

中药材新品种选育现状与 DUS 测试指南研制进展

张成才¹, 方超², 覃明², 王红阳¹, 郭秀芝¹, 王月枫¹, 闫滨滨^{1,2},
张子华², 王升^{1,2*}, 郭兰萍^{1*}

(1. 中国中医科学院 中药资源中心 道地药材国家重点实验室培育基地, 北京 100700;
2. 德兴市中医研究院试验培训基地, 江西 德兴 334213)

[摘要] 我国野生药用植物资源丰富,但中药材新品种选育工作起步较晚,育种水平相对较弱。中药资源是开展新品种选育的基础,新品种保护权对种质资源的保护和开发具有重要意义,但大部分中药材尚未研制出特异性、一致性、稳定性(DUS)测试指南。农业农村部颁布的191个种(属)植物保护名录直接涉及中药材的仅有30个种(属),《中华人民共和国植物新品种保护名录(林草部分)》颁布的293个种(属)植物中仅有29个种(属)属于中药材。中药材植物新品种保护的申请及授权数量少,且品种构成不合理。截至目前,我国已完成29个种(属)中药材DUS测试指南研制,中药材新品种选育工作也存在新品种数量少和资源利用不充分等主要问题。该文概述了我国中药材新品种选育现状和DUS测试指南研制进展,并探讨了生物技术在中药材育种领域的应用及现有DUS测试存在的问题,为进一步利用DUS测试保护和利用中药种质资源提供指导。

[关键词] 中药材; 新品种选育; 特异性; 稳定性; 一致性; DUS测试指南

DUS testing guidelines for new varieties of Chinese medicinal plants

ZHANG Cheng-cai¹, FANG Chao², QIN Ming², WANG Hong-yang¹, GUO Xiu-zhi¹, WANG Yue-feng¹,
YAN Bin-bin^{1,2}, ZHANG Zi-hua², WANG Sheng^{1,2*}, GUO Lan-ping^{1*}

(1. State Key Laboratory Breeding Base of Dao-di Herbs, National Resource Center for Chinese Materia Medica,
China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;
2. Dexing Research and Training Center of Chinese Medical Sciences, Dexing 334213, China)

[Abstract] A rich diversity of wild medicinal plant resources is distributed in China, but the breeding of new plant varieties of Chinese medicinal plants started late and the breeding level is relatively weak. Chinese medicinal plant resources are the foundation for new varieties breeding, and the plant variety rights (PVP) are of great significance for the protection and development of germplasm resources. However, most Chinese medicinal plants do not have a distinctness, uniformity, and stability (DUS) testing guideline. The Ministry of Agriculture and Rural Affairs has put 191 plant species (genera) on protection lists, of which only 30 are medicinal species (genera). At the same time, only 29 of 293 species (genera) plants in the *Protection List of New Plant Varieties of the People's Republic of China (Forest and Grass)* belong to Chinese medicinal plants. The number of PVP applications and authorization of Chinese medicinal plants is rare, and the composition of variety is unreasonable. Up to now, 29 species (genera) of DUS test guidelines for Chinese medicinal plants have been developed. Some basic problems in the breeding of new varieties of Chinese medicinal plants have appeared, such as the small number of new varieties and insufficient utilization of Chinese medicinal plant resources. This paper reviewed the current situation of breeding of new varieties of Chinese medicinal plants and the research progress of DUS test guidelines in China and discussed the application of biotechnology in the field of Chinese medicinal plant breeding and the existing problems in DUS testing. This paper guides the further application of DUS to protect and utilize the germplasm resources of Chinese medicinal plants.

[收稿日期] 2022-12-15

[基金项目] 国家自然科学基金重大项目(81891014);中国中医科学院科技创新工程项目(CI2021A03903, CI2021A03905, CI2021B013);财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系项目(CARS-21)

[通信作者] *郭兰萍, 研究员, 主要从事中药资源生态学研究, E-mail: glp01@126.com; *王升, 副研究员, E-mail: mmcnui@163.com

[作者简介] 张成才, 博士研究生, E-mail: 1715102928@qq.com

[Key words] Chinese medicinal plants; breeding of new varieties; distinctness; stability; uniformity; DUS testing guidelines

DOI:10.19540/j.cnki.cjcm.20230214.103

近年来,随着人们对健康要求的不断提高,中药材需求量不断增加,造成了野生药用植物资源逐渐减少,为满足中医药临床用药和中药产业的发展,绝大部分中药材需要人工种植和养殖^[1-2]。中药材作为中医药事业发展的源头,也是“大农业”的特殊组成部分^[3],但中药材种植长期以来没有纳入大农业体系,也没有有效的借鉴现代农业技术提高其生产管理水平^[3]。我国中药材生产长期以来处于自由发展的状态,种子种苗的管理相对落后,一般是农户自繁自用、自留、自引及相互串换的形式,各品种均存在只种不选、品种混杂退化、抗病性差等现象,这使得中药材不仅产量低,而且药材质量得不到保证^[4]。

目前,我国成功进行人工栽培的中药材有 300 余种,但与传统农作物相比,中药材育种进展还比较落后。植物新品种是指经人工选择培育或者对发现的野生植物加以开发,具备新颖性、特异性(可区别性)、一致性和稳定性,并有适当命名的植物品种。植物新品种是否具备特异性(distinctness)、一致性(uniformity)和稳定性(stability),简称 DUS,是授予植物新品种权的重要技术条件^[5-6]。目前,我国植物新品种 DUS 测试主要集中在大田作物和蔬菜上,对药用植物新品种的研究很少。我国中药材市场规模在 2021 年达到 753 亿元,且呈连续上升趋势,野生药用植物产量早已不能满足,广泛人工种植中药材成为一种趋势,像人参、枸杞、菊花、丹参、地黄、当归等多种中药材已实现规模化种植,育种工作者也培育出了许多新品种,保护这些药用植物资源育种者的权利势在必行^[7-8]。

