

进口转基因大豆品系检测及分析

潘广, 杨帆, 章桂明, 刘新娇, 卢小雨, 向才玉, 凌杏园*
(深圳海关动植物检验检疫技术中心, 广东 深圳, 518045)

摘要: 用 17 种大豆品系特异性检测方法对我国进口自美国、巴西、加拿大和阿根廷四个国家的 41 批转基因大豆进行检测。分析检测结果显示: 在 41 批进口大豆中仅 17 个品系中的 7 种批准大豆品系被检出, 分别是 MON89788、GTS40-3-2、MON87701、MON87708、A2704-12、A5547-127 和 FG72, 检出率分别为 90.24%、87.80%、43.90%、41.46%、36.59%、17.07% 和 2.44%; 不同批次样品检出品系不同, 其中 6 批样品检出 1 种品系, 其余样品均能检出 2~5 种品系; 各国大豆检出品系也不同, 其中美国检出 7 种, 而巴西、加拿大和阿根廷分别检出 6、5 和 3 种; 尽管不同国家大豆检出品系和含量不同, 但 4 大转基因大豆出口国均有 GTS40-3-2 和 MON89788 两种品系检出, 且含量高。期待以上结果为我国进境转基因大豆检测提供参考, 并作为进口转基因大豆安全监管的依据。

关键词: 进口大豆; 转基因大豆; 品系检测

中图分类号: S565.1; S184

文献标识码: A

文章编号: 1007-9084(2020)02-0298-08

Event detection and analysis of imported genetically modified soybean

PAN Guang, YANG Fan, ZHANG Gui-ming, LIU Xin-jiao, LU Xiao-yu, XIANG Cai-yu, LING Xing-yuan*
(Animal and Plant Inspection and Quarantine Technology Center, Shenzhen Customs, Shenzhen 518045, China)

Abstract: 41 batches of soybean imported from the United States, Brazil, Canada and Argentina were tested with the event-specific detection method for 17 genetically modified (GM) soybean events. The analyzed results showed that: out of 17 GM soybean events, only 7 approved ones were detected in all 41 batches of imported soybeans, namely MON89788, GTS40-3-2, MON87701, MON87708, A2704-12, A5547-127 and FG72, with detection rates of 90.24%, 87.80%, 43.90%, 41.46%, 36.59%, 17.07% and 2.44% respectively. In different batches of samples, different kind of GM soybean event were detected, among which, in samples of 6 batches, only 1 event was detected, but in samples of all batches, 2 to 5 kinds of GM soybean events could be detected. In samples from different countries, the detected events were also different, including 7 from detected in American soybean, and 6, 5 and 3 from Brazil's, Canada's and Argentina's soybean respectively. Even though different GM soybean events and contents were detected in samples from different countries, GTS-40-3-2 and MON89788 could be detected in soybeans from all 4 countries with high contents. These results could be useful for China to detect and identify imported GM soybeans, and improve supervision of imported GM soybean.

Key words: imported soybean; genetically modified soybean; event-specific detection

随着生物技术产业的迅猛发展, 全球转基因作物的研发速度和种植面积持续增加。截至 2018 年 12 月全球共有 26 个国家种植了 1.917 亿公顷转基因作物, 较 1996 年增长了约 113 倍, 其中转基因大豆种植面积达到 9590 万公顷, 占全球转基因作物总种植面积的 50%^[1]。据海关总署公布的数据显示,

我国 2018 年进口大豆 8803 万吨^[2], 主要来自巴西、美国、加拿大和阿根廷等国, 其中绝大多数为转基因大豆。目前全球已有 36 个转基因大豆品系进入商业化种植, 其中美国、巴西、加拿大和阿根廷批准商业种植转基因大豆品系分别为 24 种、15 种、21 种和 15 种^[3]。目前我国批准进口用做加工原料的转基因

收稿日期: 2019-04-11

基金项目: 转基因生物新品种培育专项(2018ZX08012-001)

