

植物新品种保护与 DUS 测试技术

李晓辉¹, 李新海², 张世煌²

(¹东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030; ²中国农业科学院作物育种栽培研究所/农业部作物遗传育种重点开放实验室, 北京 100081)

摘要: 论述了植物新品种保护与 DUS 测试技术, 探讨建立适合我国国情的植物新品种保护测试体系, 并展望其应用范围及前景。

关键词: 植物新品种; DUS 测试; DNA 指纹图谱

094 A

New Plant Variety Protection and DUS Testing Technique System

LI Xiao-hui¹, LI Xin-hai², ZHANG Shi-huang²

(¹ College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin 150030; ² Institute of Crop Breeding and Cultivation, Chinese Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Crop Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture, Beijing 100081)

Abstract: DUS testing technique system on plant variety protection was reviewed, and some suggestions were made on how to establish the appropriate technique system in China. Meanwhile, the potential exploitation of the technique system was also discussed.

Key words: New plant variety; DUS testing technique system; DNA fingerprinting

随着植物育种和种子贸易的发展,对植物新品种进行保护的重要性越来越突出。开展新品种保护的技术支撑条件是建立新品种特异性(distinctness)、一致性(uniformity)和稳定性(stability)测试体系。DUS 测试是植物新品种保护的技术基础和授权的科学依据。

1 国外植物新品种保护与 DUS 测试技术

发达国家早已建立并应用 DUS 测试技术对植物新品种进行知识产权保护^[1-3]。然而,各国的 DUS 测试内容和形式不尽一致。

从形式上看,国外 DUS 测试主要有 3 种形式:官方测试、育种者测试以及二者相结合的测试。官方测试是在固定场地由植物品种保护主管机关进行实际的测试工作,例如在德国,其替代方式是主管机关可以就测试工作与另一个组织签订合同。例如在英国,植物品种权办公室就 DUS 测试工作与 NIAB (national institute of agricultural botany) 签订合同。育

种者测试是由育种者在自己的土地上进行种植测试,其替代方式可以选择在其他方便的场地进行测试。美国、澳大利亚和加拿大是由育种者组织测试的国家。但在美国,育种者测试完全是由育种者组织实施,植物品种保护机关只对育种者提供的信息进行书面审查;而在澳大利亚和加拿大是由植物品种保护机关安排审查员到育种者的试种地进行考察。不同测试方式结合应用,其目的往往是对不同的植物种群进行测试^[4]。

从内容上看,很多国家都对品种权的审查有自己的法规,国家之间授权的技术标准亦不同。美国是世界上用专利进行植物新品种知识产权保护的为数不多的国家。美国种子产业中与保护新品种权直接相关的法规主要有 2 部,即植物品种保护法和专利法,包括植物品种、亲本材料、生物技术在内都可以申请专利保护。美国在应用 DUS 测试技术的同时,近年来增加了有关“主体衍生品种”(essentially derived variety, EDV)法规^[5,6]。在 1971 年,法国成立了品种、种子专营机构 GEVES (groups for the study

收稿日期:2002-01-30

基金项目:科技部重点资助项目(K2000-20-43)

作者简介:李晓辉(1977-),男,黑龙江肇东人,硕士研究生,主要从事玉米分子标记技术研究。张世煌为通讯作者, Tel: 010-68918596; Fax: 010-68975212; E-mail: cshzhang@public.bta.net.cn

and controls of variety and seed),主要负责4方面的工作:植物新品种注册;植物育种者权利的法律保护;种子商品化前的认证;种子检测、品种 DUS 测试和品种 VCU 评价(VCU,value for cultivation and use,相当于区域试验和品种审定)^[7]。英国农作物品种采用认证登记制度,并于1976年成为法规。推广种植(至少是进口贸易)的植物品种必须在《英国国家目录》中登记,而进入这个目录则必须进行农艺性状 VCU 和 DUS 两项测试;要得到《植物育种家权利》保护的品种只需进行 DUS 测试^[8]。匈牙利农业质量控制的重要内容之一是 DUS 测试,包括建立新的方法(差异百分比);调查不同植物新品种 DUS 测试特性;研究不同特性类型间的最小差异^[9]。

