

利用 Bt 试纸对转 *Bt* 基因玉米种质的快速检测

王明泉

(黑龙江省农业科学院 玉米研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:玉米是世界三大粮食作物之一,更是重要的饲料作物,并且在世界粮食生产中处于重要的位置,因此转基因玉米的研究和发展受到广泛关注。如何更加安全准确地检测玉米中是否含有转基因,是许多学者一直研究的内容。利用 Bt-Cry1Ac/Ab 试纸对转 *Bt* 基因玉米种质进行检测,初步筛选出含有转 *Bt* 基因的玉米种质,同时分析了影响 Bt-Cry1Ac/Ab 试纸检测的因素。

关键词:玉米;Bt 试纸;转 *Bt* 基因;玉米种质

中图分类号:S513

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2012)10-0021-04

玉米是世界三大粮食作物之一,更是重要的饲料作物,并且在世界粮食生产中处于重要的位置^[1],因此转基因玉米的研究和发展受到广泛关注。目前,在世界范围内,玉米螟是玉米的主要害虫之一,并且每年玉米田产量的 5%左右的损失都是由玉米螟危害引起的。据文献调查,在欧洲,一只玉米螟对一株玉米通过咬食叶片带来的损失可达到 3%~7%。值得关注的是,中国是玉米螟的重灾区,据统计,平均 2 a 就发生一次大的灾害,年损失高达 380 万~680 万 t 玉米,约等于一个中等省的玉米年产量。

苏云金芽胞杆菌(*Bacillus thuringiensis* 缩写为 *Bt*),因其具有杀虫效果好、安全性高、高效率等诸多特点,因此在抗虫害方面得到广泛的应用。随着生物学的长足发展,运用生物基因工程技术将外缘 *Bt* 基因导入玉米植株中,使玉米植株具有抗虫蛋白,以达到抗玉米螟的目的^[2]。目前,在美国转 *Bt* 基因的玉米已经被广泛种植。然而,现阶段关于对转基因作物及农产品的安全性还具有争议,因此,为了使消费者了解到自己所购买的农产品是否含有转基因成分,所以绝大多数国家对其转基因产品都加贴转基因标签。目前,如何能够快速有效地检测植物及种子中是否含有转基因成分,对于商业检测、海关和农业执法等部门来说,更具有重要的应用和研究价值。通常采用聚合酶链式反应(PCR)^[3]和酶联免疫吸附测定(ELISA)^[4]等手段检测作物中是否含有转基因

成分,但是这些方法存在检测过程较复杂和检测时间长等不足。因此,现采用 Bt-Cry1Ac/Ab 试纸条快速检测玉米种质中是否含有转基因的 *Bt* 蛋白,旨在为大量、快速检测玉米种质中含转 *Bt* 基因提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料

从中国农业大学国家玉米改良中心实验室得到的转 *Bt* 基因(H99×Hi II B 转 *CryLAC* 虫基因的 T₂种子)材料为供体,存在 *Bt* 基因的分离。受体选择了 6 个骨干自交系,分别编号为 A、B、C、D、E、F。进行杂交后的 F₁ 为被检材料。

Bt-Cry1Ac/Ab 试纸条为北京安加利生化技术开发有限公司生产。

1.2 方法

在田间把杂交后的 F₁ 每穗单粒点播,种植 4 m 行长,8 行区,株距为 0.2 m,行距为 0.65 m。在玉米拔节期,用取样袋每株取 2 片新鲜叶片,其中的 1 片叶子去除不好的部分,称重约 0.15 g,然后放在研磨钵内,加入蒸馏水 15 mL 左右,石英砂约为 2~4 g,用研磨棒快速研磨,直至叶片磨碎,将磨碎后的液体装入 1.5 mL 离心管中,用离心机快速离心,另一片叶子放置于-70℃冰箱中备用。取 Bt-Cry1Ac/Ab 试纸条把标有箭头及“max”端置于上清液中,不要超过 0.5 cm,即有“max”标记的部分,一般等待 1~5 min,试纸条上端出现 1~2 条紫红色线,即对照线和检测线,表示研磨后的样品中含有来自于样品的蛋白,表明试验结果有效。有时在特殊情况下,最长反应时间可能要超出 20 min。

