

我国植物细胞和组织培养、苗木脱毒快繁和 细胞工程育种及其产业化和专利保护

徐涵^{1*}, 黄先群², 连勇³

¹法国图卢兹综合科学研究所 IRIT-ARI, 31300 Toulouse, France.

²贵州省农业生物技术重点实验室, 贵州, 贵阳, 小河, 金竹, 550006.

³中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京, 100081

摘要: 本文简要论述了我国植物细胞和组织培养、苗木脱毒快繁和细胞工程育种及其产业的发展状况, 并对我国自1985年实施专利保护起至2008年期间的相关专利数据进行了分析。

关键词: 植物 组织培养 育种 专利 知识产权

Plant Cell and Tissue Culture, Virus-Free Propagation, Cell-Engineering Based Breeding and Their Industrialization and Patent Protection in China

XuHan Xu^{1*} Huang Xian-Qun² Lian Yong³

¹ IRIT-ARI, 202 Bis Rue des Fontaines, 31300 Toulouse, France. ²Guizhou Provincial Agro-Biotechnology Key Laboratory, Jinzhuzhen, Guiyang, Guizhou, 550006, China. ³Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, 100081, China

Abstract: Plant cell and tissue culture, large scale propagation of virus-free plants, cell-engineering based breeding have been widely applied in China and have achieved many in improving survival situations of plants, animals and human beings, as well as promoting social development. More than seven thousand bio-R&D enterprises are developing in China. The present paper presents and analyses patent data of the above R&D domains from year 1985, when China patent law came into effect, to year 2008 in China, and suggests to address more efforts to novel frontier of R&D, and protection of intellectual property rights.

Keywords: plant, tissue culture, breeding, patent, intellectual property rights

***通讯作者:** 徐涵, 法国图卢兹综合科学研究所 (IRIT-ARI), 博士, 研究员。E-mail: han.xu@irit-ari.com
黄先群, 贵州省农业生物技术重点实验室, 博士, 研究员。E-mail: xqhuang2005@163.com
连勇, 中国农业科学院蔬菜花卉研究所研究员。E-mail: lianyong@mail.caas.net.cn

植物组织培养技术是指在无菌条件下,将植物体器官、组织、细胞以及原生质体培养在人工配制的培养基上,给予适当条件进行培养,使其产生完整植株的过程,主要包括高效再生体系建立(无性系快速繁殖)、胚和子房培养、花药和小孢子培养、原生质体或细胞培养及体细胞杂交等^[1]。目前我国植物细胞和组织培养,包括体细胞杂交、单倍体育种、无融合生殖等技术等细胞工程育种技术体系,以及苗木脱毒、快繁产业化已经在生物科学研究和农、林、园艺等产业中日臻完善,产生了巨大的社会效益,许多领域已经把从资源到产业化乃至社会发展有机地贯穿起来^[2]。

1. 植物组织培养、苗木脱毒快繁产业化和细胞工程育种研究及产业化

1.1. 植物种质资源保存

无性系快速繁殖主要是利用植物的子叶、下胚轴、苔茎段、茎尖以及叶片等器官作为外植体,通过离体培养方式进行无性繁殖,在短期内获得大量再生株系的技术。这个技术可以用来快速繁殖某些特殊个体,如新发现的突变材料、远缘杂种、体细胞植株、转基因植株^[3,4]等供研究、育种和生产之用,也可以用作植物资源的离体保存或大量繁殖,从而实现种质保存^[5,6]。

我国地域辽阔、生态环境多样化,形成了适应特殊条件的众多特有生物物种的生境,蕴藏着一大批对解决我国环境恶化、食物与健康安全和能源资源短缺等问题有重要利用价值的特殊生物资源。从20世纪50年代以来,我国已收集和抢救了一批珍稀、特有和濒危的生物资源,但一直存在利用效率偏低、流失日趋严重、掠夺式的开发造成资源的迅速濒危或灭绝等问题。《中国物种红色名录》^[7]对中国10211种动植物(其中动物5803种、植物4408种)的灭绝危险程度进行了新的评估。评估表明,中国的物种濒危情况远比过去评估的比例高,各类生物物种受威胁的比例普遍在20%~40%,如裸子植物受威胁(极危、濒危和易危)和近危的比例分别为69.91%和21.23%,被子植物分别为86.63%和7.22%。因此,利用无性繁殖作物种质资源保存,尤其是对于一些濒危或用种子繁殖有困难的植物品种,组织培养无疑是实现快速、有效、大量繁殖的最佳选择。

用组织培养技术进行植物种质保存有两种方法:一种是在培养基中加入生长减速剂或者降低培养温度来抑制细胞生长,使培养物的分化代谢活动减弱,加长继代周期,以保存种质^[8]。另一种是超低温的种质保存。超低温的种质保存是将植物细胞或组织保存在液氮中,让细胞的代谢活动完全停止,但同时还保持细胞的生命力和再生能力的一种种质长期保存方法^[9,10]。采用植物细胞、组织或器官离体保存,能最大限度地抑制生理代谢强度,达到长期保存种质的目的。这方面代谢的研究很有价值,因为即使是在同一个种内,不同的基因型以及不同保存条件下其代谢是不同的^[8]。

无性系繁殖技术还应用到对远缘杂交种胚的挽救和繁殖。远缘杂交是获得新的基因资源、改善植物品质和抗性的重要途径。植物种间、属间常规杂交的杂种胚,有的在心形期或球形期便解体,多表现不育、败育或种子无发芽力,难以获得有效种子。子房、胚珠和胚培养是将发育不良或不能发育的胚(胚珠)接种到培养基上,在人工条件下培养,让其发育成成熟胚或有效种子的技术,这是克服远缘杂交时胚发育不良或败育的有效手段之一^[11]。利用这项技术已培育出一批品种在生产上应用。同时,其在种子繁殖不易的植物上有广阔的应用空间^[12],在植物极幼胚培养方面仍然需要大量的研究^[13]。

1.2. 植物脱毒、快繁技术及工厂化生产种苗

病毒是威胁植物品质和产量的主要问题之一,目前仍然没有特效防治药物。病毒主要通过媒介昆虫或其他原因造成的植物根、茎、叶损伤入侵植物体。在植物细胞中繁殖的病毒还可以不断感染其相邻的细胞,最终扩散至整个植株。但是,发育旺盛的植物分生组织的生长点细胞一般不含病毒。切取生长点细胞,放入试管培养并使之分化,可以获得无病毒的植株,利用快繁技术使这些无病毒细胞繁

