採種田在種子成熟後、

全面收穫之前，先進行田間採樣送至實驗室，如果不需等待，一天之內就可完成品種純度分析，然後採種者可以依據分析的結果決定該採種田的種子是否可以收穫，或是因為品質未達採種要求，以飼料玉米的方式收穫。

另一個令人印象深刻的是品質保證系統的落實執行，可以說，每一個實驗的步驟，都有標準作業程序(Standard Operation Procedures; SOP)。從 LUFA 種子檢查室提供的 SOP 清單中可以看出，不只是分析的程序有 SOP，儀器的使用與儀器的校正也有 SOP，甚至 SOP 的制訂與修改也有 SOP。而由日常的觀察中得知，這些 SOP 並不是只存在於書面上，而是落實於每日的操作上。例如發芽試驗中最重要的溫度控制，每一個發芽箱中都有兩個溫度感測器，其中一個可以顯示當時溫度與最低、最高溫，品管人員每天都需要去巡視每一個發芽箱，檢查在過去 24 小時內是否有異常的現象。而另一個溫度感測器則可將連續觀測的溫度資料暫存於記錄器內，每一週品管人員要將記錄溫度透過紅外線介面下載，製作成圖表匯存，以確保各發芽箱的溫度都能符合工作的需求。每一批發芽的介質，不論是砂、吸水紙或土壤，也都有相對應的 SOP 來檢驗它們的品質。

目前 ISTA 對於各會員實驗室都有提出品質保證認證的要求，只有品質保證措施符合要求的實驗室，才可以核發 ISTA 國際種子檢驗證。但是 LUFA 種子檢查室不只是對於核發種子檢驗證的分析樣品採用嚴格的品保系統，它同樣將其國內種子檢查樣品納入其品管系統之下。換句話說，它所制訂符合 ISTA 規定的 SOP，並不去區分所要分析樣品的類別，這一點與現行的國內制度有很大的不同。而依據個人觀察，這種對於國內與國際種子檢查採取一致檢查程序的作法，有助於品保系統的落實。

德國的種子檢查體系還有一項特點，就是發證機關與室內檢查機關互相獨立。以玉米的繁殖體系為例，種子公司需向育種者取得親本種子與授權，方可設立採種田，生產雜交種子。收穫前由育種者向發證機關申請田間檢查，發證機關負責安排獨立的檢查員不定期檢查後，記錄送回發證機關。發證機關依據田間檢查的結果，決定是否可以進行下一步的取樣工作。種子收穫後依據 ISTA 檢查規則決定種子批的大小，由檢查員取樣後分為三份，一份寄交種子檢查室，一份由種子公司存查，一份由生產種子

的契約農戶保存。種子檢查室完成室內檢查後，報告送交發證單位，綜合田間檢查與室內檢查的結果，決定是否發與合格種子證。為了維持檢查員工作時的公正態度與專業水準，發證機關有一套管理的資料庫系統，負責比對田間檢查與室內檢查的結果，如果出現異常情形時，可以做進一步的調查。每一個受取樣的種子批都有自己的流水號，在取樣後必須封簽。最後銷售到市場的種子包裝上，必須包含原來的種子批號。所以如果在日後發生問題時，還可以追查到參與檢查的所有人員。

檢查員每年都必須受訓若干小時，田間檢查與取樣，另由稽核員在未通知檢查員的情況下進行百分之五的覆檢或查核取樣。若田間覆檢或查核樣品的分析結果與原先檢查的紀錄有差異，則必須進行進一步的考核或取消該檢查員的資格。從這裡可以看出，一個設計良好的系統，必須在每一個階段都有可供查核的紀錄，方能確保生產的品質。

丹麥農部所屬種子檢查室所採用的檢查程序與德國和我國相同，實驗室的各項操作與儀器使用、校正也都有完備的 SOP，較具特色的是其經濟獨立的運作方式。與德國種子檢查室的開銷以公務預算的制度不同，丹麥種子檢查室較偏向作業基金的制度，換句話說，包括人員的薪資、儀器設備的購置、維護、更新與其他必要開支，完全都必須由種子檢查的收入支付。因此在丹麥，每一份樣品種子檢查（包括水分、純潔度與發芽率等三項標準項目）的費用約 120 歐元，遠超過德國的 40 歐元。另外一個較具特色的地方，是丹麥每年生產外銷的草類種子相當的多，據主持人 Dr. Nydam 的說法，僅次於美國，為世界第二大輸出國。而這些草類種子，超過 90% 是由三家公司所生產。在這樣的環境之下，丹麥是歐盟中，少數有私人種子檢查室的國家。

不過這些私人的種子檢查室，不能完全取代國家檢查室的工作，因為這些私人檢查室都不是獨立的機構，而是由各大種子公司所設立的，以草類為例，六個私人檢查室中分屬前述的三家公司，而其中四個種子檢查室是由同一家占市場 75~80% 的種子公司出資設立的。設立的基本目的，不外是節約國家檢查室所收取的高額檢查費用。較小規模的種子公司，沒有能力設立種子檢查室，但為顧及商業種子的機密特性，不願將種子送給具

競爭地位的其他私人公司進行檢查，還是需要仰賴國家種子檢查室檢查。

為了確保種子生產的品質，丹麥發展出一套完善的稽核系統。以禾穀類與草類作物種子為例，全部的種子批之中，要進行 5% 的查核取樣，並進行後續的分析。而種子公司自行取樣的分析樣品中，全部都需要送一份重複樣品給國家種子檢查室。對於禾穀類種子，國家種子檢查室再由其中隨機取 7% 進行重複分析。草類種子因為分析較為困難，檢送的重複樣品中，須隨機取 10% 進行重複分析。而這些查核取樣與重複分析的費用，完全由種子公司負擔。

