

# 林木基因工程风险评估和安全管理现状

卢孟柱 韩一凡 杜生明

(中国林业科学研究院林业研究所, 100091, 北京; 第一作者 35 岁, 男, 副研究员)

**摘要** 综述了国内外林木基因工程的研究发展以及国内外现有的对转基因植物的安全评估和管理概况, 强调了对转基因林木的评估标准和管理措施应结合林木自身特点逐一进行, 以减少其可能造成的基因污染为重点。对我国转基因林木生物安全的评估和管理提出了一些建设。

**关键词** 转基因林木; 生物安全; 风险评估; 生态环境

**分类号** S722.36

以科学研究为先导的技术革命是解决世界人口增长和自然资源日趋贫乏这一矛盾的唯一途径。近 20 a 生物科学的重大研究成果之一是生物技术的快速发展所带来的农作物增产, 并显示出其应用的巨大潜力。80 年代发展起来的植物基因工程技术已使成百上千种植物获得了来自其它生物的或人工合成的基因编码的性状, 其中不少可促进植物的快速生长, 增加对病虫害和逆境的抗性<sup>[1]</sup>。自 90 年代起各国都加大了在此方面的投资<sup>[2]</sup>。森林作为生态环境的主体, 为农业的可持续发展提供了必备的条件。为了在保护天然林的同时, 满足经济建设和生态建设对林木的需求, 像我国这样森林资源缺乏的国家, 必须营造大量高产、优质、抗逆的人工林。常规育种手段受林木的生物学特性如生长周期长、性状分析难度大等特点制约, 育种周期相应延长, 成为林木遗传改良的最大障碍。利用现代生物技术, 通过目的性非常强的基因操作改良林木经济性状, 实现其优质高产, 可加速优良新品种的培育, 前景非常广阔。

虽然转基因动植物带来了令人瞩目的经济效益, 但是必须注意其给人类和生态环境可能产生的负面影响。转基因植物的田间试验作为商品化的必经阶段, 全面评估其负面影响受到了社会各方面的关注<sup>[3]</sup>。1985 年经济合作与发展组织(OECD)发表了关于重组 DNA 安全问题蓝皮书后, 部分国家已相继建立了一些法规来指导和监督本国的遗传改良生物体的试验研究<sup>[4]</sup>。由于林木生命周期长、自然界中还存在着转基因林木相应的自然群体等, 因此在考虑其对生态环境所产生的影响时, 应与农作物有所不同。

## 1 国内外转基因林木研究进展及趋势

### 1.1 研究进展

林木转基因研究起步于 80 年代末, 开始主要是利用一些标记基因研究树木的转化, 即探索将外源基因引入林木基因组中的技术、基因表达情况和经组织培养再生为完整植株的方法。进入 90 年代, 具有经济价值的基因如抗虫、抗除草剂基因等被导入了一些组培和转化都已成熟的双子叶林木中。杨树抗虫和果树如苹果(*Malus pumila* Mill.)、梨(*Pyrus communis* L.)、

葡萄(*Vitis vinifera* L.)等抗除草剂、抗病虫害及木瓜(*Chaenomeles* spp.)抗病毒等的转基因植株已陆续进入田间试验阶段。由于大多数林木如针叶树种的组培技术和基因导入技术还不很成熟,加上林木分子生物学研究的落后所造成的可用于林木改良的基因贫乏等因素,导致林木生物技术的发展与应用相对滞后。

我国的林木转基因研究相对较早。1990年在欧洲黑杨(*Populus nigra* L.)上成功转化了苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*)内毒素基因,获得了较高杀虫活性的工程植株并定植于苗圃,1993年在新疆通过扦插营造了试验林<sup>[5]</sup>。目前正进行花粉不育基因、蛋白酶抑制剂等的基因工程研究。受体也由欧洲黑杨扩大到其它杨树种及落叶松(*Larix* spp.)、杉木(*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.)等。