殖、分化, 最终便能够达到工厂化大量繁殖无毒植株的目的。马铃薯、大蒜、甘薯、草莓及许多果树和花卉, 由于多代营养繁殖, 植株体内积累了大量的病毒, 种性退化严重, 表现为作物生长受到抑制, 形态畸变, 产量下降, 品质变劣等等。而利用茎尖组织培养辅以化学或高温处理, 可以较好地起到植株脱毒作用, 培养出来的种苗称作脱毒苗。大蒜经组培脱毒后, 蒜头可增产23.3%~114.3%, 蒜薹增产58.3%~175.0%; 用脱毒草莓苗进行生产, 可提高果实产量20.7%~45.5%, 果实可溶性固形物含量增加5.3%~15.3%。应用最为成功的例子是马铃薯脱毒种薯的生产^[14]。由于植物生长点外围的细胞也有可能被病毒感染, 上述脱毒过程有时需要重复多次之后方能得到完全无病毒的植株。目前植物脱毒也在使用其他方法, 如液氮法^[15]。

在上世纪60年代, 随着无病毒兰花植株快速繁殖的成功, 在国际上逐渐建立起试管苗工业, 无病优质种苗的生产已广泛应用于花卉和蔬菜。在1980年代中期, 除了马铃薯无毒种薯和甘蔗种苗生产之外, 我国在这方面的研究还只停留在实验室阶段。随后10年间, 我国脱毒结合快繁技术成效显著, 香蕉、柑桔、苹果、葡萄、山葡萄、草莓和西瓜的试管苗已经在生产上大规模推广; 菊花、香石竹和唐菖蒲的无毒种苗的生产技术已基本完善, 一些花卉和观叶植物也开始了商业化生产。除了果树外, 快速繁殖技术在林木、蔬菜和药材等方面也取得了很大的发展和效益; 造林树种如桉树也已经建立起试验苗基地。在热带和亚热带果树中, 还扩展到荔枝、龙眼、柚子、芒果和菠萝; 在温带水果中, 除苹果、葡萄和草莓外, 还对梨、枣、樱桃、山楂、柿子和猕猴桃进行了研究。现在国内外植物快繁技术在实验层面上已经全成熟, 其经专业化和工程配套后广泛运用于花卉、果树的种苗培育, 主要涉及兰花、非洲菊、唐菖蒲、菊花、香石竹、火鹤花等十多个花卉品种及香蕉、柑桔、苹果、葡萄、马铃薯、甘薯、草莓无毒苗生产。目前已从各类植物的不同器官和组织中建立了快繁体系。在育种中, 应用最成功的例子除了马铃薯脱毒苗原原种的生产外, 在花卉、香蕉、甘蔗、桉树等的工厂化育苗和生产, 以及资源库中材料的保存等方面也已取得巨大的经济和社会效益。在我国试管苗年产量几亿株, 除了维持传统的脱毒作物种子生产外, 还使一些花卉和林木优良品种的脱毒苗产量迅速扩大。对于那些珍贵稀有、濒临灭绝、特种资源、常规繁殖困难、市场需求量大而一直供不应求的植物而言, 植物快速繁殖技术显示出巨大的优越性^[16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35]。

植物脱毒、快繁技术的理想体系之一是体细胞胚胎发生系统。它是把体细胞诱导成合子状胚性细胞, 并调控使之像有性的合子胚胎发育那样产生体细胞胚胎^[36, 37]。这一系统在许多模式和有经济价值的植物物种上已经成功地建立起来。人工种子是其产业化的主要出路。植物快繁技术中一些控制条件和细化的研究还有待完成^[38,39,40,41,42]。

植物组织培养的另一个应用领域是嫁接(包含微嫁接)。由于实用这项技术可以节省几年甚至几十年的育种时间, 它在木本植物上有更高的实用价值^[43, 44]。

植物脱毒、快繁技术还受其他条件的影响和限制, 相关的技术研究和成熟化研究在产业化方面占有重要的位置^[45, 46]。

1.3. 植物单倍体及无融合生殖育种技术

利用植物染色体变异进行育种是植物改良的重要手段^[47]。这方面同时包括两个极端, 既包括倍性的改变又包括倍性的稳定乃至基因组的稳定。

由花药、小孢子或胚囊培养为基础的单倍体育种能加速育种进程、节约劳力和时间、提高选择效率, 现已纳入常规育种技术而广泛应用。例如, 来源于油菜小孢子和花药培养的再生胚状体, 其芥酸和硫代葡萄糖甙的生物合成水平同其在种子中的含量成正相关, 因此, 在离体培养的早期即可筛选低芥酸、低硫代葡萄糖甙(称“双低”)的基因型, 再结合传统育种手段可获得双低油菜品种或品系。利用该技术选育的“双低”油菜品种可增产7%~11%。此外, 利用小孢子培养技术产生的双单倍体群体

还可用来构建遗传图谱、基因定位等^[48]。单倍体育种技术在马铃薯、小麦等其他作物上也大量应用^[49,50,51]。

无融合生殖是指不经雌雄配子融合的受精作用而形成有活力的胚和种子的生殖方式, 后来只限定为发生在胚珠内的不经受精作用而产生种子(无融合结籽)的生殖方式。它包括从减数胚囊中发生的单倍体无融合生殖(孤雌生殖、无配子生殖和单雄生殖)和从未减数胚囊中发生的二倍体无融合生殖(无孢子生殖、二倍体孢子生殖)。单倍体无融合生殖产生的胚一般是不育的,但其后代染色体经人工或自然加倍,可较快得到纯合二倍体。二倍配子体无融合生殖发育形成的植株也是二倍体,因此是可育的。由于无融合生殖后代的基因型和母本是相同的,如果母本是杂种,那么后代永远是杂种,免除了制种。所以,无融合生殖育种技术也就是固定杂种优势利用技术。这种无性胚或无性种子具有保持杂合性的特点,因而能够固定杂种优势。用无融合生殖的方法固定农作物品种间、亚种间、种间杂种优势的育种方法,是育种的一个新途径。用无融合生殖方法固定杂种优势,选育不要年年制种又可多代利用的杂交品种,其在粮食作物上的应用对解决人口增长与粮食生产之间的矛盾尤有重要价值^[47,52]。