收稿日期:2012-08-27

作者简介:王明泉(1978-),男,黑龙江省通河县人,硕士,副研究员,从事玉米遗传育种研究。E-mail: wangmingquan8888@yahoo.com.cn。

2 结果与分析

由图 1 可知,阳性结果:在检测条上出现两条紫红色条带,一条检测线和一条对照线。

阴性结果:在检测条上仅出现一条紫红色对照线。

无效结果:对照线位置上未出现一紫红色条带,表明操作不正确,或者试纸条已经变质损坏,应重新测试。

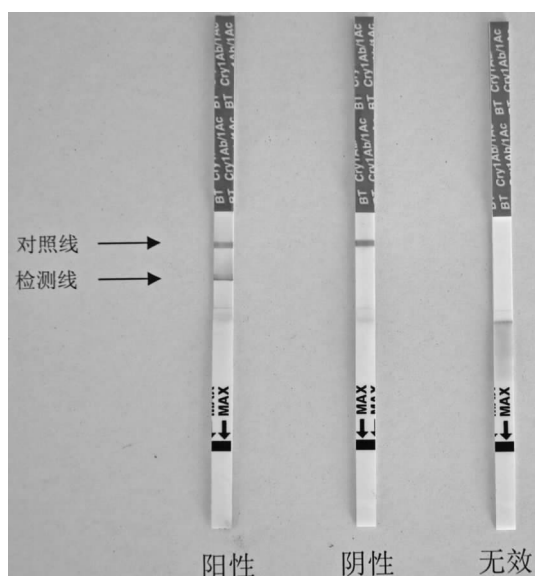


图 1 结果判定标准

Fig. 1 Results decision criteria

由图 2 可知,A 号样品 1、3、6、12、13、14、16、18、19、20 有对照线和检测线,为阳性,含有 Bt 蛋白,为具有转 *Bt* 基因的玉米种质,而 A 号样品 2、4、5、7、8、9、10、11、15、17 只有一条对照线,表明

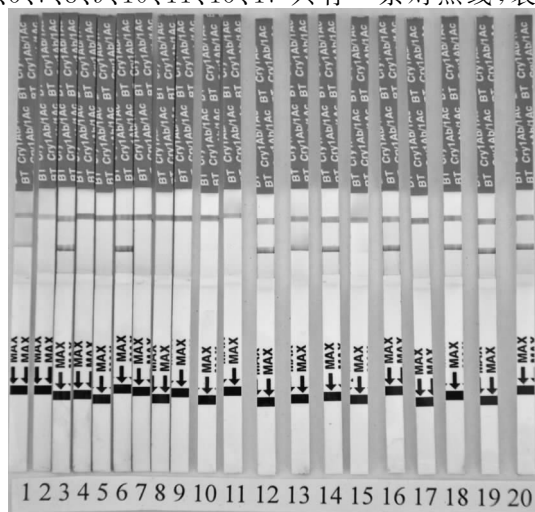


图 2 A 样品检测结果

Fig. 2 Detection results of sample A

不含有 Bt 蛋白,结果为阴性,这些样品为不具有转 *Bt* 基因的玉米种质。B 号样品 2、4、7、11、13、14、15、17、18 有对照线和检测线,为阳性,含有 Bt 蛋白,为具有转 *Bt* 基因的玉米种质,而 B 号样品 1、3、5、6、8、9、10、12、16、19 只有一条对照线,表明不含有 Bt 蛋白,结果为阴性,这些样品为不具

