

# 稻米品種鑑定技術（SSR米種鑑定方法） 成為ICC標準之歷程

許瑞瑱<sup>1</sup> 彭鳳振<sup>2</sup>



## 一、前言

1952年奧地利穀物專家Friedrich Schweitzer博士，研究歐洲各國穀類與穀類產品之檢驗方法，發現檢驗工作缺乏國際公認的統一程序，而且歐洲以外的國家也各自使用不同的方法，因此於1953年發起成立國際穀類暨技術學會（ICC），希望在穀類暨技術領域，建立國際公認的標準檢驗方法。

為瞭解國際穀物發展趨勢，促進國內產業升級與國際交流與發展接軌，及貢獻建立新的國際檢驗標準，我國於2005年加入ICC，目前我國

由中華穀類食品工業技術研究所（簡稱穀研所）領銜代表，併同相關大學、企業等22個單位共同組成入會主體，自2005年加入ICC為團體會員（Corporate Member）後，於2010年成為ICC公協會會員（Institutional Member），雖受限國際現實無法以國家會員（Country Member）身分入會，務實以民間代表身分參與至今，農業部農糧署每年成立計畫編列經費，整合各面向成員加入擴大交流層面，支持各項國內外活動，成果豐碩。

稻米為我國主食，是最大單一作物，為貢獻我國技術成就，前於

註1：中華穀類食品工業技術研究所。

註2：農業部農糧署。

2014年我國稻米新鮮度檢測法（稻米酸鹼值檢驗法—BTB-MR試驗法）列入ICC標準方法。為接續努力，期待我國米類科學技術能有更多在國際舞臺上展露貢獻的機會，著手於2016年2月將國立臺灣大學農藝學系胡凱

康教授所研發的稻米品種鑑定技術（SSR米種鑑定方法）列入推舉目標，由穀研所領軍藉由ICC的平臺國際共同合作，將我國所開發之稻米品種鑑定方法申請為ICC標準方法之一，成為後續重要使命（表1）。