當查核樣品或重複分析的結果，與私人種子公司送交的報告，差異超過容許值的時候，即提高重複分析的百分比。所增加的費用，也是完全由種子公司負擔。若問題還是不能解決，就必須針對發生問題的部分進行全面性的稽核。如果種子公司不服，可以取重複的樣品送交其他實驗室以相同的分析程序進行 Ring-test，一直到問題解決為止。

每年針對種子公司的取樣員與實驗室操作人員，舉行定期檢定與不定期的稽核。

三、GMO 檢定技術

過去對於 GMO 的檢定多集中在食品與飼料上，歐盟國家目前已逐漸將注意力集中到種子上。從過去完全不能接受普通種子中包含 GMO 種子的傳統觀點 (Zero Tolerance)，到目前，由於 GMO 作物的普及化，改變為接受某一程度內混雜（或污染）的較為務實的觀點。過去曾被提出 0.9% 的門檻，目前似乎有向下調整至 0.7% 或甚至 0.3% 的趨勢，歐洲聯合議會有可能在近期之內達成一致的結論。為了因應產業的需要，ISTA 也逐漸發展出對 GMO 種子的檢定策略與標準，目前的能力測驗 (Proficiency test) 已經進行到第二輪，參與實驗室已增加到 16 個。

由於食品與飼料（如穀粉）都是以均質的方式存在，分析技術的發展著重在經加工後樣品內 DNA 的萃取，與微量 DNA 的定量。目前微量 DNA，尤其是轉殖所用到特殊序列如 35S promoter 的定量，都是以即時 (Real-time) PCR 來進行，使用的設備如 ABI 7700 或 Roche 的 LightCycler，

都已發展出標準的分析方法與試劑組，而且國際標準組織 (ISO)已經開始制訂其標準作業程序。

但是種子有其獨特的問題。因為種子批經常是非均質的，這也是為什麼國際種子檢查規則中非常重視種子取樣技術的主要原因。其次，在一定樣品中，GMO 種子是以個數方式存在。如果沒有定好取樣的策略，樣品中是否包含一粒 GMO 種子，就會造成檢定結果為陽性或陰性反應，因而對於檢定的結果造成相當大的變異，這是不能為生產者所接受的。

目前的趨勢是借用工業生產品質管制的 Acceptance sampling 的策略與統計理論基礎，所設計出來的「半定量」的方法。在作法上，先定義消費者可以接受的最低品質水準 (Lowest Quality Level, LQL)，與生產者有把握的實質混雜水準 (Acceptable Quality Level, AQL)。LQL 的訂定為法規面的問題，AQL 則視種子生產者對自己產品的管理而異。檢定計畫 (Testing plan) 的設計，就依據這兩個值，尋求最經濟的方法，以控制消費者需要承擔的風險，將實質上混雜比例大於 LQL 的種子批，訂為檢驗通過的機率應小於 5%。同時控制生產者所需要承擔的風險，也就是實質上混雜比例等於 AQL 時，只有 5% 的種子批會被拒絕。舉例而言，如果 LQL 立法制訂為 0.9%，生產者有把握其混雜低於 AQL=0.3%，這時將種子每 100 粒混成一個小樣品，分析 25 個像這樣的小樣品，如果只有 10 個或少於 10 個小樣品出現了陽性反應，就接受這一批種子。AQL 不是可以任意訂定的，如果上述的檢定計畫被用來檢定一批實際上 AQL=0.45 的種子，則這一批種子的淘汰率會超過 27%。對於像這樣的種子批，種子公司必須願意付出額外的成本來增加分析的小樣品數達 51 個，才能將生產者的風險控制在 5% 以內。

由於上述的方法只需要判定小樣品的分析結果為陰性或陽性，因此只需要一般的 PCR 設備，而且還可以利用統計的原理計算出混雜的比率與其信賴區間。如果分析的結果穩定，可檢出的比例低於 1%，則小樣品的大小還可以提高，降低檢定的花費。

然而上述的方法也不是毫無缺點，需要準備的樣品數目多是其一。因為 PCR 檢定方法的敏感度高，樣品製備時的污染成為實驗是管理的一大

挑戰。通常，樣品取樣與磨粉必須在排風櫃裡進行，容器必須可以密封與清洗。磨製好的樣品在另一個房間萃取 DNA，最後在專屬的房間內準備 PCR。如果每一個樣品必須分開製作 25~50 個小樣品，所需耗費的污染控制工作必然相當可觀。另一個缺點是，它所測量出的污染比例是以「粒」為單位，而不是轉殖基因的 copy 數。因此有可能檢驗合格的種子，例如說 GMO 種子的比例為 0.5%，低於規定的 0.7%，但是因為轉殖的 copy 數為 2，所生產出來的飼料玉米，會被檢出其 GMO 的含量為 1%，超過容許的 0.7%。

目前部分的實驗室採用兩種程序兼備的策略，在以半定量的方法檢驗出 GMO 的存在後，以定量的方式確認其存在的比例。

四、品種檢查研討會

本次研討會共有 20 人參加，分別來自 10 個國家（參加人員名冊如附件四），除了本人之外，其餘都來自歐洲國家。參加人員的工作背景也有相當大的差異，包括種子公司、分析技術公司、國家種子檢查室與 UPOV、OECD 等國際機構，ISTA 秘書長也參與了大部分的討論。

