

出國報告（出國類別：研究）

派員至荷蘭研習蔬菜分子標誌輔助育種

服務機關：行政院農業委員會花蓮區農業改良場

姓名職稱：王啓正 助理研究員

派赴國家：荷蘭

出國期間：101年6月17日至6月29日

報告日期：101年9月10日

目錄

摘要.....	1
壹、目的.....	1
貳、行程表.....	3
參、研習內容與心得.....	4
一、緣起.....	4
二、荷蘭瓦赫尼根大學植物育種部門之介紹.....	4
三、於荷蘭瓦赫尼根大學植物育種部門研習之項目.....	10
四、私人企業參訪及研習.....	13
肆、心得與建議.....	28
致謝.....	30

摘要

荷蘭為歐洲植物育種及蔬菜花卉種苗商的中心，具有先進的分子標誌在抗病、抗逆境育種的基礎及應用研究，許多跨國種子公司都在此設點，本計畫擬赴荷蘭研習利用分子標誌進行育種之研究並參觀荷蘭蔬菜種苗商栽培業者的實際運作情形。本計畫包含以下二項工作：一、至荷蘭瓦赫尼根大學研習分子標誌輔助育種之研究。二、至荷蘭種子公司番茄育種部門及番茄、甜椒栽培業者參觀番茄抗病育種之運作及荷蘭目前之產業。在荷蘭瓦赫尼根大學除了參觀植物育種部門的實驗室與隔離溫室之外，還研習了三個主題：一、利用生物技術尋找番茄抗 TYCLV (番茄黃化捲葉病毒) 基因。二、抗 *Ty-1* 基因的分子標誌與定位。三、研習如何設計 CAPS 或 SCAR marker 以找到與 *Ty-2* 基因更接近的分子標誌。參觀跨國種子公司為 LivngProof 公司 (Monsanto 荷蘭分公司) 番茄育種部門、Syngenta seed 公司 De Lier 番茄試驗中心及溫室、還有 Rijk Zwaan 種子公司番茄試驗中心。參觀後認為大型種子公司有下列特點：一、跨國經營理念為本。二、區域性研發中心設立。三、快速分子標誌輔助育種的開發。四、研發各種特性之品種。另外參訪四家番茄、甜椒栽培業者，其中番茄栽培業者分別為 Fa. H. G. L. Zwinkels 公司及 C. G. van Winden 公司，甜椒栽培業者分別為 VOF P. Solleveld 公司及 Kwekerij Leo vd Berg 公司。參觀後認為荷蘭大型甜椒、番茄栽培業者有下列特色：一、溫室高度增加以提高散熱。二、自動化生產裝置的增加。三、栽培技術的改進。四、病蟲害綜合防治的進步。五、產能急速擴張的產業。六、栽培品種的演變與更新。此外，還參訪了 Duchefa 生技公司、Floricultura 蘭花公司及 Floriade 2012 園藝博覽會，了解組織培養基製作、蘭花組培系統及未來番茄甜椒新品種的趨勢。

壹、目的

隨著全球暖化及氣候變遷的趨勢，農作物將會面對來自生長環境更嚴峻的逆境，如夏季高溫及病蟲害；而蔬菜作物為現代人維生素、抗氧化成分及纖維素的主要來源，但大多不耐病蟲害又對生長環境敏感。為了減少農藥噴施、環境污染

及減少農民損失，抗病育種為近年來的重要課題，許多蔬菜抗病基因分子標誌已經有許多研究報告，例如抗晚疫病基因 *Ph-1*、*Ph-2* 及 *Ph-3*，抗番茄黃化捲葉病毒基因 *Ty-1*、*Ty-2*、*Ty-3*、*Ty-4* 及 *Ty-5* 基因，而在國外許多大型種子公司也都採取分子標誌輔助的育種方式，以增進該公司的育種效率及推出新品種的競爭力。

台灣若要成為亞太種苗中心，在蔬菜種苗業上仍需多多努力，例如分子標誌輔助育種尚未真正實際應用在蔬菜抗病育種流程中，若能將分子標誌輔助育種實際導入在實際的育種流程當中，相信會對本國的育種及蔬菜種苗產業有所助益。以番茄種子種苗業來說，雖然牛番茄種子市場已被許多大型跨國種子企業所佔據，也有許多人認為台灣已經早已失去成為亞太種苗中心的先機，也認為台灣研發的番茄新品種難以與跨國公司的品種相抗衡。但筆者認為若以台灣為研發中心，發展具有特色的番茄品種，例如耐熱、抗黃化捲葉病毒的高品質番茄品種，番茄種子產業不但可以前進身為華北、華南菜倉的山東、武漢及兩廣的種苗市場，亦可以針對越南、泰國及印度等東南亞市場進行佈局，因此若能善用台灣優勢並了解歐美種子公司的優點與缺點，並能前進荷蘭了解分子標誌輔助育種的最新資訊，育成與歐美溫室品種相異且有特色的品種，相信台灣的番茄種子產業仍可有一番作為。

本計畫赴荷蘭研習利用分子標誌進行育種之研究並參觀荷蘭蔬菜種苗商的實際運作情形。本計畫包含以下二項工作：一、至荷蘭瓦赫尼根大學研習分子標誌輔助蔬菜育種之研究。二、至荷蘭蔬菜種子公司育種部門及番茄甜椒栽培業者參觀番茄抗病育種之運作及荷蘭目前之產業