作者简介: 潘广(1985-), 男, 山东济南人, 高级农艺师, 硕士, 从事植物转基因产品检测研究, E-mail: pg0101@126.com

* 通讯作者: 凌杏园(1964-), 男, 安徽黄山人, 研究员, 博士, 从事植物基因工程和分子生物学研究, E-mail: lxy6421@qq.com

因大豆品系为17种^[4],进口转基大豆附带的农业转基因生物安全证书(进口)上,一般都申明该进口国全部或部分批准进口转基因大豆品系清单,但具体到每批大豆包含哪些品系则不清楚。另外,尽管上述转基因大豆出口国批准了较多的品系,但各国具体种植的转基因大豆品系和种植面积等信息是所谓的商业秘密,进口国难以掌握。为防止与安全证书不符合品系特别是我国非批准转基因品系入境,对进口大豆进行转基因大豆品系特异性检测至关重要。

实时荧光PCR方法是目前国内外主流的转基因品系检测方法。我国检验检疫行业发布的标准SN/1204-2016中包括了转基因大豆A2704-12、A5547-127、CV-127、DAS-44406-6、DAS-68416-4、DAS-81419-2、DP305423、DP356043、FG72、GTS40-3-2、MON87701、MON87705、MON87708、MON87769和MON89788等15个批准和非批准进口品系实时荧光PCR检测方法^[5]。欧盟转基因食品和饲料参考实验室(EURL-GMFF)于2016年发布了转基因大豆2个品系MON87751和SYHT0H2的实时荧光PCR检测方法^[6,7]。以上行业标准和欧盟发布的方法可涵盖目前我国批准进口转基因大豆品系的检测。

本文采用实时荧光PCR方法,对2017-2018年进口的41批次转基因大豆样品进行17种品系检测,并对检测结果进行统计和分析,基本摸清了主要大豆出口国家大豆品系组成情况以及出口国大豆可能的种植情况等,这为我国有的放矢地开展进口大豆转基因品系检测、提高检测效率提供了帮助,也为我国转基因大豆安全监管提供了科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

共选用2017-2018年从美国、巴西、加拿大和阿根廷进口的41批转基因大豆和17种转基因大豆标准物质,其中标准物质A2704-12、A5547-127、CV-127、FG72、MON87701、MON87705、MON87708、MON87751、MON87769、MON89788购自美国油脂化学家协会(AOCS);标准物质DP305423、GTS40-3-2、DP356043、DAS-44406-6、DAS-68416-4、DAS-81419-2购自欧盟标准物质与测量研究所(IRMM);SYHT0H2来自于中国检科院能力验证样品。

1.2 方法

1.2.1 样品制备和DNA提取 按照国家标准GB/T 19495.7-2004的要求抽取和制备实验室样品^[8],经实验室缩分至500 g左右,用粉碎机(美国Waring公司BLENDER8011S型)研磨成均匀的粉末。每批样品分别取2管作为平行对照,每管取50 mg粉末用于DNA提取。使用DNeasy Plant Mini Kit DNA提取试剂盒(凯杰生物技术(上海)有限公司,货号:69104)并按其操作步骤提取样品基因组DNA。

大豆DNA的提取参考DNeasy Plant Mini Kit试剂盒说明书,提取的DNA用NanoDrop2000C核酸浓度测定仪(美国Thermo Fisher Scientific公司)测定DNA浓度,调整DNA浓度50 ng/μL后用于后续实时荧光PCR(美国AB公司7900型和VII7型)反应检测。

1.2.2 实时荧光PCR检测 试验所用引物和探针序列信息均来自我国现行国标、行业标准及公开发表的文献,编号1~17为转基因大豆品系,编号18为大豆内源基因(表1)。

表1 转基因大豆品系实时荧光PCR检测用引物和探针
Table 1 Primers and probes for GM soybean event by real-time fluorescent PCR