良種繁殖時用來檢查種子純度的各項技術，也同樣適用於品種的鑑別，換句話說，純度檢定與品種鑑定使用類似的技術平台，再加上這兩項檢查工作都是以品種的特性為基礎，因此，都應該被包含在「品種檢查」的意涵之內。

在會議一開始，主要的工作就是去釐定這兩項工作的領域定義與應該負責的單位。很快地，與會的人員就達成一致的結論：在屬於 ISTA 範圍的品種檢查，著重於良種繁殖過程中品種特性的維持，因此除了要與標準品種比對之外，主要的目標在於檢查品種內的均一程度。為了簡化起見，以純度檢定這個名詞，代表 ISTA 工作領域下的品種檢查。而毫無疑問的，UPOV 工作領域包含制訂品種的定義（DUS 原則）及可以被認可的鑑定方法等，在 UPOV 工作領域下的品種檢查，其目標為依據品種的特性，判定未知品種的品種別，因此實質上所指的就是品種鑑定。

以自交作物的純系品種為例，純度檢定的程序是將種子批中的樣品種

子，與已知的標準品種進行比對，一方面確定其特性與標準品種相同，一方面確定這些檢定的特性在樣品種子之間為均一的。這裡所指的特性，也稱之為標記 (Markers)，包含所有可以顯示品種間特性的依據，如外部型態、化學分析、酵素或蛋白質標記，還有近年來快速發展的 DNA 分子標記。而對於雜交品種的 F₁ 種子而言，純度檢定的程序是將種子批中的樣品種子，與已知的標準父、母本種子進行比對，主要的目標為判定種子樣品中包含母本型（或甚至於父本型）種子的比例。

進行純度檢定時，與其他種子檢查程序同樣地需要注意樣品種子是否具有種子批的代表性。就分析方法而言，因為只需要將樣品種子與一至二個標準品種（或親本）進行比對，通常不需要用到最複雜、解析度最高的分析系統；相反地，因為良種繁殖體系中需要檢定的樣品種子量大，在決定方法時需要特別考慮分析方法的效率與自動化的可能性。

品種鑑定，相對的來說，僅需要分析少數的樣品，通常都沒有取樣的問題。然而因為對照品種的數量龐大，往往需要採用複雜、解析度高的分析方法來區別品種間的特性，並需要較長的分析時間，才能確認分析品種的名稱。

UPOV 一向反對使用分子標記來進行品種鑑定，除非這一個分子標記已經被證明與基因的表現有直接的關係，而只採用外表型差異與同功酶等生化標記。其所持的理由為，許多的分子標記（如 SSR）並不是基因的一部份，與植株的外表型（具有經濟價值的部分）完全無關。故認為以一個沒有經濟價值、也不會在自然界中表現的分子標記來判別一個基因型的價值，是一件不合邏輯的事。

儘管如此，多數與會專家傾向將分子標記視為一種能在實驗室中—透過分析方法如 PCR—特殊表現的外表型，並且實際利用分子標記的強大解析力，配合收集完整的對照品種來進行品種鑑定。因此，由於純度檢定與品種鑑定使用類似技術平台，從事這一類分析的實驗室，如法國的 GEVES 或英國的 NIAB，並不特別強調這兩項工作的差異性，而是視檢定的性質，機動調整所需使用的技術，。

NIAB 的 Mr. White 特別提出類似有價證券的組合投資 (portfolio) 的概念，意即任何方法在特定時空下都有其價值，因此不應過度重視分子標記，而忽略了傳統的技術。這一個意見獲得與會者熱烈的贊同，並納入會議記錄。與會者並同時認為，ISTA 目前在品種檢查這個領域中所應扮演的角色，應是盡量收集各會員實驗室中所發展出來的品種檢查技術，尤其是生化標記這一方面，並在將來尋求制訂標準檢定程序的可能性。