1 中药材种子种苗繁育

种子种苗处于现代农业经济链的最前端,在农作物生产实践中,起到了关键性作用,并制约产业发展^[9]。中药材种子种苗作为中药材生产的源头物质材料,其质量优劣从根本上影响着中药材的品质及中医药产业的发展。在过去近 100 年,农业发展有六成归功于种子技术,因此种子也被称为“农业芯片”,但在这个“芯片”赛道,我国和世界顶尖水平还有一定距离,中药材种业发展则差距更大,主要在种质创新方面^[10]。中药材种子的繁育,目前尚处于植物学繁衍的原始阶段,人为干预提高品质和产量的技术措施应用很少。培育一粒优良的中药材种子属于人为拨动进化齿轮,就常用的人工栽培中药材来说,每一种植物都有其特有的繁育方式,都有自己的培育难点,隔种如隔山^[11]。育种年限长、繁育技术难度大、程序复杂等制约因素使得中药材种子产业化发展缓慢,仍处于起步阶段,因此绝大部分中药材种子都是靠物种自然繁殖的常规种子或采集野生种子,很多还是药材生产的副产品,优良种质匮乏。

在当前科技育苗水平较低背景下,为满足中药材市场

的需要,利用植物组织培养进行工厂化育苗技术值得在生产中大力推广,白及、石斛、金线莲和广藿香等中药品种已成功利用组织培养工厂化育苗进行了规模化生产^[12]。为打好种业翻身仗,同时加快中药材种业产业化发展进程,2021 年 1 月 4 号发布的中央一号文件和《种业振兴行动方案》做了系统部署,主要在加强种质资源收集和保存、加大科研投入和保护知识产权方面做了规划。在中药材种业整体落后的情况下,在国家和企业层面需要在优良品种选育、规范化制种基地建设、生产过程相关标准、种子种苗质量检测机构、质量追溯体系、专业人才培养以及配套政策法规等方面给予关注^[13-14]。

2 中药材新品种选育现状

2.1 系统选育

系统选育是药用植物育种初期在混杂群体中选育优良品种的主要方式,其利用的是自然界现有的变异。丹麦植物育种家约翰生创立的纯系学说是系统育种的理论基础之一,药用植物(自花授粉类型)通过连续自交,基因型逐渐纯化,纯合体后代基因相同,因此性状稳定不再分离^[15-16]。因此,利用天然杂交、基因突变以及环境饰变等因素导致的个别植株表型或者基因型变异,经过多代选择便可以选育出新品种。系统育种目标、育种材料遗传基础以及选择方法不同,其繁简有较大差异,不过都包括原始材料圃—选种圃—鉴定圃—品种比较试验等程序。系统育种操作简单,经过选育,可使选育品种抗病、抗逆性增强,适应性变广,产量及有效成分含量也能得到明显提高,特别适合中药材群选群育工作。中国农业科学院特产研究所从普通栽培参田中发现一株绿茎黄果人参,通过系统选育法成功培育出黄果型人参,称为“吉林黄果参”,这是控制果色的基因发生突变,进而选育新品种的典型例子^[17]。李隆云等采用单株母系系统选育出青蒿新品种“渝青 1 号”,可明显提高青蒿中青蒿素产量和质量分数,具备较好的示范推广效果^[18]。夏燕莉等从附子种质资源中通过系统选育法获得了优良品系 ZYYL1 和 ZYYK2 这 2 个品系,选育附子新品系植株高大,根系发达,单株鲜产和干产均得到提高^[19]。余永亮等采用系统选育方法,经过品系比较试验—区域试验—生产试验和高产示范,优选出红花新品种 ZHH03,其产量和品质均符合评价标准,是河南省通过审定的第一个红花中药材新品种^[20]。系统育种在我国中药材育种初期发挥了重要作用,利用这种方法成功培育出贝母新品种新岭一号,元胡新品种大叶元胡,乌头良种川药一号,此外黄芪、地黄、西洋参、白术、洋地黄、薏苡、决明等均通过系统选育获得了新品种、新品系。

2.2 杂交育种

杂交育种是指利用同一物种内具有不同遗传性的品种相互杂交,并对杂交后代进行选择 and 培育以获得

新品种的育种方法,在农作物及园林植物育种中应用较多。2个遗传背景不同的中药材品种杂交后可引起基因重组,通过对杂交出来的后代进行筛选,可培育出新型优良品种^[21]。张跃进教授团队以陕西红天麻和云南乌天麻作为种质资源开展乌、红天麻自交及杂交育种试验,产生的杂种一代在品质和抗性方面均显著高于母本植株^[22]。江苏省中国科学院植物研究所利用杂交育种成功获得薄荷杂种植株,选育出的薄荷新品种产量高、抗性好、薄荷脑含量高^[23]。河南用金状元作父本,白状元作母本,育成了“金白1号”地黄新品种,有优质高产、抗逆、早熟和块茎集中等优点,产量比当地金状元、狮子头、北京一号都高,适合农业产业化推广^[24]。

2.3 组织培养 药用植物组织培养技术是以植物细胞全能性为基本理论,利用母体植物的部分组织和器官,在无菌人工培养基上培育出完整可育后代的一种生物技术。植物组织培养不受季节和气候条件限制且占用空间小,繁殖系数高,还可以通过脱毒处理培育无病毒植株,将此技术运用到中药材新品种选育上可缩短育种年限,提高育种效率,组织培养已经在中药材育种方面取得了显著成效^[25]。白及的生物学特性决定其人工繁殖较为困难,进而导致供需失衡,种苗价格逐年上升,在2017年曾一度达到800元/kg。白及组织培养技术的突破使得白及种苗大规模生产成为可能,伴随着白及工厂化育苗和GAP种植的持续发展,如今白及价格基本稳定在90~100元/kg,其种苗匮乏和育种难问题已成为历史。刘丹以福建戴云山金线莲为试验材料,进行了根状茎外植体无菌系构建以及增殖培养体系优化,最后分别在MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹;1/2 MS+IBA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹获得最佳增殖和生根效果,利用组织培养技术可年产100万株金线莲试管苗,取得了较大的经济效益^[26]。通过组培技术进行抗病育种也是较为有效的方法,如地黄优良品种“85-5”脱毒苗和脱毒丹参组培苗的培育^[27]。此外,应用组织培养技术还对贝母、石斛、积雪草、红豆杉、重楼、珠子参、细辛等中药进行了一系列研究,成果丰硕,为中药材育种发展奠定了基础^[12]。