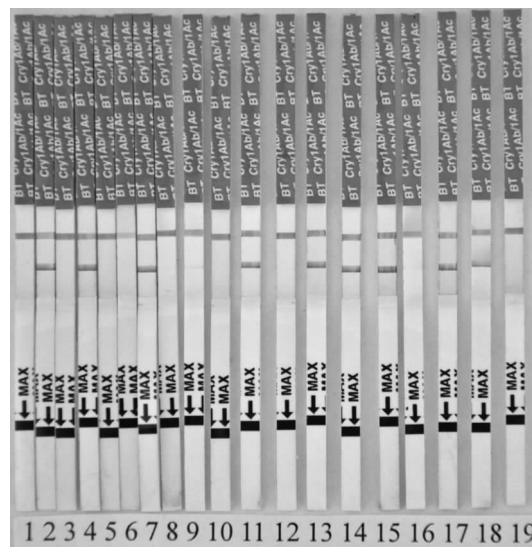


图 3 B 样品检测结果

Fig. 3 Detection results of sample B

有转 *Bt* 基因的玉米种质(见图 3)。C 号样品 1、4、8、10、11、13、14、15、18 有对照线和检测线,为阳性,含有 Bt 蛋白,为具有转 *Bt* 基因的玉米种质,而 C 号样品 2、3、5、6、7、9、12、16、17 只有一条对照线,表明不含有 Bt 蛋白,结果为阴性,这些

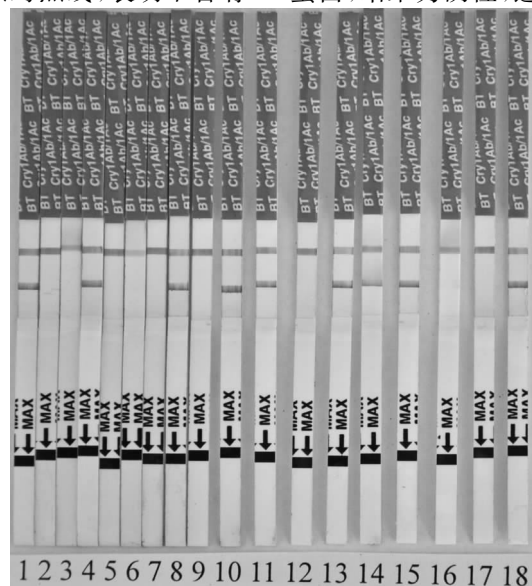


图 4 C 样品检测结果

Fig. 4 Detection results of sample C

样品为不具有转 Bt 基因的玉米种质(见图 4)。D 号样品 2、3、6、9、11、12、13、16、17 有对照线和检测线,为阳性,含有 Bt 蛋白,为具有转 Bt 基因的玉米种质,而 D 号样品 1、4、5、7、8、10、14、15 只有一条对照线,表明不含有 Bt 蛋白,结果为阴性,这些样品为不具有转 Bt 基因的玉米种质(见图



图 5 D 样品检测结果

Fig. 5 Detection results of sample D



图 6 E 样品检测结果

Fig. 6 Detection results of sample E

5)。E 号样品 1、3、6、7、8、11、13、14 有对照线和检测线,为阳性,含有 Bt 蛋白,为具有转 Bt 基因的玉米种质,而 E 号样品 2、4、5、9、10、12、15、16 只有一条对照线,表明不含有 Bt 蛋白,结果为阴性,这些样品为不具有转 Bt 基因的玉米种质(见图 6)。F 号样品 1、2、5、7、10、12、14 有对照线和检测线,为阳性,含有 Bt 蛋白,为具有转 Bt 基因的玉米种质,而 F 号样品 3、4、6、8、9、11、13、15 只有一条对照线,表明不含有 Bt 蛋白,结果为阴性,这些样品为不具有转 Bt 基因的玉米种质(见图 7)。从数据来看,A、B、C、D、E、F 样品阳性结果和阴性结果基本上为 1:1,这与供体亲本的分



