

出國報告（出國類別：研究）

研習利用分子標誌技術進行作物品種鑑定

服務機關：行政院農業委員會種苗改良繁殖場

姓名職稱：陳哲仁 助理研究員

派赴國家：日本

出國期間：104年09月06日至09月12日

報告日期：104年10月16日

摘要

本次研習主要是至日本品種檢定機構「獨立行政法人種苗管理中心 (National Center for Seed and Seedlings, NCSS)」研習有關利用微衛星序列進行作物品種鑑定工作之有關內容，包括自核酸樣品備製、反應物調配、自動化毛細電泳分析以及最終檢測結果判讀，另說明採用之分子檢測分析方法之妥適性評估方法，交流學習日本品種分子鑑定技術，以利未來進一步交流與鑑定技術調和。瞭解日本植物品種保護者 (PVP G-men) 在品種侵權疑義上對育種權利者之支援，在不同進行階段給予不同之諮詢建議和實際檢測作為，可作為未來我國在侵權案例輔導協助之參考。另參訪花藝科學中心瞭解康乃馨分子標誌開發過程及最新研究進展；此外，參訪食品總合研究所 GMO 分析實驗室，會同種苗管理中心交流 GMO 檢測相關規範與檢測技術，在品種鑑定標準樣品保存除了參觀種苗管理中心樣品庫，還前往 NIAS 植物中、長期儲存庫，瞭解標準樣品管理策略及相關作為。此外，也至食農館蒐集日本農業生產最新進展。經由此次參訪，可將所學經驗應用於國內檢測實驗室流程設計參考及檢測方法改進，提昇分子檢測結果品質及管理效益，同時作為未來與日本深入合作品種分子鑑定相關議題的良好基礎。

目次

摘要

壹、目的.....	1
貳、行程.....	2
參、研習內容與心得.....	3
一、參訪日本獨立行政法人種苗管理中心(NCSS)本所.....	3
(一)、獨立行政法人種苗管理中心之簡介.....	3
(二)、利用分子標誌進行日本梨和櫻桃品種鑑定分析.....	4
(三)、育種者權利(PBR)保護及侵害對策.....	6
二、參訪農研機構(NARO)花卉研究所.....	7
三、參訪農研機構(NARO)食品總合研究所.....	8
四、參訪農業生物資源研究所(NIAS)種原庫.....	9
五、參訪食と農の科學館.....	9
六、分子檢定技術座談.....	10
肆、檢討與建議.....	11
附錄.....	13

壹、目的

我國為符合植物新品種保護國際聯盟（the International Union for the Protection of New Varieties of Plants，簡稱 UPOV）規範及與他國互惠合作，於 2005 年參考 UPOV 公約(UPOV Act,1991)之精神，修正「植物品種及種苗法」作為我國品種保護制度之依據。已陸續接受各種作物之新品種權利申請，其中數量最多的為蝴蝶蘭及朵麗蝶蘭，至今受理申請品種權的案件已超過 800 件，在新品種育成方面已有相當亮眼的成績，更是我國最主要的外銷花卉類別，且日本為我國主要蝴蝶蘭外銷出口國家。植物品種權是保障育種權利的重要依據，而且植物品種權為屬地主義，須在當地國家申請取得才能主張權利，國內已有部分育成品種在日本取得品種權。目前新品種鑑別所使用之性狀檢定方法，易受種子苗期或不同生長環境影響，因而增加品種鑑別的困難。DNA 分子標誌技術具有高準確度，不受環境季節影響等優點，亦適合花卉和果樹等無性繁殖作物品種鑑定，日本已經有 10 項作物如日本梨、櫻桃、蘭草等可接受分子標誌品種鑑定委託，或有實際作為值得瞭解學習。本次赴日研習，實際進行日本梨和櫻桃分子標誌品種鑑定分析，並參訪與分子鑑定有關周邊機構，藉由技術交流座談，增進彼此瞭解，針對雙方優勢項目尋求未來互相合作機會，並學習檢測實驗室運作知能，以提升我方於分子檢定實驗結果之可靠性，作為日後分子檢測報告相互認可之科學基礎達成技術調和目標。

貳、行程

日期	星期	地區及行程	研習內容
9月6日	日	台中→東京	去程
9月7日	一	種苗管理中心（NCSS）本所	至「種苗管理中心」本所研習有關品種分子鑑定分析實驗。
9月8日	二	種苗管理中心（NCSS）本所	至「種苗管理中心」本所研習有關品種分子鑑定分析實驗。
9月9日	三	種苗管理中心（NCSS）本所	至「種苗管理中心」本所研習有關品種分子鑑定分析實驗及 NARO 花卉研究所學習康乃馨分子標誌開發。
9月10日	四	種苗管理中心（NCSS）本所	至食品總合研究所 GMO 實驗室交流有關日本 GMO 鑑定技術、NIAS 遺傳資源中心研修種原庫運作以及食和農業科學館蒐集近期農業研究成果。
9月11日	五	種苗管理中心（NCSS）本所	至「種苗管理中心」研習有關分子檢測妥適性測試與我國蝴蝶蘭分子鑑定技術分享。
9月12日	六	東京→台中	回程

參、研習內容與心得

本次研習係根據本場於 103 年 12 月 16 日與日本獨立行政法人國家種苗中心 (National Center for Seed and Seedlings, NCSS) 簽訂 MOA 技術交流協定，訂定 3 年工作交流計畫，全案包括品種 SSR 分子鑑定、種子健康檢查、DUS 品種檢定、馬鈴薯種薯繁殖等四項行動計畫。本案僅針對作物品種 SSR 分子鑑定及有關技術進行雙方交流，由 NCSS 國際事務部上川司先生 (Mr. Kawakami) 協助安排，近年來，日本一直是我國蝴蝶蘭重要外銷出口國，國內產官學已合作開發一套蝴蝶蘭分子鑑定技術，且日本已有部分物種實際應用分子標誌作為品種侵權判定，因此本次研修重點特別著重於品種分子鑑定技術的實作細節，以及 PVP G-Men 制度對於品種侵權案所提供之協助。

一、參訪日本獨立行政法人種苗管理中心(NCSS)本所：

在日本獨立行政法人種苗管理中心 (NCSS) 本所座落在茨城県つくば市，屬於筑波農林研究集團成員之一，本次主要實作兼以座談方式進行研習，並穿插動線流程和中心設施之介紹，以充分了解品種分子鑑定的實際進行，我方亦依 NCSS 方面提出的請求，簡介「蝴蝶蘭分子標誌鑑定技術之開發與合作」以及「臺灣品種權登記現況」，以增加雙方的了解與交流，研習過程中，充分進行交流與討論。