表1. SSR稻米品種鑑定方法成為ICC標準方法歷程

階段	時間	進度
籌備	2016年2月	<ul style="list-style-type: none"> <li>邀請胡凱康教授與穀研所合作將胡教授所開發之SSR稻米品種鑑定方法申請為ICC標準方法。</li> </ul>
	2016年3~4月	<ul style="list-style-type: none"> <li>確認申請ICC標準之程序及需求，須經比對試驗，且至少有3個國家，8個實驗室參加。</li> <li>計畫書及檢測法草案研擬。</li> <li>在ICC技術委員會報告，並成立Rice Authenticity Working Group（2016年4月18日，土耳其伊斯坦堡）。</li> <li>邀請工作小組成員，由穀研所許組長擔任召集人，並邀請ICC技術委員協助號召相關實驗室參加比對試驗。</li> <li>共有來自5個國家12位專家參加（表2）。</li> </ul>
第一階段比對試驗	2016年5~9月	<ul style="list-style-type: none"> <li>計畫書及檢測法草案送交技術委員會及工作小組進行審查並修正。</li> <li>邀請參加比對試驗的實驗室，共有來自8個國家邀請11個實驗室參加。</li> <li>比對測試樣品製備共計8個樣品（秈米、梗米、糯米）（表3）。</li> <li>寄送樣品至參加比對試驗的實驗室。</li> </ul>
	2016年10月~2017年4月	<ul style="list-style-type: none"> <li>比對試驗進行，收集各參加實驗室的數據。</li> <li>比對結果統計分析，並整理第一階段比對試驗報告（表4）。</li> <li>11個實驗室中，送回比對試驗數據者共有9個實驗室（表4），但其中一個實驗室的誤差太大，不列入統計分析。</li> <li>因第一階段以國內米種為測試樣品，為確認本鑑定方法適用於其他國家，故決定收集來自其他國家的米種進行第二階段比對試驗。</li> </ul>
第二階段比對試驗	2017年5~9月	<ul style="list-style-type: none"> <li>徵求其他國家米種樣品。</li> <li>共收到來自6個國家42個米種樣品（表3）。</li> <li>在ICC技術委員會中報告進度（2017年5月4日，視訊會議）。</li> </ul>
	2017年9~11月	<ul style="list-style-type: none"> <li>所收集之米種樣品測試與製備。</li> <li>經米種純度測試後選定來自6個國家21個米種樣品進行比對，並寄送樣品。</li> <li>邀請參加比對試驗的實驗室，共有來自7個國家10個實驗室參加。</li> <li>在ICC技術委員會中報告進度（2017年11月16日，奧地利維也納）。</li> </ul>
	2017年11月~2018年10月	<ul style="list-style-type: none"> <li>第二階段比對試驗及數據收集。</li> <li>10個實驗室中，送回比對試驗數據者共有8個實驗室（表4）。</li> <li>比對結果統計分析，並整理第二階段比對試驗報告。</li> </ul>
	2018年11月	<ul style="list-style-type: none"> <li>胡凱康教授在ICC國際研討會報告比對試驗結果。</li> </ul>
	2018年11~12月	<ul style="list-style-type: none"> <li>研擬ICC標準方法草案。</li> </ul>
向ICC申請	2019年1月	<ul style="list-style-type: none"> <li>向ICC提出申請SSR稻米品種鑑定方法為ICC標準。</li> </ul>
	2019年2~6月	<ul style="list-style-type: none"> <li>由工作小組審視二階段比對試驗結果報告，並回覆委員意見。</li> <li>在ICC技術委員會中報告進度（2019年4月23日，奧地利維也納）。</li> </ul>
	2019年6~12月	<ul style="list-style-type: none"> <li>由工作小組審視ICC標準方法草案，並回覆委員意見。</li> <li>依委員意見修正ICC標準方法草案。</li> </ul>
	2020年1月	<ul style="list-style-type: none"> <li>正式列入ICC標準方法草案（ICC Standard No. 187）。</li> </ul>
	2020年2~4月	<ul style="list-style-type: none"> <li>ICC技術委員會審查，並依委員意見修正。</li> </ul>
	2020年4月	<ul style="list-style-type: none"> <li>原定在2020年4月12日會員大會通過正式成為ICC標準草案，因疫情影響，會員大會延至2021年1月。</li> </ul>



## 二、稻米品種鑑定技術（SSR 米種鑑定方法）申請歷程

### (一) 前置作業

申請ICC標準方法必須經至少3個國家，8個實驗室參加的比對試驗，確認該標準方法的精確性與精準度。故由穀研所負責進行比對試驗之籌備，技術部分由胡教授主導，研擬比對試驗計畫書與檢測方法草案。

2016年4月穀研所許瑞瑱組長參加在土耳其伊斯坦堡召開ICC技術委員會議，並在

會議中報告稻米品種鑑定試驗的國際比對試驗計畫，獲參加委員的肯定與支持，在ICC技術委員會中成立稻米品種鑑別工作小組(Rice Working Group for Variety Identification)，由許瑞瑱組長擔任召集人，同時邀請各技術委員會推薦各國稻米品種相關實驗室參加比對試驗。

在ICC技術委員會的支持下，共有來自5個國家12位稻米品種鑑定的專家參加工作小組(表2)，工作小組的任務為審查相關技術文件及未來的比對試驗結果。此外，在

表2. 稻米真實性工作小組成員。

國家	機構	姓名
臺灣	中華穀類食品工業技術研究所	Rachel Hsu，許瑞瑱
	國立臺灣大學	Kae-kang Hwu，胡凱康
	國立臺灣大學	Men-chi Chang，張孟基
加拿大	Canadian Grain Commission	Daniel Perry
英國	Bangor University	Katherine Steele
	BSI退休	Mark Woolfe
義大利	University of Eastern Piedmont	Valè Giampiero
中國	College of Food Science & Technology of HuaZhong Agricultural University 華中農業大學	Siming Zhao
	College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjing University of Science & Technology 天津科大	Hua Zetian
	ASAG中國國家糧食局科學研究院	Hui Sun
	中國國家糧食局科學研究院推薦	Xianqing Zhou
	中國國家糧食局科學研究院推薦	Sun Quingjie
	中國國家糧食局科學研究院推薦	Zhang Mingwei