2 我国植物新品种保护与 DUS 测试技术

分散的农户经营方式使我国农业生产的社会效益很大,而其自身效益却很低。这决定了农业科研成果(尤其是植物新品种)转化、开发和知识产权保护的艰难。早在1984年我国就颁布了专利法,但未将植物新品种列入保护范围之内。直到1997年3月,我国才公布了《中华人民共和国植物新品种保护条例》。在此之前,我国虽曾建立了品种审定(对生产负责)制度,但与植物新品种保护之间存在着明显的差异^[10]。1999年4月23日我国正式加入《国际植物新品种保护公约》(1978年文本),成为UPOV第39个成员国,开始正式受理国内外植物新品种权的申请,为此应迅速建立审查和测试的技术体系,使植物新品种保护工作尽快付诸实施。

3 建立我国植物新品种保护测试技术体系

3.1 根据我国国情,研究借鉴国外植物新品种保护测试技术

美国、欧洲和日本等地开展植物新品种保护工作较早,有丰富的经验和得力的实施措施。研究借鉴国外植物新品种保护的测试技术,对建立我国植物新品种保护的测试技术体系,缩小与发达国家的差距,以及抢占国际市场都有重要意义^[11],同时有利于品种的登记保护、品种更新和品种资源的充分利用^[12]。

3.2 建立植物新品种保护的配套法规、信息咨询和服务体系

截止2001年2月,我国已按照国际标准完成了

对植物新品种进行保护的立法程序。1999年5月,科技部、农业部和国家林业局与UPOV合作召开了“技术创新与植物新品种保护”国际研讨会,进一步交流了在现代生物技术快速发展的新形势下,技术创新与植物新品种权保护方面的经验^[5]。此外,我国相继建立了农业部植物品种保护办公室及其代理机构,开通了新品种保护相应的网站:www.agri.gov.cn→科教园地→新品种园地,极大地方便了信息咨询。国家植物新品种保护审查测试机构还在北京设立测试中心,在全国10个农业一级种植区下设分中心,形成了完善的审查测试技术的服务体系。

3.3 制定我国植物新品种保护 DUS 测试指南

UPOV的DUS测试指南,简洁明了、实用性和可操作性强。以其为范本,制定适合我国植物新品种保护的DUS测试指南,具有重要意义。然而,在与国际标准接轨的同时,还要考虑到我国农业生产的特点,使新品种DUS测试指南真正保护民族种业的生存与发展。

在DUS测试指南中,应把特异性检测作为测试的重点,并与一致性和稳定性有机结合起来。在特异性检测过程中,应兼顾新旧品种育种者权益,力求偏重认可质量性状差异,对数量性状差异持慎重态度。为此,在性状选择上,应以受环境影响小、测试条件简单可靠、适宜描述的植物学形态特征为主,以农艺性状为辅,抗逆、品质和经济性状为备选性状。对于国外植物新品种保护中出现的性状,应有预见性加以选取。同时,在性状选择中应尽量选取易于定性分析的质量性状,减少或尽量避免难于权衡的数量性状。在性状认可上,应分为强制性、辅助性和参考性性状3类,后者则随认可程度逐步升级。在性状分级描述方面,选择无争议或争议小、简单可靠的描述语言,应根据实际情况分级,力求灵活实用。此外,指南中还应对测试条件、方法和程序做详细说明,并且对可能出现的新问题提出基本的处理原则与对策。