(一)、獨立行政法人種苗管理中心 (National center for seeds and seedlings, NCSS) 之簡介：

本次研習由種苗中心品種保護對策課長木村鐵也博士全程帶領。種苗中心為日本唯一種子種苗專職單位，1986 年在農林水產省 (MAFF) 轄下成立，由 13 個原原種農場 (生產馬鈴薯、甘蔗) 及 3 個種子檢查實驗室組成，並於 2001 年由 MAFF 分出成立獨立行政法人，目前包含本所 (茨城縣筑波市) 及 11 個農場 (北海道中央、北海道中央後志分場、胆振、十勝、上北、孀恋、八岳、西日本、雲仙、鹿兒島以及沖繩，圖一)，本所正式職員約 70 人，管理中心全體則 294 人，主要二大部門為管理部及業務調整部，管理部門掌管有關行政業務，如總務、會計以及企劃管理，業務調整部門則包括栽培試驗課、種苗檢查課、種苗生產課、品種保護對策課、病害檢查課及調查研究協調部門，組織編制圖如圖二，其主要職掌如下：

1. **DUS 栽培試驗**：依據植物新品種保護國際聯盟公約 (UPOV Convention) 及日本種苗法 (The Plant Variety Protection and Seeds Act) 執行品種檢定，並提交報告至農林水產省 (MAFF)。
2. **品種保護諮詢**：又稱「PVP G-men」，主要任務是接受品種權相關的諮詢，並

提僅情報收集、證據保存、及品種類似性試驗的執行，提供有關侵權案件的協助。

3. **種子檢查**：由 MAFF 指導之下，執行商業種子之品質及標示檢查，同時為 ISTA 認證種子實驗室，依種子商之需求，提供種子品質認證。
4. **原原種種苗生產**：生產並分配無病害之高品質馬鈴薯及甘蔗原原種種苗，以提供穩定、安全的種苗來源，供日本農民栽培。
5. **遺傳資源的保存**：為維護生物多樣性及未來遺傳資源的廣泛應用，NCSS 受到農業生物資源研究所(NIAS)種原庫委託，執行熱帶、亞熱帶作物、果樹、蔬菜、花卉、雜糧、特用作物、茶葉、薯芋類、麥類以及其他物種營養體保存與增殖、特性調查及種子增殖，至 2014 年已收集 11235 種不同作物品種。
6. **研究與開發**：配合業務進行相關的研究開發，研究主題包括品種鑑定 DNA 技術統妥適性評估、種子病原菌檢測方法、甘蔗種苗生產等。

除此之外，種苗中心並積極參與國際合作，包括 UPOV 之觀賞植物、蔬菜以及分子檢定技術工作會議、ISTA 種子檢查執行委員會、參與 JICA (Japan International Cooperation Agency) 及東協國家品種保護論壇 (East Asia Plant Variety Forum) 之訓練課程及專家的派遣。

(二)、利用分子標誌進行日本梨和櫻桃品種鑑定分析：

本次研習規畫三天實作課程，檢測實驗室環境包括 DNA 萃取、PCR 儀器、電泳室、儀器分析室、備用儲藏室共五個房間，由木村課長親自示範操作過程 (圖四)，以日本梨”豐水”和櫻桃”Napoleon”樣品各一為分析標的物，由日方準備之冷凍乾燥葉片樣品，裝於內含陶瓷珠之一次性研磨管，經組織均質震盪粉碎，DNA 萃取選用 DNA easy Plant Mini Kit 依製造商建議方法進行操作，完成 DNA 萃取操作後以 NanoDrop 微量分光光度計分析 DNA 含量與品質，結果以日本梨樣品萃取濃度優於櫻桃樣品，但都有達到分析品質。隔日則進行 PCR 反應，日方另準備 4 個日本梨和 5 個櫻桃之 DNA 樣品併入分析，也各有 2 個登錄品種僅以代號表示，未揭露其真實品種名，並且各分析兩組引子如表所示 (表一、二)，日本梨和櫻桃採用不同的 Taq 聚合酶試劑進行反應。PCR 擴增產物最後經特定稀釋比例，與毛細電泳試劑與分子量標準品混合，經過高溫變性處理後，以單通道 ABI Genetic Analyzer 310 進行分子量鑑定與結果輸出，結果符合預期 (表三、四)，本次萃取之 DNA 樣品基因型與日方提供之 DNA 對照樣品一致，完成本次試驗分析。

在本次實驗過程等待空檔，則就實驗流程與相關技術議題交換意見，以下為研習心得：

1. 首先在進行品種檢定分子充分落實汙染防範措施，人員操作全程穿戴實驗衣、手套以及口罩，同時遵守實驗前後操作區域之清潔；整個實驗動線以單向進行，不同實驗操作在不同空間進行，並避免樣品回到前一個工作空間防止發生汙染，整體品種分子鑑定參照法醫檢測概念進行檢測；種苗中心如需同時進行品種鑑定與基改作物檢測時，則以活動式隔板分隔兩個作業空間。
2. 實驗室設備整備都能維持在良好運作狀態，如組織均質機、離心機、無菌操作台等多使用達 10 年以上，設備不論在外觀及功能上皆能滿足檢測需要，所有儀器都有使用登記表，而低溫設備皆備有溫度記錄器，木村課長表示，所有設備落實定期點檢，每周定期清潔，以維護實驗室環境潔淨與設備正常，值得我們學習。
3. NCSS 因為經費緊縮因素，近年已不再自行開發品種鑑定標誌，而日本梨分子品種鑑定是木村課長參與開發的，日本現有登錄 93 個日本梨品種，本項技術可以應用在多數既有品種(系)鑑定使用，但近期新選育品種則仍需要測試是否有足夠的鑑別力。
4. 在 SSR 標誌類型選擇上，根據 NCSS 經驗 di-nucleotide repeat motif 容易出增幅雜訊，因此，近期發展之 SSR 分子標誌多以 tri(3) ~ penta(5) repeat motif 為首選。
5. 種苗中心目前僅使用一台毛細電泳進行結果分析，每次僅能分析一個樣品，且需耗時 30 分鐘，以本次研習為例耗時 11 個小時才完成資料分析，由於現階段並未有設備升級規劃，因此詢問是否可能委外進行基因型資料分析，以提升分析效率及減少儀器維護負擔，據對方表示日本未有商業公司能提供類似服務，且通常慣性使用特定廠牌儀器在自己實驗室內完成，很難評斷是嚴謹或缺乏效率。
6. 另討論到分析成本，NCSS 目前對 DNA 分析收費是每一樣品 34344 日圓(以 10 次 PCR 擴增為限)，並未對不同作物品種收取差異化費用，但不同作物別檢測技術有所差異，需要進行的 PCR 分析數不同或有使用修飾酵素有額外的成本，也因此收費其實未能真正反映檢測成本，根據 NCSS 年報及討論，實際上品種權利人幾乎沒有採用分子鑑定方式，前期 DNA 鑑定委託案全為草蓆製品之藺草原料檢測，至到 2014 年才有接受草莓品種分子鑑定委託案。

