

植物品種權一致性檢定 可容忍異型株之計算準則

苗栗場場長 呂秀英

一、前言

為能保護育種者的利益，各先進國家在法律上皆已確立實行植物新品種保護制度。根據國際植物新品種保護聯盟 (International Union for the Protection of New Varieties of Plants, 簡稱UPOV) 的規定，申請植物品種保護的要件，除必須符合新穎性及適當品種名稱之形式要件外，其檢定性狀特徵還必須符合可區別性 (distinctness)、一致性 (uniformity) 及穩定性 (stability) (簡稱DUS) 的實質要件，此為植物新品種權審核過程中決定植物新品種授權與否的關鍵環節。可區別性是指申請品種應「明顯區別」於一新品種登記申請書提出時已經存在的其他近似品種；一致性為該品種之相關性狀必須一致，如果有明顯不同的植株出現，其變異是由遺傳造成，而不是非遺傳因素的結果，則視為不符合一致性；穩定性

是申請品種在指定之繁殖方法下，經過重複繁殖後或在特定繁殖週期結束時，其相關的主要特徵或特性維持不變。但是判定申請品種是否具有可區別性，應與該品種是否具備較好的一致性與穩定性緊密相聯。就無性繁殖作物而言，若申請品種當代植株個體間性狀表現符合一致性，通常也被認定是符合穩定性。由此可見，品種一致性之判別，相當重要。至於何種情況一致性才能成立，與檢定樣本內的異型株 (off-type) 個數有關。異型株是指一個或多個性狀與原品種的性狀明顯不同的植株。當申請品種在某一樣本大小下所發現的實際異型株少於最大可容忍異型株數時，可接受該品種具有一致性。

二、不同育成系統的一致性檢定原則

UPOV指南是DUS檢定的基礎，為能將原則細化為操作性強的具體指導，迄今已制訂採納297個指南 (其中包含各物種檢定指南、TGP文件等)，可提供免費下載 (網址：http://www.upov.int/resource/en/dus_guidance.html)，用來指導檢定機

作者：呂秀英場長
連絡電話：037-223124

關開展DUS檢定工作的技術手冊，也是審核機關審查植物新品種DUS的技術標準。根據UPOV「一致性檢定」指南（文件編號TGP/10/1, 2008），基於無性繁殖與有性繁殖之植物品種的子代，可能發生變異的機率有所不同，針對不同育成系統的異型株最大容忍數有不同的規範：無性繁殖與自花授粉品種，品種群體外表型較整齊一致，遺傳上較穩定，群體內突變頻率較低，因此規定植株間可容許的異型株數較少；常異花授粉品種的主要性狀處於同質純合狀態，後代生存力退化不明顯，可視為自花授粉品種對待；而異花授粉品種（包括綜合品種），其突變頻率相對較高，但由於顯性突變呈雜合狀態存在，隱性突變大多被顯性基因掩蓋而不表現，只有在自交時基因型純合才能表現，於突變後不容易被檢出，當品種內的變異範圍更大時，其植株並不完全相似，故難以判斷異型株，對此可透過與其近似品種比較來判斷申請品種的相對變異程度，當申請品種的一致程度不顯著低於近似品種時可認定其為一致性。

UPOV在各物種檢定指南內列出不同育成系統可容忍的異型株數目，其原則如下：

（一）營養繁殖品種與嚴格自花授粉品種：其異型株最大容忍數係根據統計取樣原理而計算求得，惟該原則在實際應用時，除考慮樣本大小外，尚須考慮到不同物種的可容忍族群標準（tolerated population standard）及試驗所要求的可接受機率（acceptance

probability），才能避免冒犯統計誤差之風險。舉例來說，對於無性繁殖植物的材料，如茶樹，當判別一致性時，在UPOV茶樹檢定指南中建議採用1%的可容忍族群標準與至少95%的接受機率，即當樣本大小為10株時，最多允許出現1個異型株（文件編號TG/275/1, 2011）。相關的統計公式、計算步驟及其範例說明，詳如下列第三節。

（二）常異花授粉品種：相較於上列營養繁殖品種與嚴格自花授粉品種各樣本大小下所採估算原則所得容忍數，常異花授粉品種的異型株最大容忍數可適當放寬，放寬倍數參照UPOV各物種檢定指南規範，但若無操作指南可供參考，直接採用上述統計取樣原理所求得之容忍數。