编号 NO.	品系/基因 Event/gene	引物/探针名称 Primer/probe name	序列(5'-3') Sequence(5'-3')	来源 Ref.
1	A2704-12	A2704-12-F	GCAAAAAAGCGGTTAGCTCCT	[5]
		A2704-12-R	ATTGAGGCTGCGCAACTGTT	
		A2704-12-P	FAM-CGGTCCTCCGATCGCCCTTCC-TAMRA	
2	A5547-127	A5547-127-F	GCTATTGTTGGCATTITTTCCA	[5]
		A5547-127-R	CACTGCGGCCAACTTACTCT	
		A5547-127-P	FAM-CCGCAATGTCATACCGTCATCGTTGT-TAMRA	
3	CV-127	CV-127-F	AACAGAAGTTTCCGTTGAGCTTTAAGAC	[5]
		CV-127-R	CATTTCGTAGCTCGGATCGTGAC	
		CV-127-P	FAM-TTTGGGGAAGCTGTCCCATGCCCC-TAMRA	

续表

编号 NO.	品系/基因 Event/gene	引物/探针名称 Primer/probe name	序列(5'-3') Sequence(5'-3')	来源 Ref.
4	DAS-44406-6	DAS-44406-6-F	TTATTGTTCTTGTGTTTCCTCTTTAGG	[5]
		DAS-44406-6-R	CCTCAATGCGAGCTTTCTAATTT	
		DAS-44406-6-P	FAM-ATTTCGACCTCCATGATGACCTTACCGTT-TAMRA	
5	DAS-68416-4*	DAS-68416-4-F	GTACATTAAAAACGTCCGCAATGTGT	[5]
		DAS-68416-4-R	GTTTAAGAATTAGTTCTTACAGTTTATTGTTAG	
		DAS-68416-4-P	FAM-TTAAGTTGTCTAAGCGTCAATA-MGBNFQ	
6	DAS-81419-2	DAS-81419-2-F	TCTAGCTATATTTAGCACTTGATATTCAT	[5]
		DAS-81419-2-R	GCTTCAAGATCCCAACTTGCG	
		DAS-81419-2-P	FAM-ATCAACAGGCACCGATGCGCACCG-TAMRA	
7	DP305423	DP305423-F	CGTGTTCTCTTTTTGGCTAGC	[5]
		DP305423-R	GTGACCAATGAATACATAACACAAACTA	
		DP305423-P	FAM-TGACACAAATGATTTTCATACAAAAGTCGAGA-TAMRA	
8	DP356043	DP356043-F	GTCGAATAGGCTAGGTTTACGAAAAA	[5]
		DP356043-R	TTTGATATTCTTGGAGTAGACGAGAGTGT	
		DP356043-P	FAM-CTCTAGAGATCCGTCAACATGGTGGAGCAC-TAMRA	
9	FG72	FG72-F	AGATTTGATCGGGCTGCAGG	[5]
		FG72-R	GCACGTATTGATGACCGCATTA	
		FG72-P	FAM-AATGTGGTTCATCCGTCTT-MGBNFQ	
10	GTS-40-3-2	GTS-40-3-2-F	TTCATTCAAAATAAGATCATAACATACAGGTT	[5]
		GTS-40-3-2-R	GGCATTGTAGGAGCCACCTT	
		GTS-40-3-2-P	FAM-CCTTTTCCATTTGGG-MGBNFQ	
11	MON87701	MON87701-F	TGGTGATATGAAGATACATGCTTAGCAT	[5]
		MON87701-R	CGTTTCCCGCCTTCAGTTTAAA	
		MON87701-P	FAM-TCAGTGTTTGACACACACACTAAGCGTGCC-TAMRA	
12	MON87705	MON87705-F	TTCCCGGACATGAAGCCATTTAC	[5]
		MON87705-R	ACAACGGTGCCTTGGCCCAAAG	
		MON87705-P	FAM-AAGAGACTCAGGCTGTTGTTATCACTGCGG-TAMRA	
13	MON87708	MON87708-F	TCATACTCATTGCTGATCCATGTAG	[5]
		MON87708-R	AGAACAAATTAACGAAAAACAGAACG	
		MON87708-P	FAM-TCCCGGACTTTAGCTCAAAATGCATGTA-TAMRA	
14	MON87769	MON87769-F	CATACTCATTGCTGATCCATGTAGATT	[5]
		MON87769-R	GCAAGTTGCTCGTGAAGTTTGG	
		MON87769-P	FAM-CCCGGACATGAAGCCATTTACAATTGAC-TAMRA	
15	MON89788	MON89788-F	TCCCGCTCTAGCGCTTCAAT	[5]
		MON89788-R	TCGAGCAGGACCTGCAGAA	
		MON89788-P	FAM-CTGAAGGCGGAAACGACAATCTG-TAMRA	
16	MON87751*	MON87751-F	CTAAATTGCTCTTTGGAGTTTATTTTGTAG	[8]
		MON87751-R	GGCCTAACTTTTGGTGTGATGATG	
		MON87751-P	FAM-TGACTGGAGATCTCCAAAGTGAGGGGAAA-TAMRA	
17	SYHT0H2	SYHT0H2-F	GGGAATTGGGTACCATGCC	[9]
		SYHT0H2-R	TGTGTGCCATTGCTTTAGGGT	
		SYHT0H2-P	FAM-CCAGCATGGCCGTATCCGCAA-BHQ1	
18	Lectin	Lectin-F	CCTCCTCGGGAAGTTACAA	[5]
		Lectin-R	GGGCATAGAAGGTGAAGTT	
		Lectin-P	FAM-CCCTCGTCTCTTGGTCGCGCCCTCT-TAMRA	