7. 有關日本茶製品的檢定技術，木村課長提供 MAFF 品種權保護網站 (<http://www.hinsyu.maff.go.jp/pvr/hogo.html>) 所提供資料供參，由於我國多飲用發酵茶葉製品，與日式綠茶和煎茶製程不同，因此，可能可作為茶樹品種鑑定，但不一定適用在我國的茶葉製品分析。
8. 由於種苗中心是品種檢定專責單位，因此提出依假設性問題，如果種苗中心無法從外觀或 DNA 判定是否侵權，是否有其他類似機構可以提供檢定報告，依木村課長表示，此時還是須回歸主管機關 MAFF 作最後的判定。

(三)、育種者權利(PBR)保護及侵害對策

育種者權利(Plant Breeder's right, PBR)是育種者對其獲准登錄保護新品種所具有的專屬權利，是現代植物智慧財產權的重要一環，而植物品種財產權(Plant Variety Property, PVP)的保障是其中重要議題，日本特有的 PVP G-men 制度是一支援機制協助品種權利人保護自身權益。PVP G-men 於 2005 年 4 月成立，最初僅有 4 名人員，目前已擴大至 20 個員額，分佈於 NCSS 的 7 個所（本所 7、北海道中央 2、上北 2、八岳 2、西日本 3、雲仙 2 以及沖繩 2），成員由 NCSS 正式職員擔任，須受過相關檢定課程與廣泛的實務經驗，並通過測驗合格者才有資格擔任，此外，PVP G-man 除了每年進行一次人員評鑑，不及格者會受到木村課長加強監督，且每月對全體 PVP G-man 會提出書面問題，要求回覆以確保人員專業性。PVP G-man 主要的任務包括下列五項：1.提供育種者受到侵權時之諮詢及建議、2.侵權相關情報的收集及提供、3.接受育種者之申請進行「品種類似性試驗」、4.侵權紀錄的製作、5.侵權證據的保存。但各項作為未具有公權力調查權限，僅接受品種權利人委託協助蒐集客觀侵權證據。

在 PVP G-man 實際參與 4 階段的處理工作（圖三），當品種權利人發現有侵權時，首先可以連絡種苗中心諮詢平台無償提供一般性建議，據木村課長說明，每年的案件數逐年增加，自 2010 年 76 件提升至 2014 年 173 件，形成重要工作負擔。為了確定是否真實發生侵權事件，PVP G-man 提供 3 階段的付費服務，第一階段可向 PVP G-men 委託申請製作侵權紀錄書，藉由初步目視檢查判別是否有侵權疑慮。第二階段為侵權證據之保存，將所蒐集到的疑似侵權樣品如種子、花苞、種苗、切花、加工品以及 DNA 等形式，交由 G-men 保存，方法包括種球冷藏、植株田間保存與扦插繁殖等作為。第三階段是侵權之確認，透過 DUS 特性比較及進行栽培試驗或 DNA 分析（目前已有開發 DNA 分析技術之作物種類包括草莓、蘭草、櫻桃、日本梨、茶 10 種作物等）（表五），判定是否為侵權樣品。最後品種權利人可根據檢定報告，作為協商之依據，或進一步諮詢律師進行相關簽約授權、

訴訟或邊境管制等作為，流程可供主管機關作為侵權處理程序之參考。

一個實際案例為大陸輸日本蘭草原料及草蓆製品，其實使用的是日本登錄蘭草品種”ひのみどり”，在 PVP G-man 協助下經 DNA 分析確認為侵權品種，並由主管機關進行裁罰，後續並由海關進行查緝違法進口情事，在品種鑑別上海關人員需接受額外品種鑑別訓練，強化取締實效性，據木村課長表示目前僅有蘭草有受到此種邊境管制措施，其餘作物及製品未受品種檢查，顯示經由海關人員第一線進行品種侵權鑑定仍屬少數特例。

從資料顯示種苗中心亦受理國外品種侵權諮詢，但實際上並不從事赴境外委託檢測服務，除非是在 MAFF 提出委託前提才有可能前往國外進行相關調查工作；日本是我國蝴蝶蘭重要出口國，若能在日本取得品種權申請，則同樣可透過 PVP G-man 系統獲得相關服務，可作為國內業者保護日本市場之參考。

此外，有關本次研習的 DNA 品種鑑定技術，日本 MAFF 為了協助辦理品種權人權利保護作為 DNA 品種鑑定樣品、新登錄品種證明以及 DNA 鑑定技術開發利用，請種苗中心配合推動在新品種申請現地調查及委託栽培試驗提交樣品由種苗中心協助保存，保存型式包括壓葉標本、冷凍乾燥標本以及 DNA 保存三種（圖五、六），作為一旦發生侵權疑義時，在受託保管的種苗中心能有原始品種權申請樣品供對比，此服務僅限品種權利人申請，維護經費由 MAFF 提供。種苗中心自 2008 年開始作標準樣品保存，至 2015 年 3 月 31 日標準樣品保存數共 3052 件。標準樣品以 2 重複保存，其中 DNA 保存限定 10 具有分子標誌物種，並建立品種 DNA 資料庫。

二、參訪農研機構（NARO）花卉研究所（Institute of Floricultural Science, NIFS）：

花卉研究所是日本唯一的花卉研究專門機構，位置座落相鄰 NCSS，組織編制包括企劃管理室、花卉研究領域以及研究支援團三個部門。目前研究主軸以開發觀賞植物高效生產體系、觀賞植物分子育種以及開發園藝作物品質控制技術。本次由花卉研究領域主任研究員八木雅史博士，為我們介紹日本觀賞植物育種及基因體研究最新進展，內容指出日本整體國內花卉生產受外國競爭因素，產值自 1998 年 630 百萬日圓逐年下降至 2012 年 376 百萬日圓，其中康乃馨是栽培面積最大也影響最深的花卉作物，栽培面積自 1991 年 550 公頃下降至不足 500 公頃，切花數自 400 百萬支，逐年降低到不足 200 萬支，目前進口比例已占半數以上，主要進口國為中國和哥倫比亞。觀賞植物因缺乏合適純系樣品、基礎遺傳背景資料以及種類眾多各別物種經濟規模相對較小，因此，研究進展落後主要作物許多，故日本優先針對康乃馨在 2011 年和 2014 年分別完成轉錄體和基因體解序工作。花卉

研究所先鎖定日本國內栽培擬定延長瓶插壽命和抗夏季細菌性萎凋病兩項育種目標，利用培育低乙烯生合成品種延長 3 倍可達 20 天瓶插壽命，加強與進口產品競爭力；此外，自近源野生種發現抗性種源以遠源雜交、人工接種以及回交育種技術，逐步培育兼具抗性和觀賞價值之新品種“花恋ルージュ”，於 2010 年 4 月 22 日公告取得品種權，並以基因體學研究開發分子標誌及建構重要性狀遺傳連鎖圖譜，達成分子輔助育種之目的，本實驗由 NIA 結合東京大學、Kazusa DNA 研究中心以及三得利公司參與共同完成，未來也將繼續開發花期壽命、產量以及抗病標誌，並拓展至菊花和洋桔梗物種

