

台大農藝學系專題討論

題目：種子純度測驗中針對轉基因性狀的統計考量

Kirk M. Remund, Doris A. Dixon, Deanne L. Wright and Larry R. Holden 2001 Statistical considerations in seed purity testing for transgenic traits. *Seed Science Research* 11, 101–119.

學生：梁益椿 (譯)

指導教授：郭華仁 謝英雄

2002/01/09

摘要

隨著農業生化科技近來的進步，現在已經有許多具有高價值轉基因性狀的新作物品種；跟隨著傳統非轉殖品種在市場上銷售。因此，商業上一批種子的純度對於種子消費者和種子生產者而言顯得相當重要，在種子的生產過程中一個重要的步驟即是設計抽樣和檢驗方法，可用來評估種子批純度。然而，因為這些方法中存在不確定性，不論是接受或拒絕某批種子，總是會有不正確的風險。這份報告主要是討論種子純度測驗的設計及施行的過程所應考慮的各項因素，以處理這種類歸錯誤的風險，特別是針對有無具轉基因性狀的純度分析。種子批取樣和分析方法中許多不確定的原因在文中加以描述，並且提供減少這些影響的建議。由於歸類錯誤的風險會影響種子製造者和消費者，因此本文也以統計的觀點來解釋歸類錯誤的風險；另外也提出抽樣計畫，以及決定樣品大小的公式，以期控制歸類錯誤的誤差，來決定接受或拒絕一批種子。簡單的單階段檢驗設計和通常更有效的雙階段檢驗設計均在此討論。測驗混合種子 (seed pool) 而非個別種子則是另一種提高檢驗效率的方法。針對種子樣品，提供公式來計算一批商業種子真正純度的信賴區間。

前言

種子生產過程中，根據各種標準來決定一批種子是否達到純度的最低需求，是一個關鍵的步驟。這些準則在過去是發芽率、有害雜草和影響生長物質的評估等。由於現今帶有轉基因性狀的種子品種愈來愈多，如現已上市的耐嘉磷塞基因改造大豆（Roundup Ready Soybean®）；這些品種與傳統者並陳上市。由於傳統種子純度與基因純度都與轉基因特性的出現與否有關，所以被列入需要檢查的名單中。本文主要焦點是放在如何測試，以確認傳統商業種子批並無轉基因性狀的存在；這些方法也可以應用於測試轉基因種子批中有否出現非轉基因或轉基因的走型(off-type)種子。

種子檢查室已經使用容許度表 (tolerance table) 來比較種子批的估算純度和標示的純度（如 90% 的發芽率規定）；美國 Association of Official Seed Analysts (AOSA, 1998) 和國際的 International Seed Testing Association (ISTA, 1999) 皆已刊印該表；而本文提出的方法概括了上法，以結合檢測誤差、種子混合、風險和成本管理、以及多階段檢驗。

本文討論的測驗方法可以估算一批種子的遺傳純度，並且根據某個門檻設定接受 / 拒絕某批種子的標準。設計和實施合理的取樣和檢驗計畫時所需的統計學考量，也在本文中加以討論；雖然焦點是放在轉殖基因性狀的純度，這些方法也可以應用在其他性狀的純度測驗。本文所提出的測驗計畫建議，只是舉例說明，並非針對某一特定種子測試；和轉基因種子測驗有關的特定經濟學的或商業的主題也不在討論之列。

本文的組織架構如下：第一節提出種子批接受度取樣一般性概念；同時討論決定種子批接受度時，在取樣不確定性和相關風險下產生的不正確結果。第二節說明測定有無轉基因性狀存的蛋白質和 DNA 分析方法，以統計學的觀點來解釋各分析方法。接下來第三節討論各種測驗計畫，以及各分析方法錯誤率對這些計畫的影響。第四節討論類歸一批種子(即接受或捨棄該批種子)與預估一批種子純度所用的種子測驗計畫有何不同。第五節列舉了主要抽樣和測驗計畫的假設，並且提出應用實例的試算表，以說明如何利用這些方法設計種子測驗計畫。種子純度分析測驗使用的統計學公式可見於最後的附錄。

種子批測驗的不正確性及相關風險

圖一是種子批取樣和測驗計劃的簡圖：種子的樣品從一批種子中選出，這些種子個別地，或混合地，用適當的蛋白質或 DNA 的分析方法加以測驗；若異常的個別種子或混合種子（如含有不想要的遺傳特性者）的數目超過一取決點(c)，此種子批被拒絕，若無超過則可接受。完全根據分析種子樣本性狀所獲得的結果，來決定接受或拒絕一批種子。若樣品的純度不足以代表整批種子，或分析系統的錯誤

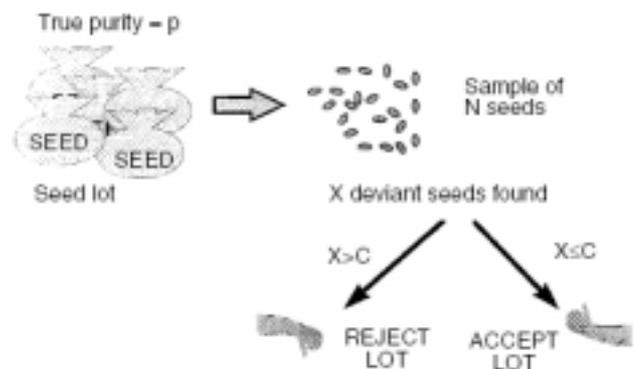


Figure 1. Basic seed lot sampling plan. If the number of deviant seeds exceeds c , then the lot is rejected.

圖 1 基本的種子批取樣計劃。若異常種子數超過 c 值，則拒絕此批種子。

率太高，這批種子歸類錯誤的機會將比預計的高。即使在理想的情況下，也總是會有接受不純的種子和捨棄適合的種子的風險；唯一能完全避免這些風險的方法是在零錯誤和非破壞性分析方法下測驗種子批中所有的種子，這是既不可能又不切實際的。既然這些風險無法除去，因此我們相對的目標即是將風險維持在一可容許的程度。此目標可經由選擇適當的取樣和測驗計劃完成。

隨機抽樣效應、非隨機種子批抽樣效應和分析系統的不確定性是造成上述風險的三項主因。在本文中所討論的種子測驗計劃均假設被測試的種子是由一完整種子批中簡單隨機抽樣所得的樣品；這種隨機抽樣總會產生不確定性，但此不確定性可以藉由一個二項式機率的分布來模擬說明，本文中將這項分布列入統計分析的程序中。若實際上測試的種子並非真正來自一個隨機樣本，做出錯誤決定的風險也會隨此非隨機抽樣而增加。最後，能否正確地類歸一種子（或混合種子）達到純度與否，也會受到分析系統不確定性的影響；當分析系統的錯誤率是已知且微小的，即可用統計測試的程序來有效地處理。

本段的目的是幫助讀者認知這些不確定性的來源和其相關的風險，並且指出如何在種子批抽樣方案的計劃階段時去減少這些來源。

爲了討論造成這些風險的因素，本文中加以討論種子「取樣」和「測驗」計劃的差異：種子取樣計劃是如何從種子批取出種子樣品所遵循的實際程序；而測驗計劃則包含了被測驗種子數目的多少、接受 / 拒絕的標準、和測驗樣品的準備步驟及方法。

隨機抽樣的不確定性

本節討論隨機抽樣不確定性的管理，把這種無論取樣任何種子批時都會產生的不確定性列入一適當的統計測驗程序中。一個重要的目標就是在隨機抽樣和分析系統的不確定性皆存在的情況下，將主要的焦點放在管理隨機抽樣的不確定性，去設計一個具有令人滿意的風險水準的測驗計劃；關於分析系統的不確定性，以及如何將之列入測驗計劃中，則會在本文較後段提出。

基本的種子批測驗計劃含有兩個重要的介量：(1) 用來取樣和測試的個別種子（或混合種子）個數。(2) 在種子批不被拒絕的前提下，樣品內所能容許的，不被接受的或異常的種子，或混合種子的最大個數。例如：從一種子批中測試 400 個個別種子，若觀察到超過 4 個異常種子則拒絕此批種子。上述測驗計劃如何呢？若沒有對「好」和「壞」定義是很難回答這個問題的。根據統計的品管文獻(如 Montgomery,1997) 中的標準接受度取樣術語，以下的定義是必需的：