2.4 多倍体育种 药用植物多倍体育种是用适宜浓度秋水仙素或低温诱导处理萌发种子或幼嫩外植体,利用人工诱变或自然变异的方式增加染色体组来改造中药材的遗传基础,从而选育符合人们需要的优良品种。药用植物多倍体植株的特点是茎秆粗壮,具备更强的抗逆性,在形态上表现出“巨大性”,内在药用活性成分也会相应增加,在以收获全草、根茎、叶和花等营养器官为目的中药材提取物生产方面具有一定优越性^[12]。张成才等以霍山石斛原球茎为外植体,以0.3%的秋水仙素处理18 h成功诱导出霍山石斛同源四倍体组培苗,四倍体植株的多糖和生物碱含量显著高于二倍体霍山石斛,在形态上具有茎秆粗壮、叶片肥厚和根系发达的特点^[28]。最近十几年科研工作者利用组织培养诱导多倍体在黄芩、菰蓝、白术、苍术、蒲公英、绞股蓝、栝楼和石斛等50多

种中药材中取得成功,虽然多倍体育种存在不少问题,但现有研究已展现出多倍体育种的美好前景,一定会为我国药用植物提取物生产和定向育种作出应有的贡献^[29]。

2.5 辐射及空间育种 人为利用电离辐射或各种射线(如紫外线、⁶⁰Co-γ、离子束和中子等)处理中药材种子、植株或特定器官和组织,以诱发突变,从中筛选优良变异植株,通过进一步栽培过程,可培育出新品种^[30]。辐射育种是近50年来兴起的一门现代育种技术,利用辐射(射线)诱发植物遗传物质发生变异,是提高中药材产量和质量的重要途径。高睿等用不同剂量的⁶⁰Co-γ射线辐射处理的光果甘草种子,可提高其在Na₂SO₄胁迫环境下的萌发率^[31],当归、黄精、太子参、薏苡、元胡和人参等采用辐射育种均育成了新品种。另外还有一个先锋赛道——航天育种,航天育种是也突变育种的一种,通过把种子材料带上太空,利用微重力、高真空、宇宙辐射和弱磁场等,对种子进行诱变,优点是变异快,可以快速提供新鲜的特征,但航天育种也带来了安全上的争议。我国早在1987年就把水稻和辣椒送上太空,到2020年已经培育了700多款太空种子。航天育种在中药材中也有所应用,云南省农业科学院借助神舟十三号将铁皮石斛、薏苡仁等多种云南特色中药材种子带入太空,在较短时间内创制出大量中药材优良种质资源。芮玉奎等应用ICP-MS分析了航天育种牛膝中微量元素和重金属的含量,航天育成的牛膝中含有丰富的对人体有益的元素,多糖成分也明显提高^[32]。

2.6 分子育种 分子育种是常规育种的有益补充,具有高效、快速和准确的优点,目前中药材中普遍采用的是分子辅助育种。建立中药材优良种质资源库是获得新品种的前提,通过基因组学、转录组学、代谢组学以及全基因组关联分析(GWAS)等技术手段,可为中药材“优形优质”筛选提供分子标记^[33]。赵旭东等构建了杜仲高密度遗传连锁图谱和重要数量性状的数量性状基因座(QTLs)定位,在此基础上,利用已定位的分子标记对41株杂交子代优良单株,通过表现型与分子标记基因型相关性分析结果,分别筛选获得了与树高、地径、产叶量、杜仲胶含量、绿原酸含量、芦丁含量等产量和品质指标相关标记,加速了杜仲优良品种的选育进程^[34]。董林林等应用药用植物DNA标记辅助育种技术进行了三七抗病品种选育研究,基于RAD-Seq技术筛选鉴定了12个特异性SNP位点,并培育出首个三七抗病新品种“苗乡抗七1号”,与常规栽培种相比,抗病品种种苗根腐病及锈腐病的发病率分别下降83.6%、71.8%^[35]。上海交通大学唐克轩教授团队经过多年选育,成功培育出高产青蒿素新品种——沪蒿1号,并对其进行了基因组测序和转录组分析,成功破译6万青蒿“基因密码”,为进一步利用基因组学选育青蒿新品种奠定了基础^[36]。此外,基因编辑在药用植物分子育种方面也展现出了广阔的应用前景,其中最具代表性的是CRISPR/Cas9基因编辑技术,CRISPR/Cas9系统可以实现基因的敲

除、插入、定点替换、染色体重组和多基因敲除等,SHI M 等利用 CRISPR/Cas9 敲除丹酚酸生物合成通路中上的关键 bZIP 2 类转录因子,可使丹参中酚酸含量显著提高,便于高效、定向选育丹参新品种^[37]。

2.7 配套关键栽培技术 中药材新品种选育成果最终要落实在种植阶段,关键栽培措施的突破是保证中药材品质和产量的前提,中药材栽培也是产业健康发展的基础。中药材的规范化生产是种植,是中药产业链的起点,也是中药现代化建设的源头。2002 年 6 月 1 日发布实施的《中药材生产质量管理规范(试行)》,推动了我国中药材生产的规范化、规模化及现代化进程^[38]。自我国实施中药 GAP(good agricultural practice)认证以来,中药材种植生产基地建设取得了巨大成就,经统计,全国共认证了 81 个中药种植(养殖)品种,基本形成以四川、山东、云南、吉林、河南、湖北为核心的中药材 GAP 基地规模化示范区,总面积达 25 万~50 万亩(1 亩≈667 m²)^[39]。