1.4. 细胞、原生质体培养与体细胞杂交

植物细胞培养的应用一般可以分成4类,其一是进行植物细胞和分子生物学研究,二是把植物细胞微生物化,用发酵的方式进行某些代谢物的生产,三是种质保存,四是提供育种材料,例如转基因靶物、原生质体、体细胞胚胎乃至人工种子等。其中以提取活性成分为目的的植物细胞“发酵”是细胞培养领域里一直热门的课题^[53, 54, 55]。

植物原生质体可作为基础研究、作物改良和转基因的理想材料,许多遗传操作如体细胞杂交、细胞质重组、外源DNA的摄入和转移等都依赖于原生质体的再生。由原生质体培养发展起来原生质体融合(体细胞杂交)技术可以同时转移核基因组和细胞质基因组控制的农艺性状,因此可以更大程度地、更好地利用基因资源,结合常规育种技术可望选育到优良的品种。

有性杂交通常只能进行核遗传物质的杂交而不能进行细胞质杂交,同时许多植物通过有性杂交进行远缘杂交不易获得成功。体细胞杂交解决了这些问题。原生质体融合不仅可在相同的物种之间进行杂交,而且可进行不同物种间的杂交,甚至在动、植物之间进行杂交。同时,原生质体融合可产生细胞质杂种,从而直接引进由细胞质基因组控制的性状。例如不少雄性不育基因、抗除草剂基因就存在于叶绿体及线粒体里。目前利用原生质体融合已成功育出了具有雄性不育特性的油菜等作物的细胞质杂种^[48],在茄子等其他作物上也有广泛的应用^[56]。

1.5. 植物细胞和组织培养装备

植物细胞和组织培养及其工厂化育苗方面有大量的仪器设配及重大装备,例如超净台、显微镜、显微操作系统乃至活细胞工作站、病毒检查装置和试剂盒、发酵设备、人工种子生产线、温室大棚及配套设备,以至更广义的装备,例如播种、秧苗及苗木栽植机械等。最近,节能高效光源、种群纯度鉴定等也成为工厂化育苗所不可忽视的重要研发领域^[57,58]。利用生物芯片、分子标记和代谢图谱等进行培养条件的测试、评价及调控也将为植物细胞和组织培养提供新的装备发展空间^[59]。

2. 植物组织培养、苗木脱毒快繁和细胞工程育种领域的专利

知识产权保护是保护生物技术持续发展的根本保证之一,而专利保护又是知识产权保护中最有效的方式之一。因此,生物技术发明的可专利性是生物技术法律保护的关键问题。同时,专利的数量和

质量也是反映创新能力的重要指标。

为保护知识产权，建设创新型国家，促进科技进步和产业升级，我国于1985年4月1日正式实施了《中华人民共和国专利法》。该法律实施并于1992年、2000年和2008年三次修改完善，二十多年来，我国知识产权保护环境明显改善，科技和管理层知识产权意识普遍提高，专利申请量和授权量逐年增加。从1986年到2007年，我国专利申请量和授权量分别以16.7%和25%的年平均增长速度递增，至2007年底，我国专利部门已累计受理国内专利申请331.5万件，授权专利179万件。从国际视角来看，据世界各主要国家均为其成员的《专利合作条约》(PCT国际专利申请)显示，我国2007年发明专利申请量达5456件，排名从1997年的第22位跃升至世界第7位^[60]。本文就我国专利中植物组织培养、苗木脱毒、快繁和细胞工程育种等方面的专利申请情况从以下几个方面进行论述。

2.1. 组织培养、苗木脱毒快繁专利

我国与植物快繁直接相关的发明专利是从1990s年代开始的(图1)。实用新型专利仅2002年和2003年有所申报，共3项，全是装备方面的专利。发明专利中2002年出现近90项园艺植物的非组织培养的栽培快繁技术专利，本数据(图1和表1)没有将其统计在内。所统计的发明专利涉及以园艺植物为主的100多个物种，绝大多数是以组织培养为基础的快繁技术。目前动物方面几乎没有相对于植物的快繁技术和专利。

植物快繁的核心技术在上世纪末经常作为工业保密技术进行保护，到本世纪初，植物快繁的核心技术已经不再神秘，专利主要的目的是市场保护。我国在植物快繁方面极少有实用新型的专利，表明业内普遍注重发明专利的有效保护性。

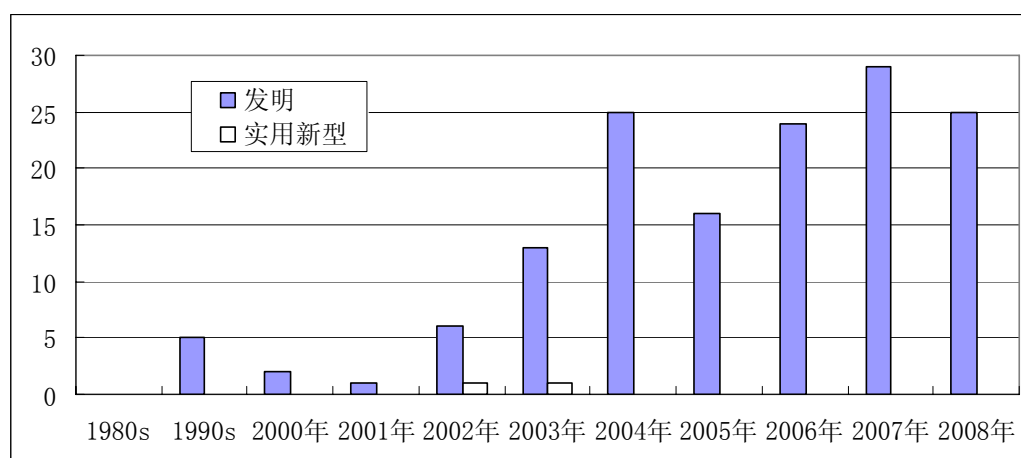


图1. 历年中国植物快繁领域的发明和实用新型专利数量

Fig. 1. Time series of numbers of patent in rapid/large scale propagation of plant in China from 1985 to 2008