国外的转基因林木主要是杨树(*Populus* spp.),更多的是用来研究基因的功能。例如瑞典农业大学的一个研究小组将来自农杆菌 *Agrobacterium tumefaciens* 的生长素合成酶基因如 *rolc* 等转入欧美山杨(*P. tremula* L. × *P. tremuloides* Michx.)中,改变了植株的激素水平,导致了解剖学上的改变,木材材性也发生了变化,为利用激素调控改良木材品质奠定了基础<sup>[6]</sup>。值得一提的是,已有研究者利用基因工程手段获得了通过表达反义RNA抑制木质素合成的杨树植株,为改良木材材性提供了一条有效途径<sup>[7]</sup>。在欧洲,已有学者开展了难度较大的针叶树种的基因转化,经优化转化条件和筛选适宜细胞系,获得了挪威云杉(*Picea abies* (L.) Karst.)、落叶松的转基因植株<sup>[8]</sup>。

## 1.2 发展趋势

尽管林木基因工程还处于起始阶段,但转基因植株的成功例子,特别是已获得木材性质改变的转基因杨树,以及最近报道的杨树转入了植物色素A后改变了其生长所需的光照周期和对寒冷的适应性<sup>[9]</sup>,这使利用基因工程技术为人工林建设培育所需的造林树种,实现林木的速生、优质、抗逆成为可能。正是这种希望不但促使各国科学家相继投入到林木转基因研究之中,而且推动了林木的分子生物学研究的深入开展。在深入认识林木形成的分子基础上,更有助于进行有目的的基因操作。来自林木本身、更适合林业应用特点的外源基因会更多地分离和鉴定出来,培育出符合经济和生态环境建设需要的林木新品种。这些无疑会促进新的转基因林木品种的产生,它们的田间试验会越来越多,应用范围也会逐年扩大。遗传改良林木的田间试验与商品化所带来的对人类和生态环境的可能影响要采取适当的防范措施,制定有关的政策和法规进行监督,以达到在充分发挥生物技术所带来的巨大经济效益的同时,将其带来的负面影响降至最低。

## 2 转基因林木应用的安全状况

### 2.1 转基因林木的转运释放和使用状况

由于树木生长周期很长,转基因植株的试验林几乎都采用无性繁殖方式如扦插或组培苗等造林。因此运输的改性活体是枝条或苗木,非常有利于监督和检查,运输非常安全。国内所进行的抗虫杨树田间试验是在林场附近,无性繁殖与造林处于同一地点,减少了许多运输环节,防止了在自然界中的流失。国外对林木改性活体要求封闭运输,防止植物材料的散失。经常操作的材料要放在较安全的地点,如储藏库、实验室、培养箱,避免与外界环境的直接接触。另外,对转基因材料要做详细的记录与跟踪。

国内进行的抗虫欧洲黑杨试验地点处于半荒漠地带,以灌溉为主。周围也是人工林作为隔离带,没有天然杨树群体。杨树开花需要5~8 a 生长时间,不同树种花期不同、亲和力不同,因此不易产生杂交种,且在那种条件下,杨树杂交种子不易萌动。因此,在此地点释放是相当安全的。目前转基因试验林尚处于幼林阶段,欧洲黑杨转基因个体为雌株,不可能产生花粉污染的问题。

国外如美英法三国的林木改性活体的试验地点一般选在温室或苗圃,也有小范围的试验地,做到与其它树木的隔离。试验完成后植株被单独收获,然后经蒸煮、焚烧等措施销毁。国外除了转病毒的木瓜被允许释放外,未有转基因树木的应用报道。林木改性活体仍处于试验阶段。

## 2.2 转基因林木对环境的可能影响及对策

转基因植物对人与环境可能的危害可归结为3个方面<sup>[10]</sup>: (1) 打破生态平衡: 发生重组的基因有可能导致出乎意料的结果,产生有害的新的生物类型。如抗病毒的工程植株可导致由重组或突变产生新的植物病毒,具有更高毒性或扩大了寄主范围,导致病毒灾难性的泛滥。(2) 基因污染: 转基因植物携带的基因通过花粉传播给其野生种或其它植物种<sup>[11]</sup>,减少了遗传多样性。(3) 产生新的毒性或过敏原: 转化的基因由于是随机整合到植物染色体,“位置效应”可能打破转基因植物正常的生理代谢,产生新的代谢产物,这种物质有可能是毒素或过敏原。

