

中华人民共和国国家生态环境标准

HJ □□□□—20□□

转基因植物环境释放对其野生近缘种 影响的评估技术规范

Technical guidelines for evaluating the effects of environmental released
transgenic plants on their wild relatives

（征求意见稿）

20□□-□□-□□发布

20□□-□□-□□实施

生 态 环 境 部 发 布

目 次

前 言 II

1 适用范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 评估基本原则 2

5 评估程序 2

6 转基因植物与野生近缘种亲和性评估 3

7 转基因植物与野生近缘种间基因流检测 4

8 外源基因在杂交后代的表达 5

9 基因流风险等级判定 5

10 风险管理策略和方案 6

11 评估报告 6

附录 A（资料性附录）转基因植物的背景资料 7

前 言

为贯彻《中华人民共和国环境保护法》《中华人民共和国生物安全法》，履行《卡塔赫纳生物安全议定书》，降低转基因植物对其野生近缘种可能产生的影响，保护野生近缘种在自然环境中的生存，制定本标准。

本标准规定了基因流介导的转基因植物对其野生近缘种影响的基本原则、评估程序、评估内容等。

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准为首次发布。

本标准由生态环境部自然生态保护司、法规与标准司组织制订。

本标准主要起草单位：中国环境科学研究院。

本标准由生态环境部20□□年□□月□□日批准。

本标准自20□□年□□月□□日起实施。

本标准由生态环境部解释。

转基因植物环境释放对其野生近缘种影响的评估技术规范

1 适用范围

本标准规定了基因流介导的转基因植物对其野生近缘种影响的基本原则、评估程序、评估内容等。

本标准适用于转基因植物在中华人民共和国境内进行环境释放的生态风险评估。

2 规范性引用文件

本标准引用了下列文件或其中的条款。凡是注明日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本标准。凡是未注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。其他文件被新文件废止、修改、修订的，新文件适用于本标准。

HJ 1343 转基因植物环境释放的生态风险评估导则（试行）

HJ 1344 抗虫转基因植物对生物多样性影响评价技术导则（试行）

HJ 625 抗虫转基因植物生态环境安全检测导则（试行）

农业部 2259 号公告-13-2015 转基因植物试验安全控制措施 通用要求

《农业转基因生物安全评价管理办法》（农业部令 2002 年第 8 号）

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

转基因植物 transgenic plant

通过基因工程技术引入基因，改变受体植物基因组构成而培育出的植物。

3.2

外源基因 foreign gene

通过基因工程技术引入的基因，包括目标基因和报告基因等。

3.3

基因流 gene flow

外源基因从转基因植物向非转基因亲本植物或其同属野生近缘种自然转移的行为。

3.4

亲本植物 parental plant

接受并表达外源基因的植物品种（系）。

3.5

野生近缘种 wild relative

与转基因植物同属的野生植物种类，包括栽培植物的祖先种和其他野生种。

3.6

杂交后代 hybrid progeny

转基因植物与其野生近缘种发生基因流得到的后代总称。

3.7

环境释放 environmental release

转基因植物商业化种植后进入环境的活动。

4 评估基本原则

4.1 预先防范原则

对于可能会对野生近缘种产生影响的转基因植物，即使目前缺乏充分的试验证据，也应该对该转基因植物对野生近缘种的影响进行评估，并采取适当措施预防可能出现的不利影响。

4.2 科学性原则

必须基于严谨的科学态度，采用科学的方法和技术，对试验数据进行统计分析，得出可验证的评估结果，并对结果进行解释。

4.3 个案评估原则

根据转基因植物及其野生近缘种的生物学特性、外源基因特征、释放区域的环境条件等采用适当的方法开展评估。

4.4 逐步评价原则

应根据“亲和性、基因流、外源基因表达”分阶段逐步进行，在相应条件下逐步开展转基因植物对其野生近缘种影响的评估。

5 评估程序

评估转基因植物对其野生近缘种的影响一般包括四个步骤：

- a) 转基因植物与野生近缘种的杂交亲和性评估；
- b) 转基因植物与野生近缘种间基因流的检测；
- c) 外源基因在杂交后代的表达；
- d) 基因流风险等级判定，风险管理策略制定。