植物细胞培养专利比动物细胞培养专利的申报较晚，虽然从1980s年代就有了实用新型专利，但发明专利是1990s年代才出现。我国与植物细胞培养直接相关的专利在1990s年代的数量比1980s年代的数量有较高的成长；本世纪达到最高，尤其是2004年最多(图2)。在所分析的植物细胞培养专利中也包括了装备类专利，其中部分装备不仅适用于植物，也适用于动物、微生物细胞培养。植物细胞培养专利所涉及的物种非常有限，只有红豆杉、紫杉、银杏、人参、紫草、藏红花、雪莲、苏丹草、结缕草、象草、甘草、玉米、棉花、番木瓜、菊花、烟草等不到20个物种。实用新型专利全部是装备方面的专利。在细胞培养专利方面，动物和医学领域亦有大量的细胞培养专利，但是没有对应于植物个体可全

能再生的技术和专利。

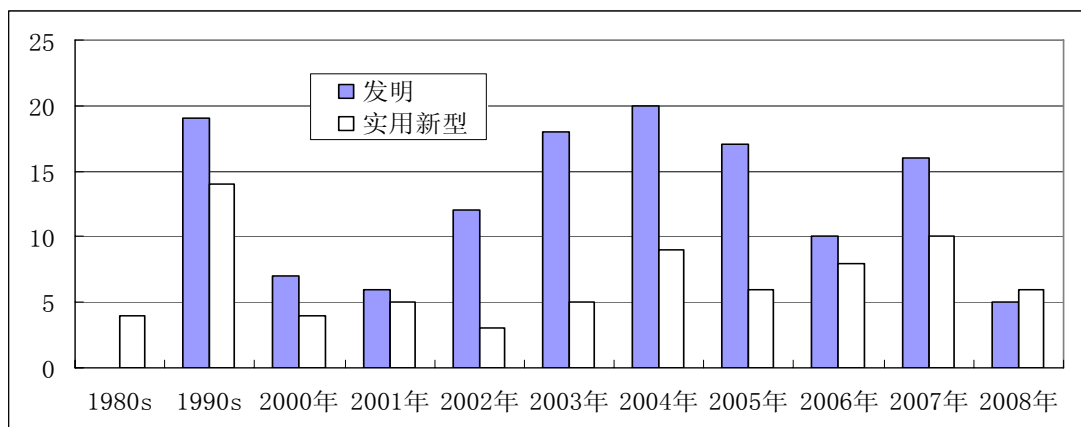


图2. 历年中国植物细胞培养领域的发明和实用新型专利数量

Fig. 2. Time series of numbers of patent in plant cell culture in China from 1985 to 2008

在1980s年代我国就有了与植物脱毒直接相关的专利，1990s年代增加到10多项。到2005年以后脱毒发明专利数量有所增加（图3）。而脱毒实用新型专利只有2项，并都是装备方面的。发明专利所涉及的物种主要是马铃薯，还有大蒜、百合花、甘蔗、水仙、甘薯、荸荠、莲藕、半夏、人参、草莓、菊花、丹参、生姜、地黄、葛藤、黄芩等十多种植物。发明专利囊括所有经专利保护的物种，这种情况与我国在植物快繁专利方面的情况相似，表明业界较注重发明的有效保护性。目前植物的脱毒专利技术一般是茎尖脱毒，动物细胞尚没有与植物细胞的脱毒相当的专利技术。

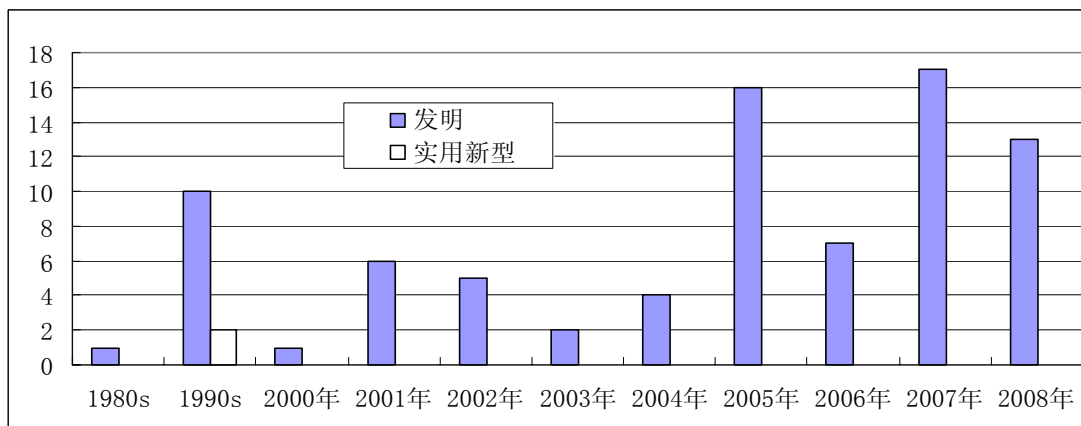


图3. 历年中国植物脱毒领域的发明和实用新型专利数量

Fig. 3. Time series of numbers of patent in virus-free plant propagation in China from 1985 to 2008

2.2 各类组织培养专利的比较

比较我国6大作物的专利（包括发明和实用新型专利），与组织培养、脱毒、快繁、育苗及细胞工程育种直接相关的专利在同一作物的总专利数中所占的比例以水稻和马铃薯的为最高（图4）。在与组织培养、脱毒、快繁、育苗及细胞工程育种直接相关的专利中，水稻占6大作物相关专利总数的一半以上（图4，参见表1“专利总和”列）。

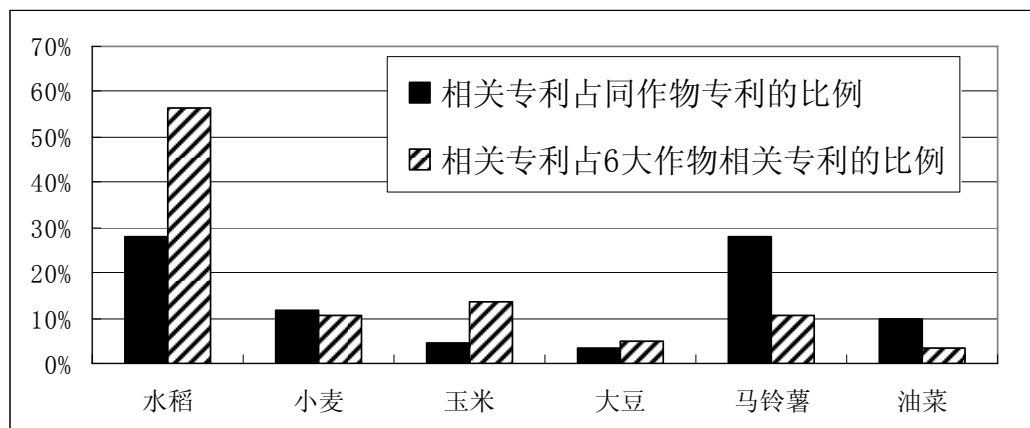


图4. 中国6大农作物组织培养、育苗及细胞工程育种的专利（包括1985~2008发明和实用新型专利）情况比较。数据包含播种和秧苗的机械专利。

Fig. 4. Comparison of the related patent and total patent numbers among the top six crops in China from 1985 to 2008. Patents of seeding and seedling machines and equipments are included.

