

转基因植物环境安全评价策略

宋新元^{1,2}, 张欣芳¹, 于 壮¹, 李新海², 张 明¹

¹吉林省农业科学院,农业部转基因植物环境安全监督检验检测中心,
吉林 长春 130124;²中国农业科学院作物科学研究所,北京 100081

摘要: 构建完善的转基因植物环境安全评价技术体系是保障转基因生物产业健康发展的重要组成部分。本文综述了转基因植物环境安全评价技术发展历程与趋势,归纳了转基因植物环境安全评价的思路与内容。转基因植物环境安全评价应分为潜在风险分析、风险假设验证、风险特征描述等 3 个步骤,并采用逐层评价模式;安全评价应贯穿转基因植物新品种研发与产业化全程,包括应用前预测、研发中筛选、推广前评价、推广后监测。此外,基于科学性和个案分析原则,本文对复合性状、非生物胁迫抗性等新型转基因植物环境安全评价策略进行了探讨。

关键词: 转基因植物; 环境风险评价; 逐层评价; 复合性状

Strategy of environmental bio-safety assessment for transgenic plants

Xin-yuan SONG^{1,2}, Xin-fang ZHANG¹, Zhuang YU¹, Xin-hai LI², Ming ZHANG¹

¹National Center for Environmental Safety Inspection of Transgenic Plants, Ministry of Agriculture, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun, Jilin 130124, China;²Institute of Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

Abstract: A reliable environmental bio-safety assessment system is an important component in the process of transgenic crop commercialization. The paper has reviewed the development history, trend, thoughts and contents of environmental bio-safety assessment for transgenic plants. Environmental bio-safety assessment for transgenic plants should be included three steps: the analysis of potential risks, risk verification and risk characterisation; these should be stepwise evaluated. The bio-safety assessment should be integrated in the whole process of research and commercialization, which includes the prediction before application, the selection during the research and development, the assessment before commercialization and the monitoring after commercialization. According to the principles of scientific case-by-case analysis, the paper briefly summarises the strategy of environmental bio-safety assessment for transgenic plants displaying complex traits and abiotic stress resistance.

Key words: transgenic plant; environmental risk assessment; stepwise evaluation; complex character

20 世纪 80 年代以来,转基因技术飞速发展,因其能够克服常规育种手段的一些局限,在农业生物新品种培育领域备受青睐。如今,科学家已培育出一系列具有优良性状(如抗虫、抗除草剂等)的转基因作物新品种,并进行了大面积的推广种植。这些转基因作物,在带来直接经济与生态效益的同时,也为解决未来世界粮食、能源危机提供了新的途径。但同时,转基因技术也存在一定的风险。近年来,转基因生物安全问题在全世界范围内引起了广泛关注,尤其关于“转基因植物环境安全性”问题更成为争论的焦点(Andow & Zwahlen, 2006)。我国在“转基因植物环境安全评价方法与技术”相关领域进行了大量的研究,在转基因作物的生存竞争能

力、外源基因漂移规律及其对环境的影响、转基因作物对非靶标生物的影响、靶标害虫抗性演化及抗性治理策略等环境安全评价技术和程序等方面取得了较大进展。本文拟对转基因植物环境安全评价发展历程、趋势、思路、内容及评价策略进行概述,旨在为完善转基因植物环境安全评价技术体系及转基因生物研发和安全管理提供借鉴。

1 转基因植物环境安全评价历程与展望

1.1 特点

转基因植物环境安全评价具有特异性、交融性和长期性等特点。具体表现:(1)转基因技术可打破物种界限,扩大基因的使用范围,应用程度超越了作物自然进化与常规育种,因此需要特异性评价外源基因进

入新的遗传背景所引发的效应;(2)转基因植物环境安全评价是宏观与微观交融的学科,涉及分子生物学、生物化学、生态学、植物保护学、生物信息学等诸多领域;(3)转基因植物的许多生态效应需要长期监管,转基因植物环境安全评价应力争在产业化之前,利用短期、小规模试验积累评价数据,以避免环境风险。