貳、行程表

101 年度加強國際農業科技合作計畫「派員至荷蘭研習蔬菜分子標誌 輔助育種 (101 農科-4.2.1-花-V2)」行程表

計畫主持人：王啓正助理研究員

出國人員：王啓正助理研究員

排定行程：

日期(101 年)	地點	行程
06/17 (日) 第 1 天	花蓮、台北、桃園 機場	花蓮→台北→桃園機場出發
06/18 (一) 第 2 天	1. Amsterdam, 2. Wageningen	1. 早上抵達阿姆斯特丹 Schiphol 機場。 2. 至 Wageningen 大學植物育種系拜訪系主任 (Chair) Prof. Dr. Richard GF Visser 及茄科抗病育種群(group)主持人 Dr. Yuling Bai
6/19 (二) 第 3 天	Wageningen	1. 參觀 Wageningen 大學植物育種系溫室、農場及實驗室 2. 與 Dr. Yuling Bai 討論分子標誌輔助育種及相關實驗
6/20 (三) 第 4 天	Wageningen	於 Wageningen 大學植物育種系研習分子標誌輔助育種及相關實驗
6/21 (四) 第 5 天	Wageningen	於 Wageningen 大學植物育種系研習分子標誌輔助育種及相關實驗
6/22 (五) 第 6 天	1. Wageningen 2. Venlo	1. 於 Wageningen 大學植物育種系與 Dr. Yuling Bai 討論分子標誌輔助育種及後續相關之實驗 2. 前往 Venlo
6/23 (六) 第 7 天	Venlo	參觀 Floriade 2012 世界園藝博覽會
6/24 (日) 第 8 天	1. Venlo 2. Amsterdam	從 Venlo 前往 Amsterdam
6/25 (一) 第 9 天	1. Amsterdam, Haarlem 2. Den Haag, Delft,	1. 參觀 Duchefa 生技公司及 Floricultura 蘭花公司 2. 前往 Den Haag 旁之 Delft
6/26 (二) 第 10 天	Delft, De Lier, Den Haag	參觀 Monsanto 種子公司 參觀荷蘭番茄栽培業者 Fa. H. G. L. Zwinkels 及 C. G. van Winden， 甜椒栽培業者 VOF P. Solleveld 及 Kwekerij Leo vd Berg BV
6/27 (三) 第 11 天	1. Delft, De Lier, Den Haag	參觀 Syngenta seed 公司 De Lier 研發中心、Rijk zwaan 種子公司
6/28 (四) 第 12 天	Delft, Den Haag Amsterdam	1. 參觀市區超市種苗種子商店 2. 阿姆斯特丹 Schiphol 機場，下午起飛
6/29 (五) 第 13 天	桃園機場，台北， 花蓮	抵達桃園機場→台北→花蓮

參、研習內容與心得

一、緣起

在去年初此計畫審核通過時，就開始寫 email 與瓦赫尼根大學（Wageningen UR）植物育種部門（Wageningen UR Plant Breeding）的主席（Chair）Prof. Dr. Richard GF Visser 聯絡，由於信中介紹筆者有關於分子標誌輔助番茄抗黃化捲葉病毒育種的研究成果，並且表達想去瓦赫尼根大學植物育種部門參訪研習並討論合作的可能性，Prof. Dr. Visser 信中表示他們部門的番茄分子育種研究除了抗白粉病分子標誌研發之外，近幾年還有作抗黃化捲葉病毒基因的分分子標誌研究，並且歡迎任何形式的合作，並且把筆者介紹給 Dr. Yuling Bai，Dr. Bai 是茄科作物抗病育種的研究群主持人，經由 email 數封信討論有關想要學習的內容，Dr. Bai 那時也透露他們實驗室及將發表一篇有關番茄抗黃化捲葉病毒 *Ty-1* 基因的分分子標誌圖譜的文章，並且準備要針對 *Ty-2* 基因進行更詳細的分分子標誌圖譜定位（mapping），因為筆者已經對 *Ty-2* 基因進行番茄抗病分分子標誌育種三年了，所以很歡迎筆者過來交換一些意見。其實筆者也很高興，因為筆者做的是應用研究，直接拿別人發表的分分子標誌條件改成適合自己的材料後應用在番茄抗病育種流程中，而此研究群所作的正是有關開發更近的番茄分分子標誌、並對基因予以定位，因此能夠到此實驗室獲取更多的分分子標誌資訊，將對筆者日後的育種工作非常有幫助。

二、荷蘭瓦赫尼根大學植物育種部門之介紹

荷蘭瓦赫尼根大學位於荷蘭瓦赫尼根市（Wageningen），瓦赫尼根市在荷蘭東方，從阿姆斯特丹坐火車約一小時的路程可直達 Ede-Wageningen 火車站，再轉搭公車約 25 分鐘可到達瓦赫尼根中心公車站，而市區內到處可見大學的建築在其中。

瓦赫尼根大學植物育種部門（Wageningen UR Plant Breeding）（圖 1）則是位於市區的北邊緣 Droevendaalsesteeg 路上，距離市中心走近路約有 3.5 公里，部門裡面有超過 120 位教職員工，通常會有 50-80 個研究生及參訪學者在裡面做研究，主要任務為教育、研究及有關於植物育種方面的諮商。目前的主席(Chair)

為 Prof. Dr. Richard GF Visser (圖 2)，此植物育種部門的研究包含五大主題：非生物逆境耐性的育種、生物性逆境抗性的育種、生長與品質的育種、數量遺傳的研究、生物多樣性及遺傳歧異度的研究等，其中生物性逆境抗性的育種包含兩個研究群(research group)，一是針對非寄主的病害或是昆蟲的抗性進行育種的研究群，由 Dr. Ben Vosman 主持，二則是茄科作物抗病育種的研究群，由 Dr. Yuling Bai 主持。

植物育種部門的前面為大學的綜合大樓(圖 3)，綜合大樓裡面有行政單位、餐廳、演講廳、教室及圖書館，可供學生休憩及研究上課的地方(圖 4)，非常方便。植物育種部門的前門為接待處，有客人來此時可以在此詢問並且交換出入証，出入証位類似台北悠遊卡，經由碰觸感應，門會自動打開同時可紀錄大樓內的人員數目(圖 5-6)。

	
<p>圖 1、瓦赫尼根大學植物育種部門建築外觀</p>	<p>圖 2、與瓦赫尼根大學植物育種部門主席 Prof. Dr. Richard GF Visser 合影</p>
	