（三）異花授粉品種（包括綜合品種）：必須與已知之近似品種比對；針對目測之質量性狀（qualitative characteristics）或擬質性狀（pseudo-qualitative characteristics），若申請品種之異型株數超過比對之近似品種之異型株數，當具有達5%顯著水準之差異性（亦即低於95%接受機率），則視為不一致；對於數量性狀（quantitative characteristics），若申請品種之變異超過各比對之近似品種的變異，則視為不一致。

（四）雜交品種：（1）單交品種的異型株最大容忍數，類似於常異花授粉品種之作法，相較於自花授粉品種可適當放寬，放寬倍數列於個別物種之檢定規

則中，倘若檢定指南尚無規範，直接採用統計取樣原理所估算之容忍數；(2) 其他非單交品種（如三交種與雙交種）所產生的分離性狀，若遺傳率已知則需預測出可接受的分離比例，若遺傳率未知則與異花授粉品種採相同方式，與已知近似品種進行變異比對；(3) 近親繁殖或親本植株，如單交品種所述。

三、異型株最大容忍數的計算準則

當一個申請品種所調查樣本中發現的實際異型株少於最大容忍數時，可接受該品種為一致，反之則認定其為不一致。在做這樣的決定時，有兩種統計上的誤差可能發生，而完全控制於樣本大小與異型株最大容忍數之選擇。不同大小樣本的可容忍異型株，通常決定於一個固定的族群標準(population standard)與可接受機率(acceptance probability)。可容忍族群標準(tolerated population standard)，即對品種所有個體（族群）進行檢定性狀品種一致性時可接受的異型株最大比例（例如1%），通常根據植物屬性與專家經驗，或歷年來近似品種變異水準之調查結果來決定，為一種相對族群標準(relative population standard)，此在DUS檢定指南中針對不同檢定植物皆有明確規定。例如UPOV曾就自交授粉品種於1996－2003年期間各年度所用來比對的36－46個數量不等之近似品種進行異型株調查，結果異型株平均比例在0.95－1.66%之間，雖然各年度所納入

比對品種數不同而造成該平均比例值多少有些微差異，以此比例值作為可容忍族群標準，大致在1%左右；倘若比對品種不同年度間所得異型株平均比例值有較大差異時，則應利用橫跨多年的移動平均法 (moving average) 來估計出可容忍族群標準（UPOV文件編號 TWC/23/11, 2005）。可接受機率，為已知異型株可容忍族群標準下，接受品種為一致性的最小機率（通常為95%或99%）。

根據統計取樣原理，某一族群數(n)在已知可容忍族群標準(p)下，最小接受機率(1- α)的比例之信賴區間值(confidence interval values)的公式如下：

$$\hat{p} \pm Z_{\alpha/2} \times \sqrt{\frac{\hat{p} \times (1 - \hat{p})}{n}}$$

式中， $Z_{\alpha/2}$ 為 α 顯著水準下雙尾標準常態值，當 $\alpha=5\%$ 時， $Z_{\alpha/2}=1.96$ ；當 $\alpha=1\%$ 時， $Z_{\alpha/2}=2.576$ （註：比例值為二項分布變值，近於常態係根據統計上的中央極限定理適用）。因此在已知異型株可容忍族群標準並設定最小接受機率情形下，可透過該公式先計算出某一樣本大小的異型株比例之信賴區間值，取該比例區間值的上限值（即可容忍的異型株最大比例），就可求得該樣本大小下的異型株最大容忍數。

舉例來說，營養繁殖的茶樹在取樣株數 $n=10$ 時，在已知茶樹可容忍族群標準 $p=1\%$ 與至少95%接受機率($\alpha=5\%$)下的異型株可容忍最大比例為：

$$0.01 + 1.96 \times \sqrt{\frac{0.01 \times (1 - 0.01)}{10}} = 0.072$$

然後，樣本大小 $n=10$ 再乘上該最大比例值，以四捨五入求得整數，即可計算出茶樹的異型株最大容忍數：

$$10 \times 0.072 = 0.72 \cong 1$$

故根據UPOV茶樹檢定指南所載，茶樹10株的異型株最大容忍數為1株。在相同的可容忍族群標準與接受機率下，倘若改變樣本大小，異型株最大容忍數也不盡相同。

本文以一些國內不同育成系統下常見的糧食作物、雜糧作物、蔬菜、果樹及菇類為範例，依據其在UPOV檢定指南內的建議原則，列出計算基準如表一所示，以供參考，至於其他未列表之作物，以此類推。從表中可發現，無性繁殖、自交系的異型株最大容忍數皆以統計取樣公式直接求得，其中無性繁殖的可容忍族群標準與接受機率皆相近（但並非一定如此）；自交系像是稻米與小麥，當檢定設計方法不同，可容忍族群標準也不同，例如以單株或區集為取樣單位時，可容忍族群標準設定為0.1%，若以穗行為取樣單位，則可容忍族群標準為1%；玉米之自交系與單交種通常以3%作為可容忍族群標準，且其單交種在UPOV檢定指南則仍維持公式所得結果。然單交雜種稻的異型株最大容忍數相較於公式所得者多出約1.7倍。至於三交種、雙交種及天然授粉品種，UPOV建議不採用異型