评估程序如图 1 所示。

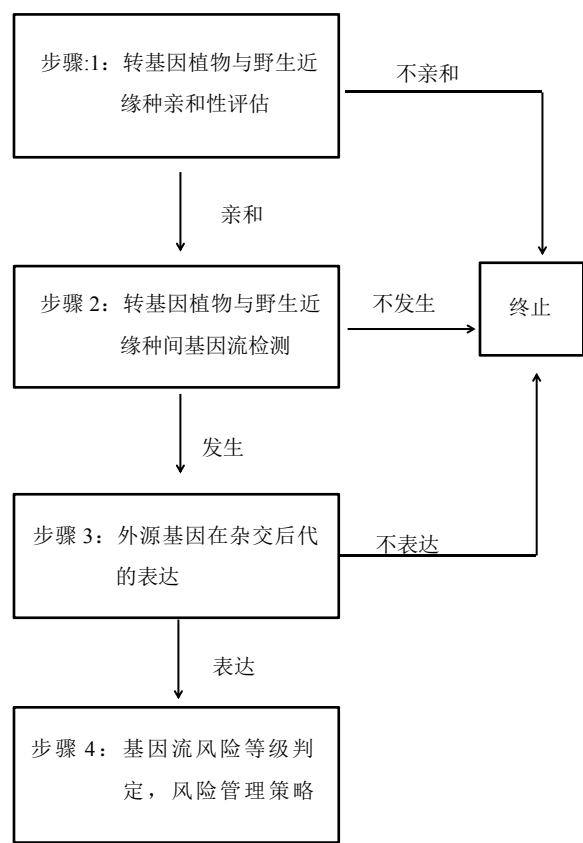


图 1 评估转基因植物影响野生近缘种的工作程序

6 转基因植物与野生近缘种亲和性评估

6.1 一般要求

根据农业部 2259 号公告-13-2015、HJ 1343 等相关标准中规定的要求，在温室等试验环境中种植转基因植物和野生近缘种。通过资料分析和实验研究等方法确定亲本植物与野生近缘种在开花时间上是否有重叠、重叠时长、重叠所需条件等。为保证转基因和野生近缘种的花期重叠，开展亲和性评估时建议分期播种。

6.2 杂交率

以转基因植物为父本，野生近缘种为母本，进行人工授粉杂交（一般要求各不少于 30 株，每株不少于 30 朵花）。杂交率（ S_h ）按照公式（1）计算：

$$S_h = N_h \times 100 / T_f \tag{1}$$

式中： S_h ---杂交率，%；

N_h ---杂交种子数量，粒；

T_f ---授粉花朵总数，朵。

6.2.1 发芽试验

在种子成熟期，收获杂交后产生的种子。由于野生种一般都具有较强的休眠性，通常使用赤霉素、双氧水、低温处理等方法打破种子休眠。

6.2.2 杂交种鉴定

为验证人工杂交所有收获的种子是否都为转基因杂交种，发芽试验后，使用已有的分子特征和分子标记等生物学技术方法检测杂交种幼苗中是否存在目标外源基因。

6.3 杂交种可育性

6.3.1 花粉可育性

种植杂交一代（F₁）植株（一般要求不少于 30 株），收集 F₁ 的花粉，加入 0.5%TTC 的磷酸缓冲液，黑暗条件下 37℃ 水浴花粉悬液 2h，然后在显微镜下检测花粉可育性。花粉可育性按照公式（2）计算：

$$F_p = P_r \times 100 / P_t \quad (2)$$

式中：F_p---花粉可育性，%；

P_r---染色的花粉粒数量，粒；

P_t---检查的花粉粒总数，粒。

6.3.2 种子可育性

收获 F₁ 的种子用 TTC 法检测种子活力，并开展发芽试验检测幼苗数量。种子可育性按照公式（3）计算：

$$F_s = S_p \times 100 / S_t \quad (3)$$

式中：F_s---种子活力或萌发率，%；

S_p---活性种子数或幼苗数量，株；

S_t---所有检测或发芽的种子总数，粒。

6.4 结果分析

根据杂交率和杂交种可育性判定杂交亲和性。若亲本植物与其野生近缘种无法杂交（Sh=0）、花粉不可育或种子不可育（F_p=0 或 F_s=0），则认为转基因植物与该野生近缘种杂交不亲和，可以终止评估。否则进入到下一个程序。

7 转基因植物与野生近缘种间基因流检测

7.1 试验条件

根据《农业转基因生物安全评价管理办法》以及农业部 2259 号公告-13-2015、HJ 625、HJ 1343 等相关标准中规定的方法记录试验地名称与位置（地址、经纬度等）、土壤资料（土壤类型、肥力等）、气象资料（风向、降雨、温度等）等试验条件，以及试验安全控制措施，包括隔离条件、隔离措施、试验过程的安全管理、试验后的材料处理、试验结束后试验地的监管等。

7.2 试验材料

目标转基因植物品种及其野生近缘种。

7.3 试验设计

进行自然杂交试验，转基因植物和野生近缘种的种植方式取决于转基因植物的种植要求、风媒或虫媒特征等；一般采取相邻或隔行等混合种植方法，设计多个种植距离（一般要求不少于 5 个距离等级），检测基因流发生距离。

7.4 基因流检测

7.4.1 发芽实验

在种子成熟期收获所有野生近缘种植物的种子。随机选择种子（一般要求不少于收获种子总数的 10%），参照 6.2.1 开展发芽试验。按照公式（3）计算种子可育性。

7.4.2 转基因检测

使用实时荧光定量（RT-PCR）或酶联免疫吸附试验（ELISA）方法检测杂交种幼苗中是否存在目标外源基因。

7.4.3 基因流频率

根据转基因杂交种在 F₁ 代中出现的频率计算转基因植物与其野生近缘种之间的基因流频率。转基因的基因流频率按照公式（4）计算：

$$RCP = S_t \times 100 / S_r \quad (4)$$

式中：RCP---转基因的基因流频率，%；

S_t ---所有转基因幼苗数，株；

S_r ---所有检测的幼苗数，株。

7.5 结果分析

根据转基因的基因流频率评估转基因植物与其野生近缘种之间发生基因流的可能性。如果亲本植物与其野生近缘种之间不能发生基因流(RCP=0)，则可以终止评估。如果 RCP>0，则进入到下一个程序。