1.2 简要发展历程

1975 年,在美国加利福尼亚州举行的 Asilomar 会议,标志着人类首次开始关注转基因技术安全性问题(Berg *et al.*, 1975)。20 世纪 80 年代以来,转基因植物环境安全被高度重视,通过研讨达成了一定共识:(1)存在转基因植物环境风险;(2)环境安全评价应以个案分析(case-by-case)为基础;(3)评价内容应考虑目标基因来源、释放环境、基因受体的生物学与生态学特性、释放的规模与频率等因素(Andow *et al.*, 1987)。20 世纪 90 年代提出:(1)转基因植物环境风险的类型主要包括 3 个方面,即对非靶标生物和生物多样性的影响、基因漂移及引发的效应、靶标生物抗性进化(Snow & Mora'n-Palma, 1997; Wolfenbarger & Phifer, 2000; Snow *et al.*, 2005);(2)环境安全评价应采取逐层风险评价模式(tiered risk assessment);(3)转基因植物风险评价理论与技术框架仍需要不断完善与发展(Andow & Zwahlen, 2006)。

1.3 新的挑战与展望

21 世纪,转基因技术与产业空前发展,新基因、新性状、新用途的转基因产品大量涌现。按基因与性状,转基因品种发展大致可分为 3 代。第一代 of 抗除草剂与农业有害生物的转基因植物;第二代为改良植物农艺性状与改善产品品质的转基因植物,如提高非生物逆境(旱、盐、热)耐受能力、增加油分、改善加工特性等;第三代为表达特殊用途蛋白质的转基因植物,如药用蛋白、酶制剂、工业原料等(陈洁君等, 2007)。同时,复合 2 种或多种性状的转基因植物也得到蓬勃发展。

现有的转基因植物环境安全评价技术体系主要针对第一代转基因植物所建立,各种新型性状对环境安全评价工作提出了更高的要求。如今,根据外源基因作用机理、按产业链条全程安全评价的观点已基本成为共识。今后,转基因植物环境安全评价的趋势:微观上向基因型、蛋白谱和代谢物组分变化等方面发展;宏观上向生物进化、多样性和群落演变

等方面发展。完善外源基因、载体及其表达蛋白的安全预测技术体系,优化转化事件筛选技术体系,新型性状转化体安全评价技术体系以及产业化转基因作物安全监测技术体系将是今后研究的重点内容。

2 转基因植物环境安全评价策略

2.1 评价步骤

科学的风险假设是转基因植物环境安全性评价的基础原则。转基因植物环境安全评价大体可分为 3 个步骤,即潜在风险分析、风险假设验证和风险特征描述(图 1)。

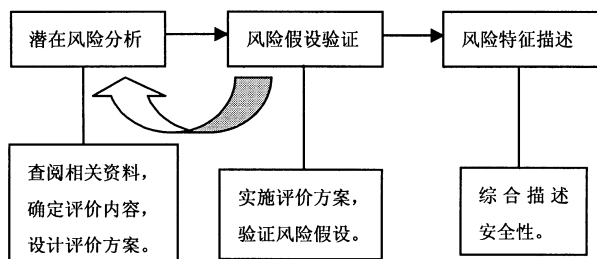


图 1 转基因植物环境安全评价步骤

Fig. 1 Environmental bio-safety assessment steps of transgenic plants

潜在风险分析主要包括 2 个过程。(1)查阅文献资料,对转基因植物本身与释放环境特点进行全面的了解与分析。应掌握的转基因植物相关信息包括分子特征、蛋白表达、作用机理、靶标效应、作用范围、可能产生的非靶标效应、已有的安全评价数据、类似作用机理的转基因植物安全评价数据等;释放环境的相关信息包括释放目的、释放规模、其中植物的种植模式、其生态学特点等。(2)确定具有科学意义的评价内容,并设计评价试验方案。即根据所掌握的转基因植物与释放环境的信息,进行科学的风险假设,确定 risk 评价内容,如对非靶标重要植食性害虫、有益生物群体、土壤生态功能、濒临灭绝物种的影响等;然后根据评价所需的内容设计科学的、操作性强的、能确定危害发生可能性与危害程度的评价试验方案。