确定转基因植物对人类和生态环境的影响是一个科学问题,应该开展该领域的科学研究,并由精通生物技术和生态环境的专家作最后评定。应注意的问题: 一是基因工程体的研究者对所操作的基因比任何人都清楚它在植物体中将如何表达,所执行的是什么功能,如何被调控,会不会产生不测后果等;二是由于被转化的基因千差万别,植物受体也千差万别,假定任何转基因植物都会给生态环境带来危害的观点缺乏科学依据;三是上述所列转基因植物对环境可能的危害所产生的过程在自然界也有发生的可能,发生的频率有的甚至很高。如某一生物群体在特定生态条件下因其基因突变或重组(非常普遍的自然现象)产生了优势,不但会在个体数量上占优势,并会将其遗传物质扩散出去(类似基因污染),造成遗传多样性的减少。

目前国外对转基因植物产生危害的研究很多,但对研究结果的报道较少。农作物已有马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)、油菜(*Brassica campestris* L.)、大豆(*Glycine max* (Linn.) Merr.)、棉花(*Gossypium hirsutum* L.)、番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.)等所转化基因的传播、果实的毒性分析、基因产物的残留、对根际微生物生态影响的报道<sup>[11~13]</sup>。一致的结论是转化基因可通过花粉传给一定范围的非转基因植物,造成所转基因的扩散。抗病毒的番茄没有任何毒性或品质的改变,而在转入了来自巴西豆基因的大豆中发现了引起过敏的物质<sup>[14]</sup>。美国食品与药物管理局(FDA)分别在1994和1998年作出了卡那霉素抗性基因和GUS基因不会对人畜、环境产生较大影响,可用于任何植物的基因工程研究之中的决议<sup>[15]</sup>。因此,不同的转基因植物面临不同的问题,要根据情况区别对待。花粉扩散是较普遍的问题,虽然还没有报道其所导致的基因流动带来的生态问题,但由于生态问题的暴露需要一定的时间,还应引起高度重视。

了解转基因植物的生物学特性,对确定其可能的影响和范围有很大帮助,为限定试验范围和采取必要的措施提供了重要的科学依据。这些生物学特性包括生命周期,种子发芽成活情况,花粉传播,在试验区域是否存在杂交亲和的可能性,是否可进行无性繁殖,试验的气候条件

等。林木是生长周期很长的多年生植物,在自然界中还存在大量野生群体或相近种。因此对林木的危险评估应与农作物不同。同时也应该注意到转基因林木大多需要种植在人为生态环境下(人工林),不会直接对天然林产生影响。

转基因林木的主要安全问题是防止通过花粉传给野生种或相近种所带来的基因污染。可只用雄性不育或只有雌株的转基因树木造林,或采取物理、生物方法隔离转基因林等措施,防止花粉的扩散。另外,对于抗病虫的转基因林木,由于生长周期长,与只有一个生长季节的作物相比,病毒和昆虫产生耐性问题显得比较突出。减少病毒和昆虫的抗性问题可以采用:(1)营造转基因和非转基因林木的混合林;(2)转多个抗性基因;(3)在特定时间、特定组织表达目的基因。在转基因棉花中表达的苏云金芽孢杆菌内毒素在土壤中 120 d 后仍残留 25% 的杀虫活性,活性半衰期约 30 d<sup>[13]</sup>。这说明处理好转基因植物的残体,免除对土壤生物的影响也是必要的。这同样是林木改性活体在环境中释放应注意的问题。

### 3 国内外有关转基因林木的安全管理

#### 3.1 国内管理

1993 年底,国家科委制订了有关基因工程安全管理办法<sup>[16]</sup>,将基因工程工作按潜在危害程度划分为 4 个安全等级。从事基因工程工作的单位,按所用的目的基因、载体、宿主和遗传工程体的致病性、致癌性、抗药性、转移性和生态环境效应,结合释放地点,确定生物控制或物理控制等级和释放安全等级。按不同等级申报相应主管部门审批后,才可从事基因工程工作,并承担法律责任。1996 年 7 月,农业部发布《农业生物基因工程安全管理实施办法》<sup>[17]</sup>,基本上将国家科委的有关基因工程安全管理办法结合本行业加以具体化,制订了申报书格式并受理有关申请。