最後一項值得注意的發展，是 ISTA 將來可能將有關 GMO 檢驗方面的規則，納入該規則第八章有關品種檢查的規則中。

陸、建議事項

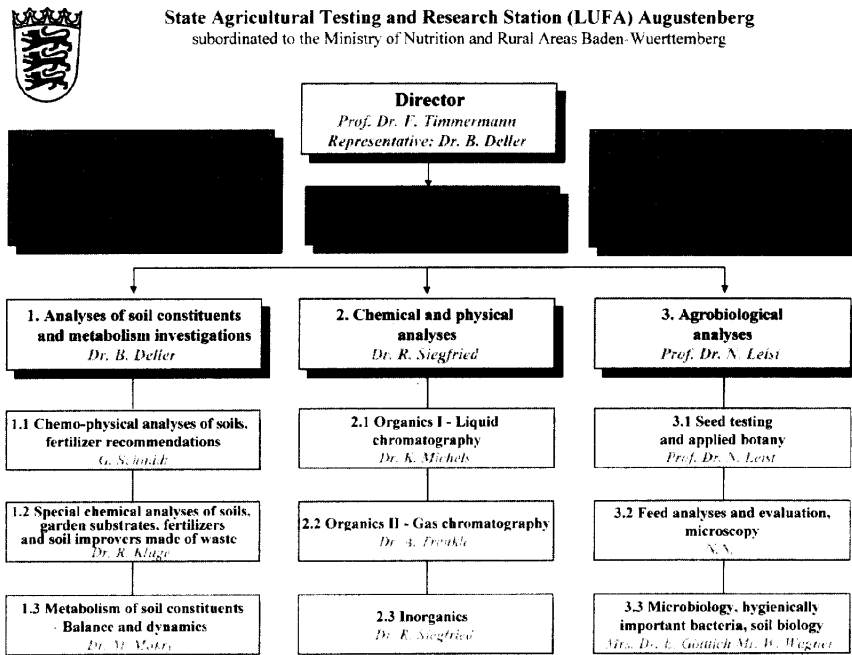
- 一、德國巴符省的人口約為我國之半，農業產值比例與我國相當，然而每年種子檢查涵蓋的採種田面積超過一萬五千公頃；丹麥人口僅有我國四分之一，然而其每年種子檢查的樣品數超過二萬五千件。為確保農業生產的品質與穩定性，我國種子管理及檢查體制的涵蓋面，似有進一步發展之空間。
- 二、在德國種子檢查體系中，發證機關隸屬於行政部門，種子檢查室隸屬於技術部門，行政與技術部門各有隸屬，有利於部門內業務的專精與部門間業務之分工。目前農委會農糧署正值成立之際，德國的種子檢查的體系有值得借鏡之處。
- 三、不論是德國或丹麥，對於國內生產所需的種子、或以外銷為目的的種子，均使用完全相同的檢查程序與品保系統。一貫的檢查程序與品保系統，有助於實驗室品保系統的執行，將品保的概念落實於日常的操作之中。
- 四、種子批中 GMO 種子的混雜（或污染）已經獲得國際間的重視，ISTA 已舉行兩次的能力測驗 (Proficiency test)，並有將本項檢查業務納入下一回合品保稽核之提議。為了保障我國種子產業外銷非 GMO 國家的競爭優勢，我國應及早因應，並將 GMO 種子的檢定納入種子檢查業務中。
- 五、此次訪歐之旅，深切感受到 ISTA 希望將其影響力延伸到亞洲地區的企圖心，不論是本屆主席 Dr. Leist 於本人在德國研習期間，或其後秘書長 Dr.

Muschik 於十二月初訪台期間，均曾表示邀請本人參加品種檢查技術委員會擔任委員或副主席之議。建議我國應把握機會，充分掌握我國在亞洲農業先進之優勢，積極派員參加 ISTA 舉辦的各項活動或委員會，以提高我國在國際組織中的影響力，保障我國在國際組織中的地位。

柒、誌謝

本次研習承蒙農委會中部辦公室推薦，及行政院農業委員會經費贊助，在此特表謝忱。

附件一、德國巴符省農業檢測研究站組織架構圖

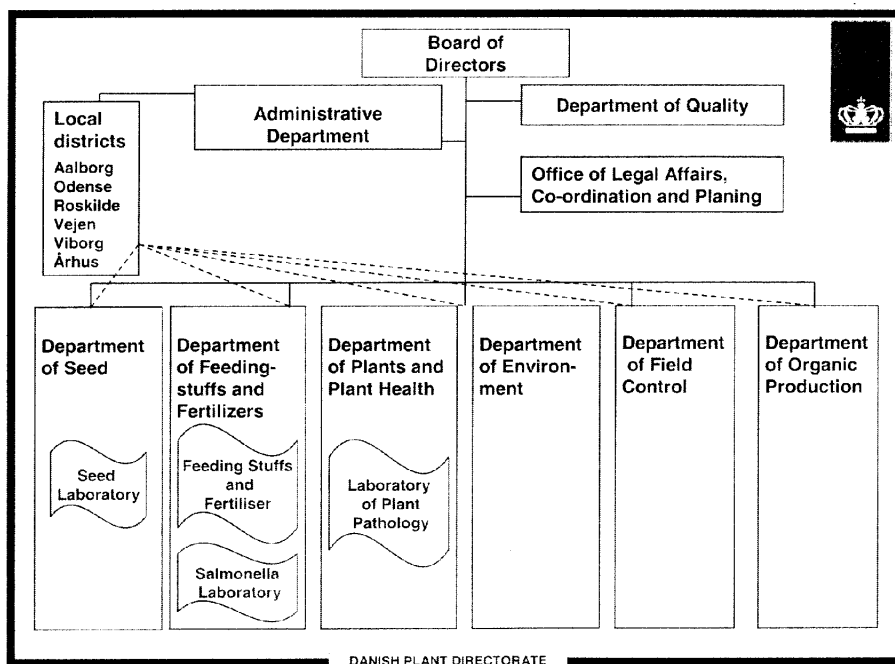


State: 2003-06

附件二、德國巴符省種子檢查室每年檢查採種田面積

項 目	採種面積總計 (ha)		
	2001	2002	2003
禾穀類總計	10423	10455	10719
冬大麥	1772	1838	1863
冬黑麥	385	335	350
冬黑小麥	505	494	471
冬小麥	3868	3847	3643
冬硬粒小麥	0	0	18
冬 spelt 小麥	501	528	569
春大麥	2253	2268	2539
燕麥	902	922	962
春硬粒小麥	0	2	29
春黑小麥	25	29	58
春小麥	211	187	212
草類總計	974	940	905
油類與纖維類總計	235	443	591
豆類總計	870	591	667
玉米總計	2485	2714	3232
馬鈴薯總計	498	543	528
總計	15496	15688	16643