风险假设验证是在实验室或田间自然条件下实施潜在风险分析中确立的试验方案,并得到科学的试验数据,再对试验结果进行分析,对潜在风险分析中确定的 risk 假设进行验证。如果在验证时发现新的问题,应返回潜在风险分析步骤,重新进行风险分析,设计试验,进行再验证。

risk 特征描述是对转基因植物环境安全性进行综合的描述。如通过潜在风险分析、risk 假设验

证2个步骤后,认为以上科学分析与验证可以全面地说明转基因植物潜在的环境安全问题,即对安全性进行全面的描述。

2.2 逐层风险评价模式

科学合理的评价模式是进行转基因植物环境安全评价的保障。20世纪90年代,逐层风险评价模式被众多学者所认可,但如何构建、设计逐层风险评价的具体模式与内容,不同学者存在不同的观点(Strandberg *et al.*, 1998; Kjaer *et al.*, 1999; Poppy, 2000; Schuler *et al.*, 2001; Cowgill & Atkinson, 2003; Dutton *et al.*, 2003a、b; Hill & Sendashonga, 2003; Romeis *et al.*, 2006; Wolt *et al.*, 2010;

Romeis *et al.*, 2010)。总体来看,逐层风险评价模式为先根据个案收集相关信息与数据,然后进行评价的可行性分析。如果认为已掌握的资料不能满足评价的需要,则进入下一层,补充必要的信息再进行评价可行性分析;如果认为已掌握的资料可以满足评价的需要,即进行风险评价。若在风险评价过程中,发现新的问题,则再进入下一层,继续补充必要的信息后再进行评价。可见,所掌握信息量的多少和风险评价者的决策是逐层风险评价的关键。Andow & Zwahlen 在2006年结合以往的研究建立了逐层风险评价模型的单层结构图(图2)。

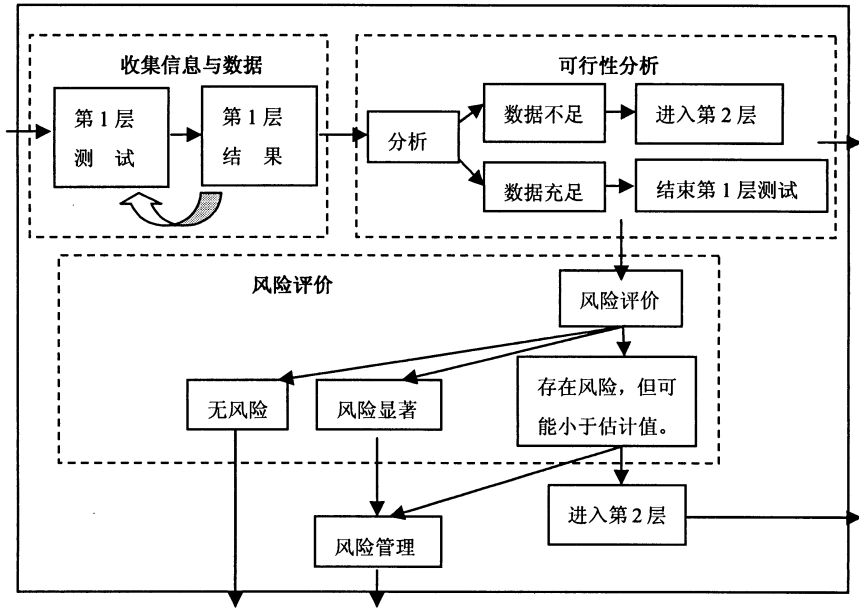


图2 逐层风险评价的单层结构图(Andow & Zwahlen,2006)
Fig. 2 Framework for tiered risk assessment showing the structure of a single tier (Andow & Zwahlen,2006)

2.3 评价内容

为保障转基因植物产业化,安全评价应贯穿新品种研发与推广的全过程。根据国际惯例与我国相关政策,转基因植物环境安全评价可分为4个环节,即应用前预测、研发中筛选、推广前评价和推广后监测(图3)。