- Lower quality limit (品質容許標, LQL): 消費者所能接受種子批純度的最低水準。這可能是在統計方面、法規方面等層面需要說明的最低純度水準。種子批若被接受，則可以標示爲具有，或高於 LQL 的某一純度水準，而且具有高信賴度。LQL 通常稱爲純度（或未達純度）的門檻。
- Acceptable quality level(品質低標, AQL): 一種子批在現行採種方式下，所能達到的最低純度水準。種子生產者希望達到或高於此水準的種子批，被接受的機率高。
- 生產者風險: 拒絕一個實際上達到 AQL 種子批的機率。簡單的說，就是拒絕一達到近似

「純」的種子批。

- 消費者風險: 接受一個實際上純度在 LQL 的種子批。也就是說接受一不「純」種子批的機率。

實際上合適的 LQL 或 AQL 值並不總是那麼明顯。理想情況下，消費者偏愛完全純度（如 $LQL = AQL = 100\%$ ），但通常這是無法達成的目標，因為有施行時的限制存在；所以 LQL 應該要設立在消費者願意接受的最低水準純度下；而政府的管理機構可能會提供一些設立適當 LQL 水準的準則。AQL 水準的設立，則應是一批種子在現行採種情況下可達到的，也可以參考由過去種子批所估計的不純程度。在設計一個合理的測驗計畫時，若要考慮生產者和消費者的風險，AQL(純度低標)水準一定要高於 LQL(純度容許標)水準，否則所生產的種子，純度很難達到消費者的期望。

設計一個測驗計畫，重點在考慮到 AQL 和 LQL 可行的水準下，能將消費者和生產者風險減到最低。舉例來說，假設 AQL 和 LQL 值分別為 99.5% 和 99%（或者說雜質成分分別為 0.5% 和 1%），所需要的測驗計畫應該可以：純度容許標 LQL 小於或等於 99% 的種子批中，至少有 95% 被拒絕（即 5% 的消費者風險），而純度達到或大於 99.5% 的種子批中，至少有 90% 被接受（即 10% 的生產者風險）；上述僅是建立一個測驗計畫時應考慮的準則的例子，實際上這些準則會隨著種子批接受度取樣計畫目標的不同而有所變化。如前所述，AQL 和 LQL 值可以用純度和雜質度的觀點來表示，一般品管的統計學文獻常以缺失所佔百分比來討論，也就是本文的雜質度。本文中的例子會同時提供這兩種測量標準。

評估一個測驗計畫時，對照著建立的標準，可用一種圖表的工具來表示，這種圖表我們叫做 OC(操作特性)曲線 (operating characteristic curve)。圖2的OC曲線描繪一個可能的測驗計畫(實線)，水平軸表示一批種子真實的雜質度，垂直軸則表示接受一批種子的機率。實線顯示出該測驗計畫在各特定的雜質度水準下，一批種子被接受的機率值。圖2測驗計畫的曲線是我們想要的：一批種子雜質度在 AQL 時，被接受的機率高（即生產者風險只有5%），而在 LQL 時它的接受機率則低

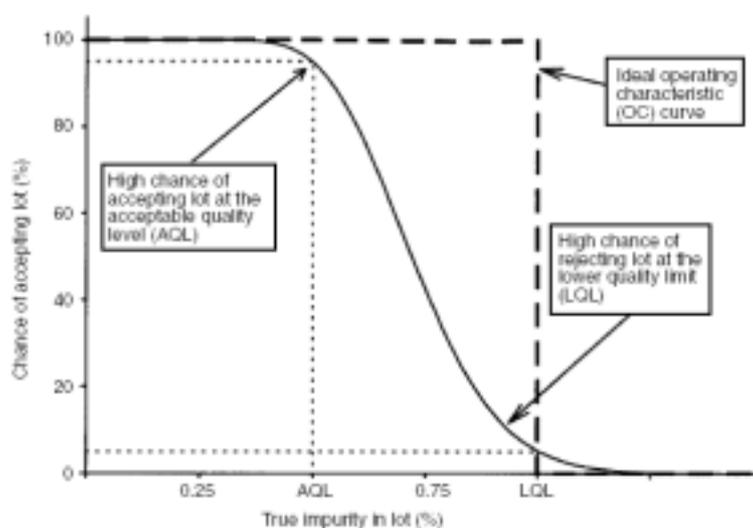


Figure 2. Example of a testing plan operating characteristic curve with low producer's and consumer's risks.

圖 2 一個低生產者和消費者風險的測驗計畫的操作特性曲線。

（即消費者風險只有5%）。理想的操作特性曲線只有當一種子批內的全部種子皆被測驗時才有可能達到；在圖2中以粗虛線表示，用以和所提出的測驗計畫比較。理想的操作特性曲線是當真實的雜質度小於LQL時拒絕一批種子的機率為零，而當真實的雜質度大於LQL時拒絕一批種子的機率為 100%。

接受度取樣的觀念在這裡舉若干例子以做進一步的介紹。在這些例子中皆假設分析的系統可以完美的分辨異常和正常的種子（即分析系統的誤差值為零），稍後會討論當分析錯誤率非零時，如何在測驗計劃中加以考慮。生產者和消費者風險的機率均根據二項分布機率的情況做計算，附錄中提供計算時應用到的公式。只要取樣不超過族群的 10%，二項分布就可以相當合理地預測機率值（Montgomery,1997）。因此只要符合此條件，本文中所描述的分析方法，不論一批種子個數多小均可使用。若條件不符，則可使用超幾何分布 (hypergeometric distribution) 來替代二項式分布，進行類似的計算，雖然較為繁瑣。

若測驗計劃是由一批種子取樣 400 粒，並各別測驗之，當超過 1% 的種子（即 4 粒異常種子）是異常時就拒絕。AQL 和 LQL 值分別設為 0.5% 和 1% 的雜質度（或是 99.5% 和 99% 的純度），此測驗計劃的 OC 曲線見圖 3 的虛線。虛線顯示出此測驗計劃的消費者風險值為 63%，也就是說雜質度為 1% 的種子批有 63% 的機會被接受；同樣的 1.5% 雜質度的種子批有 28% 的機會被錯誤地接受。反之，這個測驗計劃的生產者風險為 5%，也就是說一個雜質度為 0.5% 的種子批，只有 5% 的機會被拒絕。因此本測驗計劃就生產者風險而言是合理的，若以消費者風險的觀點視之，則顯然相當拙劣。若將此測驗計劃改為當樣本中異常種子超過一個時，就拒絕此批種子，此時消費者風險相對地低，但生產者風險則高（見圖 3 細實線，60% 消費者風險）。將測驗的個別種子數目增加至 3000，而異常種子數目可達到 21，則會獲得生產者風險和消費者風險均低的曲線（見圖 3 粗實線）。

表 1 說明在 LQL 在 1% 雜質度下和 AQL 在 0.5% 雜質度下，隨著測驗各別種子的數目和異常種子的容許數目的增加，生產者和消費者風險如何地減少。

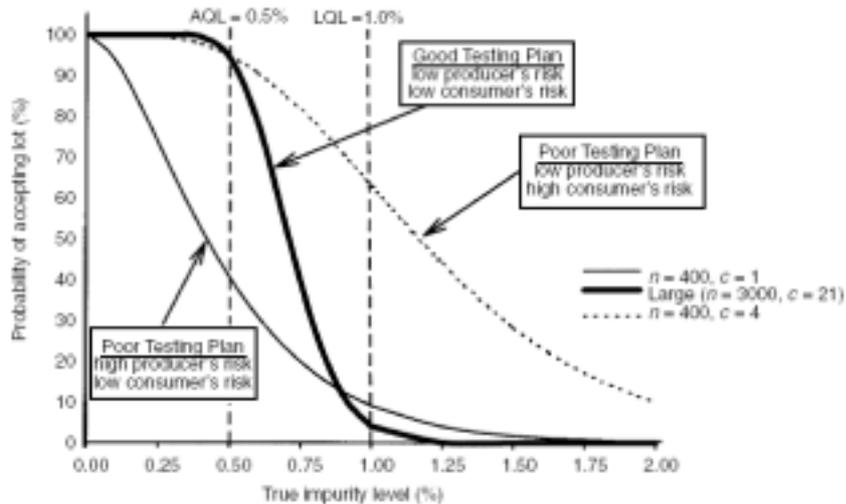


Figure 3. Operating characteristic curves for three different seed lot testing plans with varying producer's and consumer's risks.