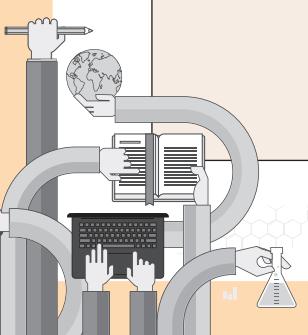


表3. 參加比對試驗之實驗室（依機構英文字首排列）

實驗室所屬機構	國家
Canadian Grain Commission	加拿大
CREA	義大利
Eurofins	德國
Genia Genetica Molecular	烏拉圭
National Taiwan University	臺灣
OMIC	美國
Seeing Bioscience Co., Ltd.	臺灣
SGS Taiwan Ltd. food laboratory	臺灣
Taiwan Seed Improvement and Propagation Station, COA	臺灣

技術委員的推薦下，共有 8 個國家 9 個實驗室參加比對試驗（表 3）。

同時由胡教授實驗室著手進行比對試驗測試樣品之製備，共有含括秈米、梗米及糯米的 8 個樣品（表 4），於 2016 年 9 月分別寄送樣品至各參加實驗室，開始第一次比對試驗。

## （二）進行比對試驗

2016 年 10 月～2017 年 4 月陸續接到各實驗室回覆之測試結果，唯雖有 11 個實驗室參加，但僅有 9 個實驗室回覆結果（表 3），送交胡教授實驗室進行數據統計分析，其中一個實驗室的結果因誤差太大，無法列入統計分析。其餘 8 個實驗室的結果經統計分析後，本鑑定方法的各個 Marker 的比對結果之 Fleiss' Kappa

係數顯示為「Almost Perfect Agreement」，代表本鑑定方法在各國不同實驗室中均可有效的被操作，且針對相同的樣品可得到一致的結果。

由於第一次比對試驗所測試之樣品係為我國提供之稻米品種，為驗證本鑑定方法的 Marker 對國際上其他國家的稻米品種亦具備區分鑑定的能力，經許瑞瑱組長與胡教授商議後，決定收集其他國家稻米品種樣品，進行第二次比對試驗。

穀研所許瑞瑱組長於 2017 年 5 月在 ICC 技術委員會報告第一次比對試驗會議，並藉參加 ICC 國際研討會的機會與產稻米的國家交流，請各國協助收集稻米品種，直至 2017 年 9 月共收到 6 個國家 42 個米種樣品。所有的稻米品種樣品交由胡教授實驗室進

行測試與樣品製備，經重複確認樣品純度後，選定其中 21 個稻米品種作為第二次比對試驗之樣品（表 4）。同時也進行參加第二次比對試驗實驗室的邀請，共有來自 7 個國家 10 個實驗室參加，其中西班牙和土耳其的實驗室並未參加第一次比對試驗。因為樣品數多，對大部分實驗室負荷頗大，第二次比對試驗的樣品測試回覆花了較長的時間，直到 2018 年 10

月始完成 8 個實驗室（表 3）的結果回覆，前述西班牙和土耳其其實驗室最終仍無法完成比對試驗。第二次比對試驗結果顯示本鑑定法的 12 個 Marker 之 Fleiss's Kappa 有 3 個是 Almost Perfect Agreement、有 9 個屬於 Substantial Agreement，代表本鑑定方法對其他國家的稻米品種亦具備一定程度的區分能力。