附件三、丹麥農業部檢查室組織架構圖



附件四、ISTA 品種檢查研討會參加名單

Name	First Name	Laboratory	Country
Brants	Ivo	Monsanto Europe SA.	BE-Belgium
Cooke	Robert John	NIAB	UK-United Kingdom
Dagallier	Bertrand	OECD	FR-France
Delogu	Chiara	ENSE	IT-Italy
Goeritz	Axel	LUFA Nord-West	DE-Germany
Herradón Garcia	Esther	INIA-Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria	ES-Spain
Hwu	Kae-kang	Dept. of Argronomy, National Taiwan University	TW-China, Taiwan
Knoblauch	Rainer	LUFA Augustenberg	DE-Germany
White	Jon	NIAB	UK-United Kingdom
van Ettekoven	Kees	Naktuinbouw	NL-The Netherlands
Moe	Marit	Norwegian Agricultural Science Agency	NO-Norway
Taski	Ksenija	National laboratory for seed testing	Serbia and Montainegro
Sunter	Robert	Scottish Agricultural Science Agency	GB-United Kingdom
van den Bovenkamp	Gé	NAK	NL-Netherlands
Hamit	Sonia	GTZ Consultant	DE-Germany
Zhang	David	Laboratoire BioGEVES	FR-France
Jones	Huw	NIAB	UK-United Kingdom
van Steekelenburg	Arjan	Keygene N.V.	NL-Netherlands
van Ass	Esther	Nunhem's Zaden BV	NL-Netherlands
Huttinga	Harm	Naktuinbouw	NL-Netherlands

All SOP list

Label	Name of the SOP		
General			
MSOP	01	001	Creation control, revision and edition of QS-documents
MSOP	01	002	Preparation of peculiarities (claims, mistake, weaknesses)
MSOP	01	003	Sample entrance and sample detection
MSOP	01	004	Storage and disposal of samples
MSOP	01	005	Working precaution in the report 3.1 SAB
MSOP	01	006	Use of the EVD-system (GLUE-computer)
MSOP	01	007	Consumption materials newer test
MSOP	01	008	Manufacture of solutions and chemicals
Sampling			
MSOP	02	001	Winning of an U-sample over the riffle sample divider
MSOP	02	002	Winning of an U-sample over the Potations sample divider
MSOP	02	003	Winning of an U-sample over the hand sample divisions
MSOP	02	004	Sampling seeds at the applicant to the display of ISTA-certificate
MSOP	02	005	Sampling for recognition, seeds traffic control, privately, inspection sample
MSOP	02	006	Winning of an U-sample with the VARIODIVIDER 1 G/8
Purity			
MSOP	03	001	Purity investigation of seeds
MSOP	03	002	Purity investigation seeds-mixtures
Other Seeds			
MSOP	04	001	Investigation of seeds on possessed with seed of other type

Label Name of the SOP

Germination capacity

MSOP	05	001	Treatment of seeds
MSOP	05	002	Determination of germination capacity of seeds
MSOP	05	003	Driving force of seeds in the cold test
MSOP	05	004	Dormancy in grain and grasses
MSOP	05	005	Use of seeds with the vacuum siphon
MSOP	05	006	On germ of seeds with vacuum robot
MSOP	05	008	Germination capacity in corn
MSOP	05	009	Driving force test of seeds
MSOP	05	014	Preparation of sand for germination capacity investigation
MSOP	05	015	Germination capacity of monogermem beet seeds
MSOP	05	016	Germination capacity of multigermem beet seeds (ascertainment on and Mehrkeimig)

Label	Name of the SOP		
Health seeds			
MSOP	07	001	Attack of a seeds sample with living supply parasite
MSOP	07	002	Investigation of oats on attack with mites
MSOP	07	003	Investigation of field bean and lining peas on bug attack
MSOP	07	004	Manufacture of agar plate for the health test
MSOP	07	005	Bean of <i>Colletotrichum</i> spp.
MSOP	07	006	Peas of <i>Ascochyta</i> and <i>Fusarium</i>
MSOP	07	007	Field salad of <i>Phoma</i> spp., <i>Peronospora Valerianellae</i>
MSOP	07	008	Cress of <i>Alternaria brassicae</i>
MSOP	07	009	Flax of <i>Alternaria</i> , <i>Phoma</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Fusarium</i>
MSOP	07	010	Lupines of <i>Colletotrichum</i> spp.
MSOP	07	011	Carrots of <i>Septoria</i> , <i>Phoma</i> spp., <i>Alternaria</i>
MSOP	07	012	Parsley of <i>Septoria petroselina</i> , <i>Phoma</i> sp., <i>Alternaria</i> sp.
MSOP	07	013	Celery of <i>Septoria apiicola</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Phoma apiicola</i>
MSOP	07	014	Sunflower of <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Alternaria helianthi</i>
MSOP	07	015	Barley of <i>Ustilago nuda</i>
MSOP	07	016	Grain of <i>Drechslera</i> spp., <i>Fusarium</i> spp
MSOP	07	017	Barley and wheat of <i>Tilletia</i> spp.
MSOP	07	018	St John's wort of <i>Colletotrichum</i> spp.
MSOP	07	019	Investigation of onion seeds of <i>Nematodenbefall</i>
MSOP	07	020	Basil of <i>Botrytis cinera</i>
MSOP	07	021	Salad of <i>Alternaria dauci</i> , <i>Botrytis cinera</i> , <i>Bremia lactucae</i>
MSOP	07	022	Chive, onion, Leek of <i>Alternaria</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Phoma</i>
MSOP	07	023	Cabbage, seed flax of <i>Alternaria</i> , <i>Botrytis</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phoma</i>
MSOP	07	024	Corn of <i>Cochliobolus</i> , <i>Diplodia</i> , <i>Stenocarpella</i> , <i>Fusarium</i>
MSOP	07	025	Tomato of <i>Fusarium oxysporum</i>
MSOP	07	026	Dill, fennel of <i>Alternaria</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phoma</i>
MSOP	07	027	Red beet of <i>Phoma</i> , <i>Fusarium</i>
MSOP	07	028	Spinach
MSOP	07	029	Bow flower of <i>Alternaria</i> , <i>Botrytis</i>
MSOP	07	030	Hemp of <i>Botrytis</i> , <i>Fusarium</i>