林业行业目前没有制定有关林业生物基因工程安全管理实施办法,中国林业科学院林业研究所的抗虫转基因欧洲黑杨通过部门协调,由农业部接受申请并批准在新疆玛纳斯林场进行田间试验。由于林木毕竟与农作物不同,制订相应的管理办法非常必要。

#### 3.2 国外管理

在美国,农业部动植物健康审查局 1987 年发布 7 CFR 340 管理条例草案<sup>[18]</sup>,开始对基因工程实行安全管理,随后经修订作为基因工程安全法规。任何人在从事基因工程体释放之前,要么应按条款所规定的允许标准和标准操作程序,在通报美国农业部下属动植物健康审查局的情况下进行,要么在申请者建议或审查局所确定的操作条件下,审查局认为符合安全要求而给予田间试验的许可(简称“通报”和“许可”两种选择)。审查局在全面了解申请内容和可能对环境产生影响的安全评价基础上得出“没有显著影响”的结论,将给予“许可”。“通报”实际是“许可”的另一种形式,1993 年开始实行。它只适用于已被确认为田间试验安全的番茄、玉米(*Zea mays* L.)、烟草(*Nicotiana tabacum* L.)、大豆、棉花及马铃薯,审查局不再事先要求对这些试验的安全评估。

1995 年,动植物健康审查局在“联邦登记”中,建议进一步放松关于转基因生物及其产品的法规<sup>[18]</sup>,提出了 3 点:(1)任何未被列入有害范围的植物,可以在“通报”的情况下,在不可能形成该植物蔓延的区域释放;(2)在通报情况下,扩大抗病毒转基因植物的允许释放范围;(3)转基因植物在各州之间运输时不需要通报,简化了已获许可或已向审查局通报的田间试验的

汇报工作。条例指出绝大多数转基因植物只要满足一定的允许标准和实施规范,就可在通报的情况下进行试验,同时减少了在多年试验过程中的汇报要求。简化了不受限制的转基因植物所需的审定程序。

条例强调可放松对那些靠砧木繁殖的转基因林木的限制,如果它们不能繁殖、产生花粉或花,或者它们面临严重的病毒危害,都可在“通报”情况下进行田间试验。这对发展改良的树木品系非常重要。在“通报”的情况下,可对性未成熟的转基因树木进行数年安全的田间试验。即使花粉成熟后,只要选择合适的地点或实行物理隔绝,使之不能对其野生种授粉,也可以达到类似的效果。动植物健康审查局已注意到,对已被允许进行的几种转基因树木在有限范围内(因性未成熟或用物理和生物方法隔离)的田间试验的跟踪调查,证明这几种树木可在“通报”程序下进行的田间试验还是较安全的。尽管如此,树木的田间试验由于需要进行多年,如果不能持久地按照标准操作程序,容易长期暴露于某些非目标生物,造成预想不到的后果。另外,由于难以估测树木性成熟的准确时间,所以前几年的防御措施可能不适于后期。因此,每年都要重新登记“通报”情况下的转基因树木的田间试验。

1997年6月,更多的植物列入“通报”范畴。在基因工程体商品化之前,从事的单位可向动植物健康审查局申请解除管理限制。目前已经有60多个基因工程体被解除限制。所有在“通报”、“许可”以及“解除”状态下的田间试验及其安全评价都被登记、录入数据库。动植物健康审查局已对很多转基因植物的田间试验进行了审查,审查结果表明申请者都能很好地遵守操作标准或特别规定的许可条件。

1988年加拿大由环境保护部门制订了生物技术产品释放的管理法规<sup>[2,19]</sup>。1993年由多部门组成了联合机构,对生物技术的应用实施管理。1994年联合委员会为了促进生物技术的应用,要求政府各部门制定新的管理条款,构成一个总的生物技术管理框架,减少生物技术应用申请过程中的复杂环节。林业和渔业因与自然环境紧密相关,对其基因工程体的释放要求更周密的计划和严格的管理。转基因林木的安全评价需要林业部和农业及农产品部门的联合操作。基本过程包括先准许一定范围的田间试验,然后才可在不界定范围的田间释放或供家畜或人应用。