2.3.1 应用前预测 在研发之初,应先根据生物信息学资料对目的基因、载体及外源表达蛋白的安全性进行分析。即从基因的来源(供体生物特性)、结构(包括DNA序列、推导的氨基酸序列、基因中的酶切位点等)、功能、作用方式、安全使用历史(已有的相关安全性试验数据)等方面评价目的基因的安全性;从启动子、终止子、标记基因、报告基因以及其他

表达调控元件的来源、大小、DNA序列、功能及安全应用记录等方面评价载体的安全性;从外源基因表达蛋白的分子特征、生化特征、功能与作用方式等方面,与已知致敏原、毒蛋白、抗营养因子(如蛋白酶抑制剂、植物凝集素等)的氨基酸序列进行相似性比较,系统分析目的基因与载体表达蛋白的安全性。值得注意的是,转基因技术正向高效、安全的方向发展,选择型启动子、无标记或中性标记技术、基因限制技术等已被广泛应用于转基因新品种研发中。

2.3.2 研发中筛选 转基因新品种研制的根本途径是先获得大群体的转化事件,再通过淘汰获得具有产业化前景的转化体。因此,在转化事件选优过程中应充分考虑环境安全性,主要包括6个方面。

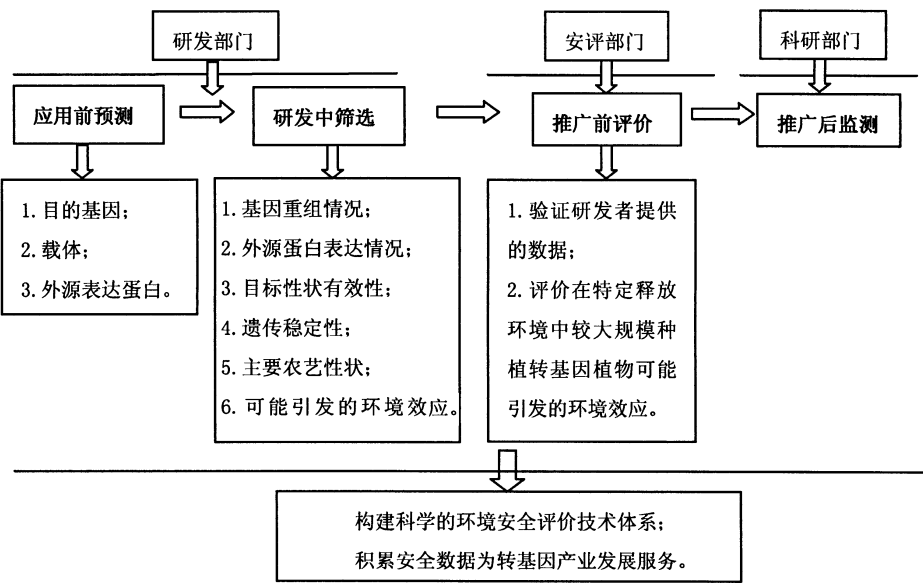


图 3 转基因植物环境安全评价流程

Fig. 3 The procedure of environmental bio-safety assessment for transgenic plants

(1)基因重组情况。应考核外源基因重组后的完整性、插入的拷贝数、边界序列等。一个优良的转化事件,其外源基因应保持完整,插入为单拷贝,插入的位点不降低受体植物的安全性,不影响受体重要的生物功能。

(2)外源蛋白表达情况。应考核目的蛋白在转基因植物重要生长期、重要器官中的表达水平,且载体中基因表达的蛋白应不降低受体的安全性。

(3)目标性状有效性。根据个案采用不同方法考核目标性状的有效性。如转 *Bt* 基因抗虫植物需重点考核其对靶标害虫的杀虫效果。

(4)遗传稳定性。应考核转基因植物代际间目的基因的整合与表达情况,包括目的基因整合的稳定性、目的基因表达的稳定性、目标性状表现的稳定性,至少应进行 3 代遗传稳定性分析。

(5)转基因植物主要农艺性状。应考核外源基因插入对植物目标性状外的其他重要农艺性状产生的影响。农艺性状决定一个品种的优劣,是筛选优良转化体过程中的一项重要依据。对于外源基因作用原理与农艺性状相关的转基因植物,重要农艺性状的评价更为重要。农艺性状(不包含目标性状)评价方法与常规非转基因植物相同。以转 *Bt* 基因抗虫玉米为例,在鉴定抗虫性的同时,还要考察种子的发芽率、休眠性、植株散粉期、吐丝期、株高、穗位、倒伏率、产量以及对非靶标虫害、病害、逆境的抗性等重要农艺性状。