株法，而是另外使用統計分析方法，當申請品種之變異不超過已知比對品種之變異，視為具有一致性。

異型株可以所有性狀在同一樣本內觀察，若於不同生長階段經目測發現至少一個性狀存在異型株則立即登記，並於所有相關檢定性狀在試驗結束後以異型株總數來評估一致性。然而在某些場合，也可透過不同樣本的植株或植株部位的異型株來判斷一致性，例如小麥的一致性檢定，某些性狀以2000株為樣本基礎，但另有些性狀則使用100個植株部位（如調查種子特性以穗行為取樣單位）作為樣本，由於在營養生長期若發現2000株樣本區集內含有異型株便不再繼續觀察，以致這100個植株部位是無法追溯到原來區集內植株，意味著這100株是另一個獨立樣本，在此情形下所有獨立樣本應使用各自適當的族群標準；當所有樣本都滿足一致性要求時，該申請品種才能視為具有一致性（UPOV文件編號TGP/10/1, 2008）。

四、異型株法多年檢定

前節所述UPOV建議的樣本大小與異型株最大容忍數，適用於單年檢定。但UPOV指出，針對可區別性檢定，還必須考慮到至少兩個獨立生長週期之場合的差異「恆定」問題；而在執行穩定性檢定過程中，也必須在2—3個測試生長週期內確認申請品種與近似品種比對的性狀沒有出現明顯變化，始可認定該申請品種具有穩定性。因此，當檢定性狀屬於必選性狀或重要分組性狀時，其

表一、UPOV針對不同育成系統植物新品種一致性檢定之可容忍異型株數的建議原則－範例與計算方法

育成系統	作物範例	可容忍族群標準	接受機率	取樣數	異型株最大容忍數	UPOV檢定指南 ⁽¹⁾	異型株最大容忍數之計算方法 ⁽²⁾
無性繁殖	茶樹	1%	95%	10株	1株	TG/275/1 第4.2.2節 (2011)	$10 \times \{0.01 + 1.96 \times \sqrt{0.01 \times (1 - 0.01) / 10}\}$ $= 0.72 \approx 1$
	甘藷	1%	95%	60株	2株	TG/23/6 第4.2.2節 (2004)	$60 \times \{0.01 + 1.96 \times \sqrt{0.01 \times (1 - 0.01) / 60}\}$ $= 2.11 \approx 2$
	芒果	1%	95%	5株	0株	TG/112/4 第4.2.2節 (2006)	$5 \times \{0.01 + 1.96 \times \sqrt{0.01 \times (1 - 0.01) / 5}\}$ $= 0.49 \approx 0$
	玫瑰	1%	95%	6或9株	1株	TG/11/8 第4.2.2節 (2010)	$9 \times \{0.01 + 1.96 \times \sqrt{0.01 \times (1 - 0.01) / 9}\} =$ $0.68 \approx 1$ (樣本數6同理)
	番茄	1%	95%	20株	1株	TG/44/11 Rev. 第4.2.2節 (2013)	$20 \times \{0.01 + 1.96 \times \sqrt{0.01 \times (1 - 0.01) / 20}\}$ $= 1.07 \approx 1$
	蘑菇	1%	95%	120個子實體	3個子實體	TG/259/1 第4.2.2節 (2010)	$120 \times \{0.01 + 1.96 \times \sqrt{0.01 \times (1 - 0.01) / 120}\}$ $= 3.34 \approx 3$
自交系	小麥(以單株或一群植株為取樣單位)	0.1%	95%	2000株	5株	TG/3/11 Corr. 第4.2節 (1996)、 TWC/25/18第4.2.2節 (2007)	$2000 \times \{0.001 + 1.96 \times \sqrt{0.001 \times (1 - 0.001) / 2000}\}$ $= 4.77 \approx 5$
	小麥(以穗行為取樣單位)	1%	95%	100穗行	3穗行	同上	$100 \times \{0.01 + 1.96 \times \sqrt{0.01 \times (1 - 0.01) / 100}\}$ $= 2.95 \approx 3$
	稻(以區集為取樣單位)	0.1%	95%	1500株	4株	TG/16/8 第4.2.2節 (2004)	$1500 \times \{0.001 + 1.96 \times \sqrt{0.001 \times (1 - 0.001) / 1500}\}$ $= 3.90 \approx 4$
	稻(以穗行為取樣單位)	1%	95%	50穗行	2穗行	同上	$50 \times \{0.01 + 1.96 \times \sqrt{0.01 \times (1 - 0.01) / 50}\}$ $= 1.88 \approx 2$
	玉米	3%	95%	40株	3株	TG/2/7 第4.2.2節 (2009)	$40 \times \{0.03 + 1.96 \times \sqrt{0.03 \times (1 - 0.03) / 40}\}$ $= 3.31 \approx 3$
單交種	雜種稻 ⁽³⁾	1%	95%	1500株	39株	TG/16/8 第4.2.3節 (2004)	$\frac{1500 \times \{0.01 + 1.96 \times \sqrt{0.01 \times (1 - 0.01) / 1500}\}}{10} =$ $22.55 \approx 23$ 多出約 1.7 倍
	玉米	3%	95%	40株	3株	TG/2/7 第4.2.2節 (2009)	$40 \times \{0.03 + 1.96 \times \sqrt{0.03 \times (1 - 0.03) / 40}\}$ $= 3.31 \approx 3$
三交種、雙交種及天然授粉品種	玉米	變異應不得超過已知比對品種之變異；天然授粉品種之一致性評估，應依據一般操作指南對於異交品種之建議原則。				TG/2/7 第4.2.3、4.2.4節 (2009)	