Label	Name of the SOP		
Varieties and species			
MSOP	08	001	Authenticity determination in ripen grasses
MSOP	08	002	Fluorescence investigation to the sorts distinction by oats
MSOP	08	003	Field mustard in Brassica-seeds
MSOP	08	004	Authenticity in white clover and red clover with the fluorescence appearance of the source
MSOP	08	005	Other sorts in field bean over the color of the umbilicus
MSOP	08	006	Authenticity red and Schafschwingel
MSOP	08	007	Authenticity Dt. Weidelgras and W. Weidelgras
MSOP	08	008	Distinguish of bitter material arms and -haltigen Lupines
MSOP	08	010	Electrophoresis - general and basic
Moisture content			
MSOP	09	001	Determination of the moisture salary with that drily limited method
1000 kernel weight			
MSOP	10	001	Determination of the 1000 kernel weight of seeds
Coated seed			
MSOP	11	001	Test of coated seeds
Tetrazolium			
MSOP	12	001	Biochemical investigation on viability with terazolium
MSOP	12	003	Tetrazolium-termination of the KF-test in fresh not germinated seed
MSOP	12	005	Manufacture of a 1% Tetrazolium solution
MSOP	12	007	Tetrazolium-investigation of wheat and barley
MSOP	12	008	Tetrazolium-investigation of oats
MSOP	12	009	Tetrazolium-investigation of Gehölz seeds
X-ray			
MSOP	14	001	-ray investigation of cherries-seeds (Prunus-resemble
Certification			
MSOP	16	001	Certificating of the results, calculation creation
Special methods			
MSOP	17	002	Ascertainment of the siebabganges of a seeds sample
MSOP	17	003	Instructions for the clover cleaning with the magnetic sowing cleaning snack
MSOP	17	005	Uniform bubble procedure with the general blower for <i>Poa</i> sp. and <i>Dactylis</i>
MSOP	17	007	Ascertainment of the hl-weight of grain

Label	Name of the SOP		
Training			
MSOP	18	001	Sampling training
MSOP	18	002	Aptitude proof for seeds test on purity, possessed, germination capacity
Audit			
MSOP	21	001	Rehearse internal control
MSOP	21	002	Examination of the QS-system through audits
Technical SOP			
MSOP	22	001	Use of electronic scales
MSOP	22	002	Weekly calibration of the electronic scales
MSOP	22	003	Use of the data loggers to the supervision of the temperature in Keimschränken
MSOP	22	004	Calibrations of that work would weight weight reference with DKD-certified
MSOP	22	005	Daily inspection of the climate data of germ apparatuses
MSOP	22	006	Annual examination of the thermometers and data loggers
MSOP	22	007	Use of the thermohygrographen
MSOP	22	008	Examination Bio-photometer
MSOP	22	009	Calibration pH-meter
MSOP	22	010	Calibration of pipette
MSOP	22	011	Examination of the temperature on the thermoschüttler
MSOP	22	012	Examination of that of lamp fields
Seed collection			
MSOP	23	001	Would maintain and expansion of the seed collection
PCR			
MSOP	24	001	DNA-isolation Wizard
MSOP	24	002	PCR-TB proof (lining means)
MSOP	24	003	PCR proof in genetically changed organisms (GVO)
MSOP	24	004	Gel-electrophoresis of the PCR-products
MSOP	24	005	Sample preparation of seeds for PCR

附件五、丹麥農業部種子檢查室標準作業程序清單

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

Level 1

Preface, general part

Organisation	3.1, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 10.1, 10.5.2, 10.5.3	
Tasks		
Structure and responsibility		
Quality aims/policy and validity		
Quality organization		
Impartiality, independence and integrity		
Insurance issues		
Confidentiality and security		

Level 2.1

General procedures

Writing of procedures		
Identification of the quality system documents		X
Document management	4.5, 10.1.2	
Storage of quality system documents		
Management review	10.6	
Internal audits	10.5.1	
Discrepancies and corrective actions	5.3.7, 10.1.1, 10.4	
Handling of complaints	10.4	
Clients attending tests		
Introduction of new staff		
Maintenance of staff records	3.5, 4.2, 9.1	
Enrolling for courses and further training		
Access to computers		
Back-up of computer systems		