生态种植是指应用生态系统的整体、协调、循环、再生原理,结合系统工程方法设计,综合考虑社会、经济和生态效益,充分应用能量的多级利用,调动生态系统的循环性和再生性,实现生态与经济良性循环的中药生态农业种植方式。2018 年,郭兰萍提出了“不向农田抢地,不与草虫为敌,不惧山高林密,不负青山绿水”的中药生态农业宣言,先后提出基于“天地人药合一”和“逆境效应”的中药材“拟境栽培”生态种植理论,突破了传统中药材生产种植模式^[40]。5 年来,中药生态农业在理论、模式、技术方面涌现出一系列成果,极大地丰富了中药生态农业的内涵和外延,目前已在河北、山东、湖北、河南、福建等全国 20 多个省份建立了中药材生态种植示范基地,累计推广面积达到 200 余万亩^[41-42]。此外,林下生态栽培、仿野生栽培、设施栽培以及“药用植物好邻居”理念的推广进一步提升了中药材的品质和产量,使得我国中药材种植朝着标准化、规模化和现代化发展。

3 我国中药材新品种保护现状

3.1 我国植物品种 DUS 测试发展 1961 年国际植物新品种保护联盟(UPOV)的成立开启了农业领域知识产权保护的新里程,公约明确规定申请保护的品种需要满足特异性(D)、一致性(U)、稳定性(S)要求,并在随后修订的 1972 年、1978 年、1991 年文本中逐步完善了 DUS 测试的技术体系。我国植物新品种保护制度的建立比欧美国家稍晚,植物品种保护的主要法律依据是 1997 年颁布实施的《中华人民共和国植物品种保护条例》,同年 4 月,该条例得到了 UPOV 理事会的认可。1999 年 4 月 23 日,我国加入国际植物新品种保护联盟(UPOV),成为第 39 个成员国,开始受理植物品种权保护的相关工作^[43-44]。随着种业的快速发展,侵权套牌等违法现象日益增多,植物育种者权益受到侵害,严重挫伤了育种工作者的育种积极性,植物品种 DUS 测试作为品种管理的重要技术支撑,在我国现代种业发展中发挥的作用也越

来越重要,同时对法律的健全性也有了更高要求,仅依靠该条例进行保护已经难以满足现实需要。2015 年修订《中华人民共和国种子法》(简称《种子法》)增设“新品种保护”,将植物新品种保护作为推动育种创新的关键措施和基本制度确立下来,并将其与种子管理制度紧密结合,为管理部门在实践中解决“一品多名”“一名多品”等问题提供法律支撑。2016 年第 2 次《种子法》修改后,更加提升了植物新品种保护的法律地位:规定了保护、审定和登记品种均应当符合 DUS 测试的要求。2021 年修改《种子法》,植物新品种权的保护范围和保护环节得以扩展,并且依据 1991 年文本建立起实质性派生品种制度、健全侵权损害赔偿制度、完善法律责任,进一步加大了植物新品种的保护力度。DUS 测试在品种管理中扮演着越来越重要的角色,已经成为品种管理的重要技术支撑。

为了我国植物品种保护审查 DUS 测试体系建设,从最初 2000 年的 1 个植物新品种测试中心(北京)加 14 个测试分中心(全国范围),计划到 2020 年建设为 1 个中心、29 个分中心、28 个测试站,我国已建立起强大的审查技术服务体系。1999 年至今共有 11 批 191 个属(种)列入植物品种保护名录,20 多年来植物新品种保护在促进我国种业科技创新和农业农村经济发展,加快建设现代种业强国方面发挥了重要作用,截至 2021 年底,植物新品种权申请总量已达到 48 884 件,授权量占申请总量的 40%左右,我国已成为名副其实的植物新品种保护大国。

3.2 我国中药材新品种保护现状 随着中药材 GAP 农业产业的飞速发展,人工栽培已成为中药材生产的主要途径,由此带来的知识产权问题也日益增多,因此加强和完善 GAP 农业下中药资源的知识产权保护,对促进中药产业良性发展大有裨益。我国药用植物新品种保护工作由国家林业局和农业农村部 2 个主管机构来进行,木本药材由国家林业主管部门负责,非木本药用植物属于农业主管部门负责。目前,我国植物品种测试体系已相对完善,但中药材新品种保护与育种工作仍较为落后,在已有的 DUS 测试机构中,尚没有主测作物为中药材的测试机构;前期农业农村部已颁布的 191 个种(属)植物品种保护名录中,直接涉及中药材的仅有人参、山药、金银花、何首乌、天麻、菰蓝、紫苏、丹参和补血草属等有 30 个种(属)(表 1)。

1999—2021 年,国家林业和草原局先后颁布了 8 批《中华人民共和国植物新品种保护名录(林草部分)》,涉及种(属)293 个,其中仅忍冬属、沙棘属、银杏、雷公藤、苍术、芍药属、麻黄属、栀子属和铁线莲属等 29 个种(属)属于中药材(表 2)。

我国有 200 余种中药材实现了成熟的人工栽培,其中大宗药材均有品种选育工作的开展,优质、抗逆、适于加工、配套采收和栽培是中药材新品种选育的主要目标。近年来,在国家 and 各省市的大力支持下,中药材新品种选育取得了一定

表 1 我国农业植物新品种保护名录中直接涉及中药材植物种(属)

Table 1 Species (genera) of Chinese medicinal plants directly involved in the protection list of new varieties of agricultural plants of China

批次	数量/个	植物种(属)名
第一批	1	菊属
第二批	0	-
第三批	2	百合属、补血草属
第四批	0	-
第五批	0	-
第六批	0	-
第七批	1	人参
第八批	1	凤仙花
第九批	1	三七
第十批	10	薏苡属、铁线莲、石斛属、灵芝属、枸杞属、天麻、山药、灯盏花(短莖飞蓬)、何首乌、菰蓝
第十一批	14	紫苏、芍药、红花、淫羊藿属、松果菊属、金银花、柴胡属、黄芪属、美丽鸡血藤(牛大力)、穿心莲、丹参、黄花蒿、砂仁、狗牙根属

表 2 中国林草植物新品种保护名录直接涉及中药材植物种(属)