圖 3 三個不同的種子批測驗計劃的操作曲線比較，顯示不同的生產者和消費者風險。

許多種子測驗所能使用的資源有限，為求生產者和消費者風險

最小，而要提昇測驗個別種子的數目，這是不實際的。舉例來說，在前例中，若要達到 5% 的生產者和消費者風險，需要測驗 3000 個個別種子（見圖 3 和表 1）；在某些測驗是可行的，例如用視力檢查頑強雜草種子的污染。但是當測驗時需要利用昂貴的基因分析方法，每批種子檢驗 3000 粒的花費，以目前來說並不可行。本文描述混合種子如何減低種子測驗所需的資源，並同時保有夠低的錯誤率。

任何基因純度測驗計劃，在樣本中若找出一粒異常種子，應能拒絕此批種子（即 $c=0$ ）。會使用這種計劃是因為相信樣本中即使只有偵測出一粒異常種子，也就是告訴消費者此批種子是有雜質的。有人認為不該接受一批已知有雜質的種子。一些關於執行這種零容許度測驗計劃的注意事項

是必須的。首先，這些測驗計劃通常帶來非常高的生產者風險；圖 4 可以說明。此測驗計劃以 LQL 雜質度 1.0% 作為門檻來區分種子批。此例中要在 AQL 為 0.5% 和 LQL 為 1.0% 下測驗 400 粒個別種子，並且不接受異常種子。在此零異常種子測驗計劃中，消費者風險很低(即雜質度 1% 的種子批僅有 2% 的機會被接受)，然而，此計劃下生產者風險卻是出奇的高(即在 0.5% 的雜質度下 87% 的種子批會被拒絕)。AQL 值需要從 0.5% 改至 0.01%，消費者風險才能減低到 4%。換句話說，也就是種子的生產必需能使種子純度的範圍達到 99.99% 或更高，這是一個非常困難達到的水準(幾乎不可能)，同時對許多作物的生產而言也是非常不經濟的。零異常種子測驗計劃在或許適合於某些情況，但是要同時考慮消費者和生產者的風險，以決定這樣的一個測驗計劃是否合理。第二，當測驗結果是零異常種子時，常會誤解為整個種子批的異常種子數就是零；其實只有當整個種子批的每一粒單一種子皆被測驗為零異常時，才能結論出種子批中無異常種子存在。這需要一個非破壞性測驗，而且能用到種子批中每粒種子。

表 1 隨者測驗的種子粒數增加，消費者和生產者風險也增加。異常種子數目的拒絕標準大致和測驗種子數目成比例。

Table 1. Consumer's and producer's risks as the number of tested seeds increase. The number of deviant seeds for the rejection criterion is kept roughly proportional to the number of seeds tested

Number of seeds tested	Reject lot if deviants exceed (c)	Producer's risk (%)	Consumer's risk (%)
200	1	26	40
400	2	32	24
800	5	21	19
1600	11	11	13
3000	21	5	5

非隨機抽樣的不確定性

美國 Association of Official Seed Analysts (AOSA, 1998) 指出無論再精準的種子測驗手續，也僅能代表從種子批中所取出的樣品；因此，種子的取樣必須能代表種子批整體的性狀。不幸地，所謂“可代表性”，常是定義不清且並非統計學上的用語；此段則以統計學的觀點，來描述如何得到一個「具代表性」樣品的取樣方法。

樣品中若異常種子所佔的比例和此批種子所預計應有的比例相同，則此樣品可代表這批種子。然而由於取樣的隨機變異，樣本中異常種子所佔的比例常與種子批真實雜質度不同。為了能正確決定先前討論的消費者和生產者風險，除了探討樣本雜質度應多麼接近種子批的雜質度外，也需要討論在樣品中異常種子數目的變異。前段已描述如何用統計的方法將隨機取樣的變異列入一抽樣和測驗計劃，本段則討論，即使在樣品真實雜質度不可能和種子批的雜質度相同之下，如何獲得一個樣品，使其預計的雜質度等同於此批種子雜質度。

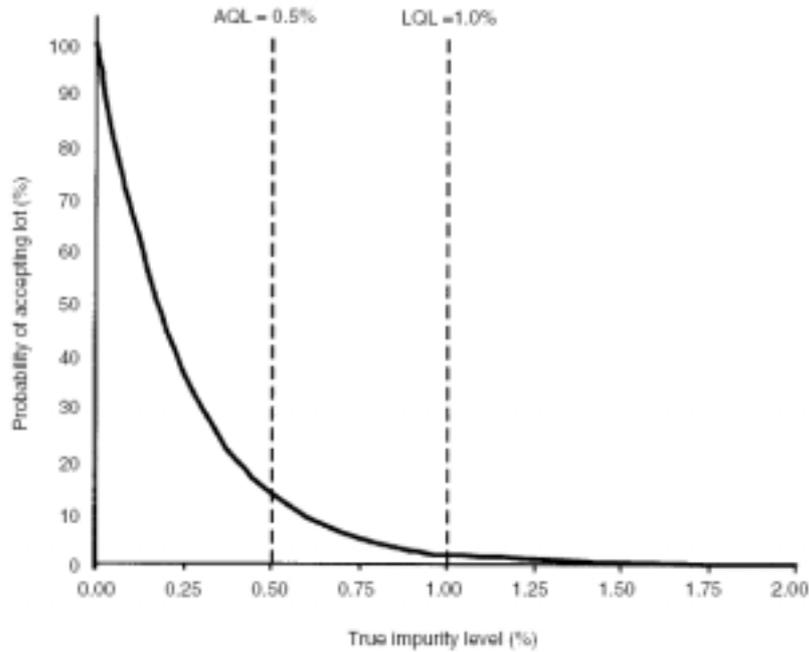


Figure 4. Operating characteristic curve for a zero-deviant testing plan. The curve shows that this type of testing plan generally has a high producer's risk (acceptable quality level = 0.5% and lower quality level = 1.0%).

圖 4 一個零異常種子測驗計劃的操作曲線。由曲線中可知這種測驗計劃的生產者風險通常很高 (AQL=0.5% , LQL=1.0%)

一個完全具代表性的樣本的定義是：使用簡單隨機取樣的方法，從大量的種子批中取出的一個樣品。簡單隨機抽樣意指種子批中的每一粒種子被選入樣品的機會皆是獨立且均等的。舉例來說，從一種子批中隨機的位置取出一匙 2000 粒的種子，這個樣品是隨機抽樣，因為每粒種子被選入樣品的機會均等；然而此樣品卻不是一個簡單隨機抽樣，因為每粒種子被選入樣品中的機會並不獨立，位於種子批南北兩端的種子可能永遠不會同被選入一個樣品；若異常種子在種子批中的位置有相鄰的傾向，則選出的樣品不是無異常種子，就是會具有很高比例的異常種子。這種樣品間的巨大變異（如：0% 或 100% 的樣本純度），和簡單隨機抽樣下用二項式分布來描述是非常不同的。

用於種子檢查的統計方法（見於附錄—未翻譯）和相關的推論皆是假設從一種子批中簡單隨機抽樣而來。若這種抽樣是可行的，即使樣本是異質，二項式分布機率模式也常是有效的。為了獲得種子的簡單隨機樣本，種子批中每粒個別種子可能需要加以標記，也應得以獨立地被隨機選拔，這對任何一個正常大小的種子批來說顯然是不實際的。抽樣方法和簡單隨機抽樣差異的程度，恰好是叫做非隨機抽樣誤差，此誤差導致機率模式無效；接下來所述的抽樣方法可將因非隨機抽樣所產生的效應降到最低。

因為隨機抽樣樣本的不合實際，以下提供減少非隨機抽樣錯誤機率的實用方法。例如，在之前提到的「一匙」法，若此批種子在抽樣前以徹底地均勻混合，那麼此種子批完全同質，那一匙中包含著簡單隨機樣本；不過一批種子通常不會同質，而一個大型的種子批要混合，不會總是輕易可行

的。但是獲得中度同質的種子批是合理的。降低一大批種子中的異質度，可減少非隨機抽樣的影響。異質度高的種子批所帶來的其他問題也需注意；另外，當一種子批並非同質時，其純度值也需小心解釋。