需要说明的是，图4的统计数字中包含了播种机等秧苗装备类专利，特别是以水稻（400多件）、玉米（近100件）、小麦（近80件）为多。如果都扣除播种和秧苗的机械专利，只把狭义的直接与组织培养、育苗及细胞工程育种相关的专利进行比较，则马铃薯所占相关的专利比例最高（图5）。

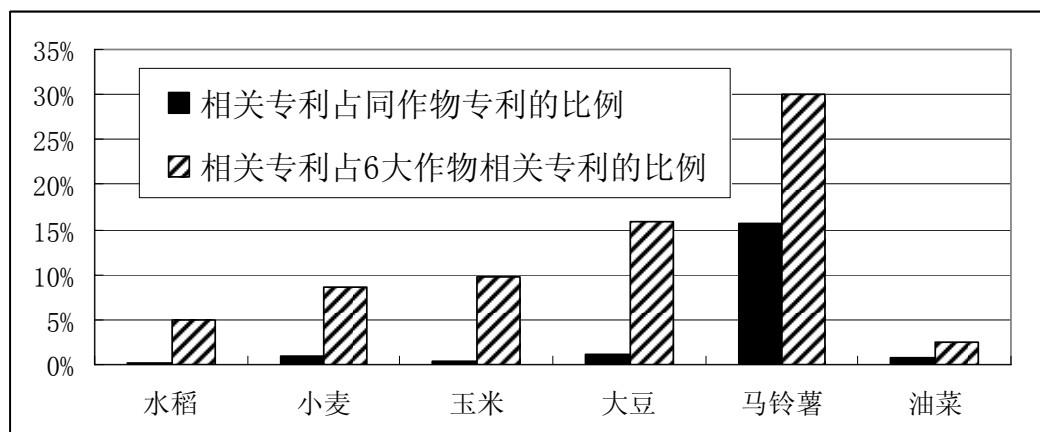


图5. 中国6大农作物组织培养、育苗及细胞工程育种的专利（包括发明和实用新型专利）情况。数据不包含播种和秧苗的机械专利。

Fig. 5. Comparison of the related patent and total patent numbers among the top six crops in China from 1985 to 2008. Patents of seeding and seedling machines and equipments are not included.

本文列出了目前几个重要领域的专利统计数字，例如农、林、园艺、环境生态、新能源、药物以及细胞工程育种所涉及的各项技术（表1）。在同一领域中含有大量的动物、微生物、医药等与植物组织培养、脱毒、快繁、育苗及细胞工程育种不相关的专利。为了尽量呈现我国专利状况的全貌，包含这些专利的总专利数也列入了表1（前3列数据）。为便于了解典型实例，有的领域在大项之后还列出了具体实例，比如，在林业领域中除了“林木-苗木”和“造林”外，还列入了银杏、水杉（濒危保护树种）、胡杨（沙漠抗旱植物）的专利情况。又如在园艺领域的“花卉”后列出了红掌-火鹤和兰花的专利情况。这种举例不意味着我国专利的管理进行本文所述的领域归类，也不意味着我国专利在所列的领域或大项内只有本表所列举的专利项目。

表1. 中国植物组织培养、育苗及细胞工程育种的专利情况 (1985-2008) *

Table 1. Statistics of patent in various fields in relation to plant cell and tissue culture, large scale propagation of virus-free plants, cell-engineering based breeding in China from 1985 to 2008*

项目	发明专利 Invention	实用新 型专利 Utility model	专利总 和 Sum of patents	相关发明 专利 Related invention	相关实用 新型专利 Related Utility Model	相关专 利总和 Sum of total related patents	相关发明 专利比例 % of related invention	相关实用 新型专利 比例 % of related utility model	相关专 利占同 领域专 利比例 % of total related patents
主要农作物** Top six crops									
水稻	970	668	1638	137	319	456	14.1%	47.8%	27.8%
小麦	522	221	743	13	74	87	2.5%	33.5%	11.7%
玉米	1257	1219	2476	17	94	111	1.4%	7.7%	4.5%
大豆	973	160	1133	20	19	39	2.1%	11.9%	3.4%
马铃薯	209	98	307	51	35	86	24.4%	35.7%	28.0%
油菜	234	55	289	10	18	28	4.3%	32.7%	9.7%
林业 Forestry									
林木-苗木	106	86	192	58	50	108	54.7%	58.1%	56.3%
造林	191	105	296	28	15	43	14.7%	14.3%	14.5%
银杏	581	13	594	4	0	4	0.7%	0.0%	0.7%
水杉	5	0	5	0	0	0	0.0%		0.0%
秃杉	0	0	0	0	0	0			
罗汉松	4	0	4	0	0	0	0.0%		0.0%
胡杨	6	2	8	2	0	2	33.3%	0.0%	25.0%
松树	65	7	72	3	0	3	4.6%	0.0%	4.2%
园艺 Horticulture									
牧草	127	184	311	4	1	5	3.1%	0.5%	1.6%
猕猴桃	72	3	75	5	0	5	6.9%	0.0%	6.7%
苹果	282	29	311	4	0	4	1.4%	0.0%	1.3%
花卉	771	1006	1777	69	118	187	8.9%	11.7%	10.5%
红掌-火鹤	5	0	5	5	0	5	100.0%		100.0%
兰花	60	15	75	10	1	11	16.7%	6.7%	14.7%
药物成分、活性成分 Medicinal or active constituents									
活性成分	6359	26	6385	25	0	25	0.4%	0.0%	0.4%
药用成分	251	5	256	6	0	6	2.4%	0.0%	2.3%
环境生态 Environment and ecology									
生态恢复	46	8	54	8	2	10	17.4%	25.0%	18.5%
固沙	159	61	220	5	3	8	3.1%	4.9%	3.6%
有机农业	28	2	30	0	0	0	0.0%	0.0%	0.0%