<p>圖 3、瓦赫尼根大學植物育種部門前面的綜合教學大樓</p>	<p>圖 4、綜合教學大樓內的一樓為餐廳及演講廳</p>



圖 5、植物育種部門的自動門禁管制系統



圖 6、具感應功能的進出證

植物育種部門實驗室主要位於二樓，非常有規劃也很有規模，比如 PCR 室、電泳室及照膠室緊鄰於隔壁，PCR 機器在房間內一字排開，兩間加起來應該有 30 台機器以上，機器前有預約本，要使用的人可以先預約並進行使用（圖 7）。PCR 後進行電泳，電泳室也有二十餘台大大小小的電泳槽，電泳後進行照膠，主要有兩台機器進行電泳膠體照相列印及存檔（圖 8-9）。冷藏櫃集中在一間房間，以利熱源散熱（圖 10），實驗室的實驗桌平行排列，每人都有專屬實驗桌空間可以使用（圖 11）。貯藏室也規劃的十分整齊，利用架子分門別類（圖 12），還有走道旁的內嵌式貯藏櫃可以放置一些小型耗材（圖 13），此等設計理念可供將來建立新場的實驗室參考。大樓內每一層樓都有劃分實驗空間及辦公空間，實驗物品禁止攜出綠線之外，因此一些污染物不會污染到不應污染的地方（圖 14）。



圖 7、PCR 實驗室 PCR 機器一字排開且有使用登記簿



圖 8、電泳槽室電泳槽一字排開



圖 9、電泳膠片照膠系統



圖 10、冷藏櫃集中在一間房間，以利熱源散熱



圖 11、育種部門位於二樓的一間實驗室



圖 12、貯藏室東西歸類儲存



圖 13、走道旁設有儲物櫃以存放物品

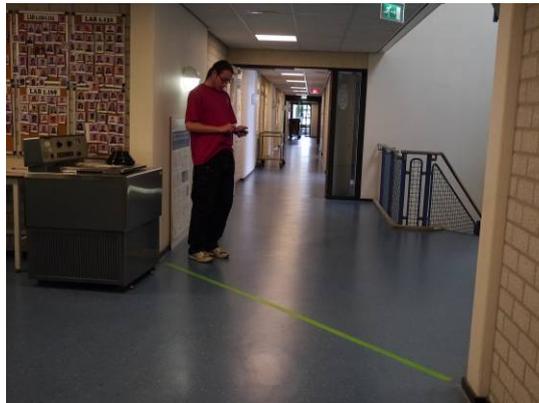


圖 14、大樓內每一層樓都有劃分實驗空間及辦公空間，實驗物品禁止攜出綠線之外

在大樓後面為植物育種部門的溫室，溫室的名字稱為 Unifarm（圖 15），此玻璃溫室為高規格的完全密閉溫室，首先進出必須有磁卡感應，進入之後首先為倉庫可堆放盆子及介質等耗材，再來則是大走道、中走道及一般走道構成的複雜路線，每個走道前後都有拉門，前後的拉門不能同時開放並且為正壓裝置以防止蟲害（圖 16）。在一般走道旁則是一間間的房間，每個房間為兩道門，隔成溫室內的兩個空間，第一個空間為工作間與隔離緩衝帶，工作間放置工作衣及一些標示牌和一些小東西，第二空間才是有控溫之溫室，研究人員在進入第二道門前要在工作間穿實驗衣才可以進入第二空間(圖 17-20)。由於溫室澆水及噴藥管理有專人負責（圖 21），研究生僅負責實驗處理，在這種體制下，研究生可以專心做實驗，因此每間溫室門前都有貼一要不要澆水的牌子，如果是不要澆水的溫室通常是做抗白粉病實驗，因為溼度增加會使白粉病致病力減低，然後發生抗病力誤判的情形。溫室的倉庫位於入口內一側，設有貨架可供各式資材排放整齊（圖 22-23）

Unifarm 溫室這種隔間中有隔間，及迷宮式的走道設計，除了可防止病媒蟲害以外，在管理上也十分嚴謹，只要是經過病害接種的植株或是基因轉殖植物都插上紅牌，在做完實驗立即送入溫室內的焚化爐銷毀，雖然不了解他們詳細的管理機制，但覺得他們都很遵守規則，或許是跟嚴謹的民族性有關。

	
<p>圖 15、瓦赫尼根大學植物育種部門的完全密閉溫室「Unifarm」</p>	<p>圖 16、Unifarm 溫室的大走道的自動門，除正壓系統外，第一道門完全關閉時第二道才能開啓</p>



圖 17、小走道也有前後兩道門的控制



圖 18、溫室內的兩個空間及兩道門，第一個空間為工作室，第二空間才是控溫之溫室



圖 19、研究人員在第一空間（工作室）準備實驗相關物品



圖 20、第二空間溫室種植的番茄盆栽



圖 21、溫室門前貼「不要澆水」



圖 22、倉庫的的物品井然有序



三、於荷蘭瓦赫尼根大學植物育種部門研習之項目

(一) 利用生物技術尋找番茄抗 TYCLV (番茄黃化捲葉病毒) 基因

這個實驗為博士班學生 Mylusaka 小姐所作 (圖 24)，目的是尋找除了已發現 *Ty-1* 至 *Ty-5* 基因以外的抗 TYCLV 基因，使用的實驗方法為先蒐集抗 TYCLV 的番茄品種，以不抗病的「Money maker」品種當作對照，以農桿菌接種 TYCLV 病毒在番茄上，此農桿菌內含病毒的載體，在寄主經過農桿菌感染後可使寄主罹病。

分別抽取接種後 4-24 小時之番茄 RNA，再將 RNA 反轉錄成 cDNA，利用 cDNA-AFLP 電泳技術 (圖 25) 即可區分抗病品種有一些電泳條帶是感病品種所沒有的，將這些條帶定序比對，可找出許多與病害有關的基因。再製作這些基因的 RNAi 載體，此載體為病毒載體，將此載體轉移(transform)進入農桿菌，再把抗病品種的子葉接種，RNAi 載體便可進入植物的細胞中，使目標基因的表現量減少或不表現。如果此目標基因真的與 TYCLV 抗性有關的話，由於抗病品種的目標基因不表現或表現量很低，在接種病毒後應該會出現與感病品種相似的病徵，可以再將此基因進一步的作功能性的分析。此次 Mylusaka 小姐製作了 9 個目標基因與對照基因的 RNAi 載體，在研習時已經把載體接種於番茄子葉上 (圖 26)，對照基因為 PDS 基因，係胡蘿蔔素生合成徑路的一個主效基因，當其不表現時，番茄的新葉會開始白化；因此當對照組葉片開始白化時，就表示 RNAi 載體已經作用，此時實驗組便可以接種 TYCLV 病毒。