通常樣品的選拔方法儘可能得到簡單隨機抽樣的特徵，不過一批種子在生產過程中，依照抽樣的時間會有不同的方法。例如種子是在田間、在運貨火車、或穀倉中，種子樣品收集的方式會不同。樣品選取計劃會根據種子空間的安排和可行性而有不同的選擇。下述兩種樣品選取方法可適用於許多種子測驗的情況。

種子裝在大型開放式的容器中，如卡車或運貨火車時，可用探管抽樣。探管抽樣法就某種程度而言，和常用的統計抽樣方法，如階層法與團聚法相類似 (Cochran, 1977)。將種子容器的表面劃分成一些看不見的正方形格子，然後使用探管在每一格中抽樣，在種子堆中若干個深度處，以探管取得種子。特別注意的是每一格中取樣點數的多少，應該能使所有的層面都出現於樣本中。在階層抽樣法中，種子批被分成多個小單位，稱為階層，這些小單位應沿著可分開此種子批中各層面的界線來分割，而實際上我們很難知道這些層面正確的界線位置，甚至不確定它們是否存在；因此以探管抽樣法為宜。

在大型密閉式容器，如船中或穀倉內的貨櫃內，則可使用系統性的抽樣法。這種取樣容器不易用於正方形格的格式，不過可在填充或撤空容器時，由持續流動的種子來抽取；例如在種子從穀倉中移出時，由持續流出的種子每5分鐘抽樣一次。如同探管抽樣法，抽樣次數由此批種子預期的層面數決定，若此批種子層面多，(即當空間異質性大時)，取樣的次數也要較多，層面較少的種子批(同質種子)，取樣的次數較少。欲瞭解更詳細的解說和取樣技術，可參考美國農業部 (USDA, Grain Inspection, Packers and Stockyards Administration, 1995a, b) 和國際種子檢查協會 (ISTA, 1999) 的相關文獻。

通常種子純度測驗的目標是評估種子批許多特徵的整體品質。在此考量下，種子樣品(不論採用何種取樣法)可混合在一起成為複合樣品，這複合樣品應均勻混合。由複合樣品中抽樣取出個別或混合種子，以適當的分析方法來進行測驗。

最後，若種子純度測驗的目標是評估種子批中種子品質均勻分布的程度，或測驗出較高雜質度的區域，或是找出某一特定性狀不均勻分布的情形，則不宜混合種子樣品。這種種子批內同質度的分析不在本文討論範圍內。

分析方法的不確定性

前兩段與隨機或非隨機抽樣效應所產生的種子測驗不確定性有關。在為了某些純度特性而進行種子分析的過程中，也會產生種子測驗的不確定性。分析系統包括所有取樣的準備步驟、使用實驗室儀器進行種子物理性質測驗、以及生物分析方法等。本段將討論關於這些分析系統所產生的不確

定性。

通常用多重步驟來準備種子樣本，以供測驗。在這些過程中，樣本皆可能被標示錯誤、污染或處理不當，特別是在測驗混合種子而非個別種子的情況下。許多分析種子DNA和蛋白質的方法需要將種子樣品磨成粉狀。在大量混合種子樣品前，這些種子需要恰當地磨成粉狀，粉粒的大小應能一致地產生同質混合物，以避免分析系統的誤差；此外，其他樣品的灰塵也可能混入粉粒樣本中，而造成分析系統的誤差。

種子樣品準備好之後，用來測驗的實驗室方法也會導致測驗結果有某種程度的不確定性。這些測驗方法的靈敏度和專一度有其限度，這些限度需要加以瞭解。同樣的這對大量混合種子樣品來說是特別重要的，因為微量的雜質度可以偵測得到。

所有這些分析方法不確定性的來源可符合下列二種類型的錯誤率的其中一種：

- 偽正率 (False-positive rate)：一種子或一混合種子事實上不存在某雜質，但測驗結果是存在的可能性。100% - 偽正率通常稱為這個分析方法的專一度。
- 偽負率 (False-negative rate)：一種子或一混合種子事實上存在雜質，但測驗結果是不存在的可能性。100% - 偽負率通常稱為此分析方法的靈敏度。

一個分析方法的所有步驟皆會影響這兩種錯誤率。在許多時候，只要重新測驗一個獨立的樣品，以確認該肯定的結果，就可以有效地降低偽正率。舉例來說，分析系統的偽正率若是5%（此值頗高），用一個獨立自動地重新測試該肯定值，即可以將偽正率降低至0.25%（即 $0.05 \times 0.05 = 0.0025$ ）。測驗轉基因性狀時，若無法用適當的方法將兩種子樣品間所用的研磨器清理乾淨，那麼可能就無法大量降低偽正率，因為來自上一個具肯定值樣品的殘餘轉基因性狀會留在研磨器內。

在種子批測驗之前應先評估偽正率和偽負率，有一些因子可以影響分析誤差率。不同大小的混合種子皆需要加以評估混合種子可以大到什麼程度，而仍能使某一分析方法的偽負率低到尚可接受。偽正率和偽負率皆會導致生產者和消費者風險，所以它們必須小到可以忽略（即1%）。測驗計劃能設計來解釋這些微小的已知誤差率。雖然這種調整有利於發展有效的測驗計劃，但是並不會消除因分析誤差所導致的統計效力的喪失（即分析誤差實質上等同於一個較小且資料較不全的種子樣品），彌補這種錯誤可能需要非常昂貴的大規模種子樣品。

分析的種類和統計學上的應用

目前已發展出一些診斷方法，可偵測種子是否有過轉基因（如 = Monsanto的Yieldgard® event），或者可譯成轉基因性狀（如：昆蟲抗性）的特殊基因。一般而言，這些分析方法分成兩大類。第一類是直接偵測一特殊的蛋白質或目標DNA並於其上附加一個訊號，放大這些訊號使我們可以偵測到目標蛋白質。第二類的分析方法則是事先放大一個特殊的目標，然後直接或非直接地偵測最終產物。設計適當的測驗計劃，主要在於考慮種子測驗過程中，這些診斷方法是否有力，重現度高或低。若診斷的分析顯得不正確，就可能無法預測種子批純度。瞭解診斷測驗的進行，有助於將測驗混合

種子時可能產生的偽正率和偽負率降到最低。

用來測定種子中是否存在某一特定的基因性狀，最常使用的三種診斷方法是酵素免疫檢驗法 enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) (Mason, 1992)、橫流免疫分析法 Lateral flow immunoassays (Hermanson *et al.*, 1992)、和聚合酶連鎖反應(PCR) (Innis *et al.*, 1990)。前兩種方法偵測具有轉基因性狀（如：昆蟲抗性）的蛋白質，是訊號放大方法的例子。PCR是以DNA為基礎的方法，可設計來偵測一個特別事件（如：Yieldgard®）、一個具有轉基因性狀（如：昆蟲抗性）的蛋白質，或存在於一個轉基因作物中的遺傳物質（如35S promoter）。PCR是目標放大方法的例子。

ELISA 和 Lateral flow immunoassays 都需要發展並利用特定的抗體或黏著端，兩者都可偵測來自插入的轉基因所表現的蛋白質目標；這兩種方法都要設計一部分的抗體，用來與特定的蛋白質結合，這些抗體與訊號結合，再經過一系列的化學技術處理來將訊號放大。若特定的蛋白質存在某臨界點或某偵測水準（LOD）以上，則這些被放大的訊號可以輕易地被偵測出來。ELISA 分析法中放大的訊號是產生在液體中（通常設計成 96 個穴盤），在分析中並加測已知的蛋白質標準量，藉以對照決定此樣品中目標蛋白質的含量。使用 Lateral flow immunoassay 測試也使用類似的黏著端抗體，但整個分析程序中，包含訊號的放大，皆是在固體（細長紙片）上進行。若蛋白質在已知臨界點或 LOD 以上，利用 Lateral flow immunoassay 可輕易獲得質的結果（換言之，就是決定一個特定目標蛋白質的存在與否）。在對照測驗中，比較 Lateral flow immunoassay 和已知的標準蛋白質，可以獲得半量化結果。