新能源 New energy resources									
能源植物- 能源作物	15	1	16	1	0	1	6.7%	0.0%	6.3%
生物质能- 生物乙醇- 生物柴油	88	4	92	10	1	11	11.4%	25.0%	12.0%
甜高粱	62	3	65	0	0	0	0.0%	0.0%	0.0%
重要植物器官 Important tissues and organs									
胚	676	150	826	109	0	109	16.1%	0.0%	13.2%
胚乳	149	2	151	6	0	6	4.0%	0.0%	4.0%
种子	853	351	1204	28	13	41	3.3%	3.7%	3.4%
组织培养装备 Tissue culture equipment									
培养装置	102	92	194	50	61	111	49.0%	66.3%	57.2%
育种技术 Breeding technology									
抗寒-耐寒	72	35	107	6	0	6	8.3%	0.0%	5.6%
抗旱-耐旱	178	42	220	1	0	1	0.6%	0.0%	0.5%
抗涝-耐涝	0	3	3	0	0	0		0.0%	0.0%
航天育种	2	0	2	0	0	0	0.0%		0.0%
无融合生殖	14	0	14	13	0	13	92.9%		92.9%
单倍体	72	2	74	35	0	35	48.6%	0.0%	47.3%
小孢子胚胎	7	0	7	7	0	7	100.0%		100.0%
专业技术 Tissue culture and cyto-engineering based technologies									
脱毒	280	29	309	83	2	85	29.6%	6.9%	27.5%
快繁	235	4	239	146	3	149	62.1%	75.0%	62.3%
离体繁殖	11	0	11	10	0	10	90.9%		90.9%
工厂化育苗	49	21	70	39	21	60	79.6%	100.0%	85.7%
细胞培养	852	105	957	133	74	207	15.6%	70.5%	21.6%
细胞工程	86	3	89	26	3	29	30.2%	100.0%	32.6%
细胞融合	142	5	147	10	5	15	7.0%	100.0%	10.2%
体细胞胚胎	73	0	73	63	0	63	86.3%		86.3%
人工种子	11	1	12	10	0	10	90.9%	0.0%	83.3%

*: 数据来源: 中国国家知识产权局^[61]。自 1985 年起我国才开始实施专利保护。

相关专利所收集的范围包括组织培养及相关苗木快繁技术、无融合生殖、培养基、肥料及相关试剂、仪器装备及软件等在中国知识产权局公布的数据; 少部分新的专利只属公开, 尚未授权, 也统计在内。单纯的转基因、分子标记、核酸及蛋白质序列、发酵及有效成分的提取、外观设计等未纳入本统计范围之内。

相关发明专利比例 = 相关发明数/发明数 X 100%;

相关实用新型专利比例 = 相关实用新型数/实用新型数 X 100%;

相关专利比例 = 相关专利总和/专利总和 X 100%.

**：多数为秧苗器械，参见图 5、图 6

在表1所列的几个领域中,与组织培养、苗木脱毒快繁、细胞工程育种直接相关的专利比例较高的是农业,其次时园艺,林业方面的较少。其中在农业方面,近年的专利主要集中在分子育种方面(该领域单纯的核酸和蛋白质序列、分子标记、转基因等不在本统计范围)。在离体筛选抗性品种和进行细胞工程育种方面我国专利不多。在林业方面,涉及我国特有的、濒危的物种只有极少的专利。例如水杉、秃杉、罗汉松等都没有与组织培养、苗木脱毒快繁产业化、细胞工程育种相关的专利。另外,在新药物、新能源、环保等方面,离体实验生物学还有很多可以拓展的空间。在生物资源利用方面我国的开发利用率仍然较低。在这些领域中,传统的组织培养、苗木脱毒快繁、细胞育种工程技术的发展和应用会对产业科技发展和国民经济发展发挥更大的作用。

另一方面,在分子育种领域,我国专利近期大量集中在生物芯片、分子标记和转基因方面(本文数据未显示),与组织培养、苗木脱毒快繁、细胞工程育种相关的高新技术,例如植物离体培养反馈式分子评价系统、高效智能型植物离体培养系统平台、高通量植物离体培养通用信息系统平台、专用型高效植物离体培养成套装备等,仍然缺如。当然,这些重大装备和技术的发展要依靠对离体组培中不同植物细胞的基因表达、生理代谢和细胞全能性的表达等的深入研究和了解。利用生物芯片、代谢图谱等方法研究植物形态发生和控制条件在我国才刚刚起步^[62]。

3. 讨论和展望

2008年我国国内生产总值达300670亿元,比上年增长9.0%。全年研究与试验发展(R&D)经费支出4570亿元,比上年增长23.2%,占国内生产总值的1.52%。全年国家安排了922项科技支撑计划课题,1205项“863”计划课题。全年共签订技术合同22.6万项,技术合同成交金额2665亿元,比上年增长19.7%。全年受理国内外专利申请82.8万件,其中国内申请71.7万件,占86.6%。受理国内外发明专利申请29.0万件,其中国内申请19.5万件,占67.1%。全年授予专利权41.2万件,其中国内授权35.2万件,占85.5%。授予发明专利权9.4万件,其中国内授权4.7万件,占49.7%。截至2008年底,有效专利119.5万件,其中国内有效专利92.5万件,占77.4%;有效发明专利33.7万件,其中国内有效发明专利12.8万件,占37.9%^[63]。应该说明的是,知识产权的保护多种多样,除了专利化或深藏于机密之外,还包括品种保护、产地(地理标示)保护、商标保护、著作权保护、域名保护等,广义上还有地方、行业和国家标准等。如何保护核心技术以及如何建立及打破技术壁垒,需要有机地组织相应的知识产权操作手段。也因为如此,本文所述数据不应当作为评价相关领域技术保护的唯一依据。

我国农业生物技术成就显著,并对我国经济和社会发展产生着越来越大的推动作用。我国在传统生物技术产业继续保持优势的同时,现代生物技术产业迅速崛起,新兴生物技术企业不断涌现。据2003年的统计,全国生物技术企业达到7300多家,其中以现代生物技术为核心的企业2800多家,涉及农业生物技术的企业200多家。我国现代生物技术产业的年产值达到600亿元,传统生物技术产业的年产值达到3000多亿元^[64]。正如上文中2008年度的统计资料所显示的,目前国家在实施对外开放政策的同时,也已经加大了保护我国民族高技术产业成长的力度,并在新形势下作出了《促进生物产业加快发展的若干政策》^[65]。利用植物离体组织培养、苗木脱毒快繁产业化和细胞工程育种技术解决直接影响人类和动植物的生存的重大问题是中国农业生物技术学会植物组织培养脱毒快繁分会的重要工作。通过本