(6)释放到环境中可能引发的效应。在室内或严格控制的小规模自然条件下,评价转基因植物与环境中其他生物的异交能力、对重要非靶标生物的影响、对群落多样性的影响、目的蛋白在土壤中的降解规律、对土壤生态功能的影响等。如果转基因植物为抗病虫害性状,还需根据外源基因作用的机制和特点,评价靶标生物抗性进化风险,并提出抗性监测方案和治理措施。

2.3.3 推广前评价 根据我国颁布的法规——《农业转基因生物安全管理条例》、《农业转基因生物安全评价管理办法》,农业转基因产品应依次经过中间试验、环境释放、生产性试验等步骤,方可申请安全证书,进入品种审定程序。其目的主要是审查和验证研发者所提供的安全评价数据,以及发现在特定环境中释放转基因植物,尤其是较大规模释放转基因植物所产生的环境效应。主要评价内容包括 5 个方面。

(1)分子特征验证。根据研发部门提供的方法,对转基因植物的重要分子特征资料(包括基因特征与蛋白特征)进行验证。蛋白特征验证应包括目的蛋白在转基因植物重要生长期、重要器官中的表达情况。

(2)目标性状有效性评价。高效表达目标性状是转基因操作的根本所在,因此,目标性状有效性是一个基本的评价指标。以转 *Bt* 基因抗虫植物为例,需在室内进行生测试验,在田间自然条件下进行接虫试验,调查靶标害虫在转基因植物及受体品种田

的危害情况与种群动态,综合评价目标性状有效性。

(3)生存竞争能力评价。一般分为栽培地试验与荒地试验,主要评价转基因植物与受体的种子活力、种子休眠特性、越冬越夏能力、抗病虫能力、生长势、生育期、产量、落粒性等的适合度变化及杂草化风险。若受体植物为多年生草类(饲草、制种用的草坪草)或目标性状能增强生存竞争力(如抗旱、耐盐等),应根据个案提出有针对性的补充资料。

(4)基因漂移及其环境影响评价。转基因植物外源基因漂移的风险主要有2个方面:①产生难治理的杂草;②降低野生近缘种的遗传多样性。应整理分析野生近缘种的分布与生物学特性,并设计试验评价外源基因漂移频率、外源基因在野生近缘种中的表达情况、目的基因是否改变野生近缘种的生态适合度等。如我国的水稻和大豆都存在野生近缘种,应重视对其外源基因漂移及其环境影响的研究。而玉米在我国不存在野生近缘种,因此,大部分学者认为,基因漂移不应成为转基因玉米研究的重点。

(5)对非靶标生物及生物多样性的影响。由于生态系统中各元素的关联性,应根据外源基因表达蛋白特点和作用机制,科学地确定具有研究意义的非靶标生物,一般包括评价转基因植物对群落中的非靶标重要植食性害虫、害虫天敌、资源昆虫及其他受关注与保护的物种可能产生的影响。同时,有选择地评价转基因植物对相关动物群落、植物群落和微生物群落结构和多样性的影响,以及对病虫害等有害生物演化的影响。

2.3.4 推广后监测 目前,转基因植物环境安全评价是利用短期、逐步扩大规模的试验来评价与预测环境风险。因此,在商业化种植后,对转基因作物的生态效应进行长期监测,这对于积累生态效应数据尤为重要。监测内容主要包括重要转基因作物外源基因成分的流散、靶标生物对转基因作物的抗性、转基因作物对生态系统生物多样性和生态功能的影响、转基因作物对重要节肢动物群落演替的影响等。随着转基因产业化的不断深入与发展,推广后监测将面临更大的挑战。国际通用做法是遵循“谁研发谁负责”的原则,由研发单位监测转基因植物商业化后引发的效应,再定期向国家相关管理部门汇报。如我国已商业化种植的转 *Bt* 基因抗虫棉,对其生态效应的监测与研究主要由国家资助科研部门负责,并已取得重要的进展(Wu *et al.*,