ELISA 和 Lateral flow immunoassays 的靈敏度由樣品中蛋白質的含量、由種子所抽出蛋白質的品質、所使用抗體的專一性、以及所使用的訊號放大的化學方法所限制；偽正率結果通常是由於抗體黏附性太強而導致專一性不足所造成，偽負率結果則可以因為抗體黏附性不足所致；當樣品中目標蛋白質含量很低時，蛋白質萃取物中就摻有抑制物，妨礙蛋白質與抗體的結合，萃取蛋白質和訊號放大過程中，試劑可能失效。這兩種蛋白質分析方法中，靈敏度水準的建立皆需要考慮混和種子的數目的大小，和種子的種類不同。

PCR分析方法需要發展一對小段特定的DNA引子，或稱為DNA「插記」，並加以使用。這些引子把要被放大的特定目標DNA序列加以定位，只有被這些「插記」包圍的DNA才給予放大。一旦目標DNA被放大到足夠數量時，經一系列的技術處理後可以偵測它們。目標的專一性可以非常高，如在Yieldgard® corn event中，乃是藉由選擇可以放大插入的DNA和植物體本身的DNA之間的區域的DNA引子來發展；也可以選擇用較普遍的PCR分析方法，藉由選擇放大玉米中的某一特定基因，例如一個帶有昆蟲抗性的基因來發展，在許多corn events 中，如Monsanto的 和Novartis的昆蟲抗性玉米產品，都是採用這種方法。隨著採用不同種類的方法，PCR可以提供定性和定量的調查結果。由PCR中最終產物可以提供關於質量上的資料；觀察放大過程中PCR產物的累積，或 real time monitoring，並對照一已知標準的DNA則可以得到數量上的調查結果。PCR技術的靈敏度很高，因為理論上在PCR反應中目標物可放大的數量是無限的，高達十億股或更大的倍數都是有可能。類似PCR的一些可用來使目標物放大的分析方法，可以搭配著一些用來使訊號放大的偵測方法，如此其靈敏度便能高於無訊號放大反應的偵測方法。儘管PCR具有高靈敏度，適當的混合種子大小仍需隨

著不同分析方法而決定，以確保在種子測驗計畫中的分析是可靠的。

非專一性的 DNA 「插記」會造成誤以為有的結果，因此錯誤的、多個目標物、或摻有其他來源而導致樣本中含有低量目標物 DNA (Innis *et al.*, 1990) 等，會被放大。舉例來說，傳統玉米穀粒可能與來自轉基因植株的穀粒粉和植株殘留物相混。在實驗室裡，即使先前經由 PCR 試驗放大的目標物 DNA 也可浮為灰塵，而污染到新的樣本，因此而產生誤以為有的結果。PCR 試驗中產生誤以為無結果的可能原因很多，如 DNA 分解或品質不佳植物或種子材料抽取出的 DNA 中含有 PCR 抑制物、目標物放大不完全、DNA 抽取過程與或目標物放大步驟中試劑不好、或試驗條件不夠嚴謹等。單單只因目標物 DNA 數量不足不太可能造成誤以為無的結果，因為 PCR 放大可以克服這個問題。不過在 PCR 反應中非目標的整體 DNA 數量若太多，會導致抑制，使得低量的目標物 DNA 模板放大不足。

正確的診斷測驗對發展合適的種子測驗計畫是非常重要的。了解如何掌握診斷方法的表現，就可以減少酵素免疫檢驗法 ELISA、lateral flow immunoassay 和 PCR 的分析錯誤率。當某特定診斷測驗的分析錯誤率已知時，這些資訊應該被列入分析的總計算中，以確保在測驗計畫中可獲得正確的消費者和生產者風險估計值。

測驗計畫的選擇

設計一批種子測驗計畫有一些選擇應被列入考慮，如測驗的目標、預算和時間資源；在考慮消費者和生產者風險下要設計可行的測驗計畫，必須要有一些重要的估計值如 AQL、LQL 和已知分析系統的錯誤率等。本段針對一個測驗計畫的設計，提出一些選擇以供參考。混合種子的使用和二階段測驗計畫是兩個選擇，在某些情況下可以減少測驗的時間和經費。偽正率和偽負率如何影響測驗計畫的結果也在本段中討論。

混合種子的測驗

種子測驗的花費可能相當龐大，舉例來說，針對有無經過轉基因或其性狀存在與否，分別測驗 400 粒種子，可能需要相當人力和為數不少的試劑；以混合種子替代個別種子，通常可以節省資源。例如，400 粒各別種子可以以 10 粒分成 40 份，每份混合種子可以磨成均質粉粒混合物，然後針對轉基因性狀來測試，不用每粒皆試。這樣分析時所需的花費和數目便減少十倍。圖 5 中顯示，拒絕標準是當各別種子或混合種子粒數大於或等於 4 時，即拒絕此種子批，此時各別種子測驗計畫和混合種子測驗計畫的測驗計畫屬性相似（即生產者和消費者風險基本上是相同的。）

因為產能最高的蛋白質和 DNA 分析系統質的特性，當一特殊性狀的缺少就是「純的狀態」，異常種子的出現就視為不純，此時混合種子是最有效的方法。若測驗的目的是為了確保在某一高純度水準下，具有一特定的性狀（如：轉基因種子批純度測驗），那可能就需要取各別種子進行測驗。當測驗混合種子時，許多現今採用的分析方法系統只能提供質的調查結果，（如：存在與否），因此無法估計混合種子中具有某一特定轉基因性狀的種子數目。質的分析只能判定混合種子中具有轉基

因性狀的種子是否為一個以上。

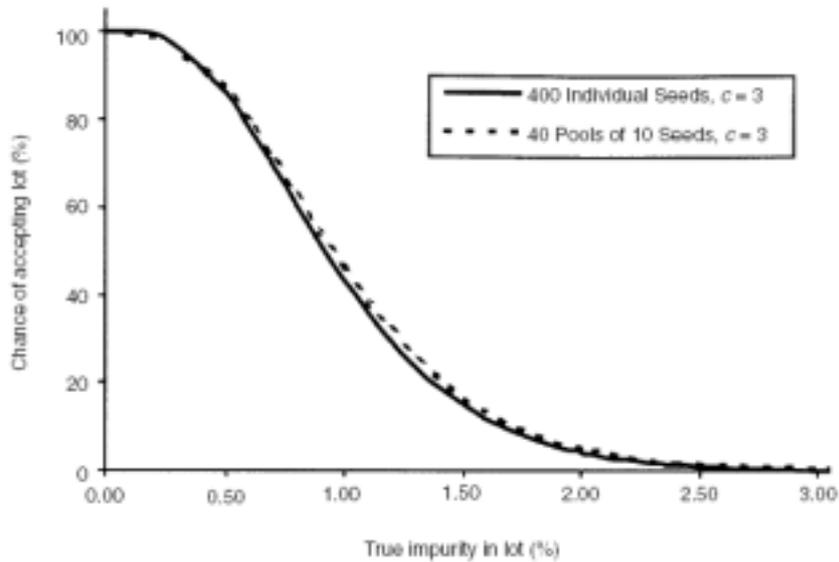


Figure 5. Virtually identical operating characteristic curves for an individual seed testing plan and a seed pool testing plan. Note that the total number of seeds tested remains the same.

圖 5 實際上個別種子測驗計劃和混合種子測驗計劃的操作特性曲線相同。注意測驗的種子總粒數是相同的。

為了減少花費，採用大量的混合種子對於一個測驗計畫來說似是有利的，因為如此需要較少的分析系統。使用這些測驗計畫時要留意，可能產生很高的生產者風險；除此之外，這些測驗計畫結果的分析系統錯誤率也可能很高，因為蛋白質或目標物 DNA 可能會在大數量的混合種子中被稀釋。這些錯誤率對消費者和生產者風的影響可能很大(尤其當測驗少數幾個大數量的混合種子時)，也應該在設定一個混合種子數目大小前，和可能的測驗計畫一起仔細考慮。如何將這些分析系統的錯誤率列入測驗計畫，將於稍後舉例討論。圖 6 表示出兩個使用混合種子的測驗計畫，其一測驗 60 份混合種子，每一份由 50 粒種子組成，可容忍最多 17 粒異常種子；另一個測驗計畫則測驗 6 份混合種子，每一份由 500 粒種子組成，並可容忍最多 5 粒異常種子。兩個計畫皆測驗總數為 3000 的種子，雜質度在 AQL 為 0.5% ，LQL 為 1.0% 。每份混合種子含有 50 粒種子的測驗計畫的消費者風險為 5% 而生產者風險為 10% ；而每份混合種子含有 500 粒種子的測驗計畫的消費者風險則為 5% 而生產者風險頗高，為 60% 。