注:*为未批准进口品系

Note: * denotes unapproved imported event

每个DNA提取设2个PCR反应(共4个反应),并设置提取空白对照、PCR空白对照、阴性和阳性对照。

实时荧光PCR扩增反应体系20 μL ,其中Taq-Man Fast Advanced Master Mix 10 μL , DNA模板(10 ng/ μL) 3 μL ,正反向引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各2 μL ,探针(10 $\mu\text{mol/L}$) 1 μL ,用双蒸水补足体积至20 μL 。扩增条件:95℃预变性10 min,;95℃变性15 s,60℃退火1 min,40个循环。结果判定严格按照SN/T 1204-2016^[5]执行。

2 结果与分析

2.1 41批进口转基因大豆品系检测结果及分析

对41批进口转基因大豆样品进行了17种品系检测,检测结果如表2,所有样品的内源基因(*Lec-tin*)检测Ct值(4次重复平均值)在20.69~26.89之间,品系的检测Ct值(4次重复平均值)在20.70~35.82之间,提取空白、PCR空白、阴性和阳性对照均正常,检测结果符合SN/T 1204-2016标准中如果待测样品品系检测Ct值小于或等于36,内源基因检测Ct值小于或等于30的要求,因此判定该样品含有所检品系。

表2结果显示,41批大豆中仅检出7种转基因大豆品系,分别为A2704-12、A5547-127、FG72、GTS40-3-2、MON87701、MON87708和MON89788,其中检出频率最高的为MON89788和GTS40-3-2,各检出37批和36批,检出率分别为90.24%和87.80%;其次为MON87701、MON87708和A2704-12,各检出18批、17批和15批,检出率分别为43.90%、41.46%和36.59%;检出频率较低的为A5547-127和FG72,各检出7批和1批,检出率分别为17.07%和2.44%。

分析表2结果发现,各批次样品检出品系不同。其中15、28、30、31、33和38号共6个样品仅检出1种品系GTS40-3-2。样品13、26、27和29检出2种品系,除13号检出GTS40-3-2和MON89788品系外,其余均为MON87701和MON89788品系。有10批样品检出3种品系,除都检出GTS40-3-2和MON89788品系外,8号和35号样品检出MON87708品系,9、17、34、37、39、40和41号样品检出MON87701品系,而11号样品则检出A2704-12品系。有18批样品检出4种品系,除都检出GTS40-3-2和MON89788品系外,2、3、4、5、7、10、12、14、16和18号样品检出A2704-12和MON87708品系,19、