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

Interruption of computer systems	7.4, 7.5	
Verifying data processing	7.4, 7.5	
Premises and cleaning	3.10, 5.1.2, 5.1.3, 5.2.2	
Test methods		
Validation of test methods		
Equipment and reference materials	5.2.6, 5.2.7, 5.3.3, 5.3.5	
Storage of raw data	9.2, 9.4	
Monitoring of tests	10.2, 10.3	
Subcontracting of tests	3.12	
Purchase, receipt and storage of articles	5.3.6	
Maintenance/repairation of equipment	5.2.3, 5.2.4, 5.2.5, 5.3.7	
Making and labeling of chemicals		
Calibration of equipment	5.2.3, 5.3.1, 5.3.2	
Preventive actions		
Scope of DANAK accreditation		
Scope of ISTA accreditation		X

Level 2.2

Specific procedures

Structure and responsibility	3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 4.3, 4.4	
Document management		X
Storage (documents, records, samples)	6.2.4, 8.3, 9.2, 9.4, 9.5	

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
Internal education/training	3.5, 4.1, 4.2	
Quality control of sampling and field control	6.1.4, 10.2	
Structure and responsibility	3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 4.3, 4.4	
Handling of samples	6.2.2	
Document management		X
Storage (documents, records, samples)	6.2.4, 8.3, 9.2, 9.4, 9.5	
Analysis certificates	3.11, 7.1, 7.2, 7.3, 8.1, 8.2, 8.4, 8.5, 9.2, 9.3	
Internal training	3.5, 4.1, 4.2	
Proficiency testing	10.3	
Test methods		
Equipment	5.2.3, 5.2.4, 5.2.5, 5.2.6, 5.2.7, 5.3.1, 5.3.2	
Structure and responsibility	3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 4.3, 4.4	
Document management		X
Storage	6.2.4, 8.3, 9.2, 9.4, 9.5	
Sample flow and analysis certificates	6.2.2	
Test methods		
Proficiency testing	10.3	
Internal training and development of expertise	3.5, 4.1, 4.2	

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

Equipment	5.2.3, 5.2.4, 5.2.5, 5.2.6, 5.2.7, 5.3.1, 5.3.2	
-----------	---	--

Level 3

Common instructions

Handling of complaints	10.4	
------------------------	------	--

Seed sampling

Instruction on sampling of seeds		
- Introduction		
- Definitions		
- Lot size and uniformity		
- Sampling intensity and procedure for sampling the lot		
- Weight of submitted sample and dividing of samples	3.6, 3.7, 3.8, 3.9,	
- Handling of samples	5.1.1, 5.2.1, 5.2.3,	
- Marking the lot	5.2.5, 6.1.1, 6.1.2,	
- Sealing the lot	6.1.3, 6.1.4, 6.2.1,	
- Report	6.2.2, 6.2.3, 7.1, 7.2,	
- Sampling of cereals	7.3	
- Sampling of herbage seeds		
- Sampling of vegetable seeds		
- Sampling of tree and shrub seeds		
- Sampling of raw material		
- Sampling of rape seed of own growing		
- Re-sampling		

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

- Export of lots	3.6, 3.7, 3.8, 3.9,	
- Import of lots	5.1.1, 5.2.1, 5.2.3,	
- Delivery in bulk	5.2.5, 6.1.1, 6.1.2,	
- Test sampling and check sampling	6.1.3, 6.1.4, 6.2.1, 6.2.2, 6.2.3, 7.1, 7.2, 7.3	
Training in seed sampling and maintenance of knowledge	4.1, 6.1.2	
Basis course and exam in seed sampling	4.1, 6.1.2	
Renewal course in seed sampling	4.1, 6.1.2	
Supervision visits to seed samplers	4.1, 6.1.2, 6.1.3, 6.1.4, 10.2	
Control of seed samplers	6.1.4, 10.2	
Error when completing formulars	10.2, 10.4	

Field plots

Printing of formulars		
Printing of formulars for grass seed		
Preparation of sowing plan		
Requisition of standard samples		
Preparation of seed bags for field control		
Urgent preparation of seed bags for field control		
Handling of seed bags at sowing		
Measurement of field plots		X
Sowing		X
General cultivation		
Labelling of field plots		

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

Evaluation of field plots—cereals and pulses		X
Evaluation of field plots—grasses etc.		X
Forwarding of data		

Common instructions

Plan of premises	5.1.2	
List of methods for DANAK accreditation		
Reference materials	5.3.3, 5.3.4	
Determination of uncertainty for test results		
Training and examination in seed testing	4.1	
Maintenance of knowledge in seed testing	4.1	
Training in sample handling	4.1	
Maintenance of knowledge in sample handling	4.1	
Proficiency testing	10.3	
Internal control samples	10.2	
Variation between results	7.4	
Observation of insects and mice in the laboratory		
Handling of complaints	10.4	
Storage and disposal of samples	6.2.5	
Writing and revising quality documents		X
Purchase and receipt of articles	4.1	
Deadlines		

Sample administration

Checking of samples at receipt	6.2.4, 6.2.5	
Reception, recording and distribution of samples	6.2.1, 6.2.4	
Recording of reports from seed samplers		X

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

Attaching test labels and distribution of papers to the lab		X
Reception and recording of intervention samples		
Reception and recording of imported seed lots		
Reception and recording of parallel samples		X
Handling of untreated/treated samples of certified cereal lots		
Handling of seed mixtures		X
Handling of mixed varieties of rape seed		
Handling of samples of rape seed of own growing		
Handling of automatically set up random samples		
Handling of random samples ordered by the certification department		
Handling of growers' samples		
Handling of samples analysed at lab abroad		
Handling of repetition samples and parallel samples		X
Handling of variety mixtures		
Handling of ear analyses		
Handling of field control results		X
Handling of re-labelling of seed lots		
Rules for check of certificates	8.1	
Signature on and stamping of certificates	8.1	
Issuance of certificates for certified rye (vitality and germination)		
Issuance of ISTA certificates	8.1	