Table 2 Species (genera) of Chinese medicinal plants directly involved in the protection list of new varieties of forest and grass plants in China

批次	数量/个	植物种(属)名
第一批	2	牡丹、木兰属
第二批	2	银杏、红豆杉属
第三批	3	连翘属、大戟属、沙棘
第四批	4	芍药属、花椒属、枸杞属、忍冬属
第五批	7	五加属、小檗属、铁线莲属、山茱萸属、麻黄属、杜仲、沙棘属
第六批	1	梔子属
第七批	9	艾、菊属、石斛属、鸢尾属、十大功劳属、重楼属、黄精属、黄芩属、雷公藤
第八批	1	苍术

的成绩,培育和推广了一批产量高、品质好、抗性强的新品种、新品系,仅浙江省“十二五”期间就育成新品种 14 个^[45-48];四川省也在“十二五”期间,采用引种驯化、系统选育等方法育成诸如天麻的“川天麻金乌 1 号”、丹参的“川丹参 1 号”、川芎的“绿芎 1 号”、白芷的“川芷 2 号”、麦冬的“川麦冬 2 号”和川牛膝的“宝膝 1 号”等中药材新品种 35 个;安徽省农业科学院选育了栝楼新品种“皖蒺 17 号”,菊花新品种“贡菊 1 号”和“贡菊 2 号”^[49-53]。育成品种也称为改良品种,良种对中药材产量提高和质量改善发挥了重要作用,例如河南省农业科学院选育的药油两用红花新品种“豫 2900

红花 1 号”具有高产稳产、优质、适应性广和抗性强的特点,适宜在河南红花主产区及相近生态区推广种植,中国中医科学院中药研究所通过 DNA 标记辅助育种选育的三七新品种“苗乡抗七 1 号”,其种苗死苗率及块根病情指数分别下降 72.1%、62.4%,保证了三七的无公害栽培^[54]。

4 中药材 DUS 测试技术研制进展

4.1 DUS 测试方法及发展方向 目前,我国的 DUS 测试仍采用基于植物形态学、农艺性状的田间种植鉴定,通过将申请品种与近似品种种植在相同的生长条件下,观测并记录其相应阶段的性状(包括质量性状、数量性状或其他品质性状),并作出客观、合理地评价,这传统的测试技术被国际植物新品种保护联盟成员国普遍采用^[55]。UPOV 成员国的品种必须进行 DUS 测试或者对已经完成的 DUS 测试试验现场进行考察才能授予品种权,绝大多数成员国都根据各自气候环境条件建有测试机构,与其他 UPOV 成员国不同,美国的植物新品种保护机构对育种人提交的申请品种不进行田间考察,也不通过编辑报告形式进行审查,而是将品种与数据库中已有品种相比对,只要申请品种的特异性等 DUS 三性通过,即发放新品种证书^[56-57]。传统的植物 DUS 田间测试周期长、影响因素多、工作量大,无法适应逐年剧增的新品种测试要求,寻求快速、简便、准确的测试方法成为植物 DUS 测试的未来发展方向。在此背景下,DNA 分子标记因其诸多优点在近似品种筛选和特异性判定中发挥着重要的作用,可明显提高 DUS 测试效率,缩短植物新品种的授权周期,其中在植物品种 DNA 指纹标准研制过程中应用较为广泛的有 SSR 和 SNP 分子标记。闵学阳等利用筛选得到的 SSR 标记构建了不同苜蓿 DUS 测试标准品指纹图谱,并为每份标准品种建立了唯一标识的指纹代码,成功解决了苜蓿在育种过程中,由于其异花授粉特性和骨干亲本的集中使用,导致品种间的遗传差异日益缩小,形态学鉴定难等问题^[58]。SSR 具有多态性高、共显性遗传、技术简便的优点,在品种鉴定方面应用经验丰富,UPOV 制定了相应的技术文件指导其应用^[59]。如姚宗泽等用从 SSR 标记鉴定规程中筛选出 20 对核心引物,对 45 个杂交玉米品种进行特异性分析,建议将 SSR 标记鉴定中分子差异值 ≥ 4 作为玉米申请品种具有特异性的判定标准^[60]。陈琼等建立的基于 SSR 分子标记的普通菜豆品种鉴定体系将为其真实性鉴定及 DUS 测试近似品种辅助筛选提供有力支撑^[61]。丁西朋等利用筛选到的 25 个 SSR 标记实现了对柱花草品种的快速、准确鉴定^[62]。

4.2 中药材 DUS 测试指南研制现状及存在的问题 DUS 测试指南是判定育种人选育的植物群体/类群是否达到品种标准的重要依据,也是 UPOV 成员植物品种管理机构控制种质质量、处理品种权纠纷、指导育种方向等工作的重要标准,对 DUS 测试工作的开展具有指导意义。长期以来,中药材领域育种方面研究的滞后、品种管理难等问题与 DUS 测试指南研落后也有很大关系。2010 年,中国科学院植物研究所联合国

家林业局植物新品种保护办公室以 GB/T 19557.1-2004《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南总则》为基本原则,并参照 UPOV 其他测试指南发布并实施了连翘属的 DUS 测试指南,这是首个涉及中药材的 DUS 测试技术,至今仅有 29 个种(属)中药材 DUS 测试指南,其中包括 5 个报批稿,三七、何

首乌、柴胡、菰蓝、沙棘和丹参等中药材已有 DUS 测试发布实施(表 3)。目前我国取消了植物新品种权保护名录,农业农村部审批机关发布的 DUS 测试指南成为唯一的限制因素,并且 DUS 测试指南项目申请的规则是“先到先得”,因此加快推进中药材 DUS 测试指南研制工作迫在眉睫。

表 3 我国现有中药材 DUS 测试指南(包括草案)

Table 3 Existing DUS testing guidelines for Chinese medicinal plants (including draft)