若實際上的 AQL 值非常小(即圖 6 中 AQL 和 LQL 再分開)，圖中顯示的每份混合種子含有 500 粒種子的測驗計畫可能是一個合理的計畫。在前一個例子中 AQL 為 LQL 的一半 (AQL=0.5% ，LQL=1.0%)，若 AQL 可為 LQL 的十分之一，則這個大數量的混合種子測驗計畫，以風險而論可能是較合理的。若 AQL 為 0.1% ，則生產者風險從 60% 降至小於 1% ；為了降低 AQL 至此水準，種子生產者必須確信他們生產用來測驗的種子批，大多數的雜質度是 0.5%(純度是 99.5%)或更佳。

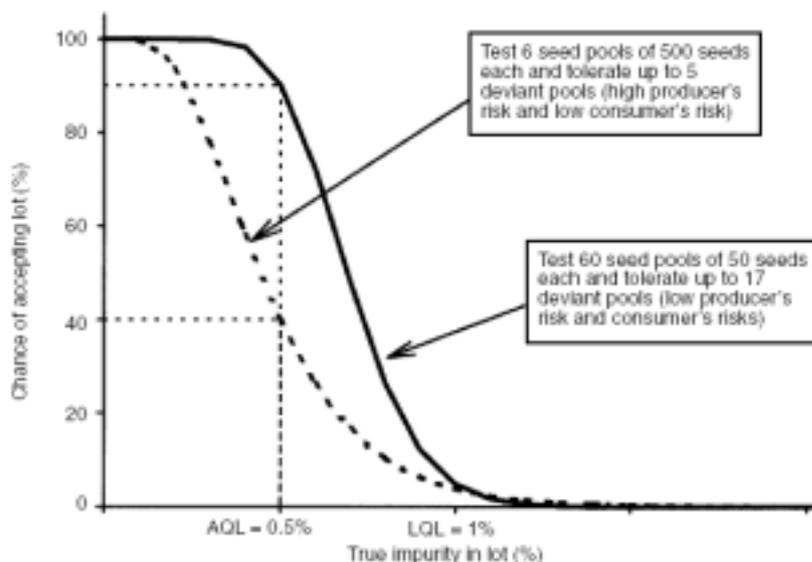


Figure 6. Operating characteristic curves for two large seed pool testing plans. The testing plan with the pool of 500 seeds has more difficulty reducing producer's risk levels.

圖6 兩個大型混合種子測驗計劃的操作特性曲線。含有500粒的混合種子較難降低生產者風險。

當測驗一個大數目的混合種子時，注意可能會產生非直觀的拒絕標準也是很重要的。舉例來說，圖6中的測驗計畫是建立在這6份含500粒種子的混合種子的消費者風險很低的基礎下，但此時這6份混合種子中，有5份會被視為異常的混合種子。這樣的拒絕標準對消費者而言，是無法直接瞭解的，接受這麼多異常混合種子的種子批是有理由的。若一種子批的雜質度水準是在LQL（如：1%雜質度），可以預期此份含500粒種子的混合種子中，平均會有5粒異常種子被測驗出來，因此此份混合種子被測驗為異常的（一個或更多個種子具有雜質的特徵）。這表示我們可預見多數的混合種子，測驗結果被視為異常，即使當種子批中真實的雜質度是等於或略小於1%的LQL時亦是如此。

單階段和雙階段測驗計畫

種子批測驗所採用的階段次數，可影響花費和測驗中其他的資源。一個單階段測驗計畫，就如其名，只有一個測驗階段。這表示樣品從種子批中取出後只經過一次評估，就根據結果決定接受或拒絕一個種子批。本文中前面所舉的例子，全部都是單階段測驗計畫。

在單階段測驗計畫中，特定數目的各別種子或混合種子隨機的從種子批中取出並測驗，最後觀察各別種子或混合種子中異常種子的粒數；若異常種子粒數超過此計畫中預定的異常種子數，則拒絕此批種子，若無超過則接受此批種子。

雙階段測驗計畫則較單階段測驗計畫複雜，但仍然可以減少花費和其他測驗資源。雙階段測驗通常在第一階段測驗較少的種子，第二階段測驗較多，這可以藉由增加原先可能被省下來的抽樣和測驗資源的數量來達到，第一步測驗中由樣品取出次樣品並加以評估；根據此評估可導致三種結

論：(1)接受一批種子、(2)拒絕一批種子、或(3)從樣本中抽取出第二批次樣本並重新測驗，並結合第一和第二階段測驗結果，以決定接受或拒絕此批種子。

因為第一階段測驗產生三種，第二階段產生兩種結論，所以兩階段測驗的拒絕/接受標準和單階段測驗者不同。第一種結論是由第一階段取樣的接受標準所判定，以 c_1 表示，為僅由第一階段測驗即可接受一批種子時，該批種子所能含有的最大量的異常種子數。第二種結論是根據拒絕度標準，以 c_2 表示，若在第一階段測驗中異常種子數目超出，則拒絕此批種子。若在第一階段抽樣所得的異常種子數較 c_1 大但未超過 c_2 ，則樣本需要進行第二階段測驗來評估，此時最後的第三種結論則結合第一階段和第二階段所得的異常種子總數來判定；若總數超過標準值 c_3 ($c_3 > c_2$)，則拒絕此批種子，反之接受。在許多標準品管教科書（如 Montgomery, 1997）中所描述的二階段測驗計畫裡，第一和第二階段中的拒絕標準必定是相等的（即 $c_3 = c_2$ ）。為了一貫性，本文中也採用此簡化方法；使用單一拒絕標準簡化了測驗計畫，也不用為了找出合適的二階段測驗計畫去進行計算。無論如何要注意，若容許 c_3 值超過 c_2 值，有時效率會增進。

若種子批中雜質度相對於 AQL 和 LQL 不是很高就是很低，雙階段測驗計畫是很划算的；落在此範圍外的種子批，一般在第一階段都能被分類（拒絕或接受），因此節省下許多時間和抽樣的資源。唯一需要第二階段測驗的種子批是那些測驗結果和標準值接近的種子批（即接近或落在 AQL 及 LQL 值之間）。另一方面，若預期大多數的種子批接近 AQL 或 LQL，那麼就可能需要雙階段測驗來重新測驗大多數的種子批，此時雙階段測驗計畫就較不划算了。此計畫在第一階段測驗所需的樣品數為 n_1 ，在第二階段為 n_2 ，測驗所需的預期花費為 EC，則 EC 可用下列模式表示：

$$EC = Q_1 + n_1 B_1 + P_{retest} (Q_2 + n_2 B_2 + T)$$

此處 Q_1 和 Q_2 各別是種子測驗第一階段和第二階段中的固定花費， B_1 和 B_2 是在兩個階段中每粒種子或混合種子的測驗花費， P_{retest} 是重新測驗的機率值， T 是為對種子批做出最後決定，等待第二段測驗所需要的時間。通常 $Q_1 = Q_2$ ， $B_1 = B_2$ ，但並非總是如此。若最大的花費是每粒種子或混合種子測驗所需的費用（即 B_1 和 B_2 ），兩階段設計的花費通常不會超過單階段者—即使 P_{retest} 近似於 1 也是一樣。然而，若每一個新的測驗都需要昂貴的準備工作（ Q_1 和 Q_2 ），或者時間延遲（ T ）的費用高，此時若重新測驗的機率值很高，那雙階段測驗的效率可能就會減低。

圖 7 描述雙階段測驗計畫的操作特性(OC)曲線。圖中虛曲線表示在種子批真正雜質度下，在測驗計畫中一批種子需要在第二階段重被測驗的機率。本曲線顯示，種子批雜質度若小於 0.5% 或大於 3%，通常在第一階段測驗中即可被分類。唯一需要在第二階段繼續進行測驗的是雜質度接近 0.5% 或 3% 或在兩者之間的種子批。若待測的種子批雜質度值在這個範圍之外，則此測驗計畫相當有效率。

表 2 包含了五種測驗計畫的例子，此例中每一個測驗計畫的 LQL 和 AQL 分別為 1% 和 0.5% 的雜質度，第一、第二和第五測驗計畫是單階段計畫，而第三和第四個計畫則使用雙階段測驗計畫。