八木博士個人也參與基改花卉研究，透過單一類黃酮生和成相關 F3'5'H 基因導入，培育創新紫色花色菊花，以滿足消費市場需求。

另外在研究中心看見一成果文宣，利用具有標示之插花海綿及特定花材組合，具有改善視覺空間記憶認知效果，或可利用本地花材與設計，促進消費和作為銀髮復健活動輔具。

三、參訪農研機構（NARO）食品總合研究所（National Food Research Institute, NFRI）：

根據日本「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」(簡稱卡塔赫納法)規定，日本政府針對基因改造生物日有疑慮時，得由農林水產省要求種苗中心協助檢查樣品，此外，種苗中心內的實驗室也每年參與 ISTA 組織玉米和大豆基改種子檢查熟練度評鑑。但並不是種苗中心主要業務，因此，安排就近參訪食品總合研究所 GMO 分析評估實驗室，在研究室單位長橘田和美博士和主任研究員真野潤一博士帶領我們參觀管制實驗室各個區域，此行還巧遇衛福部食品藥物管理署研檢驗組食品生物科陳育志博士，奉派至 GMO 分析評估實驗室研習為期 2 周的基改食品檢測技術，也陪同參觀與稍後的座談。共同就日本基改生物/食品檢測交換意見，依橘田博士說明日本法律要求種子公司需隨時備有標準樣品，無償提供作為檢測用途，也可進行認證標準樣品製作，但僅限於按照日本公告檢測方法，在日本境內使用。為了生產認證級標準樣品，實驗室內設有一精密秤重室，於環控及環境監測下進行標準樣品備製，由於日本厚生勞動省已設立新的管制標準，評估後預計今年結束認證標準樣品生產和販售。

而為了防止檢測過程中發生交叉汙染，整個樣品檢測動線流程是在不同作業區隔空間，如同我們在種苗中心實驗室看到檢測規畫安排。在結束簡短的實驗室參觀後，於簡報室進行座談，首先第一個議題是有關無參考樣品之基改樣品檢測，真野博士提供 2 篇研究報告，闡述利用基改品系專一性、重組 DNA 片段專一性標誌內生基因以及貢獻親微生物專一性偵測，建構共通性檢測平台偵測樣品中是否

存有基改成分。另外在檢測方法上，原則上依申請人提交方法為主，但考量檢測方便性或作部分修改。最後就本場 TAF 檢測實驗室在參照日本公告方法進行木瓜樣品檢測所遭遇的問題進行討論，也提出日本「未承認遺伝子組換えパパイヤ (PRSV-YK) 種子検査法 (種子 3 粒法) 妥当性確認試験結果報告書」交換意見，種苗中心木村課長表示有親自參與該次實驗方法確效，但是那是初步的方法確認，而且檢測方法是由 MAFF 作最後的決定，報告所見的資料並非是現在的標準，且種苗中心和 NARO GMO 檢測實驗室現在並未檢測任何基改木瓜，故無法提供進一步意見，但橘田博士提供兩份今年在食品方面基改木瓜檢查的更新文件「食安發 0623 第 4 號」和「安全性未審査基因改要 DNA 技術應用食品の検査方法」，可作為參考，且據資料顯示日本輸入基改木瓜種子苗/食品檢查是由植物防疫所為第一線執行機構。

四、參訪農業生物資源研究所 (NIAS) 種原庫：

為了遺傳資源保存，種苗中心接受 NIAS 委託進行物種營養體保存與增殖，另為了品種鑑定需要種苗中心也進行品種標準樣品保存，故也安排參訪 NIAS 種原庫，由遺傳資源中心主任研究員山本伸一博士帶另我們參觀，墨西哥國家遺傳資源中心來訪研修生 Edgar Torres Garica Eng 先生也一同參觀。NIAS 種原庫包括植物遺傳資源、微生物遺傳資源、動物遺傳資源以及 DNA 共四個部門，本次參訪植物中期和永久庫，長期遺傳資源保管設施(永久庫)是在今年 3 月新落成啟用設施 (圖七)，首先是觀看種原中心介紹影片，隨即進入種原庫設施，針對地下利用球莖類的山藥和芋頭等作物，也採用組織培養方式在瓶內保存 (圖八)，在冷凍庫內保存果樹芽點，以冷凍鋁片乘載 1 mm 左右之芽體進行超低溫冷凍保存 (圖八、九)。種子樣品則是先以鐵罐密封，登錄後儲存於系統資料庫，後續過程以全自動化輸運設備送入永久庫保存，根據山本博士表示，輸送系統基本上與中期庫使用相同輸送系統，儲存環境控制在-18°C 相對溼度 30%，訪客可透過景觀窗觀看過程。

接者前往中期儲藏庫，參觀種子樣品低溫乾燥室 20°C 相對溼度 15%，種子選別、分裝配送、定期種子發芽檢查等操作過程。種原庫保存種子可接受研究用途申請分送，每一件申請依物種別含 10~20 粒種子，配送費為 570 日圓，每案一次以 10 件為限。

五、參訪食と農の科學館：

在結束 NIAS 種原庫的參觀行程，向木村博士提出就近前往食和農科學館，

該館持續展出日本農林水產業研發成果可供參考，在 2014 年度選出 10 大農林水產研究成果，有 7 項屬農林水產省所管研究機關成果，也可在科學館中蒐集到書面資料，主要攜回簡介資料為農業類別，包括水稻品種研發、不同直鏈性澱粉水稻品種開發利用、業務和加工用高產品種、飼料用水稻品種、直播品種、分子標誌應用、米粉利用、智慧化農業田間管理、氣候生育預警、環境自動監測、農機自動化管理、中型農作業機器人、高精度曳引機導航系統、遠端遙控系統、改善排水農機具和操作、水稻大豆輪作管理措施，並且影片展出草莓自動採收機，以攝影鏡頭、感測器以及自動手臂，可自動收穫設施高架栽培草莓。

六、分子檢定技術座談：

本次行程最後一天是進行座談，上午與 Goto 和 Narita 兩位品種保護對策課負責 DNA 檢查成員討論有關檢測技術妥適性，Goto 先生介紹 2014 年赴韓國 UPOV 技術工作會議報告內容，目前種苗中心使用之 DNA 鑑定技術多由外部單位導入，在種苗中心進行確效及日本品種國內品種鑑定，種苗中心遵循 ISO13495