3.4 利用生物技术进行植物新品种保护

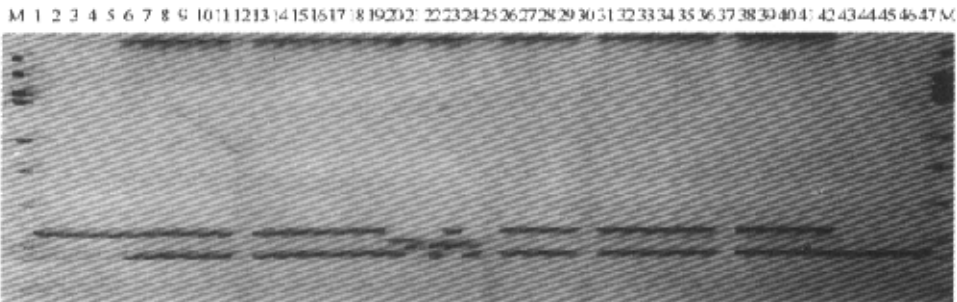
近年来,植物新品种选育所用的亲本较为集中,导致种质基础渐趋狭窄;特别是生物技术的应用,使育成新品种可能只在少数基因上有差异。同工酶、蛋白质是基因表达的产物,因而遗传多态性位点较少,难以有效地鉴别遗传关系较密切的品种。20世纪80年代发展起来的DNA指纹图谱技术,可以鉴别表型上难以辨别的品种,有利于实现鉴定的简单化、自动化。虽然形态特征描述仍然是植物新品

种 DUS 测试的主要依据,但在审理侵权纠纷案件时,很难在短时间内根据形态特征判定其侵权行为。而 DNA 指纹图谱分析,可以非常准确地认定被诉品种与被侵权品种的同一性,从而更好地保护品种权人的合法利益。DNA 指纹图谱分析就成为用高新手段保护植物品种权的技术基础。例如,美国和泰国已构建了大多数玉米自交系和杂交种的 DNA 指纹图谱数据库,成为实施玉米品种保护的重要依据。但是在生物技术产品的保护上,基于我国目前的国情,不宜对一二个基因差异的品种进行保护,否则将使保护处于不平等的竞争状态^[12]。

3.5 建立一套完整的植物新品种保护测试技术体系

DUS 测试技术体系应包括两部分:基于植物学形态特征测试的主导技术和对基因型测试的辅助技术。主导测试技术内容主要包括标准统一的形态学特征或农艺、部分品质和抗逆性状的选择、测试技术规程,以及基于这些性状的数据库。辅助测试技术主要包括植物叶片或籽粒 DNA 快速提取方法, DNA 指纹图谱分析技术,植物品种 DNA 指纹图谱数据库,图形数据识别、记录和管理软件,以及统计方法等。

目前, DNA 指纹图谱技术本身尚未实现标准化。根据已有技术基础,建议采用 SSR (simple sequence repeat) 和 AFLP (amplified fragment length polymorphism) 标记为主,建立植物新品种保护的分子测试技术。根据植物种类特征及分子标记研究进展,可优先在某些适合的植物新品种保护中(如小麦、玉米等)引入分子测试技术。笔者根据扩增主带清晰、带型稳定、多态性丰富及在玉米杂交种中表现为“双亲互补带型”的特点,筛选出 58 对 SSR 引物,初步构建了 95 份我国主要玉米自交系的 DNA 指纹图谱,获得了多数自交系的特异标记;同时建立了 SSR 标记检测技术,包括单籽粒 DNA 快速提取方法, PCR 扩增和热反应体系、电泳检测及统计分析等。这套检测技术可快速、有效地用于玉米杂交种纯度鉴定和真实性判别。笔者所在课题组利用 SSR 引物 (phi072) 对玉米杂交种农大 108 进行过品种鉴定(图)。泳道 1~5 和 43~47 为农大 108 亲本自交系;第 20、21、22、23、24 泳道为混杂品种,其余 28 条泳道表现为清晰明显的“双亲互补带型”,为真实杂交种农大 108。