第一個測驗計畫中各別測驗了 3000 粒種子（一個混合種子批），若測驗結果異常種子數目等於或小於 21，則接受該種子批；雖然這種測驗計畫對於許多分析系統，是非常不實際的，但此處

是作為和其他四種測驗計畫比較的基線。這些計畫的生產者和消費者風險皆為 5%（以生產者和消費者風險的信賴度各為 95% 來決定）。

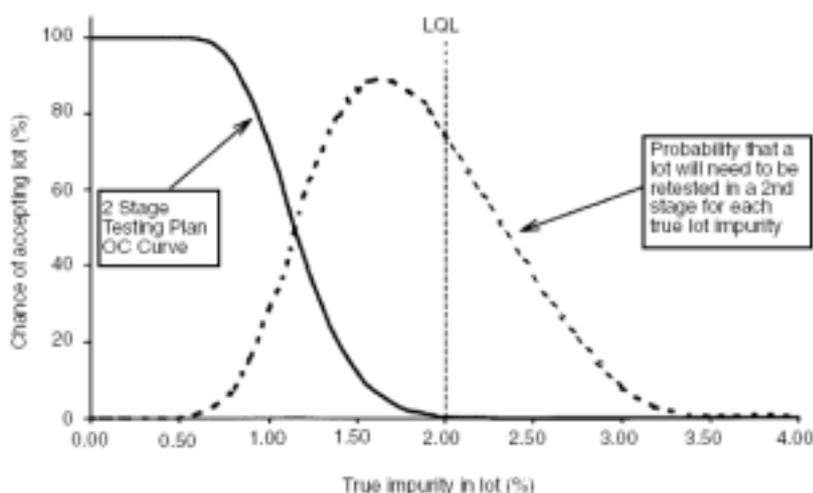


Figure 7. Operating characteristic and retesting probability curve for a two-stage testing plan. Note that lots with true impurity below 0.5% or above 3% will rarely need to be retested in a second stage.

圖 7 一個雙階段測驗計畫的操作特性和重新測驗機率曲線。真實雜質度小於 0.5% 和大於 3% 的種子批需要在第二階段重新測驗的機率很小。

表 2 數個種子測驗計畫例子。(LQL=1%，AQL= (0.5%)

Table 2. Seed testing plan examples (LQL = 1%, AQL = 0.5%)

Testing plan	Number of assays		Seed pool size	c_1^*	c_2^*	Producer's risk (%)	Consumer's risk (%)	Retest rate at AQL (0.5%) (%)	Retest rate at 0.1% impurity (%)
	First stage	Second stage							
1	3000	-	1	-	21	5	5	-	-
2	60	-	50	-	17	10	5	-	-
3	30	30	50	5	17	10	5	68	0.3
4	30	60	50	6	26	5	4	51	0
5	10	-	300	-	7	61**	1	-	-

* c_1 and c_2 are the acceptance/rejection criteria for the testing plan. If the number of deviants (seeds or seed pools) does not exceed c_1 after the first stage of sampling, then the lot is accepted. If the total number of deviants exceeds c_2 after the first or second stages, then the lot is rejected.

**This producer's risk is reduced to 3% if the AQL = 0.2%, which would make this a reasonable testing plan.

表 2 中的第二個測驗計畫為一個單階段測驗計畫，測驗 60 份混合種子，每份中含有 50 粒種子；此處同樣測驗 3000 粒種子，但使用的分析系統從 3000 個降為 60 個，消費者風險仍為 5% 而生產者風險則增為 10%，含有 0.5% 雜質度的種子批將會有 10% 的次數被拒絕。

表 2 中的第三個測驗計畫則使用雙階段測驗計畫。第一階段中估計 30 份各 50 粒種子的混合種子，若混合種子中等於或小於 5 份含有個異常種子，可以接受此批種子，不需要繼續任何測驗；若第一階段測驗後含有異常種子者大於 17 份，則拒絕此批種子。第一階段測驗後，含異常種子份數介於 6 到 17 之間，就需要繼續估計另外 30 份各含有 50 粒的混合種子；若結合第一階段和第二階

段測驗，含異常種子份數超過 17，則拒絕此批種子；否則在完成第二階段測驗後即接受此批種子的。第三個測驗計畫中，消費者和生產者風險等於第二階段測驗計畫中者（分別為 10%和 5%），但在此計畫下，雜質度 0.5%的種子批中有 68%需要重新測驗；若種子批的真實雜質度小於 0.2%或大於 3%（即重新測驗率為 6%），這種測驗計劃很經濟。這種類型的種子批，大多數在第一階段測驗時就被分類，即可省下一半的測驗資源；若大多數種子批的雜質度在 0.5%和 3%之間，那麼這種雙階段測驗計畫就不怎麼節省。

表 2 的第四個測驗計畫在第一階段測驗 30 份含有 50 粒種子的混合種子、第二階段測驗 60 份含有 50 粒種子的混合種子，若第一階段測驗出含異常種子的份數不超過 6 個，則接受此批種子；若結合第一階段和第二階段測驗結果得到含異常種子的份數超過 26 個，則拒絕此批種子。這個測驗計畫下，雜質度水準等於或小於 0.5%的種子批在第一階段中，有 50%會被接受，其消費者和生產者風險和做為基線的第一個測驗計畫者相當接近（即消費者和生產者風險等於 5%）。

表 2 中第五個是單階段測驗計畫，測驗 10 份混合種子，各含有 300 粒，測驗結果若含異常種子的份數不超過 7，就接受該種子批。此測驗計畫的消費者風險為 1%，是非常合理的；然而生產者風險卻為 61%，這是因為和測驗計畫 2、3、4 相較，其混合種子的量太大所致。但若將 AQL 值從 0.5%改至 0.2%，生產者風險則會從 61%降為 3%，如此此測驗計畫就變得相當合理。

除了單階段和雙階段測驗計畫外，還有其他類型的種子測驗計畫，逐次測驗計畫就是其中之一。在逐次測驗計畫中，接受測驗的種子或混合種子數目不固定，一個各別種子或混合種子接受測驗，當每個樣本都被測驗後，分析來自所有樣本的數據，判定是否已足夠分類此批種子；若無法分類時則繼續取樣測驗，直至所得的數據足夠將此批種子分類。在這樣的計畫中判定法則的建立，要在測驗前設定 AQL 值和 LQL 值。連續型計畫的細節本文不做詳述，因為作者認為對大多數種子批而言，逐次測驗計畫不太實際。

分析系統錯誤的影響

至目前為止，本文中所討論的測驗計畫例子都假定分析系統的偽正與偽負的錯誤率為零。但因為通常的情況並非如此；本段簡要討論在測驗計畫中這些分析錯誤結果的影響。特定大小的混合種子，要先測定其分析系統錯誤率，才能研擬可信的測驗。

如我們的直覺所判斷，偽正率不利於消費者風險，而偽負率不利於生產者風險，這些效應的大小由分析的數目和錯誤率本身的大小所決定。表 2 中的第二個測驗計畫，在假設錯誤率等於零的情況，其消費者風險為 5%；若實際上分析系統的偽負率為 5%，消費者風險則會增加到 9%；若偽負率增為 10%，消費者風險則會增加到 15%。附錄中提供公式，可將這些錯誤率納入測驗計畫中。

在一些情況下，可以調整測驗計畫，使其錯誤率低而且仍保有合理的消費者和生產者風險；但要在錯誤率已知的情況下。在種子批接受測驗前，要先在實驗室中進行測驗，來估算錯誤率；可以進行包含多個測驗設備的連環（多實驗室）測驗，來合理地估算偽正與偽負率。連環測驗需要可觀

的資源和時間精力，才能合理地估算分析方法錯誤率。

種子批雜質度的估計

種子批接受度取樣的主要目的是將種子批劃分為接受或拒絕的類別中，據此，雜質度水準的估計是次要的。在種子批接受度取樣測驗中，最重要是判定一已知大小的種子批中，其雜質度水準是在標準之上或之下。種子批雜質度的估計是為了要計算出真實雜質度值是落在哪一段範圍或是信賴區間之內，特別注意種子批雜質度的估計並不需要預先訂出一個門檻值。

