

转 Bar 基因玉米基因漂移的研究

邱宏¹, 刘昭军²

(¹东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030,

²黑龙江省农业科学院生物技术研究所, 哈尔滨 150086)

摘要:转基因植物发生基因漂移可能引起的生态环境安全性问题已经引起广泛关注, 实验采用转 Bar 基因抗除草剂玉米为试材, 进行了外源基因遗传漂移距离和频率的研究。结果表明, 转基因玉米的漂移率与距离成正相关, 最大漂移频率为 37.78%, 隔离距离以 150 m 以上为好。

关键词: Bar 基因; 转基因玉米; 基因漂移

中图分类号: S532 **文献标识码:** A

Gene Flow of Bar Transgenic Maize (*Zea Mays* L.)

Di Hong¹, Liu Zhaojun²

(¹Agricultural College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030;

²Institute of Biotechnology, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086)

Abstract: The potential ecological environmental risk caused by gene flowing from the transgenic plant has attracted wide attention. A transgenic maize variety M2 carrying the Bar gene was planted to study the gene flow. The result showed that the frequency of transgene flow decreased with increase of the distance. Highest frequency of the gene flowing was 41.51%. A 160 m distance for separation was essential for preventing gene flow.

Key words: bar gene, transgenic maize, gene flow

除草剂的普遍使用是现代农业的一大特点, 但除草剂在消除杂草的同时也不同程度地伤害农作物, 特别是玉米对除草剂尤为敏感。抗除草剂基因工程植物在国外很受重视, 将抗除草剂基因引入玉米是增加其对安全性除草剂选择的一种新途径, 也是一种高效、低成本、无公害的控制杂草的手段。转基因玉米是目前全世界种植最多的 4 种转基因作物之一^[1]。2007 年, 全世界转基因玉米种植面积已经达到 3520 万 hm², 占全球玉米种植总面积 1.47 亿 hm² 的 24%, 占全球转基因作物种植总面积 11430 万 hm² 的 31%, 种植转基因玉米的国家已经发展到 15 个^[2]。然而在关注转基因玉米所带来的巨大社会、经济和生态效益的同时, 其安全性问题也引起了世界范围内的广泛关注。目前国内关于转基因玉米环境安全性研究的报道很少^[3]。笔者以转 Bar

基因抗草丁膦玉米为试材, 进行了外源基因向周边环境遗传漂移的距离和频率的研究, 评价抗除草剂转基因玉米的抗性基因向非转基因玉米漂移的潜在可能性, 为抗除草剂转基因玉米基因漂移的安全性评价奠定一定的基础。

1 材料与方法

1.1 田间设计

在生殖隔离状态下, 供试材料种植在固定的地块上。在地块中央以 5 m 为半径的圆周种植转 Bar 基因抗除草剂玉米品系 M2, 为保证花期相遇, 分 2 期播种, 间隔 7 天。在外围播种普通玉米自交系郑 58, 按常规播种、管理。玉米成熟后, 沿中心分别向东、东南、南、西南、西、西北、北、东北各方向, 在距离转基因玉米的边缘 1、10、20、40、80 m、120、160、200 m 处, 随机分别

基金来源: 黑龙江省“十一五”攻关项目“主要农作物细胞工程技术研究与应用”(GB07B104); 哈尔滨市青年科技创新人才研究专项“外源 DNA 导入玉米创造抗旱新种质的研究”。

第一作者简介: 邱宏, 1974 年出生, 女, 博士, 从事玉米和马铃薯转基因及安全性评价研究。通信地址: 150030 黑龙江省哈尔滨市香坊区木材街 59 号东北农业大学农学院, Tel: 0451-55190370, E-mail: dihong7@sina.com。

通讯作者: 刘昭军, 男, 博士, 副研究员, 从事玉米和大豆分子育种的研究。E-mail: liuzhaojun7@yahoo.com.cn。

收稿日期: 2008-08-17, 修回日期: 2008-10-22。

各收取 10 个玉米果穗(第 1 果穗),晾干后待检测用。

1.2 草丁膦的适宜浓度筛选试验

将转基因玉米 M2、非转基因玉米亲本和普通玉米自交系郑 58 种子播种于装有 1/3 土壤的营养钵中,每个营养钵中播种 5 粒玉米,每 12 个营养钵放在 1 个托盘中,每个浓度各播种 12 钵,除草剂 PPT 的浓度分别为 0、200、500、1000、1500 mg/L,以 0 mg/L 浓度苗的生长为对照。向托盘中灌入不同浓度的除草剂溶液,所灌入的溶液量使营养钵中的土一次浸透,之后根据需求向托盘中灌入清水。以种子萌发情况和苗生长情况确定草丁膦的适宜筛选浓度。

1.3 抗性检测

将从各方向收取的玉米种子分类全部播种于装有 1/3 土壤的营养钵中,每 12 个营养钵放在 1 个托盘中,播种部分转基因玉米 M2 和普通玉米自交系郑 58 作对照,按适宜浓度向托盘中灌入适宜浓度除草剂溶液,以种子萌发情况和苗生长情况初步确定花粉传播的距离和不同距离的异交率。