21、22、24和25号样品还检出A5547-127和MON87701品系,而20和32号样品检出MON87701和MON87708品系,36号样品还检出A2704-12和MON87708品系。有3批样品检出5种品系,除都检出A2704-12、GTS40-3-2和MON89788外,1号样品还检出FG72和MON87708品系,6号样品检出A5547-127和MON87708品系,而23号样品检出A5547-127和MON87701品系。

以上结果显示在全球目前已批准商业化种植的36种转基因大豆品系中,大规模商业化应用的品系仅7种,并不是所有的批准转基因大豆品系都加以种植,同时这7种品系也在我国批准进口16种品系清单内(表3),这7种品系是今后进口农产品,特别是进口食品转基因检测的重点。

2.2 不同进口国转基因大豆品系检测结果及分析

由不同国家转基因大豆品系检出率(表4)可知,15批进口美国转基因大豆(编号1~15)共检出7种品系,其中检出率最高的2种品系GTS40-3-2和MON89788,分别为100%和93.33%;其次是A2704-12和MON87708品系,检出率率都为78.57%;检出率最低的为A5547-127、FG72和MON87701,都为7.14%。15批进口巴西转基因大豆(编号16~30)共检出6种品系,缺少美国种植的转基因大豆品系FG72。其中检出率最高的3个品系为MON89788、GTS40-3-2和MON87701,分别为86.67%、80.00%和73.33%;其次为A5547-127品系,检出率为40.00%;最低的品系为A2704-12和MON87708,检出率均为20.00%。6批进口加拿大大豆(编号31~36)共检出5种品系,缺少品系A5547-127和FG72。其中检出率最高的2种品系GTS40-3-2和MON89788,分别为100%和66.67%;其次为MON87708和MON87701品系,检出率分别为50.00%和33.33%;最低的为A2704-12品系,检出率为16.67%。5批进口阿根廷大豆(编号37~41)仅检出3个品系,其中GTS40-3-2品系检出率达到100%;其次为MON87701和MON89788品系,检出率都为66.67%。以上检测结果显示,不同国家和地区会依所在国土地、气候和品系农艺性状等情况选择种植不同转基因大豆品系。

2.3 不同进口国转基因大豆品系含量估算及分析

实时荧光PCR Ct值与该模板的起始拷贝数的对数存在线性关系,起始拷贝数越多,Ct值越小^[9]。在不考虑大豆内源基因和品系扩增效率的情况下,通过比较两者Ct值的差异,可初步估算不同进口国