表 4. 比對試驗樣品之米品種

	米樣品品種	來源
第一次比對試驗	TCS10 TCSGlu2 TK14 TK9 TKGlu1 TNG84 Basmati Akitakomachi	臺灣
第二次比對試驗	GONEN KIZILTAN KOPRU-CL MALILBEY OSMANCIK-97 TUNCA YATKIN	土耳其
	Chucheong Hitomebore	韓國
	BALDO ALICE VIALONE_NANO BALILLA	義大利
	EL PASO OLIMAR TACUARI	烏拉圭
	GLEVA FONSA SENDRA	西班牙
	L-206 Juipter	美國

### (三) 成為候選 ICC 標準方法草案 (ICC Standard No. 187)

適逢我們在 2018 年 11 月初假臺北福華文教中心辦理 ICC 穀類產業國際研討會，特邀請胡教授在大會中報告稻米品種比對試驗的結果，獲得在場專家一致讚賞。

後由胡教授根據兩次比對試驗的結果修正 ICC 標準方法草案，於 2019 年 1 月向 ICC 正式提出標準方法之申請。同時由穀研所彙整兩次比對試驗之結果，送交 ICC 稻米品種鑑定工作小組的專家審議，並由胡教授回覆委員意見，最後送交 ICC 技術委員會由技術委員進行審查，並據以修正。在 2020 年 1 月通過技術委員會審查，列為公告候選 ICC 標準方法草案 (ICC Standard No. 187 Draft)。

### (四) 確認公告成為 ICC 標準方法 (ICC Standard No. 187)

所有 ICC 標準方法草案，均須 ICC 會員大會確認通過且經 2 年公告無反對意見，再經 ICC 會員大會確認通過後始列為正式 ICC 標準。本案原預定 2020 年 4 月在紐西蘭基督城召開的 ICC 會員大會確認通過正式公告成為 ICC 標準 No. 187 草案，但因新冠肺炎疫情影

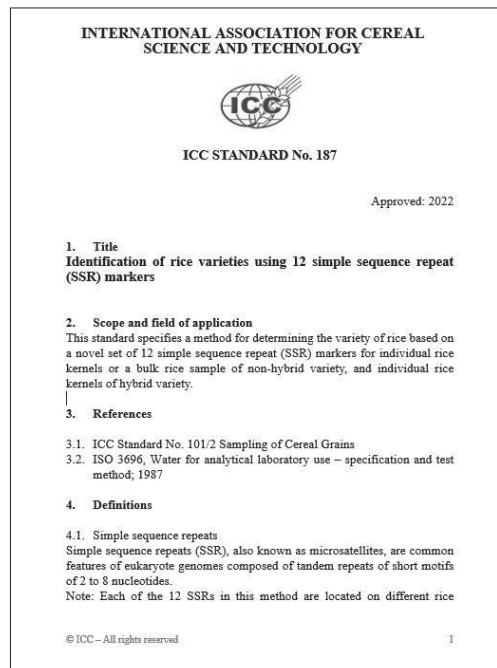


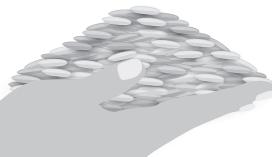
圖 1.「稻米品種鑑定技術 (SSR 米種鑑定方法)」已列入 ICC 標準。

響，延至 2020 年 12 月 9 日召開之會員大會才決議通過，後又經 2022 年 12 月 5 日召開 ICC 會員大會經後續 ICC 會員線上投票結果通過，確認於 2022 年為正式 ICC 標準 (圖 1)。

### 三、稻米品種鑑定技術 (SSR 米種鑑定方法) 簡介

簡單重複序列 (SSR，亦稱為微衛星) 分子標誌長久以來為水稻品種鑑定的有力工具，在過去多聚焦於區分特殊類別或特定產區的水稻品種。為了能夠用於較廣泛區域的水稻品種，試驗從水