图 7 F 样品检测结果

Fig. 7 Detection results of sample F

3 影响检测结果的因素

3.1 温度

试纸条检测的适宜温度为 15~30℃。温度过低或过高均造成检测结果不明显,或检测失败。

3.2 有效期

试纸条的有效期一般为 1~2 a,过期则影响检测结果。

3.3 保存条件

一般在 4~30℃ 保存,避光,避潮,切勿冻存。试纸条长时间不用,并且暴露在空气中,会导致检

测结果失败。

3.4 试纸条侵入样品液的深浅

试纸条侵入深度不能超过 0.5 cm,如果侵入太深,试纸条的一些有效成分将被释放入样品液,而进入检测区的检测反应时间太快,易出现无效结果。如果侵入太浅,则样品液爬行速度降低,甚至无法向上爬行,同样出现无效检测结果。

3.5 样品的稀释浓度

样品的制备与稀释对检测性能有明显影响,如果样品液有大量组织块,会影响检测条吸收样品液,如果样品太稀,则易出现假阴性结果。

4 讨论

通过对该试验的结果整理及田间的表现,将 A、B、C、D、E、F 样品检测呈阳性结果的植株和阴性结果的植株比较,发现呈阴性结果的植株有明

显的虫口,而阳性结果的植株基本没有虫口。从 A、B、C、D、E、F 样品阳性结果和阴性结果的分离比率来看,也基本符合 1:1 的分离比率。所以认为 Bt-Cry1Ac/Ab 试纸可以用来快速检测玉米中是否含有转 *Bt* 基因,其方法运用简单、快速准确、成本低,可以用于大量检测转 *Bt* 基因玉米,能够显著、快速地提高对转 *Bt* 基因玉米的检测效率。

参考文献:

- [1] 闫新甫,转基因植物[M]. 北京:科学出版社,2003:257-277.
- [2] 蔡泉,曹靖生,史桂荣,等.利用 Bt 试纸快速检测玉米中的 Bt 蛋白[J].黑龙江农业科学,2010(10):133-134.
- [3] 黄敏,杜何为,张祖新,等.转 *Bt* 基因玉米杂交种的快速检测技术[J].湖北农业科学,2004(5):39.
- [4] 李桂玲,李明泽,刘宗华,等.转 *Bt* 基因抗虫玉米的研究[J].安徽农业科学,2007,35(13):3376-3801.

The Rapid Detection of Maize Germplasm Containing Transgenic *Bt* Gene Using Bt Test Paper

WANG Ming-quan

(Maize Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: The study and development of the transgenic maize has been received the important attention because maize is one of the three major foods, important forage crop and occupies an important position for the food production in the world. How to safe and accurate detection of maize with or without the transgene attracts the attention of many researchers. In the work, maize germplasm containing transgenic *Bt* gene were initially screened out by means of Bt-Cry1Ac/Ab test paper, meanwhile, the factors affecting Bt-Cry1Ac/Ab test paper were analyzed.

Key words: maize; Bt test paper; transgenic *Bt* gene; maize germplasm

欢迎订阅 2013 年《贵州农业科学》

中文核心期刊
中国科技核心期刊
中国科学引文数据库来源期刊(CSCD)
RCCSE 中国核心学术期刊
全国优秀农业期刊
中国学术期刊综合评价数据库来源期刊
《中国期刊网》《中国学术期刊(光盘版)》

全文收录期刊

《中文科技期刊数据库》全文收录期刊

主要栏目: 遗传育种·种质资源·生物技术、生理生态·耕作栽培·农业气象、植物保护·土壤肥料·微生物、畜牧·兽医·水产·蚕、园艺·园林、农业经济·资源环境·产业结构、农业信息技术·农业工程、农产品质量安全·加工贮藏、农业科研管理、读者·作者·编者等栏目。重

点突出各专业在基础研究、应用研究和开发研究方面的研究成果、研究方法、研究动态以及新品种、新技术的推广应用成果。

月刊,大 16 开,240 页,每月 15 日出版
国内标准连续出版物号:CN52-1054/S
国际标准连续出版物号:ISSN1001-3601
CODEN:GNKUAV

邮发代号:66-6

每期定价 12.00 元,全年 144.00 元

全国各地邮局(所)均可订阅

地址:贵州省贵阳市小河区贵州省农业科学院内《贵州农业科学》编辑部

邮编:550006

电话:(0851)3760719 3761720(传真)

E-mail: gznk@263.net