8 外源基因在杂交后代的表达

8.1 试验条件

试验要求详见 6.1。

8.2 试验材料

利用杂交后代转基因 F₁ 自交获得 F₂ 和 F₃，参照 7.4.2，以 F₂ 和 F₃ 为材料检测外源基因在杂交后代的表达。

8.3 试验设计

在温室中开展发芽实验，获得幼苗（一般要求重复不少于 3 次，每次不少于 100 株）。种植与管理按亲本植株要求进行。

8.4 外源基因在杂交后代的遗传

在幼苗期（一般在 2~4 叶期）选取叶片，使用分子标记方法检测并确定转基因幼苗。并用卡方检验等方法检验转基因在杂回交后代是否符合孟德尔遗传规律。

8.5 外源基因在杂交后代的表达

在植株幼苗期、营养生长旺盛期、开花期、结籽期和成熟期等五个生长时期采集叶片，使用实时荧光定量（RT-PCR）或酶联免疫吸附试验（ELISA）等方法定性或定量检测外源基因表达的蛋白。

8.6 结果分析

如果外源基因在杂交后代不表达，则可以终止评估。否则进入到基因流风险等级判定。

9 基因流风险等级判定

基因流风险等级分为低风险、中风险和高风险三个等级，判定方法如下：

- a) 若转基因植物与其野生近缘种杂交不亲和，则判定为低风险；
- b) 若转基因植物与野生近缘种杂交亲和，或在自然条件下亲本植物与其野生近缘种之

间发生基因流，但外源基因在杂交后代不表达，则判定为中风险；

c) 若外源基因在杂交后代能表达，则判定为高风险。

10 风险管理策略和方案

根据基因流风险等级判定，对于中风险和高风险的转基因植物，需要提出预防和控制转基因植物对其野生近缘种产生影响的风险管理内容和方案等。

11 评估报告

转基因植物释放影响其野生近缘种的评估报告包括但不限于以下内容：

- a) 转基因植物的背景资料（参见附录 A）；
- b) 风险评估单位的能力与经验的陈述或相关证明，实施风险评估的人员情况；
- c) 风险评估时间、地点及环境概况等；
- d) 评估方案；
- e) 转基因植物与其野生近缘种间的杂交亲和性、基因流发生的可能性、外源基因在杂交后代的表达等方面的评估结果；
- f) 转基因植物环境释放对其野生近缘种影响的风险评估结论；
- g) 建议采用的风险管理内容和方案。

附录 A

(资料性附录)

转基因植物的背景资料

A.1 受体植物

A.1.1 分类地位：主要包括学名、俗名和其他名称，分类学地位，起源中心等基础资料。

A.1.2 繁殖特性：主要包括开花习性、繁殖方式、育性、生活史周期等。

A.1.3 生态环境：主要包括生长地的生态环境条件，与生态系统中其他动物、植物和微生物的生态关系，对生态环境的影响及其潜在危险程度。如果是国内非通常种植的植物，应描述该植物原产地的生态环境资料。

A.1.4 地理分布区：主要指在国内人工种植或自然生长的地理分布范围。

A.1.5 野生近缘种：主要指在自然环境中能与受体植物发生异交的同属植物。

A.1.6 安全应用历史：主要包括用途、在国内外的应用情况、对生态环境是否产生过不利影响、受体植物演变成有害植物（如杂草等）的可能性。

A.2 转基因植物

A.2.1 转基因植物中引入或修饰的性状和特性。

A.2.2 引入或修饰的基因及其性状在转基因植物中的遗传稳定性。

A.2.3 转基因植物对靶标生物的作用机制及其靶标生物的生物学特征。

A.2.4 转基因植物的检测方法及其灵敏度和可靠性。

A.2.5 该类转基因植物国内外风险评估和管理概况。

A.3 目的基因

A.3.1 实际引入或修饰基因的序列信息。

A.3.2 载体信息。

A.3.3 引入或修饰基因在植物细胞中的定位。

A.3.4 引入或修饰基因的表达及其稳定性。

A.4 转基因植物释放区域的环境特征

A.4.1 释放区域的地理位置信息。

A.4.2 释放区域的气候条件（气温、降水等）。

A.4.3 释放区域的地质地貌特征和土壤理化性质。

A.4.4 释放区域的本地动植物组成。

A.4.5 受体植物的自然生境和释放区域的环境比较。

A.5 转基因植物释放区域的社会生产生活方式

A.5.1 土地使用的耕作方式。

A.5.2 转基因植物的生产消费方式。