表2 转基因大豆样品中品系检测结果

Table 2 Detection results of event in GM soybean samples

样品编号 NO.	检出的品系/基因 Event/gene detected results							
	A2704-12	A5547-127	FG72	GTS40-3-2	MON87701	MON87708	MON89788	Lectin
1	25.10	-	29.92	25.06	-	27.87	22.60	20.69
2	30.92	-	-	26.82	-	26.79	24.87	22.92
3	25.89	-	-	27.62	-	29.39	27.14	25.31
4	27.23	-	-	26.81	-	30.36	24.45	23.82
5	22.82	-	-	21.61	-	23.20	22.64	20.93
6	24.60	30.07	-	21.94	-	29.90	24.92	22.69
7	30.36	-	-	24.85	-	24.18	21.88	20.36
8	-	-	-	26.69	-	25.85	22.32	21.25
9	-	-	-	24.00	22.89	-	22.87	21.06
10	23.05	-	-	27.23	-	25.60	23.92	25.24
11	34.21	-	-	25.40	-	-	25.06	23.37
12	28.73	-	-	26.21	-	31.91	23.67	23.64
13	-	-	-	26.84	-	-	23.64	22.26
14	26.25	-	-	25.05	-	29.38	22.64	21.87
15	-	-	-	22.81	-	-	-	20.97
16	35.55	-	-	26.75	-	26.76	23.73	21.83
17	-	-	-	24.52	23.05	-	24.24	21.97
18	34.91	-	-	26.17	-	26.29	23.18	22.14
19	-	34.22	-	26.77	24.15	-	25.51	24.75
20	-	-	-	25.78	23.17	32.92	22.74	22.03
21	-	35.82	-	26.17	25.53	-	25.03	22.86
22	-	35.00	-	26.95	26.60	-	26.68	24.08
23	34.65	31.93	-	25.52	22.88	-	22.82	21.71
24	-	32.79	-	25.11	23.58	-	24.15	22.56
25	-	34.34	-	25.96	23.57	-	26.03	23.97
26	-	-	-	-	20.95	-	25.07	24.72
27	-	-	-	-	20.70	-	24.43	23.91
28	-	-	-	25.28	-	-	-	26.65
29	-	-	-	-	23.62	-	21.95	24.29
30	-	-	-	26.74	-	-	-	24.55
31	-	-	-	-	-	-	21.93	24.14
32	-	-	-	31.49	31.13	24.02	22.17	23.95
33	-	-	-	-	-	-	22.51	21.61
34	-	-	-	24.77	34.15	-	22.06	20.87
35	-	-	-	27.71	-	27.86	24.75	23.2
36	32.06	-	-	26.99	-	25.94	24.71	23.66
37	-	-	-	23.63	24.91	-	26.57	21.78
38	-	-	-	26.32	-	-	-	26.89
39	-	-	-	23.38	23.15	-	24.65	22.5
40	-	-	-	26.54	29.47	-	30.36	25.91
41	-	-	-	23.86	24.65	-	23.51	21.93
阳性批次数 Positive lots	15	7	1	36	18	17	37	
检出率 Positive proportion	36.59%	17.07%	2.44%	87.80%	43.90%	41.46%	90.24%	

注:“+”表示检测到该品系;“-”表示未检测到该品系

Note: +: PCR positive; -: PCR negative

表3 我国批准进口转基因大豆品系清单
Table 3 List of imported GM soybean events approved for import by China

编号 NO.	品系名称 Event	研发者 Developer	用途 Application	有效期 Validity
1	GTS40-3-2	孟山都远东有限公司 Monsanto Far East Co., Ltd		2018.12.20-2021.12.20
2	A2704-12	巴斯夫种业有限公司 BASF Seed Co., Ltd		2018.12.20-2021.12.20
3	MON89788	孟山都远东有限公司 Monsanto Far East Co., Ltd		2017.6.12-2020.6.12
4	356043	杜邦中国集团有限公司 DuPont China Group Co., Ltd		2010.12.30-2013.12.30
5	305423	先锋国际良种公司 Pioneer international seed company		2017.6.12-2020.6.12
6	CV127	巴斯夫农化有限公司 BASF Chemical Co., Ltd		2018.12.20-2021.12.20
7	MON87701	孟山都远东有限公司 Monsanto Far East Co., Ltd		2018.12.20-2021.12-20
8	MON87701×MON89788	孟山都远东有限公司 Monsanto Far East Co., Ltd		2018.12.20-2021.12-20
9	A5547-127	拜耳作物科学公司 Bayer Crop Sciences company	加工原料 Raw materials	2017.6.12-2020.6.12
10	305423×GTS40-3-2	先锋国际良种公司 Pioneer international seed company		2017.6.12-2020.6.12
11	MON87769	孟山都远东有限公司 Monsanto Far East Co., Ltd		2018.12.20-2021.12.20
12	MON87708	孟山都远东有限公司 Monsanto Far East Co., Ltd		2018.12.20-2021.12.20
13	FG72	巴斯夫种业有限公司 BASF Seed Co., Ltd		2018.12.20-2021.2.20
14	MON87705	孟山都远东有限公司 Monsanto Far East Co., Ltd		2017.6.12-2020.6.12
15	DAS-44406-6	陶氏益农公司 Dow AgroSciences LLC		2018.12.20-2021.12.20
16	SYHT0H2	先正达农作物保护股份公司 Syngenta crop protection Co., Ltd		2018.12.20-2021.12.20
17	DAS-81419-2	巴斯夫种业有限公司 BASF Seed Co., Ltd 陶氏益农公司 Dow AgroSciences LLC		2019.12.2-2022.12.20