由於自然界的 TYCLV 只能經由媒介昆蟲銀葉粉蝨接種感染番茄，利用機械傷口人工接種的方式無法感染番茄；利用農桿菌接種 TYCLV 使番茄感染是一種新的方式，此載體經過生物技術的改造，把 TYCLV 的感病片段接在農桿菌的雙偶型載體上，感病力強且病毒序列經過改造，因此接種的植株不適合在開放的田間種植，以免把人工的病毒及載體經由媒介昆蟲散佈到自然界中，同理，RNAi 載體也是利用菸草病毒改造之載體加上目標基因的序列改造而成，也不適合在開放空間進行接種，因此植物育種部門的高規格的隔離溫室十分適合作此類的實驗，台灣的研究改良場所也只有農業試驗所的基因改造作物隔離溫室有此條件作此實驗。然而其他的農業改良場所基於應用目的及設備不同，在抗病育種上可使用苗期分子標誌篩選技術或是粉蝨苗期接種或是田間自然接種的方式進行。



圖 24、博班學生 Mylusaka 小姐在她實驗溫室前留影



圖 25、cDNA-AFLP 實驗人員正在進行電泳



圖 26、Mylusaka 小姐進行的 VIGS 實驗，盆栽插紅牌表示實驗結束後必須銷毀



圖 27、Mylusaka 小姐與其他實驗室夥伴進行實驗細節的討論

(二) *Ty-1* 基因的分子標誌與定位

此實驗為博班學生 Maarten G. Verlaan 先生所作，本實驗結果已經發表在 *Plant Journal* 的 2011 年底期刊 (*Plant J*, 2011, 68:1093-11003)，因此僅就 paper 內容與 Maarten 先生討論，他的做法也是根據前人文獻發表的分子標誌繼續向內設計更新的分子標誌，在溫室中利用農桿菌接種看看是否有無感病，由外表感病或不感病與分子標誌分離情形判斷分子標誌與抗病基因的距離，結果找出 *Ty-1* 基因位於此實驗室新設計的分子標誌 Msc05732-4、Msc05732-14 之間，與 2007 年發表的報告比較顯示，*Ty-1* 基因又更接近 *Ty-3* 基因，Maarten 先生認為 *Ty-1* 基因與 *Ty-3* 基因是來自不同品系相同基因座的對偶基因，與筆者之前的分子標誌育種經驗的懷疑相同，因此又就此部分交換實際在番茄抗病育種的應用。

(三) 研習如何設計 CAPS 或 SCAR marker 以找到與 *Ty-2* 更接近的分子標誌

實驗為博班學生 Mylusaka 小姐及碩班學生 Halun 先生所作 (圖 27-28)，主要是將基因附近的已知連鎖分子標誌資料及序列找出，根據序列每隔 100kb 設計一個分子標誌，再利用這些分子標誌去鑑定 F2 族群的分離情形，F2 族群的植株同時也在完全隔離溫室中用農桿菌接種，看看外表抗病性與分子標誌的連鎖情形，如發現 F2 後代的分子標誌 100 株有一株顯示為抗病，但外表型為感病，表示此分子標誌與抗病性有百分之一的互換率，而此實驗的目的就是要找出比之前更接近而且沒有與抗病性基因產生互換的分子標誌。

在這實驗過程中，Halun 先生示範他們的葉片快速 PCR 技術給筆者們看 (圖 29-30)，所有的操作都是用 96 孔盤及八爪定量吸管操作，甚至他們所買的葉片磨碎機跟筆者實驗室完全一樣，唯一不同的是歐洲插頭是兩個圓孔的 (圖 31)。而在去荷蘭之前，本實驗室也建立了一套類似的系統，也是利用 NaOH 強鹼破壞葉部細胞，差異只是緩衝液成份比例不太相同，在筆者開發這套系統時僅參考一些參考文獻，並沒有到別的實驗室參觀，而已知的台大植物所也沒有人進行類似的實驗，因為該所沒有人抽取大量植物族群 DNA 再進行 PCR，因此此次到荷蘭這個研究室發現他們的系統與筆者開發的類似，頗有英雄所見略同之感。



圖 28、碩班學生 Halun 與筆者在實驗室留影



圖 29、碩班學生 Halun 進行盤式 PCR 的情形



圖 30、盤式 PCR 的封膜機



圖 31、與筆者實驗室相同的葉片磨碎機，唯一不同的是歐洲插頭是兩個圓孔的

四、私人企業參訪及研習

(一) 大型國際種子公司參訪

此次參觀的為 LivngProof 公司(Monsanto 荷蘭分公司)番茄育種部門、Syngenta seed 公司 De Lier 番茄試驗中心及溫室、還有 Rijk Zwaan 種子公司番茄試驗中心(圖 32-35)。這些公司的分子育種實驗室一律不對外開放，所參觀的地點主要是育種品系比較試驗及品種展示示範溫室區，在溫室區內也一律不許照相，只有 Syngenta seed 公司及 Rijk Zwaan 種子公司的外部有一些新品種番茄果實可以照相。但是三家公司都提供了番茄各品系的詳細試驗資料參考，雖然沒有照片可供參考，此三家公司給筆者手上的資料卻不少(圖 36-37)。



圖 32、LivngProof 公司 (Monsanto 荷蘭分公司)