種子批分類和種子批雜質度估計之間有很大的關聯，我們將用一個實例來討論。假設種子生產者希望確保他販售的種子批中，在 95% 的可信度下某一轉基因性狀的出現率小於 2%。在分類此批種子時，單從測驗的結果，就可判定接受或拒絕這批種子；若接受這批種子，就可宣告這批種子在 95% 的可信度下，轉基因性狀出現機率小於 2%，這也表示其估算雜質度信賴區間的上限是等於或小於 2%。反之，若我們將重點放在種子批雜質度的估計，就要根據附錄所提供的公式，先估計種子批雜質度。這項估計值是由測驗結果計算出種子批的預期雜質度，然後再計算此雜質度估值的 95% 信賴區間上限；至於種子批的真實雜質度，可以預期是有 95% 的信心不會超過此上限，若信賴區間上限大於 2% 的門檻，則拒絕此批種子；若小於 2% 就接受此批種子。

種子批純度的估計方法提供更多資訊，因為該方法計算出 95% 信賴區間上限，而非僅指出這個 95% 的信賴區間上限是大於或小於 2% 的門檻；使用這種拒絕／接受準則，兩批種子可能同時都被接受，所以判定其雜質度皆大於 2%。但是若計算 95% 信賴區間上限，可能其中一批的上限是 1.9%，另一批可能是 0.5%。因此種子批雜質度的估計，雖然需要一些計算，但確實比分類一批種子能提供更多關於種子批的資訊。附錄中提供計算雜質度水準信賴區間上限的方法。

結語和應用

我們希望藉本文能使讀者對於種子批接受度取樣中一些統計方面的知識有進一步的瞭解。本文中所提出的一些觀念和方向，可以幫助我們設計一個恰當的測驗計畫，以降低消費者和生產者風險。

不同的套裝軟體有助於建立測驗計畫，可利用試算表已有的函數，外加一些使用者定義的函數，來將計算過程寫成程式。作者把附錄中的公式以程式寫入 Microsoft Excel® 的試算表中，除了用來計算本文的測驗計畫，實際上也能協助客戶設計出恰當的測驗計畫。這個試算表可從 SeedQuest 的網站 (<http://www.seedquest.com/best/spreadsheets>) 中下載。圖 8 顯示表 2 中的測驗計畫二（加入了 1% 的檢驗偽負率），以說明如何使用這種試算表；陸續輸入測驗計畫的資料（雙階段或單階段）、混合種子份數（‘# of Batches’）、混合種子大小、LQL、AQL、及拒絕／接受的標準。試算表就可以計算出 OC 曲線，以及分別在 AQL 及 LQL 下的消費者和生產者風險；同時還可以將已知的分析錯誤率輸入，以瞭解在測驗計畫中，該錯誤率對消費者和生產者風險的影響。本例中輸入 1% 的偽負率，來顯示消費者和生產者風險受到的影響。測驗計畫二在圖 8 中的風險值和表 2 的不同，是因為輸入一個 1% 的假隱性錯誤率所造成。

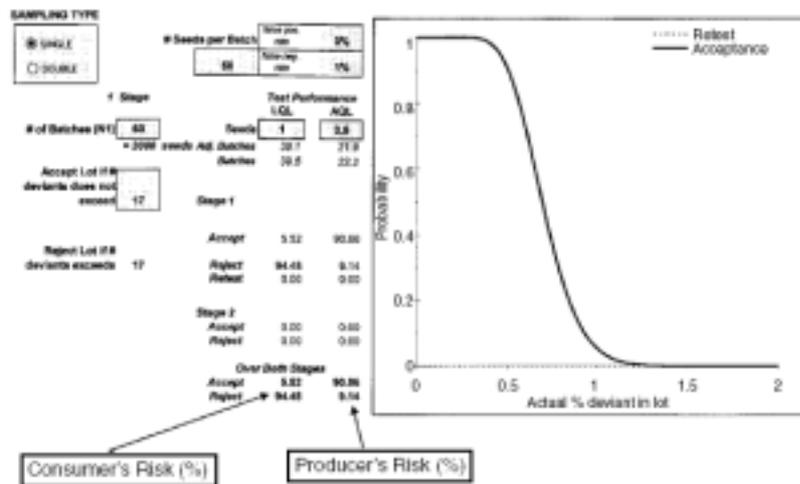


Figure 8. Example of a spreadsheet implementation of formulas in the Appendix. Testing plan 2 in Table 2 is used in this example. A 1% false-negative rate is input for this example.

圖8 以表2中的測驗計劃2為例，應用附錄所提供公式的試算表。此例中輸入的偽負率為1%。

美國農業部（USDA）的Grain Inspection, Packers and Stockyard Administration (GIPSA)部門在其網站中（網址：<http://www.usda.gov/gipsa/biotech/biotech.htm>）提供了一個應用試算表，其功能和本文作者所提供的試算表相同。這個Microsoft Excel® 應用試算表叫做*Sample Planner*。雖然這個程式是專為測驗穀物所設計，但對種子測驗公司和種子科學研究而言，仍具有實用價值；這個試算表就可以直接用來測驗單階段測驗計畫下的生產者信賴區間（即1-生產者風險）；同樣地，若輸入LQL以替代AQL，則「接受此AQL的機率值」為其消費者風險。

本文所討論的，根據純度測驗結果來決定接受或拒絕種子批，此決定是否有效，主要關鍵在於取樣和測驗計畫的假設是否有效。若假設不對，消費者或生產者風險相關，以及相關的決定都可能被誤導；由此可知其重要性，故在此重述一些重要的假設。

- 種子批的純度在整個種子批中是相當同質的。種子要處理的，使種子批內品質的變異小於批間的變異。舉例來說，一種子批內的種子是要來自一生產者的同一田區中的種子，而非來自不同田區的混合種子。這樣才能對於一種子批有完整的定義，也使測驗結果較非簡單隨機取樣測驗更有力。
- 樣本的品質特徵要能代表此種子批的品質特徵。一個抽樣計畫要儘其可能模仿一個簡單隨機取樣計畫；當使用混合種子時，研磨的粉粒一定要均勻混合，如此由之取以分析的部分，其特徵方能代表整個混合種子者。
- 分析系統偽正與偽負率要小。這些推論的確實性要仔細考慮，舉例來說，測驗計畫中若混合種子太大，其偽負率可能太高而無法接受；一些測驗方法很敏感，如聚合酶連鎖反應（PCR）可將DNA目標放大至十億股，容易產生誤以為有的結果。樣品內或在實驗室內，由其他來源而來的少量異常種子，也可能含有特定的目標，會被PCR分析方法偵測到，而產生誤以為有的結果（如種子污染上病毒或細菌，可能在PCR測驗中與35S引子交互反

應)。這些錯誤率應該進行試驗加以量化，並且放在測驗計畫中來校正，以彌補這些錯誤率，同時仍能兼顧合理的消費者和生產者風險。

References

- AOSA** (1998) *Rules for testing seeds*. Columbus, Ohio, Association of Official Seed Analysts.
- Cochran, W.G.** (1977) *Sampling techniques* (3rd edition). New York, John Wiley.
- Hermanson, G.T., Mallia, A.K. and Smith, P.K.** (1992) *Immobilized affinity ligand techniques*. San Diego, Harcourt Brace Jovanovich.
- Innis, M.A., Gelfand, D.H., Sninsky, J.J. and White, T.J.** (1990) *PCR protocols: A guide to methods and applications*. San Diego, Harcourt Brace Jovanovich.
- ISTA** (1999) *International rules for seed testing rules 1999*. Zurich, Switzerland, International Seed Testing Association.
- Johnson, N.L., Kotz, S. and Kemp, A.W.** (1993) *Univariate discrete distributions* (2nd edition). New York, John Wiley.
- Lindley, D.V.** (1970) *Introduction to probability and statistics from a Bayesian viewpoint, part 2. Inference* (1st edition). Cambridge, Cambridge University Press.
- Mason, M. M.** (1992) *Immunochemical protocols. Methods in molecular biology*, Vol 10. Totowa, NJ, Humana Press.
- Montgomery, D.C.** (1997) *Introduction to statistical quality control* (3rd edition). New York, John Wiley.
- USDA Grain Inspection, Packers and Stockyards Administration** (1995a) *Mechanical sampling systems handbook*. Washington DC, USDA. (<http://www.usda.gov/gipsa>)
- USDA Grain Inspection, Packers and Stockyards Administration** (1995b) *Grain inspection handbook: Book 1*. Washington DC, USDA. (<http://www.usda.gov/gipsa>)