1-5. 父本 X178; 6-19, 25-42. 农大 108; 20-24. 混杂样品; 43-47. 母本 HC; M. 分子量标准
1-5. male line X178; 6-19, 25-42. hybrid Nongda108, 20-24. mixed seeds; 43-47. female line HC; M. molecular weight standard

图 农大 108 杂交种、亲本自交系及混杂品种的 SSR 标记检测

Fig. SSR profile of Nongda108 hybrid, parental lines and mixed seeds amplified by phi072

4 我国植物新品种保护测试技术的应用前景

建立植物新品种保护测试技术体系将有助于推动我国植物育种进程,成为国家对新品种保护审批机关控制授权质量、监管授权品种、查处假冒侵权案件的重要举措,可有效地维护植物新品种权人的切身利益。测试技术体系的建立还有利于我国植物新

品种保护审查测试与国际接轨,加强与 UPOV 成员国之间在植物新品种保护领域方面的合作。随着新品种保护的深入展开,应对我国特有的宝贵资源体系构建 DNA 指纹图谱和形态特征数据库,以有效保护民族种业的发展。

References

- [1] 郭德华, 赵 齐, 李 波. 我国农业标准化与国外先进农业

- 标准的比较和分析. 中国标准化, 2000, 11:45-48.
- Guo D H, Zao Q, Li B. Analysis and comparison between national agriculture standards and international and overseas advanced agriculture standards. *China Standardization*, 2000, 11: 45-48. (in Chinese)
- [2] DNA Fingerprinting of cereal cultivars for intellectual property rights protection. In *Proceedings of the Third International Symposium on the Taxonomy of Cultivated Plants*. Edinburgh, UK, 1998, 7:20-26.
- [3] Schmid H. Seed certification in Austria-Comprehensive quality system. In *Proceedings of the World Seed Conference*. Cambridge, UK, 1999, 9: 6-8.
- [4] 段瑞春主编. 中国植物新品种保护制度. 科技部政策法规与体制改革司, 2001: 5.
Duan R C. *The Protection System of Chinese Plant New Variety*. Policy, Law and System Reform Bureau of Science and Technology Ministry, 2001: 5. (in Chinese)
- [5] 陈海林. 美国种子产业综述. 种子世界, 2000, (12): 40-41.
Chen H L. Summary of seed industry in America. *Seed World*, 2000, (12): 40-41. (in Chinese)
- [6] Choir K, Sun K, Park J. Seed certification system and operation of USA. *RDA Journal of Crop Science*, 1997, 39(2): 70-76.
- [7] 陈海林. 法国种子产业综述. 种子世界, 2001, (1):38-39.
Chen H L. Summary of seed industry in France. *Seed World*, 2001, (1):38-39. (in Chinese)
- [8] 阮晓亮, 施文娟. 英国种子产业体系. 种子, 1999, 2: 45-46.
Ruan X L, Shi W J. System of seed industry in British. *Seed*, 1999, 2: 45-46. (in Chinese)
- [9] Wang Y R. Seed certification and EV conform legislative harmonization in Hungary. *International Journal of Horticultural Science*, 2000, 6(1): 151-152.
- [10] 王宏伟. 实施《种子法》保证种子产业健康发展. 种子, 2001, 1:53-54.
Wang H W. The implement of seed law for the healthy development of seed industry. *Seed*, 2001, 1: 53-54. (in Chinese)
- [11] 张世煌, 李新海, 田志国. 生物技术对玉米育种和新品种保护的影响. 作物杂志, 2000, (1): 20-23.
Zhang S H, Li X H, Tian Z G. Effects of biotechnology on maize breeding and variety protection. *Crops*, 2000, (1): 20-23. (in Chinese)
- [12] 张世煌, 胡瑞法, 彭泽斌. 玉米育种的需求与技术发展方向. 中国农业科学, 2000, 33(增刊): 1-8.
Zhang S H, Hu R F, Peng Z B. Demand and priority for maize breeding activities in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33 (Suppl.): 1-8. (in Chinese)

(责任编辑 王红艳)