表4 不同进口国家转基因大豆品系检出率
Table 4 Positive proportion of GM soybean events in different importing countries

国家 Country	品系检出率 Positive proportion / %						
	A2704-12	A5547-127	FG72	GTS40-3-2	MON87701	MON87708	MON89788
美国 USA	78.57	7.14	7.14	100	7.14	78.57	93.33
巴西 Brazil	20.00	40.00	-	80.00	73.33	20.00	86.67
加拿大 Canda	16.67	-	-	66.67	33.33	50.00	100.00
阿根廷 Argentina	-	-	-	100.00	66.67	-	66.67

注:“-”表示未检测到该品系

Note: -: PCR negative

转基因大豆品系相对含量,进而可大致了解这些国家不同转基因大豆品系的种植和销售情况。表5是美、加等国进口大豆各品系平均含量估算,由此可知,进口美国大豆中含量最高的品系为MON89788,其含量达到32.63%;其次为MON87701,达到25.91%,但15批大豆中仅检出1批该品系;除GTS40-3-2和A2704-12含量在10%以上外,其余品系含量均低于10%,其中A5547-127品系和FG72品系含量更是低于1%。进口巴西大豆中含量最高的品系为MON87701,其含量达到44.29%;其次为MON89788,含量达到33.81%;除GTS40-3-2含量在10%以上外,其余品系含量均低于10%,其中A2704-12品系和A5547-127品系含量更是低于0.01%,可忽略不计。进口加拿大大豆中含量最高的品系为MON89788,估算其含量达到66.15%;其次为MON87708,含量达到24.34%;其余品系含量均低于10%,其中A2704-12品系和MON87701品系含量更是低于0.5%。进口阿根廷大豆中含量最高的品系为GTS40-3-2,估算其含量达到51.45%;其次为MON87708和MON89788,含量分别为20.10%和14.41%。

以上各国进口大豆各品系含量差异表明不同国家种植品系面积和产量各不相同。

3 讨论与结论

目前我国17种批准进口转基因大豆品系中包括2种复合品系MON87701×MON89788和DP305423×GTS40-3-2。虽然暂时没有检测标准,但是4种单品系MON87701、MON89788、DP305423和GTS40-3-2均有检测标准。本研究表明不同国家和地区进口大豆中转基因品系数目、种类和含量不同,但本研究采用的17种转基因大豆品系特异性检测方法可覆盖目前批准进口大豆品系,能够满足日常检测的基本需要。

依据《进出口转基因产品检验检疫管理办

法》^[11],口岸检验检疫部门开展转基因批准品系符合性检测和非批准品系检测,其中后者为检测的重点。目前我国还有多达20种未批准品系进口,但是限于检测方法和标准物质的匮乏,本研究只对2种非批准转基因大豆品系DAS-68416-4和MON87751进行了检测,检测结果并未发现这两种品系。转基因大豆品系DP356043的农业转基因生物安全证书(进口)在2010年12月30日获批,但在2013年12月30日到期,即使将其作为非批准品系对待,本研究也并未检测出,表明该品系可能未予商业化生产或已完全退出市场。

研究还发现大多数样品均检出2~5种品系,这之前相关文献报道^[9,10]的进口转基因玉米和油菜籽都为多品系混合产品相一致。这一方面说明当前我国主要进口转基因农产品大豆、油菜籽、玉米等主要是多品系混合样品,另一方面也可能是复合品系造成。据ISAAA报道^[1],全球复合性状转基因作物的种植面积占全球转基因作物种植面积的41%,已经商业化转基因大豆复合性状达11个,除我国批准进口的2个外,其余9个均为非批准进口品系,因此开展复合品系检测将会是下一步检测研究的热点。