主要申请单位	行业标准编号	种(属)	拉丁学名	发布时间
中国林业科学研究院沙漠林业实验中心	LY/T 2099-2013	枸杞属	<i>Lycium</i>	2013-03-15
山西省林业科学研究院	LY/T 2287-2014	沙棘	<i>Hippophae rhamnoides</i>	2014-08-21
山东农业科学研究院作物研究所	NY/T 2494-2013	紫苏	<i>Perilla frutescens</i>	2013-12-13
华南农业大学	报批稿	淫羊藿属	<i>Epimedium</i>	待发布
西北农林科技大学	NY/T 2593-2014	天麻	<i>Gastrodia elata</i>	2014-03-24
江苏省农业科学院,南京农业大学	NY/T 2527-2013	菰蓝	<i>Isatis indigotica</i>	2013-12-13
华南农业大学	报批稿	松果菊属	<i>Echinacea</i>	待发布
中国热带农业科学院湛江实验站,农业农村部植物新品种测试(儋州)分中心	报批稿	砂仁	<i>Amomum villosum</i>	待发布
云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所	NY/T 2353-2013	三七	<i>Panax notoginseng</i>	2013-05-20
中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所	报批稿	美丽鸡血藤 (牛大力)	<i>Callerya speciosa</i>	待发布
西北农林科技大学	NY/T 2592-2014	黄芪	<i>Astragalus membranaceus</i>	2014-03-24
中国中医科学院中药资源中心,云南省农业科学院药用植物研究所	报批稿	黄花蒿	<i>Artemisia annua</i>	待发布
农业部科技发展中心,新疆农业科学院作物品种资源研究所	NY/T 2753-2015	红花	<i>Carthamus tinctorius</i>	2015-05-21
江苏省农业科学院,南京中山植物园,农业部科技发展中心	NY/T 2591-2014	何首乌	<i>Fallopia multiflora</i>	2014-03-24
山东省农业科学院作物研究所	NY/T 2526-2013	丹参	<i>Salvia miltiorrhiza</i>	2013-12-13
广东省中药研究所,华南农业大学	NY/T 2590-2014	穿心莲	<i>Andrographis paniculata</i>	2014-03-24
黑龙江省农业科学院作物育种研究所	NY/T 2589-2014	柴胡与狭叶柴胡	<i>Bupleurum chinense</i> , <i>B. scorzonifolium</i>	2014-03-24
云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所	NY/T 3431-2019	补血草属	<i>Limonium</i>	2019-01-17
中国科学院植物研究所,国家林业局科技发展中心	LY/T 2803-2017	忍冬属	<i>Lonicera</i>	2017-06-05
北京林业大学,国家林业局科技发展中心	GB/T 32345-2015	牡丹	<i>Paeonia suffruticosa</i>	2015-12-31
中国科学院植物研究所,国家林业局植物新品种保护办公室	GB/T 24883-2010	连翘属	<i>Forsythia</i>	2010-06-30
吉林农业大学	DB 22/T 3325-2021	西洋参	<i>Panax quiquefolium</i>	2021-11-26
云南省农业科学院质量标准与检测技术研究所,中国农业大学	NY/T 2229-2012	百合	<i>Lilium brownii</i> var. <i>viridulum</i>	2012-12-07
华南农业大学园艺学院,福建省农业科学院果树研究所	报批稿	枇杷	<i>Eriobotrya japonica</i>	待发布
上海市农业科学院,福建农林大学	NY/T 2758-2015	石斛属	<i>Dendrobium</i>	2015-05-21
中国农业科学院蔬菜花卉研究所	NY/T 2583-2014	铁线莲属	<i>Clematis</i>	2014-03-24
山东省农业科学院作物研究所	NY/T 2495-2013	山药	<i>Dioscorea opposita</i>	2013-12-13
四川省农业科学院作物研究所	NY/T 2572-2014	薏苡	<i>Coix lacryma-jobi</i> var. <i>maxima</i>	2014-03-24
华南农业大学,农业部科技发展中心	NY/T 2431-2013	龙眼	<i>Dimocarpus longan</i>	2013-09-10

中药材由于其道地性及发展历程的特殊性,在指南研制过程中面临诸多问题。例如与大田、园艺作物相比,中药材植物性状的特异性体现在化学成分上,《中国药典》对中药材植物性状的描述主要在药用部位和主要化学成分含量方面,

而现有指南多把该性状作为选测性状;由于中药材注重道地性,在不同环境影响下,其一致性难以保证;中药材栽培历史相对较短,种源纯度低,稳定性也表现的比较差;另外,中药材品种少,在测试指南制定过程中难以选择标准品种,而且

在种植试验过程中,由于中药材基原植物有限且受自身生物学特性影响较大,使得中药材测试标准材料和对照品种数量不足,不能全面评价其物种三性;大部分中药材生长周期较长,一般需要3~5年以上才具有药用价值,这就使得中药材DUS测试普遍存在周期长、工作量大和质量难以控制等问题。已发布实施的中药材DUS测试指南普遍存在测试性状不全面和药材化学成分检测缺失的现象,例如三七DUS测试指南中叶形、花序类型、茎秆形态缺乏实物照片,地上茎秆茸毛、条纹形状等重要鉴别特征并未列出;何首乌测试指南中仅列出了横断面颜色,云锦花纹等重要特征缺失;黄花蒿测试指南中头状花序颜色也缺少深黄色、淡青等表达状态;天麻测试指南未充分考虑当前种质资源分布情况,对于花茎颜色淡黄和蓝绿等重要表达状态未做罗列;菰蓝DUS测试指南中虽有叶和根中化学成分含量的选测性状,但关于药用成分测定性状的描述并不全面,不能很好地反映菰蓝品种的特异性;丹参的DUS测试指南中,无论是质量性状还是数量性状均明显不足,测试性状只有19个(必测),这样很难把品种进行有效区分,花的大小这一性状没有指明观测方法,在多个性状的解释中对根的描述模糊,测试者难以准确理解并进行采样。因此,今后在测试指南的研制中,应着重注意将《中国药典》规定的有效成分纳入“测试性状”;在易操作的原则上,表型性状应该足够多,涉及植株的各个部位,而不是过分关注药用部位;在标准品种的选择上,为解决可选择品种少的问题,是否可以考虑以种质或种源来代替。