文的数据分析, 不仅可以看到目前我国在上述相关各领域的专利现状, 还可以提示我们在新的领域开拓科技生长点。例如我国在2009年6月10日由中国科学院发布的《创新2050: 科技革命与中国的未来》系列报告, 为我国描绘了面向2050年科技发展路线图。该路线图认为, 当今世界正处在科技创新突破和新科技革命的前夜, 在今后的10年至20年间很有可能发生一场以绿色、智能和可持续为特征的新的科技革命和产业革命。我国必须及早构建以科技创新为支撑的八大经济社会基础和战略体系, 即可持续能源与资源体系、先进材料与智能绿色制造体系、无所不在的信息网络体系、生态高值农业和生物产业体系、普惠健康保障体系、生态与环境保育发展体系、空天海洋能力新拓展体系、国家与公共安全体系。其中我国农业科技要从植物种质资源与现代育种科技、动物种质资源与现代育种科技、资源节约型农业科技、农业生产与食品安全科技和农业现代化与智能化农业科技等五大领域实现创新突破^[66]。因此, 植物离体组织培养、苗木脱毒快繁产业化和细胞工程育种技术领域的研发应当在路线图所指示的方向作出创新。同时, 积极开展产学研商政的结合实施产业化。由于知识产权的保护和市场的占有密切相关, 因此, 实施产业化时有必要对研发、知识产权保护和市场操作作出长远、周密的策划。

参考文献

-
- ¹ 谢丛华, 柳俊 (主编) (2004) 植物细胞工程 (第2版). 北京: 高等教育出版社.
 - ² 李健, 沈效东 (2009) 宁夏在开发特色野生植物资源——节水耐旱观赏植物方面的研究与应用. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 78-87
 - ³ 徐美隆, 秦彬彬, 吴建华 (2009) 马铃薯转基因受体系统的建立. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 230-236
 - ⁴ 赖呈纯, 赖钟雄 (2009) 荔枝转基因抗性胚性愈伤组织 (TREC) 体细胞胚胎发生条件的优化. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 255-262
 - ⁵ 成小飞, 李文钿 (1999) 秃杉的组织培养. 林业科学研究, 4(2): 147-152.
 - ⁶ 宫庆华, 蒋泽平 (2009) 秃杉优选单株的组织培养技术研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 361-367
 - ⁷ 汪松, 解焱 (2004) 中国物种红色名录. 北京: 高等教育出版社.
 - ⁸ 林秀莲, 赖钟雄 (2009) 龙眼胚性愈伤组织限制生长保存过程中可溶性总糖含量的变化. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 276-282
 - ⁹ 郭玉琼, 孙云, 赖钟雄, 吕柳新 (2009) 龙眼超低温保存胚性愈伤组织的体胚发生与植株再生. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 263-268

- ¹⁰ 陈飞, 宋运贤, 薛建平 (2009) 植物茎尖超低温保存技术研究进展. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 58-64
- ¹¹ 徐涵, 李文钿 (1990) 小叶杨 X 旱柳属间杂交实验胚胎学研究. 林业科学研究, 3:29-33.
- ¹² 孟鹤, 张宝珠, 刘春, 明军, 穆鼎 (2009) 火鹤幼胚离体培养. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 141-144
- ¹³ 吴丽君 (2009) 火炬松成熟合子胚体胚发生与成熟. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 347-357
- ¹⁴ 连勇 (2001) 马铃薯脱毒种薯生产技术. 中国农业科学技术出版社, 北京.
- ¹⁵ 靳慧洁, 吴金寿, 王家福 (2009) 东方百合茎尖超低温脱毒研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 110-118
- ¹⁶ 李翠花, 蒋芳玲, 吴震 (2009) 不同因素对宜兴百合试管鳞茎形成的影响. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 91-99
- ¹⁷ 张莹莹, 樊金萍, 王金刚, 张金柱, 车代弟 (2009) 东方百合“Siberia”叶片高频再生体系的建立. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 100-109
- ¹⁸ 赵成章, 荣松, 楼楠男 (2009) 蝴蝶兰分生苗增殖规律及其应用的研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 162-172
- ¹⁹ 何俊蓉, 袁宁, 王海娥, 鲜小林, 叶兰香, 卓碧萍 (2009) 兰花大规模繁殖技术研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 179-183
- ²⁰ 冼伟, 罗伟坚, 钟玉婷, 赵凯宾, 苏坚宏 (2009) 黄金香柳组培苗工厂化生产技术研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 335-338
- ²¹ 吴建华, 闵有军, 王立英, 闵丽霞 (2009) 蒙古扁桃的组织培养与快速繁殖. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 302-305
- ²² 李艳敏, 孟月娥, 赵秀山, 王慧娟, 王利民, 张强 (2009) 粉叶复叶槭组织培养技术研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 311-315
- ²³ 娄汉平, 吴丽敏 (2009) 平榛组织培养快繁技术. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 306-310
- ²⁴ 王熙, 陈春玲, 刘佳 (2009) “芭芭拉”萱草的组培快繁. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 191-195
- ²⁵ 刘佳, 陈春玲, 王熙 (2009) 金叶番薯的组织培养与快速繁殖. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 184-190
- ²⁶ 陈春玲, 刘佳, 王熙, 赵世伟 (2009) 茅膏菜的组织培养. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和