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

Return of ISTA certificates	8.1	
Ordering and printing of duplicate certificates		X
Purchase, stamping and storage of certificates	8.1	
Anonymity towards the client	8.5	
Altering data on certificates or in the computer		X

Purity lab

Distribution of samples and bags		X
Division of cereals		X
Division of untreated seeds		X
Division of treated and pelleted seeds and peas		X
Division of untreated peas		X
Division of intervention samples		
Determination of hectolitre weight		
Determination of hectolitre weight: NIT		
Control-card for determination of hectolitre weight		
Check of computerized calculations for hectolitre weight		
Storage of original samples		X
Storage of analysed samples		X
Blowing, sieving and winnowing		X
Sieving of malt barley		
Seed tapes		X
Purity analysis of cereals		X
Purity analyses of seeds (Poa and Phleum)		X
Purity analyses of seeds		X

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

Purity analyses of seeds (with multiple seed units)		X
Purity analyses of seeds (<i>Lolium perenne</i>)		X
Purity analyses of seeds (depelleted seeds)		X
Purity analyses of seeds (pelleted seeds)		X
Purity analyses of seeds (seed mixture)		X
Analyses of intervention cereals		
Other seeds by number		X
Analyses on seed analyzing station		X
Analyses of rape seeds		
Bitterness of lupin		
Weighing and checking of results		
Size grading		X
Insect investigation		
Reference collection of seeds		X
Cleaning (purity lab)		
Calculation of percentage and rounding off (purity lab)		
Head of purity lab		
Abbreviation of species names		
Analyses for fungi, bacteria, nematodes and beetles		
Analyses for <i>Trogoderma granarium</i> (khabra beetle)		

Germination lab

Preparation of sand		X
Preparation of TP		X

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

Preparation and storage of chemicals		X
Preparation of the day's samples for planting		X
Counting of seeds by hand		X
Counting and soaking of untreated beet seeds		X
Summary of planting methods		X
Planting in sand manually		X
Planting of seeds in sand with vacuum		X
Planting PP manually		X
Planting BP for cereals		X
Planting BP for seeds		X
Planting TP manually		X
Planting TP with vacuum		X
Planting of treated beet and vegetable seeds		X
Planting in soil		X
Planting for fluorescents examination		
Storage of samples before and after planting		X
Distribution of samples for germination		X
Analyses of samples planted TP		X
Analyses of samples planted BP		X
Analyses of samples planted PP		X
Analyses of samples planted in sand		X
Analyses of samples planted in soil		X
Analyses of fluorescents examination		
Analyses of malt barley		
Seed weight of cereals, peas and Vicia faba		X
Weight of rape seeds		X

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

Weight of untreated beet seeds		X
Weight of treated beet seeds		X
Vitality (tetrazolium test) (cereals)		X
Vitality (tetrazolium test) (seeds)		X
Purchase and control of germination substrates	5.3.6	
Cleaning (germination laboratory)		
Entering data and approving results (germination lab)	7.4	
Head of laboratory office (D.S.20)	7.4	
Manual calculation and rounding off (germination lab)	7.4	
Cold test of maize (vigour)		
Electric conductivity test of pea (vigour)		
Controlled deterioration (vigour)		

Moisture content lab

List of methods for determination of moisture content		X
Grinding of cereals, legumes and other seeds with a seed weight greater than 10.0 g		X
Pre-drying of legumes		X
Pre-drying of cereals		X
Drying of seeds, cereals and legumes		X
Drying of seeds, cereals and legumes: NIT and control-card		
Weighing of seeds, cereals and legumes		X

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

Weighing of seeds, cereals and legumes: NIT and control-card		
Soft wheat test		X
Control-card for moisture content determination		X
Check of computerized calculations for moisture content		X
Laboratory tools		

Common instructions

Plan of premises	5.1.2	
Reference materials	5.3.3, 5.3.4	
Clean-up, dishwash and calibration of lab scale		
Chemicals		
Numbering of the quality assurance documents in Microbiology laboratory		X
Storing of spare samples		X
Hearing of complaints		X
Equipment		X

Seed pathology

Preparation of agar		X
Incubation on agar		X
Internal training		X
Internal testing		X
Flax (EF-LINUM)		X

Document title	ISTA standard	Relevant to ISTA
----------------	---------------	------------------

Electrophoresis

Verification of cultivar genuity of barley and wheat by protein electrophoresis		X
Handling of reference samples		X
Internal training		X
Internal testing		X
Control tests of new glass utensils		X
Dishwashing of glass and other utensils		X

X = of relevance for ISTA analyses and for issuance of ISTA certificates. Also the documents indicated in 'ISTA standard' are relevant for ISTA.

Confirmation

Herewith we confirm that

Prof. Kae-kang Hwu

worked successfully with
practical methods of seed testing, especially with
variety determination by electrophoresis,
development of methods for quantification of GMO
by maize, as well as
sampling and quality assurance
according the ISTA Accreditation standard.


from 09.09.-24.09.2003

**Seed Testing and Applied Botany
ISTA Member Station**

of the
**State Institute for Agricultural Testing and Research
Augustenberg,**

Neßlerstraße 23, D-76227 Karlsruhe/Germany

Karlsruhe 24.09.2003


Prof. Dr. Norbert Leist
Biologydirector