5 展望

随着中药材种植规模的不断扩大以及中医药产业发展的深入,市场对中药材需求量逐年增加,同时对中药材种植面积和新品种的培育也提出了迫切需求。优质高产的种子种苗成为制约行业健康发展的关键因素,但由于中药材人工栽培和育种工作起步相对较晚,优良种质资源和育种材料积累有限,大多数品种还处于自繁自种的现状,品质低劣,良种率低,育种水平不高。目前我国药用植物种植面积已超过8 000万亩,中药材良种覆盖率仍不足10%,种子种苗问题严重影响中药材品质提升和高质量、规范化发展,将中药材优良品种选育纳入国家种业振兴计划,加快中药材新品种选育工作是保证中药材质量的根本措施。因此,根据中药材自身的特点制定不同种属的DUS测试指南,并结合DNA分子标记技术开展DUS测试工作,为中药材品种权申请、授权、维护以及品种真实性鉴定提供重要技术支撑,并在很大程度上提高育种工作者的积极性,推动我国中药材新品种选育和种质创新发展。

[参考文献]

- [1] YU J K, CHUNG Y S. Plant variety protection: current practices and insights[J]. Genes-Basel, 2021, 12(8): 1127.
- [2] 焦连魁, 李向东, 王继永, 等. 甘草等6种重点中药材新品种选育及推广情况分析[J]. 中国现代中药, 2021, 23(8):

1463.

- [3] 杨成民, 魏建和, 隋春, 等. 我国中药材新品种选育进展与建议[J]. 中国现代中药, 2013, 15(9): 727.
- [4] 张荣超, 辛杰, 郭庆梅, 等. 中药优良品种选育技术研究进展[J]. 种子, 2013, 32(7): 53.
- [5] WU Q, ZHANG D, ZHANG Q, et al. Development of DUS test guidelines for new varieties of *Viburnum* L[J]. J Forestry Res, 2019, 30(6): 2313.
- [6] SHIL S. Developing agro-morphological descriptors of mesta (*Hibiscus* spp. L.) varieties for germplasm evaluation and characterization as per DUS test guidelines[J]. J Crop Weed, 2019, 15(2): 25.
- [7] 刘美娟, 薛璟祺, 曾燕, 等. 我国中药材新品种保护与DUS测试指南研制现状[J]. 中国现代中药, 2021, 23(9): 1637.
- [8] 刘晓柳, 钟灿, 谢景, 等. 药食用菌新品种保护及DUS测试指南研制现状与展望[J]. 中草药, 2022, 53(4): 1173.
- [9] 李冉, 张文广, 成春亚, 等. 中药材种子种苗繁育关键技术研究进展[J]. 中国现代中药, 2022, doi: 10.13313/j.issn.1673-4890.20210923003.
- [10] QAIM M. Role of new plant breeding technologies for food security and sustainable agricultural development[J]. Appl Econ Perspect P, 2020, 42(2): 129.
- [11] GULYAEVA T I, SAVKIN V I, BURAEVA E V, et al. Modern organizational and economic aspects and staffing issues in breeding and seed production[J]. J Environ Manage Tour, 2018, 8(32): 1789.
- [12] 张成才, 王升, 王月枫, 等. 药用植物组织培养技术在中药资源可持续发展中的应用研究[J]. 中国中药杂志, 2022, 48(3): 529.
- [13] 王继永, 王浩, 曾燕, 等. 中药材种业发展现状及品牌化战略路径[J]. 中国现代中药, 2021, 23(6): 955.
- [14] 曾燕, 焦连魁, 李进瞳, 等. 现代中药材种业发展的产业和技术需求分析[J]. 中国现代中药, 2022, 24(2): 198.
- [15] WANG W, XU J, FANG H, et al. Advances and challenges in medicinal plant breeding[J]. Plant Sci, 2020, 298: 110573.
- [16] ZHANG L, MENG L, WANG J. Linkage analysis and integrated software GAPL for pure-line populations derived from four-way and eight-way crosses[J]. Crop J, 2019, 7(3): 283.
- [17] 陈玉春. 基于位点特异性PCR技术对中国黄果人参品种的分子鉴定[D]. 烟台: 烟台大学, 2021.
- [18] 李隆云, 吴叶宽, 马鹏, 等. 青蒿新品种“渝青1号”的选育及其示范推广[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(19): 2516.
- [19] 夏燕莉, 胡平, 张美, 等. 附子优良品种选育及生物学特性研究[J]. 种子, 2009, 28(2): 85.
- [20] 余永亮, 梁慧珍, 许兰杰, 等. 红花新品种豫红花1号的选育研究[J]. 中药材, 2019, 42(7): 1461.
- [21] VALARMMATHI M, SASIKALA R, RAHMAN H, et al. Development of salinity tolerant version of a popular rice variety improved white ponni through marker assisted back cross breeding[J]. Plant Physiol Rep, 2019, 24(2): 262.