组织培养研究。北京：中国科学技术出版社。210-217

- ²⁷ 姜新超, 刘春, 明军, 穆鼎 (2009) 麝香百合白狐(*Lilium longiflorum* White fox)愈伤组织诱导与再生体系的建立. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 119-127
- ²⁸ 柳金凤, 吴建华, 闵丽霞 (2009) 文冠果细胞悬浮培养技术研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 323-327
- ²⁹ 柳金凤, 吴建华, 闵丽霞 (2009) 文冠果组培快繁技术研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 316-322
- ³⁰ 李璐, 翁浩, 赖钟雄 (2009) 春石斛原球茎增殖与试管开花初步研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 133-140
- ³¹ 陈永勤 田良涛 肖柳青 (2009) 墨兰“达摩”离体无性繁殖技术研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 173-178
- ³² 徐美隆, 李永华, 吴建华 (2009) 不同补血草品种组织培养的比较研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 196-203
- ³³ 郑亚杰, 姚环宇, 陈玉波 (2009) 杨树新品种“鞍杂杨”的组织培养及快繁技术研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 343-346
- ³⁴ 何月秋 (2009) 湿地松茎段组织培养及植株再生. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 355-360
- ³⁵ 徐清锋, 林秀莲, 赖钟雄 (2009) 龙眼古树胚性愈伤组织的诱导及体胚发生. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 269-275
- ³⁶ 赖钟雄, 林玉玲, 赖呈纯, 陈义挺, 蔡英卿, 李惠华, 李焕苓, 何园, 方智振, 林秀莲, 徐清锋, 郭玉琼, 陈发兴 (2009) 植物体细胞胚胎发生的分子调控机制. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 18-39
- ³⁷ 蒋丽, 齐兴云, 龚化勤, 刘春明 (2009) 被子植物胚胎发育的分子调控. 植物学通报. 24: 389-398.
- ³⁸ 音建华, 赖钟雄 (2009) 正交设计在枇杷花药愈伤组织诱导中的应用. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 290-295
- ³⁹ 陈义挺, 蔡英卿, 李焕苓, 赖钟雄 (2009) 龙眼体胚发生早期PPO酶活性的变化. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 283-289
- ⁴⁰ 叶翠, 白茗洲, 张露, 刘东晓, 杨柏云 (2009) 活性炭浓度对白木香组织培养的影响. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 328-334
- ⁴¹ 潘雪, 方智振, 林玉玲, 赖钟雄 (2009) 不同氮素形态比例对长寿花试管苗增殖的基因型差异研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 145-154

- ⁴² 吴建华, 闵丽霞 (2009) 叶片大小与生长素种类及浓度对鸢尾试管苗增殖的影响. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 204-209
- ⁴³ 刘兰英, 李春玲, 顿宝红, 李曼 (2009) 抗根癌病樱桃砧木“北京对樱”的组培快繁. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 296-301
- ⁴⁴ 陈雄庭, 王颖, 张秀娟, 彭明, 吴坤鑫, 张秀娟 (2009) 利用组织培养方法培育具有根系抗寒能力橡胶树无性系. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 339-342
- ⁴⁵ 李志丹, 王春城, 肖尊安 (2009) 西花蓟马 (*Frankliniella occidentalis*) 对组培苗规模化生产的危害. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 248-251
- ⁴⁶ 高红胜, 嵇恩光, 杨水霞 (2009) 热水处理对降低“索蚌”百合鳞片组培内生菌污染率的效应. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 128-132
- ⁴⁷ 李树贤 (2008) 植物染色体与遗传育种. 北京: 科学出版社
- ⁴⁸ 黄先群, 徐涵 (2008) 油菜生物技术. 见: 侯国佐 (主编) (2008) 贵州油菜. 贵阳: 贵州科技出版, 223-252 页.
- ⁴⁹ 卢翠华, 邸宏, 石瑛, 张丽莉, 刘辉, 赵欣 (2009) 马铃薯花药培养试验体系的优化. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 224-229
- ⁵⁰ 韩玉琴, 肖志敏, 赵海滨, 辛文利, 刘文萍, 南相日 (2009) 提高春小麦花粉植株加倍率的研究. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 237-240
- ⁵¹ 康庆华, 许修宏, 李柱钢, 徐涵, 关凤芝, 刘文萍, 张利国 (2006) 亚麻单倍体抗逆基因的转化. 中国麻业科学, 28(6):291-296
- ⁵² 胡适宜 (1982) 被子植物胚胎学. 北京: 人民教育出版社
- ⁵³ 潘大仁, 周以飞, 程晓春, 王占成, 随粉粉 (2009) 马蓝细胞悬浮培养及靛蓝、靛玉红含量的分析. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 218-223
- ⁵⁴ 田英, 倪细炉, 彭励 (2009) 药用植物细胞培养研究进展. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 47-57
- ⁵⁵ 朱艳芳, 张爱民, 薛建平 (2009) 药用植物细胞悬浮培养研究进展. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 40-46
- ⁵⁶ 连勇, 刘富中, 冯东昕, 宋燕, 陈钰辉, 张松林, Darasinh Sihachakr (2004) 应用原生质体融合技术获得茄子种间体细胞杂种. 园艺学报, 31(2):133-235
- ⁵⁷ 徐志刚, 崔瑾, 焦学磊 (2009) 不同光谱能量分布的LED对组培苗的生物效应与能效特性. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 241-247

- ⁵⁸ 李焕苓, 赖钟雄, 黄宇翔 (2009) 非洲菊组培苗DNA微量提取及在品种混杂RAPD鉴别上的应用. 见: 李健, 连勇, 徐涵 (主编) 植物细胞和组织培养研究. 北京: 中国科学技术出版社. 155-161
- ⁵⁹ 李华, 徐涵, 刘富中, 陈钰辉, 连勇 (2007) 代谢组学及其在离体小孢子培养上的应用. 农业生物技术学报 15 (增刊): 12-17
- ⁶⁰ 中华人民共和国国家统计局 (2008), 改革开放 30 年报告之十四: 科技创新取得了举世瞩目的巨大成就. http://www.stats.gov.cn/tjfx/ztfx/jnggkf30n/t20081113_402516560.htm
- ⁶¹ 中华人民共和国国家知识产权局 <http://search.sipo.gov.cn/sipo/zljs/>
- ⁶² 国家自然科学基金委员会 http://isis.nsf.gov.cn/portal/Proj_List.asp
- ⁶³ 中华人民共和国国家统计局 (2009) 中华人民共和国 2008 年国民经济和社会发展统计公报. http://www.stats.gov.cn/tjgb/ndtjgb/qgndtjgb/t20090226_402540710.htm
- ⁶⁴ 中华人民共和国科学技术部 (2006) 加速发展生物技术 培育新的经济增长点. http://www.most.gov.cn/kjbgz/200610/t20061025_36767.htm
- ⁶⁵ 中华人民共和国国家发展和改革委员会 (2009) http://gjss.ndrc.gov.cn/xxingcy/swcy/t20090525_281496.htm
- ⁶⁶ 中华人民共和国中央人民政府 (2009) http://www1.www.gov.cn/jrzg/2009-06/10/content_1336915.htm