「Principles of selection and criteria of validation for varietal identification methods using specific nucleic acid」原則，進行 DNA 檢測方法之重複性(repeatability)與再現性(reproducibility)測試，略以每樣品萃取 DNA 進行 3 重複檢測獲得一致性結果，再自核酸萃取重複 3 次確認再現性，通過後使得作為驗證檢測方法。在實際侵權鑑定上，必須要有正確的標準樣品才能與疑似侵權樣品比對，作出公正客觀之判斷，也因此 MAFF 自 7 年前開始推動委託種苗中心進行標準樣品保存，如果是此前的品種侵權案，則需要品種權利人自行提供對照樣品。

Narita 先生則以日本梨 SSR 分子鑑定標誌為例說明種苗中心實驗室所進行的方法確效測試，日本梨的 SSR 分子檢測標誌由種苗中心與果樹研究員共同開發，最後選出 10 組 SSR 標誌通過妥適性確認，也是種苗中心目前使用標誌，可作為日本國內多數品種之鑑定，在檢測上仔細定義每一對偶基因大小製作記錄，並且自行將各別對偶基因型 PCR 產物混合，製作各基因座涵蓋全部對偶基因型之標準品，降低分析誤差。

本次研習最後是我方報告國內蝴蝶蘭品種分子鑑定開發過程及國內品種登記的更新概況，也就 DNA 檢測技術細節上之問題進行回應，結束本次研習工作。在研習過程中，充分討論檢定技術及衍生之應用面向。

肆、檢討與建議

植物品種權保護為屬地主義保護措施，但在國際貿易，在其他國家所發生的侵權或被侵權，也影響國內農產品至國際流通的競爭力，因此，需要建立一套機制進行品種侵權處理，本次藉由赴日研習 DNA 檢測方法與學習日方品種保護實作經驗，期能作為建構我國的品種保護制度參考，也能藉由研習過程，交流雙方技術。未來將持續提升檢測品質與效率，建立良好聲譽，吸引國外優良品種引入，增進國人消費選擇。

一、增加臺日雙方品種檢定技術面的交流

此次參訪日本種苗中心，覺得其角色及職掌與本場極為相似，差別在於其組織屬於行政法人，而非公部門，但營運經費主要由日本政府出資，所銷售之種子苗及收費檢定服務仍不足以支撐營運。種苗中心秉持中立客觀立場進行品種檢定工作，也積極參與各項國際合作之人員訓練及國際品種權相關研討活動，提升國際能見度，並可藉此檢定技術推展至其他國家。研習中木村課長曾提出台日中韓逐步進行檢定技術調和，整合出單一共通技術，但實務上極難落實，各項作物對各國進出口農產業重要性歧異極大，各國農業保護政策所持立場也不相同，故放寬或緊縮鑑定技術都會有疑慮，因此，當下提出一個替代方案是，或可先就品種樣品進行交換，建立核心種原(mini core collection)樣品，包括各地代表性品種或傳統地方品種(系)，可作為各自檢測能力評估及未來共通檢測技術的分析標的縮短技術調和落差，此前，仍難以避免檢定報告互不採信之窘境。

二、植物品種保護制度之建立

PVP G-man 是日本特有制度，且運作已久，並不適合我國直接採用，國內各項作物品種檢定分散於各試驗改良場所及大學，未有一專責機構負責全部作物檢定，且檢定機構之收費不足以維持人員及設施維護所需，仍仰賴政府經費挹注，且需要有豐富經驗才能正確鑑別品種差異。故建議優先擇選國內重要生產旗艦作物，由單一檢定試驗改良場所，以公務預算支應費用，並依檢定工作具體績效管考執行率，檢定人員由專任職員負責檢定計劃執行及協助本會侵權調查，以培訓及深化檢定人員經驗與能力，由一點先行再逐步擴大適用範圍，並評估是否有成立專責機構必要性。

為了正確進行品種侵權檢定所需之正對照樣品，日本 MAFF 建議品種權利人於申請品種權時提供檢定樣品供保存，作為日後發生侵權疑義或在分

子檢定技術開發時使用，由於日本品種檢定是在申請權利人場所進行調查，我國則是統一送交檢定機構進行性狀調查，因此，如果我們參照辦理會更為容易，以國內蝴蝶蘭為例，多數業者也知悉 DNA 分子鑑定之快速準確特性，至今在業者配合已累計蒐集 200 筆品種 DNA 資料，或可比照辦理保存冷凍乾燥葉片樣品。

藺草是目前唯一受到邊境管制之作物，受海關管制型態為草蓆製品為主，但其他作物或是水果、切花、植株等生鮮樣態具有運輸時效性商品，海關人員仍缺乏品種鑑別專業，需要接受額外訓練，就執行上不易達成邊境管制作為，但針對特定農作物如香菇、蒜頭等可以規劃試行。在基改作物/食品根據日方資料顯是由植物檢疫所負責第一線執行，國內目前還未建立有關之邊境管制措施，亦建議依我國作業現況預先規畫，加強進口農產品源頭管理。

附錄

表一、櫻桃樣品及 SSR 引子編號

A		B	
BPPCT039		PS12A02	
1	Benisyuhou-1”紅秀峰”	1	Benisyuhou-1”紅秀峰”
2	C-1	2	C-1
3	D-1	3	D-1
4	Satonishiki-1”佐藤錦”	4	Satonishiki-1”佐藤錦”
5	Napoleon-1	5	Napoleon-1
6	Napoleon(S)-1	6	Napoleon(S)-1

表二、日本梨樣品及 SSR 引子編號

C		D	
TsuGNH161		TsuGNH194	
1	Housui-1”豐水”	1	Housui-1”豐水”
2	Kousui-1”幸水”	2	Kousui-1”幸水”
3	A-1	3	A-1
4	B-1	4	B-1
5	Housui(S)-1	5	Housui(S)-1

表三、日本梨基因型結果

Varity	Marker name	
	TsuGNH161	TsuGNH194
Hosui	CC	AA
Kosui	AC	AA
A	BC	AA
B	AB	BB

表四、櫻桃基因型結果

Varity	Marker name	
	BPPCT039	PS12A02
Benisyuhou	A/A	A/A
C	A/A	A/A
D	A+14/A+16	A+16/A+16
Satonshiki	A/A	A/A
Napoleon	A/A+4	A/A+4