圖 33、Syngenta seed 公司 De Lier 番茄試驗中心及溫室



圖 34、Rijk Zwaan 種子公司番茄試驗中心



圖 35、Rijk Zwaan 種子公司的溫試進入前的手及鞋子的消毒機器

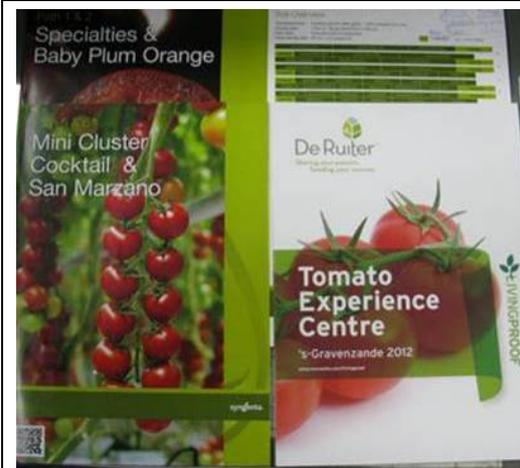


圖 36、LivngProof 公司與 Syngenta seed 公司給的最新番茄品種目錄

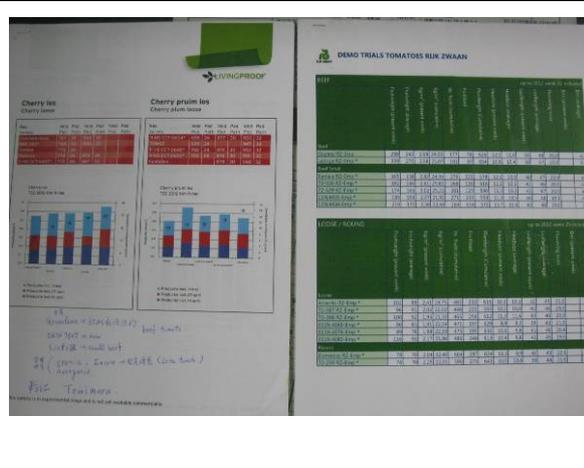


圖 37、LivngProof 公司與 Rijk Zwaan 種子公司給筆者的品系比較試驗詳細資料

參觀外國私人公司之後，筆者認為大型種子公司有下列特點：

1. 跨國經營理念為本

大型公司都以跨國經營的理念營運無庸置疑，在各大洲遍佈分公司以搶食市場。而如 Syngenta 公司就有農藥、種子的部門，種子的部門稱為 Syngenta seed 公司，這種合縱策略在大企業中是很普遍的手段。

2. 區域性研發中心設立

如 Monsanto 公司在荷蘭的分公司名稱為 LivngProof 公司，在歐洲的研發中心一個在荷蘭的's-Gravenzande，另外兩個研發中心在西班牙及義大利；Syngenta seed 公司也有在荷蘭 De Lier 設立研發中心，針對區域性喜好的蔬菜品種加以開發，根據 Syngenta seed 公司 Dr. Remco Bross 先生表示若以抗病性來說，歐洲的研發中心主要是針對抗白粉病的育種，至於抗 TYCLV 的育種是集中在南韓的研發中心，抗逆境育種是設立在中國。

3. 快速分子標誌輔助育種的開發

雖然此次無法參觀這些公司的分子育種實驗室，但也有針對此議題與三個公司的育種人員交換意見，分子標誌輔助育種是趨勢，也能加速傳統育種的時程，與抗病性越相近的分子標誌，可以免除一些野生種的不良性狀並且將野生種的抗病性導入。Syngenta seed 公司 Dr. Remco Bross 表示該公司的荷蘭 De Lier 研發中心主要是針對白粉病抗病性的分子標誌作研發，對於白粉病生理小種 1、2 及 3 抗病基因進行「基因堆疊」，也就是把三個以上抗病基因利用傳統雜交導入，並用分子標誌篩選，希望能育出與現有最歡迎的牛番茄品種品質相同的抗病品種。

4. 研發各種特性之番茄品種

除了大宗的牛番茄、串收番茄及小番茄品種以外，還開發許多有特色的品種（圖 38-40），如 Syngenta seed 公司小果番茄有彩色的及紫黑色的品種（圖 41），因此大型種苗公司除了針對產業需求較大的品種育種以外，也有針對非主流的品種來選育。



圖 38、Rijk Zwaan 種子公司新推出的串收小果番茄品系



圖 39、Rijk Zwaan 種子公司新的抗病串收番茄品系



圖 40、Syngenta 的串收小果番茄新品種



圖 41、Syngenta 的紫黑色小果番茄新品種

(二) 番茄甜椒栽培業者參訪

此次業者參訪行程為至荷蘭前增加的，因為原本計畫安排兩天參觀二到三家種子公司之後還會有一些時間，因此以一家栽培業者參觀一小時多為原則，出發前二周臨時又請外國友人安排了四家番茄甜椒栽培業者的參訪。其中番茄栽培業者分別為 Fa. H. G. L. Zwinkels 公司及 C. G. van Winden 公司（圖 42-43），栽培的品種主要是以牛番茄為主，但少部分有栽培 cocktail 型（串收型小果）番茄的品種，甜椒栽培業者分別為 VOF P. Sollefeld 公司及 Kwekerij Leo vd Berg 公司（圖 43-44）。其中 VOF P. Sollefeld 公司專門栽培紅色甜椒，Kwekerij Leo vd Berg 公司專門生產栽培黃色甜椒。



圖 42、Fa. H. G. L. Zwinkels 公司



圖 43、C. G. van Winden 公司



圖 44、VOF P. Solleveld 公司



圖 45、Kwekerij Leo vd Berg 公司

茲將四家栽培業者的特色綜合整理敘述如下：

1. 溫室高度增加以提高散熱

以前的荷蘭溫室玻璃牆面高度為四公尺，這近十年來蓋的為新型溫室，牆面高度為六公尺，加上溫室屋頂就接近九公尺，主要原因是因應全球暖化，夏季均溫不斷提高，為了防止熱逆境造成不著果或果型不良等影響，因此在荷蘭近年蓋的溫室都是這種規格，從 Delft 到 Den Hag 到鹿特丹沿岸為荷蘭溫室的集中區域，一路上可以看到一群群新舊林立高度不同的溫室。

帶領筆者參觀的 Kees van Vliet 先生表示，荷蘭的溫室集中在這區域的原因除了鹿特丹港就在附近之外，這荷蘭的海邊在夏季溫度較內陸溫度低一度到二度，冬季又因為海水溫度調節使氣溫不容易降至冰點以下，先天的氣候優勢及交通優勢造就這區域的溫室產業。