欧共体1990年制定了有关基因工程体管理的3个条款,分别是转基因微生物封闭式应用、转基因生物的环境有限释放和从事人员的安全保护。各成员国将上述条款纳入本国的基因工程体的管理规定中。条款制订了较详细的审批程序和技术指导。法国基本上将法规照搬到其宪法中,其它国家也按各自的理解制定了相应的法规,出现了各成员国在管理上的差异<sup>[20,21]</sup>。法国管理得松一些,只要相应的部门审批即可商品化,而北欧诸国、瑞士几乎杜绝任何基因工程体的田间试验。法国已进行了木材改性转基因杨树的田间试验。

#### 4 转基因林木风险评估的技术准则和管理

转基因植物对人类和生态环境是否有影响是亟待解决的问题,应该由精通生物技术和生态环境的专家作评定。这种评定主要从所转化的基因的表达、功能以及受体植物入手,判断其基因工程体是否对人类和环境有潜在的危害。农业部制定的农业生物基因工程安全管理实施办法及技术准则充分考虑了基因与受体以及释放环境的情况。但对于转基因林木的风险评估方法应结合林木的生物学特点,要特别突出其由花粉造成的基因污染(如传给自然群体)和长

时间暴露于自然界的抗病虫性状所引发的病虫耐性,以及由此造成的生态环境的负面影响(包括可能导致的遗传多样性的损失),而对人畜安全相对次要一些(果树除外)。在管理上要求选择远离天然林的试验地点,对基因传播距离进行追踪,在造林措施上设置保护林带,同时避免形成较强的选择压使病毒、昆虫产生耐性。另外,对转基因树木的田间试验要进行经常性的安全检查。

应该指出的是国外已投入相当多的资金用于研究转基因工程体对人类和环境的影响,以提供更多的科学依据,指导生物技术的应用。如美国每年资助大约10个项目,近200万美元。而我国对转基因植物安全方面的研究资助较少,影响了对转基因植物安全性的评估和防止措施的制定。因此希望有关部门增加经费,加强这方面的研究,特别要建立我国特有的转基因植物的安全性评价体系。

## 5 对我国林业基因工程安全评估和管理的几点建议

(1) 林业基因工程安全评估和管理大体依照农业部《农业生物基因工程安全管理实施办法》执行。

(2) 凡是靠风、昆虫、鸟类等远距离传粉或种子传播,且花粉、种子活力很强的转基因林木,或其营养体(茎、叶、块根、根等)在自然条件下能够快速繁殖生长,其安全性应按《农业生物基因工程安全管理实施办法》列为三级以上(安全性较差)。

(3) 只靠人工嫁接、扦插等无性繁殖的转基因林木,因其对其它生物的影响极小,人为控制较易。只要对取食生物无毒就应列入一级安全等级(安全性较高)。

(4) 试验地点应选择与其它地方易区分,相对孤立。在人工条件下(如需灌溉)林木才能成活的地点较理想。在花粉、种子传播范围内避免营造受体种或近缘种的人工林。如果周围有其近缘自然群体,在林木性成熟前就应结束中试。