表五、種苗中心品種相似性検定收費標準

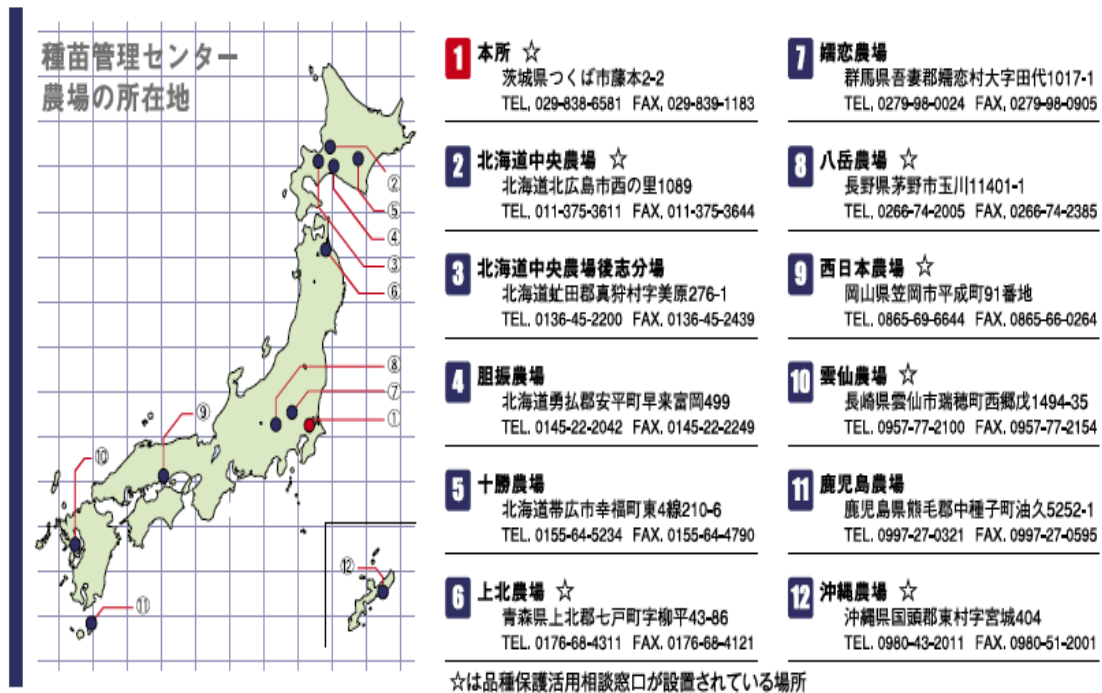
1. 品種類似性試験の手数料

試験の内容	基本手数料 (1つの登録品種と 1つの比較品種を比較する試験)	比較品種が複数の場合の手数料	その他の手数料等
特性比較	22,680円	基本手数料の額に1つの比較品種が増えるにつき基本手数料の額の50%を加えた額とする。	基本試験手数料は栽培期間がおおむね1年の植物である。栽培期間が1年を大きく超えるときは下表のとおりとする。 登録品種の追加は43,200円(1品種につき)とする。
比較栽培	129,600円		
DNA分析	34,344円		1回当たりの試験の分析試料数は、10試料以下とする。