- [22] 梁彤. 天麻优良杂交组合筛选及繁育技术研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020.
- [23] TANG Y, YANG P, HE G, et al. ITS sequence analysis used for parent selection in *Lilium lancifolium* Thunb. cross-breeding[J]. J Appl Res Med Aroma, 2022, 26: 100362.
- [24] 王丰青, 谢彩侠, 孙瑞斌, 等. 地黄种质创新与品种选育研究进展[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(21): 4203.
- [25] OSENI O M, PANDE V, NAILWAL T K. A review on plant tissue culture, a technique for propagation and conservation of endangered plant species[J]. Int J Curr Micro Appl Sci, 2018, 7(7): 3778.
- [26] 刘丹. 福建戴云山金线莲工厂化育苗关键技术研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
- [27] 左静静, 闫贵云, 霍利光, 等. 脱毒地黄试管苗的微扦插快繁技术研究[J]. 中药材, 2020, 43(1): 20.
- [28] 张成才, 高真, 罗丽娜, 等. 霍山石斛同源四倍体与二倍体活性成分及转录组比较分析[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(23): 5669.
- [29] IANNICELLI J, GUARINIELLO J, TOSSI V E, et al. The "polyploid effect" in the breeding of aromatic and medicinal species[J]. Sci Horticulture Amsterdam, 2020, 260: 108854.
- [30] MAUNOURY L, DUBOIS M, DELAHAPE P, et al. Charge breeding at GANIL: improvements, results, and comparison with the other facilities[J]. Rev Sci Instrum, 2020, 91(2): 23315.
- [31] 高睿, 马森, 赵红艳. $^{60}\text{Co-}\gamma$ 辐射对光果甘草种子耐盐性影响的研究[J]. 农学学报, 2016, 6(7): 77.
- [32] 芮玉奎, 李金贵. 航空育种牛膝中的微量元素和重金属含量分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(6): 1400.
- [33] 钱润, 周骏辉, 杨健, 等. 中药材分子标记辅助育种技术研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(20): 4812.
- [34] 赵旭东, 李周岐, 邓鹏. 杜仲杂交子代优良单株分子标记辅助选择[J]. 森林与环境学报, 2017, 37(3): 372.
- [35] 董林林, 陈中坚, 王勇, 等. 药用植物 DNA 标记辅助育种(一): 三七抗病品种选育研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(1): 56.
- [36] SHEN Q, ZHANG L, LIAO Z, et al. The genome of *Artemisia annua* provides insight into the evolution of Asteraceae family and artemisinin biosynthesis[J]. Mol Plant, 2018, 11(6): 776.
- [37] SHI M, DU Z, HUA Q, et al. CRISPR/Cas9-mediated targeted mutagenesis of bZIP2 in *Salvia miltiorrhiza* leads to promoted phenolic acid biosynthesis[J]. Ind Crop Prod, 2021, 167: 113560.
- [38] 张文晋, 曹也, 张燕, 等. 中药材 GAP 基地建设现状及发展策略[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(21): 5555.
- [39] ZHANG B, PENG Y, ZHANG Z, et al. GAP production of TCM herbs in China[J]. Planta Med, 2010, 76(17): 1948.
- [40] 郭兰萍, 康传志, 周涛, 等. 中药生态农业最新进展及展望[J]. 中国中药杂志, 2021, 46(8): 1851.
- [41] 郭兰萍, 吕朝耕, 王红阳, 等. 中药生态农业与几种相关现代农业及 GAP 的关系[J]. 中国现代中药, 2018, 20(10): 1179.
- [42] 郭兰萍, 蒋靖怡, 张小波, 等. 中药生态农业服务碳达峰和碳中和的贡献及策略[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(1): 1.
- [43] 卜海璐. 种业知识产权视野下的植物新品种保护制度及完善构想[D]. 昆明: 云南大学, 2021.
- [44] DING C. The protection for new plant varieties of American businesses in China after China enters the WTO[J]. Drake J Agric Law, 2001, 6: 333.
- [45] 江建铭, 俞信光, 王文静, 等. 浙贝母新品种“浙贝 3 号”的选育与品种特性[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(3): 448.
- [46] 徐靖, 王晓彤, 胡凌娟, 等. 铁皮石斛新品种“仙斛 3 号”的选育及特征特性研究[J]. 中国现代中药, 2017, 19(3): 337.
- [47] 陶正明, 姜武, 郑福勃, 等. “温郁金 1 号”新品种选育[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(20): 3910.
- [48] 沈晓霞, 沈宇峰, 王志安, 等. 白术新品种“浙术 1 号”的选育及品种特性[J]. 中国现代中药, 2017, 19(3): 315.
- [49] 刘金龙. 药用植物绞股蓝新品种“恩七叶甜”的选育及栽培技术与系列产品研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- [50] 莫长明, 马小军, 白隆华, 等. 罗汉果无籽新品种药园无籽 1 号的选育[J]. 中国果树, 2014(1): 12.
- [51] 王振兴, 艾军, 张庆田, 等. 五味子新品种“嫣红”[J]. 园艺学报, 2014, 41(12): 2555.
- [52] 李卫文, 董玲, 赵伟, 等. 栝楼新品种“皖蒟 17 号”[J]. 园艺学报, 2018, 45(S2): 2857.
- [53] 林一帆, 李相汉, 李华, 等. 栝楼新品种“皖蒟 15 号”[J]. 园艺学报, 2020, 47(S2): 3146.
- [54] 陈中坚, 马小涵, 董林林, 等. 药用植物 DNA 标记辅助育种(三)三七新品种: “苗乡抗七 1 号”的抗病性评价[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(11): 2046.
- [55] 焦雄飞. 关于植物新品种 DUS 测试体系建设的探讨[D]. 太原: 山西农业大学, 2018.
- [56] TANG H, LIU H, YU H Y, et al. Stability and importance of morphological characteristics in example varieties based on DUS test[J]. Acta Agron Sin, 2013, 39(4): 632.
- [57] 梅瑜, 蔡时可, 王继华. 中草药 DUS 测试应用与进展[J]. 江西中医药, 2022, 53(1): 64.
- [58] 闵学阳, 刘文献, 张正社, 等. 苜蓿 DUS 测试标准品种 SSR 分子标记指纹图谱的构建[J]. 草业学报, 2017, 26(11): 47.
- [59] UPOV. Guidelines for DNA-profiling molecular marker selection and database construction ("BMT Guidelines") [R]. 2010.
- [60] 姚宗泽, 杨肖艳, 杨昆红, 等. 基于 SSR 标记和形态性状的杂交玉米特异性和多样性分析[J]. 西南农业学报, 2021, 34(12): 2557.
- [61] 陈琼, 王兰芬, 唐浩, 等. 普通菜豆 SSR 分子标记鉴定体系的建立及应用[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(6): 1494.
- [62] 丁西朋, 张龙, 罗小燕, 等. 桂花草 DUS 测试标准品种 DNA 指纹图谱构建[J]. 草业科学, 2015, 32(12): 2047.

[责任编辑 吕冬梅]