(1) 下載網址：http://www.upov.int/resource/en/dus_guidance.html。

(2) 算式為比例之信賴區間值估計公式。

(3) 異型株最大容忍數，較公式所得適當放寬。

不同生長週期 (或年度) 重複資料的表現也必須具一致性，否則認定無法達到品種應當具備的標準。使用異型株法對2或3年的申請品種進行一致性檢定時，須考慮如何將不同年度的一致性檢定相結合，而判定策略通常有以下三種方法，這些方法之選擇，應先諮詢統計專家的建議再作決定 (UPOV文件編號TGP/8/1, 2010)：

- (一) 綜合測試 (combined test)：將進行2年 (或3年) 後所測試之各申請品種的所有植株數與異型株總數登記下來，利用植株總數與異型株總數，依據單年異型株檢定方法進行分析。
- (二) 兩階段測試 (two-stage test)：分別分析各年的數據，若通過第一年資料判斷品種不具一致性，則測試結束；若第一年田間試驗的實際異型株數少於最大容忍數，繼續進入第二年測試；兩年間的異型株總數大於可容忍異型株總數，判斷為不具有有一致性，反之品種具有一致性。
- (三) 序列測試 (sequential test)：上述兩階段測試屬於序列測試之一種形式，尚有其他序列測試可供採用做為多年試驗一致性的判定策略。例如，分年進行判斷且於最後一年根據兩年 (或3年中有2年) 資料顯示異型株總數大於可容忍異型株總數時，則判斷申請品種不具一致性。

五、結論與建議

植物品種權一致性之檢定原則，是針對需要單株目測與測量性狀，申請品種可接受的變異水準不能顯著超出已知的近似品種的變異水準。基此，當決定了一個申請品種所調查的樣本大小，就可依據各不同育成系統之異型株最大容忍數來判定該性狀的一致性。但是針對易受環境影響的數量性狀，品種檢定試驗至少要求兩個生長週期 (或年度)，當不同生長週期的異型株數有明顯差異時，純粹以異型株容忍數來評估，就很難在不同生長週期之間做出明確的一致性判斷；再者，一致性通常與性狀表現有關，例如一些物種，較大植株的品種相對於較小植株者趨於缺乏一致性，若針對所有品種都採取同一標準，就有可能造成對某些品種過於嚴苛而對其他品種則過於寬鬆的問題存在。因此，UPOV建議除異型株法外，也應該考慮使用適當的統計方法來測量一致性，以使檢定判定更為合理，例如一致性多年綜合分析方法 (combined over-years uniformity criterion, COYU) 及變異係數法 (coefficient of variation, CV) (UPOV文件編號TGP/10/1, 2008; TGP/8/1, 2010; TWC/29/23, 2011)。但由於其分析過程中涉及較複雜的資料處理，限於篇幅，故不在本文探討範圍，待後續另文介紹。