注：(1) 栽培期間は、試験開始（は種、育苗、定植、挿し木等）から特性調査終了までの期間をいう。

(2) 上記手数料には、振込み手数料を含まない。

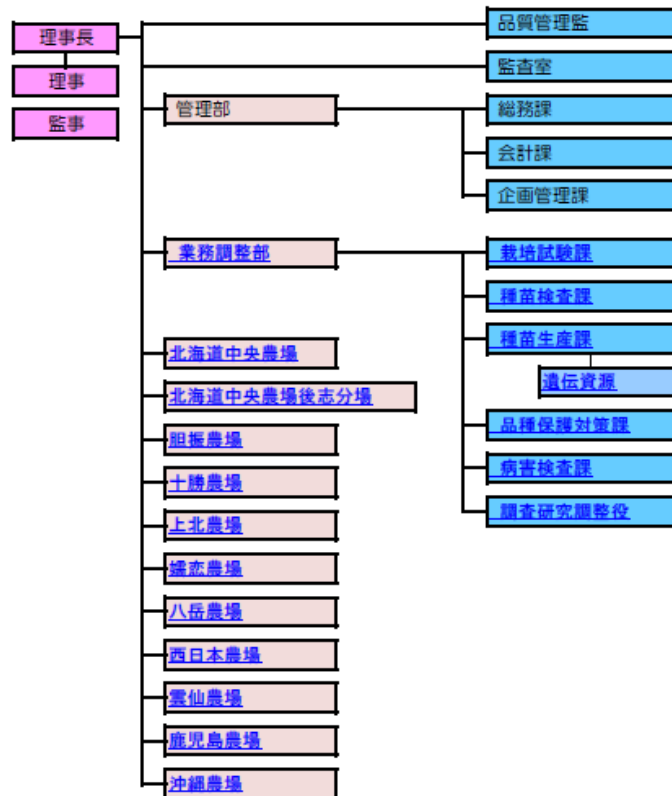
(3) 上記手数料は、国等からの依頼には適用しない。



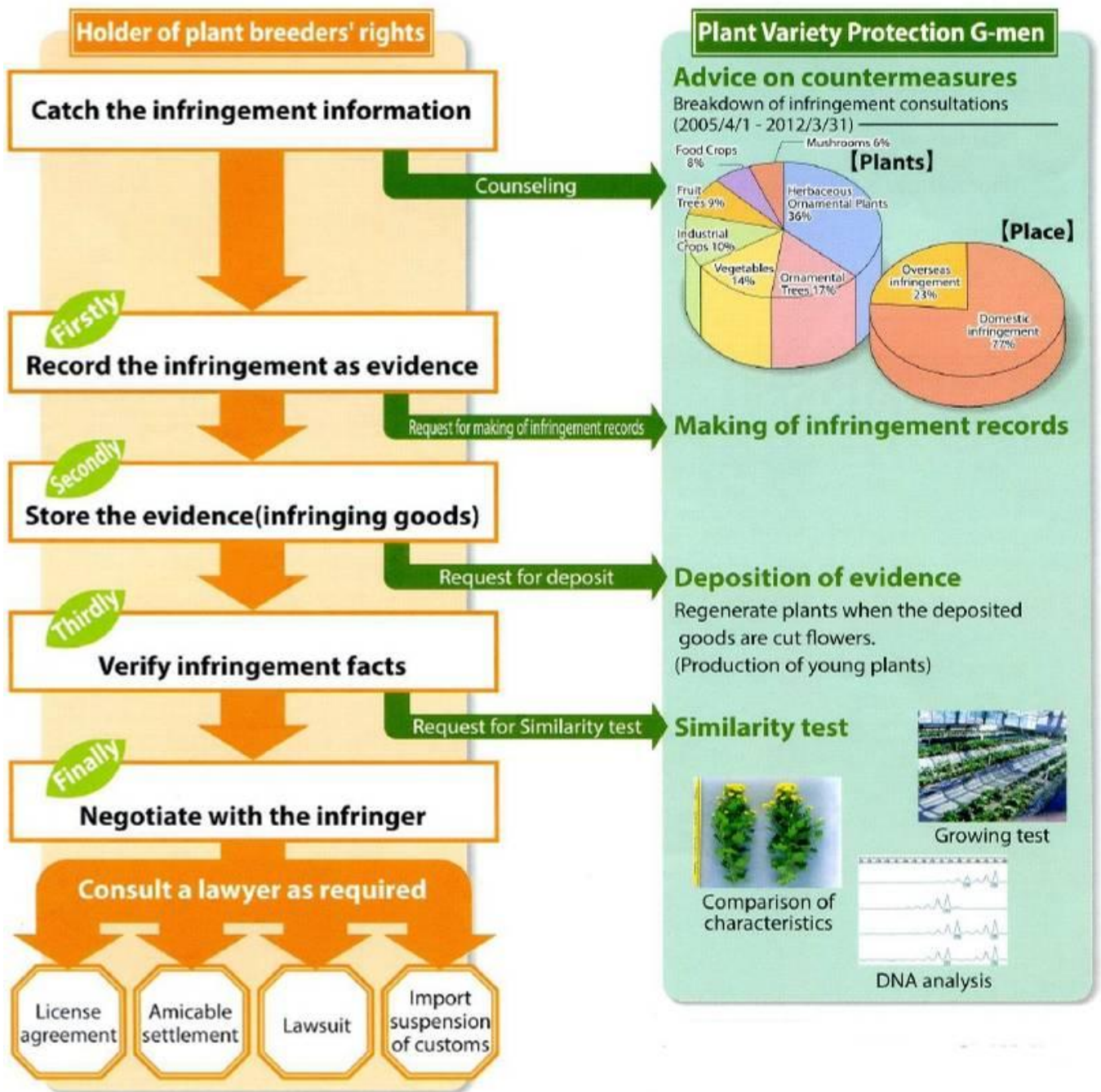
圖一、日本獨立行政法人種苗管理中心之本所及其他分場之地理分佈。

獨立行政法人 種苗管理センター組織圖

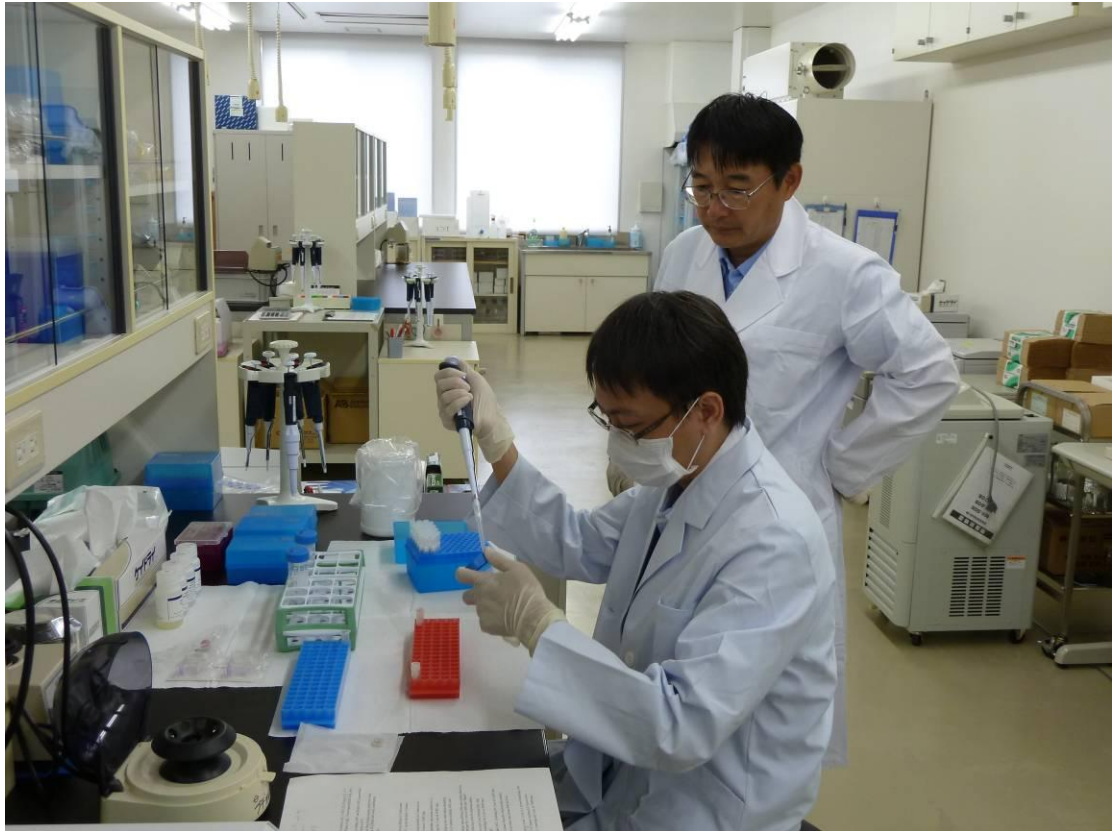
(下線部はクリックするとリンク先へジャンプします。)



圖二、日本獨立行政法人種苗管理中心之組織編制圖。



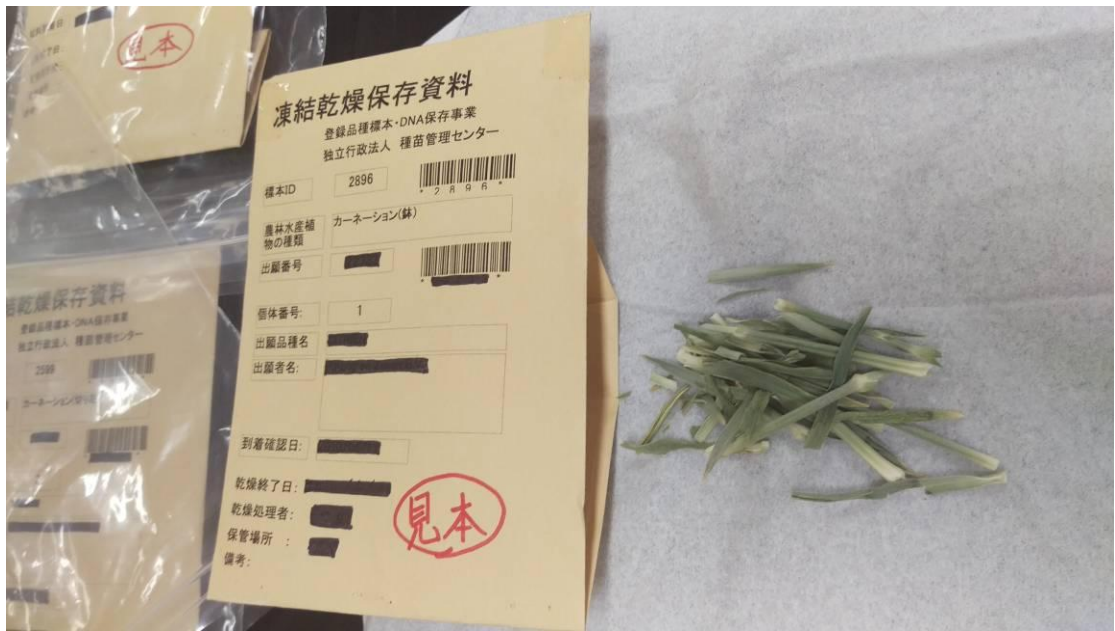
圖三、育種者之品種有被侵權疑慮時可採取的措施步驟及 G-Men 在侵權協助時所扮演的角色。