目前,我国主要从5个国家进口转基因大豆,其中美国和巴西进口量最大,两国都检出MON89788和GTS40-3-2,检出率在80.00%以上,且含量都在16%以上。MON87701品系在美国大豆中含量虽达到25.91%,但仅检出1批,而在巴西大豆中检出11批,分析原因可能在于美国批准的MON87701为单一鳞翅目昆虫抗性品系,由于不具有除草剂抗性,很难实现大规模机械化种植,种植面积估计较小;而巴西批准的MON87701×MON89788品系,由于兼抗除草剂和鳞翅目昆虫,适合大规模商业化种植,故检出率和含量都较高。加拿大和阿根廷进口量少,但两国检出率最高的品系都为MON89788和GTS40-3-2。乌拉圭大豆由于进口量最小,本研究

表5 不同进口国家转基因大豆平均含量估算结果

Table 5 Estimation of GM soybean content in different importing countries

国家 Country	估算含量 Estimation / %						
	A2704-12	A5547-127	FG72	GTS40-3-2	MON87701	MON87708	MON89788
美国 USA	12.32	0.55	0.15	16.10	25.91	5.56	32.63
巴西 Brazil	0.012	0.058	-	18.92	44.29	2.91	33.81
加拿大 Canda	0.3	-	-	5.33	0.18	24.34	66.15
阿根廷 Argentina	-	-	-	51.45	20.10	-	14.41

注:“-”表示未检测到该品系

Note: -: PCR negative

未开展针对该国进口转基因大豆品系的检测。

综上所述,不同国家进口转基因大豆样品中共仅检出7种品系,分别为批准进口品系A2704-12、A5547-127、FG72、GTS40-3-2、MON87701、MON87708和MON89788;不同国家和不同批次大豆样品多数都检出2~5种品系,其中MON89788和GTS40-3-2最普遍,含量也最高。现阶段我国17种大豆品系特异性检测方法可以满足入境转基因大豆产品检测的基本需要,但须加强未批准品系和复合品系鉴定技术研究和应用,这样才能满足今后转基因大豆检测监测工作的需要,从而更好地为我国政府相关监管部门提供科学依据。

参考文献:

- [1] 国际农业生物技术应用服务组织. 2018年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势[J]. 中国生物工程杂志, 2019, 39(8): 1-6.
- [2] 2018年我国大豆进口量近7年来首次减少[EB/OL]. <http://www.customs.gov.cn/eportal/fileDir/customs/resource/cms/2019/02/2019021814165455318.doc>. 2019.
- [3] ISAAA-GM Approval Database [DB/OL]. <http://www.isaaa.org/gmappr-oval/database/default.asp>.
- [4] 转基因权威关注[EB/OL]. <http://www.moa.gov.cn/ztl/zjyqwgz/>. 2019.
- [5] SN/T 1204-2016. 植物及其加工产品中转基因成分实时荧光PCR定性检验方法[S].
- [6] European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed (EURL GMFF), Joint Research Centre (JRC), European Commission; "Event-specific Method for the Quantification of Soybean SYHT0H2 by Real-time PCR - JRC Validated Methods, Reference Methods and Measurements Reports" Online Publication (2016).
- [7] European Union Reference Laboratory for GM Food and Feed (EURL GMFF), Joint Research Centre (JRC), European Commission; "Event-specific Method for the Quantification of Soybean MON 87751 Using Real-time PCR - Validation Report and Validated Method" Online Publication 2016.
- [8] GB/T 19495.7-2004. 转基因产品检测-抽样和制样方法[S].
- [9] 凌杏园, 章桂明, 潘广, 等. 进口转基因玉米品系特异性检测[J]. 植物检疫, 2011, 25(5): 40-44.
- [10] 李想, 潘良文, 李俊毅, 等. 进口油菜籽中不同转基因品系的检测与分析[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(1): 77-82.
- [11] 中华人民共和国海关总署. 进出境转基因产品检验检疫管理办法[Z]. 2018-11-23.

(责任编辑:王丽芳)