(5) 加强不同规模的转基因林对生态环境影响的研究,正确评价在不同生态环境下的安全性,制定预防措施,从而促进转基因林木的商品化进程。

## 参 考 文 献

- 1 雷茂良,程金根.全球转基因植物发展现状.生物技术通报,1998(6):30~32.
- 2 Strachan G. The impact of regulation on the growth and evaluation of Canadian commercial biotechnology. Current Opinion in Biotechnology, 1995, 6: 261~263.
- 3 钱迎倩,王国英.转基因植物的生态风险评价.植物生态学报,1998,22(4):289~299.
- 4 Miller H, Flamm E. Biotechnology and food regulation. Current Opinion in Biotechnology, 1993, 4: 265~268.
- 5 田颖川,本太原,莽克强,等.抗虫转基因欧洲黑杨的培育.生物工程学报,1993,9(4):219~227.
- 6 Nilsson O, Moritz T, Sundberg B, et al. Expression of the *Agrobacterium rhizogenes* rocl gene in a deciduous forest tree alters growth and development and leads to stem fasciation. Plant Physiology, 1996, 112: 493~502.
- 7 Baucher M, Chabbert B, Pilate G, et al. Red xylem and higher lignin extractability by down regulating a cinnamyl alcohol dehydrogenase in poplar. Plant Physiology, 1996, 112: 1479~1490.
- 8 Charest P J, Duchesne L C. Recent progress in forest biotechnology in Canada. Petawawa National Forestry Institute, Inf. Rep., 1995, PI-X-120. 144.
- 9 Olsen J E, Junttila O, Nilsen J, et al. Ectopic expression of oat phytochrome A in hybrid aspen changes critical daylength for growth and prevents cold acclimatization. Plant Journal, 1998, 12: 1339~1350.

- 10 Robinson D J. Environmental risk assessment of release of transgenic plants containing virus-derived inserts. *Transgenic Research*, 1996, 5: 359 ~ 362.
- 11 Skogsmyr I. Gene dispersal from transgenic potatoes to conspecifics: A field trial. *Theor. Appl. Genet.*, 1994, 88: 770 ~ 774.
- 12 Timmons A M, Charters Y M, Crawford J W, et al. Risks from transgenic crops. *Nature*, 1996, 380: 487.
- 13 Sims S R, Ream J E. Soil inactivation of the *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* Cry A insecticidal protein within transgenic cotton tissue: Laboratory microcosm and field studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1997, 45: 1502 ~ 1505.
- 14 Nordlee M, Taylor S L, Townsend J A, et al. Identification of a Brazil-nut allergen in transgenic soybean. *The New England Journal of Medicine*, 1996, 334: 726 ~ 728.
- 15 Redenbaugh K, Hiatt W, Martineau B, et al. Aminoglycoside 3'-phosphotransferase (APH(3')): Review of its safety and use in the production of genetic engineered plants. *Food Biotechnology*, 1994, 8: 137 ~ 165.
- 16 中华人民共和国国家科学技术委员会. 基因工程安全管理办法. 1993.
- 17 中华人民共和国农业部. 农业生物基因工程安全管理实施办法. 1996.
- 18 Animal and Plant Health Inspection Service, USDA. Genetically Engineered Organisms and Products: Simplification of Requirements and Procedures for Genetically Engineered Organisms. In *Federal Register*, 1997, 62: 85.
- 19 Walker T S. The Canadian legislative framework for the regulating biotechnology products. *Current Opinion in Biotechnology*, 1995, 6: 264 ~ 266.
- 20 von Schomberg R. Relating precaution to proportionality. How to proceed with Directive 90/220 concerning the deliberate release of genetically modified organisms into the environment. *BioSafety*, 1998, 4: 3.
- 21 Levidow L, Carr S, Wild D. European Biotechnology Regulation: contested boundaries of environmental risk. *BioSafety*, 1997, 3: 1.

## Risk Assessment and Safety Management of the Genetic Engineered Trees

*Lu Mengzhu Han Yifan Du Shengming*  
(The Research Institute of Forestry, CAF, 100091, Beijing, China)

**Abstract** Genetic engineering, a powerful tool to introduce economic traits into organisms, has wide application for the improvement of trees. Genetically improved trees will soon be commercialized after completing their field trials. The potential negative effects of the release of the transgenic trees to the environments must be evaluated on the scientific basis. The current regulations of genetically modified plants both in China and abroad were formulated on the scientific knowledge of the gene transferred and the plant as a receptor. It should be addressed that the criteria of the safety concern on the transgenic trees must be based on their biology in a manner of case by case, with the focus on the restriction of the gene contamination to the nature forestry. The general rules of the risk assessment and safety management of the genetic engineered trees in China are suggested in this review.

**Key words** transgenic trees; biosafety; risk assessment; ecological environment