圖四、種苗管理中心品種保護對策課長木村鐵也博士親自指導實驗操作過程



圖五、種苗中心保存壓葉樣品範本



圖六、種苗管理中心保存冷凍乾燥葉片樣品範本



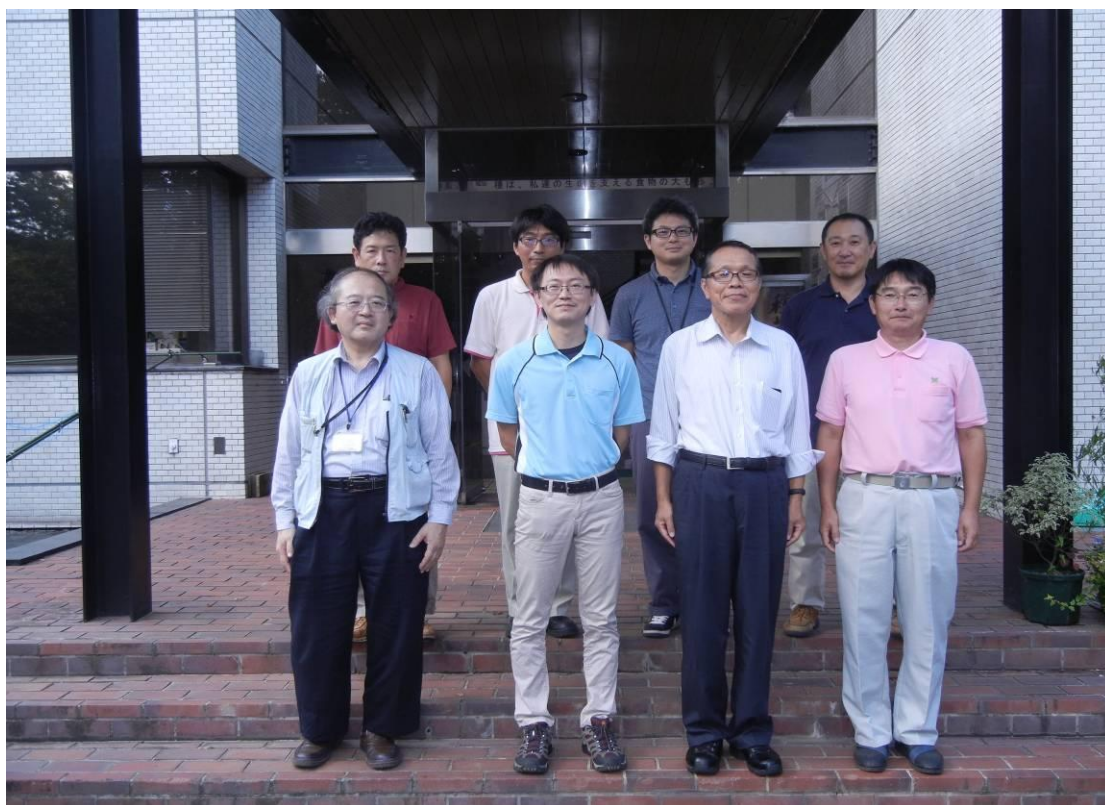
圖七、農業生物資源研究所(NIAS)長期遺傳資源保管設施



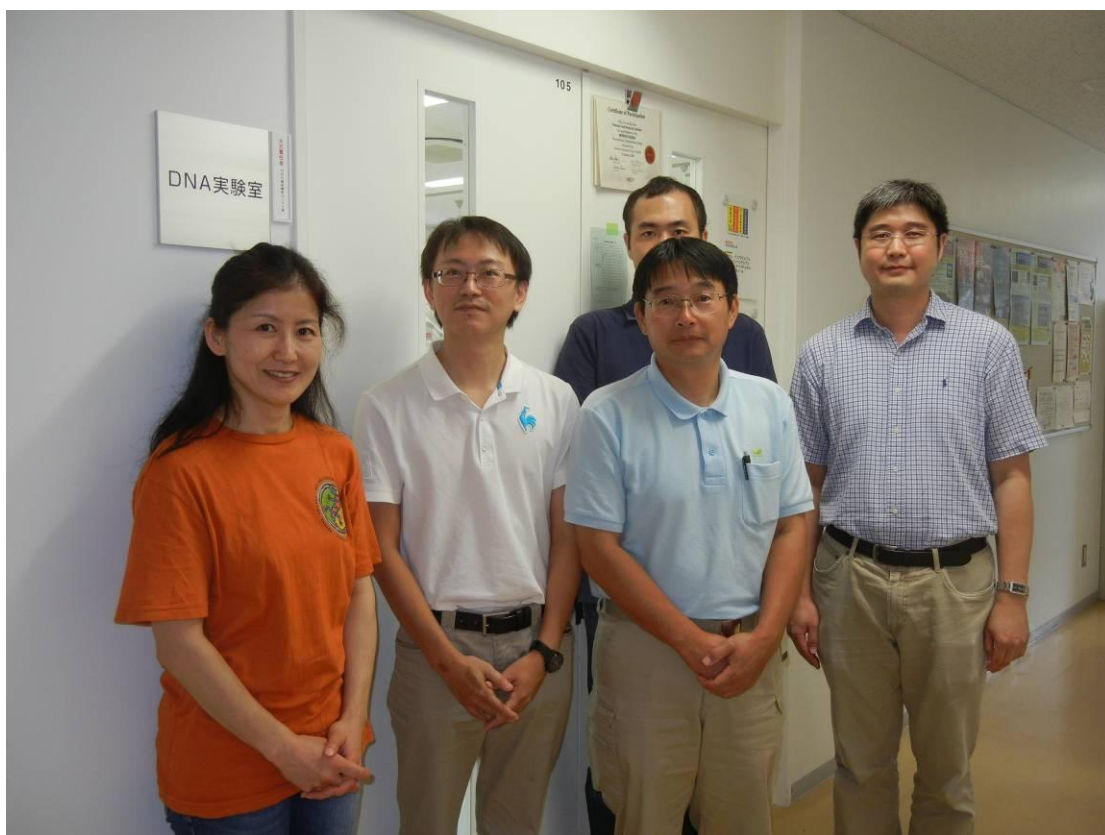
圖八、長期遺傳資源保管設施內組織培養保存(左)及超低溫冷凍保儲藏桶(右)



圖九、長期遺傳資源保管設施之果樹芽體保存樣品瓶(左)及鋁製樣品承載片(右)



圖十、種苗管理中心竹森三治理事長及品種保護對策課同仁團體合照



圖十一、參訪食品總合研究所 GMO 分析評估實驗室橘田和美室長(左一)及衛福部食藥署研究檢驗組陳育志博士(右一)於座談會後團體合照。