2. 自動化生產裝置的增加

由於歐洲的工資很貴，因此農企業也朝向機械化以降低成本提高競爭力。這四家業者的溫室面積大都為 6-8 公頃，場區除溫室以外還有分級包裝場，除了採收及整枝修剪以外，其他大部分的作業都是自動化，尤其是 Fa. H. G. L. Zwinkels 公司連搬運都是軌道無人搬運車，可以從採收直接運送到自動分級機分及包裝，因此 8 公頃的溫室只需要九名員工（圖 46-51）。



圖 46、Fa. H. G. L. Zwinkels 公司無人搬運車及軌道



圖 47、Fa. H. G. L. Zwinkels 公司自動裝箱的輸送帶



圖 48、Fa. H. G. L. Zwinkels 公司無人搬運車軌道的設計



圖 49、VOF P. Solleveld 公司的採收收集車



圖 50、VOF P. Solleveld 公司的甜椒收集車滿載時經小型拖車載至自動分機



圖 51、甜椒仍需人工輔助分級 (Kwekerij Leo vd Berg 公司)

3. 栽培技術的改進

(1) 栽培床架升高：

進入荷蘭近幾年的溫室系統內，首先的印象除了溫室高度升高之外，就是栽培床架的升高（圖 52），爲了剛定植時管理及更換岩綿方便，岩綿床架也可以升高到膝蓋到大腿的高度，但以前溫室高度矮，爲了節省上部空間，舊式岩綿床架也大都貼著地面，但由於現代溫室高度升高，岩綿床架不需要降低高度，因此現在新型栽培床架系統的高度都較高。

(2) 岩綿消毒及回收系統更完備

歐洲向來是重視資源回收的國家，在建立岩綿栽培系統時就有設立專門的資源回收廠，Kees van Vliet 先生在開車帶筆者去四家栽培業者參觀途中就看到兩家岩綿回收廠，他表示他們公司生產的岩綿一般可重複使用一次到二次，在重覆使用之前必須經過消毒程序，以防系統性病害發生，此消毒系統也建立了 SOP 供農企業使用參考，因此重複使用可以減少自然資然的浪費。另外，這幾年來也開發了越來越多岩綿回收再利用的用途，從製造輪胎、方向盤、洗衣精的塑膠瓶等等，隨著歐洲塑膠製品訂立了必須爲環保材質以來，岩綿回收再利用的用途也開發越來越廣泛。

(3) 栽培系統的改進

在番茄栽培系統的的栽培上，最大的改進是以前一株只能收 25-30 串果實，現今經過修剪技術、品種及養液系統的改進（圖 53-54），已經可以收到 35-40 串果實。荷蘭現代的番茄及甜椒栽培業者在栽培床架下方設置了二氧化碳輸送管帶（圖 55），此管帶是普通的 PE 帶，上面有微細小孔可以釋放二氧化碳，使溫室的二氧化碳增加使光合作用能力增加，增加植物光合作用產物而提高番茄及甜椒的產量與品質。

另外爲了節省水資源，養液系統回收系統也持續的改進，再回收後經過過濾及電腦養分分析，再判斷要補充多少養液，經電腦調整後的養液便會再次進入溫室中（圖 56）。在修剪、整枝及採收作業時，配合軌道升降機以幫助整個作業流程。在修剪葉片時，配合落葉回收系統，是個很簡單的輸送帶滾軸設計，可以將修剪後的葉片收集起來一併丟棄（圖 58）。荷蘭的番茄甜椒栽培業者不噴施生長激素，是利用授粉用蜂來輔助授粉（圖 59），這種授粉蜂比台灣的蜜蜂體型較大，適合於甜椒、牛番茄花朵的協助授粉。



圖 52、現代新型栽培床架高度提升以方便管理



圖 53、採收後的番茄枝條會延床架繞著，調整植株高度以利修剪



圖 54、果實開始轉色時修剪下位葉使果實接收較多陽光，以增加鮮豔程度



圖 55、床架下之二氧化碳塑膠管路



圖 56、水耕養液回收及監測系統



圖 57、工人站在升降台上整枝的情形



圖 58、落葉回收系統是個很簡單聰明的設計



圖 59、授粉專用蜂

4.病蟲害綜合防治的進步

據這四家栽培業者敘述，僅在番茄、甜椒幼苗期噴施農藥，開花以後便不再噴，以牛番茄為例，栽培技術最高可採 40 串花序的果實，在病蟲害防治上實屬不易。嚴格的岩棉水耕栽培系統可防止土壤病害，而溫室栽培可防止雨水露水引起的病害，如細菌性斑點病、早疫病及晚疫病，而唯一較嚴重的病害則為白粉病，然而據兩家番茄栽培業者表示，他們所種的番茄都已經是抗病品種，但是還是會得病，主要是不同病害生理小種所致，這也是位於荷蘭的番茄育種公司致力於抗白粉病育種的原因。

值得一提的是，這次參觀的四家栽培業者都要求參觀者穿戴塑膠手套、塑膠鞋套及全套隔離衣，且在進入前的手腳都要先消毒以避免帶進病原（圖 59）。近幾年來因為產品大都出口，十分注意農藥殘留的問題，因此他們在番茄甜椒開始開花前便停止用藥，對於控制蟲害都是利用生物防治法，在植株上會懸掛天敵的蟲卵及誘蟲盒（圖 60-63），各種廠牌的天敵蟲卵如捕植蟎類都懸掛在植株的節間，根據業者表示這些天敵蟲卵十分有效，在溫室中已經看不到蚜蟲、薊馬及蟎類的危害。