2008; Lu *et al.*, 2010)。今后在我国如何落实监测责任与监督监测工作,还有待深入探讨。

3 新型性状转基因植物环境安全评价策略

3.1 复合性状转基因植物环境安全评价策略

复合性状已成为转基因植物发展的重要趋势。2008年,全球种植的复合性状转基因作物达 2690 万 hm^2 ,与 2007 年(2180 万 hm^2)相比,增长率为 23%,已成为发展最快的性状组群(James, 2009)。2009 年,全球复合性状转基因作物面积又创新高,达到 2870 万 hm^2 (James, 2010)。随着更多转化体的出现及潜在组合的增加,复合性状转基因植物安全评价技术将成为争论的焦点。评价复合性状转基因植物应根据获得途径区分对待。目前,获得复合性状转化体的途径通常有3种:(1)基因转化,即将已获得批准种植的某一转化品系作为受体,再转入新性状基因;(2)基因操作技术,将含有2个或多个性状的基因同时转入1个受体中;(3)常规育种,对2个或多个已批准种植的转化品系进行复合。通过基因转化或分子技术手段而产生的复合性状转基因植物应被认为是新的转化体,需要进行完整的安全评价;通过常规育种手段获得的复合性状转基因植物应根据个案进行分析,确定评价策略。通常是从基因整合、蛋白表达、温室及田间自然状态下的靶标效应鉴定等方面评估复合的基因间是否存在互作。如果基因间不存在互作,则认为复合性状转基因植物与父母本相比不存在更多的风险;如果基因间发生了互作,则应根据个案,补充数据,再进行评价(Duesing, 2009; Layton, 2009)。

孟山都、杜邦、先正达等生物种业公司认为,“大组合包容小组合原则”适用于评价复合性状转基因植物的安全性。即如果已证明 $A \times B \times C$ 组合安全,则可认为 $A \times B$ 、 $B \times C$ 与 $A \times C$ 等3个组合均安全(Layton, 2009)。但业内人士并未对这一观点取得共识。同时,评价数据的通用性问题,即复合性状转基因植物在一个地区所复合的基因间的互作关系是否适用于其他国家和地区,也被高度关注。如果仅从植物本身考虑,基因是否互作的数据应具有通用性,但在特定的生态环境中,是否可能引发新的风险仍无定论。因此,关于复合性状转基因植物安全性的评价策略尚存在一定的争议,有待于深入研究及更多科学数据的证明。

3.2 养分高效与非生物胁迫抗性转基因植物环境安全评价策略

近年来,养分高效与非生物胁迫抗性转基因植物发展较快,并成为转基因新品种研发的重要方向之一,其环境安全评价策略正处于广泛探讨中。根据个案原则,以外源基因的作用机制为基础,科学假设风险,再利用科学试验验证,从而完善安全评价技术成为评价新型性状转基因植物的共识。有人认为,未来的养分高效与非生物胁迫抗性转基因植物将倾向于以植物基因来源为主,较之以微生物基因来源为主的抗虫、抗除草剂转基因植物更具安全性,可适当减少安全评价程序与内容,但此观点尚未取得大家的共识。笔者认为,应建立科学、统一的养分高效、非生物胁迫抗性转基因植物目标性状有效性的鉴定标准;重点评价养分高效转基因植物对释放环境中其他植物、节肢动物及土壤生态功能的影响;重点评价非生物胁迫抗性转基因植物基因漂移及其生态效应、生存竞争力及杂草化等风险。