1.4 PCR 检测

对初步确认的转基因植株随机选取 100 份进行检测,以转基因玉米 M2 和普通玉米自交系郑 58 为对照,用 CTAB 法提取 DNA,以抗除草剂基因(bar)的 DNA 片段作引物,上游链:5' AAACCCACGTCAT-GCCAGCTC3',下游链:5' CGACAAGCACGGT-CAACTTC 3',进行 PCR 扩增,扩增 35 个循环,1.0% 琼脂糖凝胶电泳检查^[4]。

2 结果与分析

2.1 草丁膦的适宜筛选浓度

试验表明,除草剂 PPT 浓度为 200 mg/L 时,非转基因玉米亲本和普通玉米自交系郑 58 虽然可发芽,但是 3 周后幼芽停止生长,且叶尖开始逐渐变褐;除草剂浓度为 500 mg/L、1000 mg/L 和 1500 mg/L 时,非转基因玉米亲本和郑 58 均没出苗,但转基因品系 M2 长势正常。转基因材料在各个浓度之间均无显著差

异。由此确定可以去除非转基因材料的最佳筛选浓度为 500 mg/L。

2.2 基因漂移的频率

从各方向收取的外观正常的玉米种子共 18479 粒,使用 500 mg/L 的除草剂 PPT 溶液浇灌筛选,其中 1352 粒发芽,表现为抗除草剂,且苗长势正常,占种子总量的 7.32%,因此由花粉作载体而发生的基因漂移频率为 7.32%(见表 1)。

表 1 不同距离玉米基因漂移的频率

距离/m	检测种子数	抗除草剂种子数	频率/%
1	2144	810	37.78
5	1835	289	15.75
10	2160	179	8.29
30	2226	45	1.81
60	2168	23	0.96
90	2062	5	0.24
120	1924	1	0.05
150	2048	0	0.00
180	1912	0	0.00
Total	18479	1352	7.32

2.3 基因漂移的距离

根据除草剂 PPT 处理下的玉米种子发芽率,计算不同距离玉米花粉的漂移率,见表 1,玉米的漂移率与距离成正相关,在 1 m 时漂移率达 37.78%,10 m 外漂移率明显降低,在 120 m 时最大漂移率仍有 0.05%,在 150 m 处没有检测到外源基因。因此,防止转基因玉米中的外源基因向外扩散的隔离距离以 150 m 以上为好。

2.4 PCR 检测的结果

对除草剂筛选得到的抗除草剂植株,随机选取 100 份进行 Bar 基因的 PCR 检测。检测结果表明非转基因亲本中未检测出特异扩增带,而转基因品系及大田鉴定获得的抗草丁膦植株均检测出 330 bp 的特异性条带,表明除草剂 PPT 浇灌筛选获得的抗性植株均含有 Bar 基因,获得的抗性基因漂移率真实可靠(见图 1)。

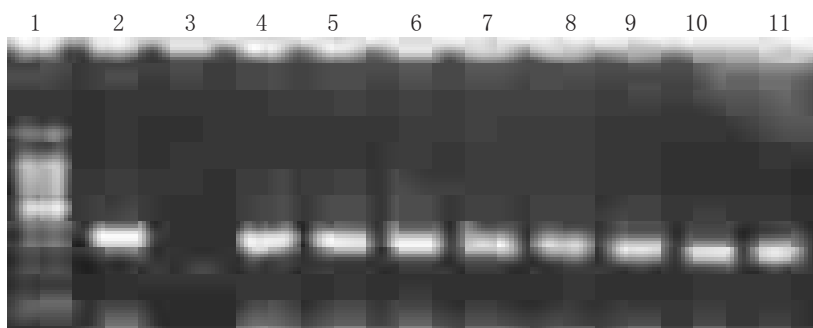


图 1 玉米植株的 PCR 分析

泳道 1:Marker(100bp ladder);泳道 2:阳性对照;泳道 3:阴性对照;泳道 4~11:抗除草剂植株

3 讨论

在田间自然条件下对转基因作物自然杂交率进行研究,是目前国际上用于评价抗除草剂转基因作物基因流动的常用方法。田间试验要收集大量的花粉接受种的种子,大量的种子需要再一次种植才能检测是否有携带抗性基因的杂交种产生,经历周期长,试验规模较大,耗费大量财力物力。笔者采用种子萌发期灌入除草剂溶液筛选,可以大大缩短试验周期。PCR的检测证明种子萌发期抗除草剂的筛选准确性高,易于操作,可节省大量试验用地。

玉米在田间自然状态下,由风媒介的传粉而发生的基因漂移现象带有很大的偶然性,它与当年的风力、

温度、湿度等气象因子等关系十分密切,因此需要进行较长时期的跟踪监测,该试验只能得到初步的结果,还不能得出最终的结论。

参考文献

- [1] James C. Preview: Global status of commercialized transgenic crops: 2002.ISAAA Briefs No.27.ISAAA:Ithaca,NY.
- [2] 葛建,刘晓鑫,李晓辉.世界转基因玉米商业化种植概况(1996-2007).农业与技术,2008,28(3):44-47.
- [3] 路兴波,孙红炜,杨崇良,等.转基因玉米外源基因通过花粉漂移的频率和距离研究.生态学报,2005,25(9):2450-2453.
- [4] 邸宏,卢翠华,王振华,等.Bar基因的玉米花粉管通道法转化.中国农学通报,2008,24(2):89-92.