圖 59、參觀人員必須穿著全套的防護衣才能進入溫室參觀



圖 60、各廠牌的天敵蟲卵



圖 61、各廠牌的天敵蟲卵



圖 62、各廠牌的天敵蟲卵



圖 63、誘蟲盒

5. 產能急速擴張的產業

十年前荷蘭才剛加入歐盟不久，甜椒產業雖然已經是歐洲領先的國家，但那時每個甜椒栽培業者的面積都不大，一般的農場面積為一到二公頃，另外，那時歐洲地區的番茄出口國主要為西班牙、義大利。而十年後，荷蘭每個農場的番茄與甜椒面積增加到 6-8 公頃的規模，番茄出口量也打敗了南歐國家，成為牛番茄出口至英國、德國及俄羅斯的主要國家。主要原因不外乎價格與品質，由於自動化使用、單一農場面積增加，使價格可以競爭過對手；加上高超的栽培技術維持牛番茄一定的高品質，使得荷蘭成為番茄及甜椒的出口大國。

除此之外，政府大力支持農企業低利貸款，而且荷蘭銀行對於農企業的貸款

都是全額貸款，例如 Fa. H. G. L. Zwinkels 公司新建的八公頃溫室設備及土地都是貸款來的，勇敢務實努力的民族性使得該公司四年來貸款已經還了三分之一。加上荷蘭擁有的交通建設及鹿特丹港為全球吞吐量第一大港，使得農產品外銷快速又方便。還有近十年來歐盟的無國界政策，沒有關稅障礙使得荷蘭出口的高品質農產品更具競爭力。

6. 栽培品種的演變與更新

以牛番茄為例，往年的品種都是 400g 以上的大果品種，近年來開始流行 250-300g 的中果品種，並且以家庭為對象的串收中果番茄市場也有增加的趨勢。小果番茄市場的品種喜好演變更快，歐洲市場是走向果實小、糖度高、外觀好的串收小果番茄為主，但仍以溫室番茄品種為主。因應市場的演變，育種公司及栽培業者也隨時調整品種來迎合市場的變化。

（三）Duchefa 生技公司及 Floricultura 蘭花公司參訪

Duchefa 生技公司主要產品為植物組織培養用綜合培養基，銷售量最大的就是 MS 培養基 50 倍的粉末，其公司生產的培養基溶解後三個月內於無菌狀態下不會再沉澱，是其產品最大的優點，加上便宜、配製方便，相較於準備十幾種化學藥劑容易潮解、配置不方便，因此許多組培公司都採用該公司的培養基。

此行為該公司銷售總經理 drs Frank Kors 負責接待，參觀其公司工廠時，由於不能照相，所以沒有其工廠照片，參觀工廠時需要穿戴帽子、連身隔離衣，進入時正在配置 MS 培養基，他們製程是先將單一藥品粉狀化，例如硝酸鉀，粉末化之後秤重在將其他粉末化的化合物混合，一切的流程都有 SOP，從倉儲管理到配置工廠，到裝箱輸出都有一定的 QC（品質檢驗）及流程，他強調雖然製造的是植物用的化學藥品，該公司也有 GMP 藥廠認證，表示其公司產品的可靠性。

另外 Kors 先生特別向筆者介紹該公司代理了飛利浦的植物組織培養用的 LED 燈具（圖 65），亦可以用在植物工廠的光源，主要有兩種產品，一種可以取代傳統日光燈或 T5 燈管，另一種可當做日光燈以外的補充光源，保證壽命為 30000 小時，而且是 T5 燈管亮度的兩倍，根據本人過去找過許多組培 LED 光源

資料的經驗，其壽命是最長的，因為 LED 燈本身壽命非常長，主要關鍵在於配電盤非常不穩定、散熱不良造成容易損壞，所以飛利浦公司能保證如此的壽命已經是很不錯的。但是經由計算所節省的電費與更換 LED 燈具的硬體設備，仍舊是不夠划算。



圖 64、Duchhefa 公司前留影



圖 65、Duchhefa 公司 Kors 先生示範該公司代理的荷蘭飛利浦的 LED 光源

在參觀結束後，應筆者要求，Kors 先生帶我到荷蘭最大的蘭花公司：Floricultura 蘭花公司，此次參訪的部門為該公司的組織培養部門及出瓶的溫室，此公司的組培實驗室與種苗繁殖改良場的組培室類似，每一間房間對外都有玻璃窗可供參觀並隔離內外，參觀者可以觀察實驗室內所有操作情形卻又不會影響及污染實驗室。所參觀的組培操作室(俗稱接種室)一間共有 16 個人在進行蘭花的組織培養(圖 66)，此次參觀時有人進行蝴蝶蘭花梗苗的組培，也有人正在切分生的芽體進行繼代。在培養基製作室中，全程使用機器進行殺菌及自動裝填工作(圖 67-68)，因此預備配好的培養基是非常方便的，Floricultura 蘭花公司向 Duchefa 生技公司訂購蝴蝶蘭專用培養基粉末，粉末購入後便可直接進行溶解及滅菌分裝的工作。組培苗經過培養後，進入植物培養生長室(圖 69)，所使用的光源仍是與筆者實驗室相同的 T5 光源。經過數次繼代培養後出瓶(圖 70-71)，出瓶以人工為主，瓶苗定植在假植盤後便由自動輸送帶輸送到溫室的定位，此運送及定位置放的全程均為自動化電腦操作，十分節省人力(圖 72-73)。



圖 66、Floricultura 蘭花公司組培室



圖 67、Floricultura 蘭花公司殺菌釜室與自動充填機連結



圖 68、培養基自動充填機



圖 69、Floricultura 蘭花公司培養生長室



圖 70、準備要出瓶的蝴蝶蘭花瓶苗



圖 71、蘭花出瓶有輸送帶輔助



圖 72、剛出瓶的蘭花苗都是由機器輸送到溫室固定的位置



圖 73、剛出瓶的蘭花苗都是由機器輸送到溫室固定的位置

(四) Floriade 2012 園藝博覽會參訪

本次研習利用週末假期參觀位於荷蘭 Venlo 的 Floriade 2012 世界園藝博覽會 (圖 74)，Floriade 世界園藝博覽會為荷蘭十年一度的園藝博覽會，開放期間為今年四月五日到十月七日，主要有五大主題:休閒與健康、綠能、教育與創新、環境、世界庭園展。值得一提的是在教育與創新區有一些蔬菜新品種的展示，包含高品質的彩色甜椒、串收番茄及趣味盆栽番茄等，展示未來蔬菜品種將會走向哪種方向，提供育種公司省思 (圖 75-77)。另外也有許多很特別的設計巧思在園區裡面，園區裡面也有來自台灣的展區 (圖 78-81)，因為不是此次研習分子標誌輔助育種的目的，在此不多詳述。