参考文献

- 陈洁君,王劲,宛煜嵩,金芄军. 2007. 转基因作物安全性评价与商品化前景分析. 中国农业科技导报,9(3):38-43.
- Andow D A and Zwahlen C. 2006. Assessing environmental risks of transgenic plants. *Ecology Letters*,9:196-214.
- Andow D A, Levin S A and Harwell M A. 1987. Evaluating environmental risks from biotechnology: contributions of ecology//Fowle I I I, John R. *Application of Biotechnology: Environmental and Policy Issues*. Boulder: Westview Press, 125-144.
- Berg P, Baltimore D, Brenner S, Roblin R O I and Singer M F. 1975. Asilomar conference on recombinant DNA molecules. *Science*,188:991-994.
- Cowgill S E and Atkinson H J. 2003. A sequential approach to risk assessment of transgenic plants expressing protease inhibitors: effects on nontarget herbivorous insects. *Transgenic Research*,12:439-449.
- Dutton A, Romeis J and Bigler F. 2003a. Test procedure to evaluate the risk that insect-resistant transgenic plants pose to entomophagous arthropods//*International Symposium on Biological Control of Arthropods*. Morgantown, WV: Forest Health Technology Enterprise Team,466-472.
- Dutton A, Romeis J and Bigler F. 2003b. Assessing the risks of insect resistant transgenic plants on entomophagous arthropods: *Bt*-maize expressing *Cry1Ab* as a case example. *Bio-Control*,48:611-636.
- Duesing J. 2009. *Overview on Combined Events*. Beijing: USTDA and MOA Agricultural Biotechnology Technical Exchange Meet.
- Hill R A and Sendashonga C. 2003. General principles for risk assessment of living modified organisms: lessons from chemical risk assessment. *Environmental Biosafety Research*,2:81-88.
- James C. 2009. 2008 年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势. 中国生物工程杂志,29(2):1-10.
- James C. 2010. 2009 年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势. 中国生物工程杂志,30(2):1-22.
- Kjaer C, Damgaard C, Kjellson G, Strandberg B and Strandberg M. 1999. Ecological risk assessment of genetically modified higher plants—identification of data needs//*NERI Technical Report No. 303*. Copenhagen, Denmark: Ministry of Environment and Energy, National Environmental Research Institute.
- Layton R. 2009. *Approaches to Conduct Environmental Risk Assessment of Combined Events*. Beijing: USTDA and MOA Agricultural Biotechnology Technical Exchange Meet.
- Lu Y H, Wu K M, Jiang Y Y, Xia B, Feng H Q, Kris A G Wyckhuys and Guo Y Y. 2010. Mirid bug outbreaks in multiple crops correlated with wide-scale adoption of *Bt* cotton in China. *Science*,328:1151-1154.
- Poppy G. 2000. GM crops: environmental risks and non-target effects. *Trends in Plant Science*,5:4-6.
- Romeis J, Meissle M and Bigler F. 2006. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. *Nature Biotechnology*,24:63-71.
- Romeis J, Hellmich R L, Candolfi M P, Carstens K, Schrijver A D, Gatehouse A M R, Herman R A, Huesing J E, Mclean A M, Raybould A, Shelton A M and Waggoner A. 2011. Recommendations for the design of laboratory studies on non-target arthropods for risk assessment of genetically engineered plants. *Transgenic Research*,20(1):1-22.
- Snow A A, Andow D A, Gepts P, Hallerman E M, Power A and Tiedje J M. 2005. Genetically modified organisms and the environment: current status and recommendations. *Ecological Applications*,15:377-404.
- Snow A A and Mora'n-Palma P. 1997. Commercialization of transgenic plants: potential ecological risks. *BioScience*,47:86-96.
- Strandberg B, Kjellson G and Lokke H. 1998. Hierarchical risk assessment of transgenic plants: proposal for an integrated system. *Biosafety Journal*,4:2.
- Schuler T H, Denholm I, Jouanin L, Clark S J, Clark A J and Poppy M. 2001. Population-scale laboratory studies of the effect of transgenic plants on nontarget insects. *Molecular Ecology*,10:1845-1853.
- Wolt J D, Keese P, Raybould A, Fitzpatrick J W, Burachik M, Gray A, Olin S S, Schiemann J, Sears M and Wu F. 2010. Problem formulation in the environmental risk assessment for genetically modified plants. *Transgenic Research*,19:425-436.
- Wolfenbarger L L and Phifer P R. 2000. The ecological risks and benefits of genetically modified plants. *Science*,290:2088-2093.
- Wu K M, Lu Y H, Feng H Q, Jiang Y Y and Zhao J Z. 2008. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with *Bt* toxin-containing cotton. *Science*,321:1676-1678.