稻參考序列中探

勘獲得重複超過6次的4鹼基完美重複，並利用超過150個來自不同地理區域的水稻品種與種原，從101個完美重複序列中篩選出12個均勻分散於水稻基因組，具有較高多型性，可應用於不同亞種，不會產生無效對偶基因，且引子間無交互作用的SSR分子標誌。這些SSR可以分為組內擴增子長度範圍不重複的4組，當這4組分別以不同螢光團標示後，可以在一次多重PCR反應中同時產生12個標誌的擴增子，並於多重毛細管電泳中同時完成各標誌對偶基因的判讀。從266個水稻品種與種原的分析結果可得知各標誌的多型性訊息含量指數從0.57~0.84，每一標誌有3~18個對偶基因，平均為8.7個，且實測相符率，即兩個無親緣關係品種具有相同基因型組態的機率，為 $1.93 \times 10^{-3}$ 。進行兩階段來自5個國家8個實驗室的國際比較試驗結果顯示，這個套件的SSR標誌在實驗室間有高度的再現性，且對於水稻品種具有足夠的識別能力。

#### 四、召開「米種鑑定工作坊」及製作 「SSR米種鑑定技術教學影片」

為使我國堅實的研發檢驗能力在全球嶄露頭角，推展我國建立國際標準檢驗方法在全球之實用性，由胡教授完成「SSR米種鑑定技術教學影

片」一部共5集，及編輯技術手冊一份，並以ICC及穀研所官網為平臺公開上傳，供有需要之學者專家參據，並於2020年10月20日辦理「米品種鑑定技術工作坊—線上會議」，就本項技術與國際專家交流，會議共計吸引來自15個國家共計42位之穀物相關專家與會，就本方法運用於國際貿易、Basmati米種或加工米產品鑑定等方面之可行性熱烈討論，會中討論意見可作為鑑定方法優化之參考。

#### 五、結語

各國研究科學與發展技術成果，接續要達到建立統一的檢驗方法與程

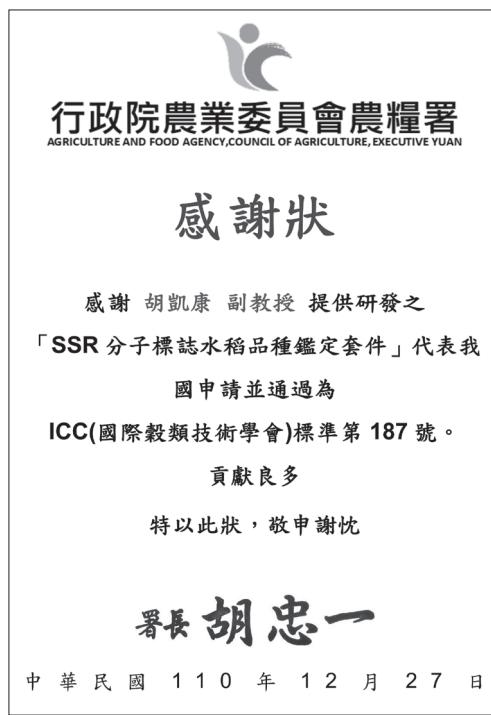


圖2.感謝狀。

序，是各國產業發展面對國際交易與交流不可或缺的骨幹，通過國際認證成為國際標準，是世界性的頂尖成就。

感謝國立臺灣大學農藝學系胡凱康教授研發的稻米品種鑑定世界頂尖技術（圖2感謝狀），感謝穀研所及許瑞琪組長以卓越國際領導能力進行專案工作，感謝全球8個國家11個優秀實驗室提供比對樣品並參加比對試驗。

進行比對試驗的過程中，需要不斷有耐心地與實驗者進行溝通，有賴胡教授持續地提供技術支援，參加比

對的實驗室均為自願性參加，並無任何經費補助，且必須利用原來工作排程之餘來進行比對測試，對於他們的熱情支持著實感念在心。

這是一個由我國發起，藉由ICC平臺組成國際優秀團隊，大家義務性付出貢獻專業，從2016年到2022年一起成功建立世界第一個稻米品種鑑定國際標準的歷程（表1），本標準技術具高的有效性與成本效益，無償提供全世界使用，為全球稻米產業品種鑑定提供實質助益。