圖 74、Floriade 世界園藝博覽會的入口大廳是一個很特別的大門式造型建築



圖 75、教育與創新區的甜椒新品種



圖 76、教育與創新區展示的幾個串收小果番茄新品種



圖 77、教育與創新區展示的盆栽用小果番茄新品種



圖 78、Floriade 世界園藝博覽會中的大型雕塑



圖 79、Floriade 世界園藝博覽會中的造型圍籬及旁邊的「CD 花海」



圖 80、Floriade 世界園藝博覽會中台灣花卉輸出工會的展區



圖 81、Floriade 世界園藝博覽會的戶外表演廳為博覽會的焦點之一

肆、心得與建議

- 一、花蓮區農業改良場基於過去分子生物及番茄育種相關的應用研究基礎，加上台灣東區有強大的 TYCLV 及其他雙子星病毒的病害壓力，若能結合瓦赫尼根大學及其他研究機關的中上游基礎研究，利用其研發好的分子標誌加以改造以適合其育種的族群，進行中下游的育種應用，雖然無法作像瓦赫尼根大學如此的基礎研究，但在抗病育種的應用研究上仍具有許多優勢。
- 二、跨國種子公司品種繁多、品種優良，例如 Syngenta seed 公司的牛番茄品種品質非常好，台灣的種苗公司及試驗單位即使努力十年也無法與之相比，然而這些品種皆是溫室品種，相對的台灣擁有特有的環境及耐熱、抗病的地方品種，若能利用此特色育出抗病、耐熱的番茄品種，這些特色是目前大型種子公司缺乏或剛起步的部分，因此台灣番茄甚至蔬菜種苗業若能利用這些既

三、國內學術機關應多加強植物基因圖譜與分子標誌定位的研究，荷蘭的學術界在這方面一直很專注的在進行，並且也有研究報告被很不錯的期刊接受，實驗的結果也可以直接應用在種苗產業上。國內的植物界大都研究植物基因功能及其訊息傳遞路徑，雖然在學術上很重要，但目前在實際植物種苗界尚無法應用，建議農委會支持的國家型計畫應該以產業利用為主，這幾年似乎已經往這方向在走，建議要針對研究成果進行盤點，沒有應用在產業上的計畫應該停止繼續挹注經費。

四、積極開發育種技術，建立台灣為亞太種子產業研發中心：

台灣居於亞熱帶、地狹人稠，要發展大規模的溫室產業比起荷蘭仍是先天不足，因此建議台灣的蔬菜產業要發展成企業，仍是以種苗產業較有希望，尤其是以研發一代種子產業為主，將採種及種苗業配置於海外腹地廣大的地區，達成以台灣為研發及育種中心的種苗產業。

五、面對農業人口老化、農民數逐漸減少，因此台灣的蔬菜栽培也將與荷蘭相似走上大規模自動化的趨勢，政府近年來推動小地主大佃農的政策非常好，若能針對台灣特有的亞熱帶環境積極推動集團栽培，開發自動化系統以節省人工降低成本，相信能減少成本增加收益。

六、國家應營造跨國企業投資環境以提升國家競爭力：

台灣特殊的氣候環境為抗病抗逆境育種的天堂，然各大跨國種子公司捨台灣而把區域研究中心設在中國及南韓，其實這些國家氣候條件都沒有台灣的好，只是這些地方有營造一個優良的投資環境及交通建設，台灣要成為亞太種苗中心必須先有誘因吸引這些種子公司來台投資設立研發中心才行。

七、出國參訪大型種子公司或其他機構應先聯絡及詢問：

筆者從去年開始 email 聯絡幾家私人種子公司，直到今年初都沒有回應，後來想起在農委會審此出國計畫時，審查委員認為荷蘭私人企業都很現實，沒有利益關係的人或機關是不會接待及參觀的，建議筆者要透過私人關係或是台荷合作計畫的關係來幫忙，因此開始動用私人關係來聯絡幫忙，原本只有 Monsanto 種子公司及 Rijk Zwaan 種子公司答應給筆者參觀訪問，等筆者到達荷蘭時，朋友跟筆者說 Syngenta 種子公司也答應給筆者參觀，主要原因是 Syngenta 種子公司看到其他兩家種子公司讓筆者們參觀，也因此改變主意讓筆者們參觀，國際種子公司的競爭關係可見一般。然而此類出國參訪計畫在寫構想書時尚未確定是否通過，因此在聯絡時應予以強調此經費尚未確定，以避免到時計畫沒通過時給國外公司或機構有被欺騙的感覺，在以 email 聯絡時內文應客氣，相關敬語及問候語不可以缺少。

八、此次至荷蘭瓦赫尼根大學植物育種部門參觀研習，Dr. Bai 在閒談中表示，其實他們單位只歡迎三個月以上的研究人員來做研究，像筆者這種只有一兩週的客人，只會讓他們花不少時間在招待上，他們機關卻沒有任何好處，要不是筆者所做的 Ty-2 相關育種實驗對他們有幫助，否則不會答應筆者過來的，同時也非常歡迎筆者回到台灣與他們繼續合作，如果筆者機關同意，可以至他們實驗室作八個月到一年的研究，因此建議要進入國外研究機關研習計畫應以三個月以上較為適當。

致謝

在此報告中要特別感謝外國友人 Grodan 公司海外銷售經理 Hans Jørgen Jensen 先生及荷蘭市場經理 Kees van Vliet、Grootscholten Consultancy 公司老闆 Pierre Grootscholten 先生的幫忙，使得順利參觀三家海外國際種子公司的番茄育種部門和四家番茄、甜椒栽培業者。並謝謝荷蘭瓦赫尼根大學 Prof. Dr. Richard GF Visser 及 Dr. Yuling Bai 接受筆者前往參訪研習。最後謝謝農委會及本場長官們在經費上及行動上的支持，使得此次荷蘭之行順利成行，謹此致謝。