

# 新型高抗玉米螟虫、耐除草剂转基因玉米和非转基因玉米营养成分的比较分析

柳青, 刘洋, 郭嘉, 李楠, 尹悦佳, 康岭生, 韩四平, 刘相国\*  
(吉林省农业科学院农业生物技术研究所, 长春 130033)

**摘要:**转基因食品与亲本之间的营养成分差异是衡量转基因食品安全性的重要指标之一。本研究在前期获得复合性状抗虫耐除草剂转基因玉米 HiII-NGc-a 的基础上, 对含有目标基因 *cry1Ab/Gc*、*bar* 的转基因玉米种子和其亲本非转基因玉米的营养成分进行分析, 包括水分、脂肪、灰分、粗纤维、蛋白质、氨基酸、脂肪酸、矿物质、维生素和抗营养因子。结果表明, 转基因玉米与非转基因玉米营养成分相似, 大多数营养成分的测定结果都在正常参考范围内, 该转基因玉米和非转基因玉米在营养成分上具有实质等同性。

**关键词:**抗虫耐除草剂; 转基因玉米; 营养成分

中图分类号: R151.3

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2018)04-0027-05

## Comparison and Analysis of Nutrients in New High Resistant to Corn Borer, Herbicide-Tolerant Transgenic Corn and Non-GM Corn

LIU Qing, LIU Yang, GUO Jia, LI Nan, YIN Yuejia, KANG Lingsheng, HAN Siping, LIU Xiangguo\*

(Institute of Agricultural Biotechnology, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130033, China)

**Abstract:** The difference in nutrient composition between transgenic foods and their parents is one of the important indicators for measuring the safety of genetically modified foods. In this study, based on the preliminary analysis of the transgenic corn HiII-NGc-a with compound trait of insect and herbicide resistance, the nutrient contents of the transgenic corn seeds containing the target genes *cry1Ab/Gc*, *bar* and their parent non-transgenic corn were analyzed, including moisture, fat, ash, crude fiber, protein, amino acids, fatty acids, minerals, vitamins and anti-nutritional factors. The results showed that the nutrient contents of transgenic corn and non-transgenic corn were similar, and the results of most nutrients determination were within the normal reference range. The transgenic corn and non-transgenic corn had substantial equivalence.

**Key words:** Insect and herbicide resistance; Transgenic corn; Nutrient composition

2016年是转基因作物(又称生物技术作物)商业化21周年,从1996年到2015年的20年间,全球转基因作物累计种植面积达到空前的20亿公顷,相当于中国大陆总面积(9.56亿公顷)的2倍,复合性状作物占全球1.797亿公顷转基因作物种植面积的33%<sup>[1]</sup>,2014年这一比例是28%。目前,国外种植的复合性状转基因玉米以抗虫抗除

草剂品种为主,包括MON801、MON89034、DAS-06275-8、NK603等,我国对抗虫抗除草剂转基因玉米也有研究<sup>[2-4]</sup>,但尚未进入产业化。

转基因技术在保障粮食安全、保护生态环境、提高经济和社会效益等方面显现巨大潜力<sup>[5]</sup>,同时对人类健康和生态环境也存在潜在风险。因此,安全是转基因生物技术的核心问题,一般来说,转基因食品在批准商业化生产前必须进行营养学、毒理学、致敏性方面的安全评估。其中转基因产品是否存在营养成分的变化已成为食品安全评价的热点。转基因食品的营养学评价主要针对蛋白质、淀粉、纤维素、脂肪、脂肪酸、氨基酸、矿物质元素、维生素和灰分等与人类健康营养密切相关的物质,以及抗营养因子(如蛋白酶抑制剂、植酸和凝集素)等,与传统食品进行比较,如果结果

收稿日期: 2018-04-07

基金项目: 吉林省科技发展计划项目(20160520060JH); 吉林省农业科技创新工程项目(CXGC2017ZY026); 国家农业部转基因重大专项(2015ZX08013002-007)

作者简介: 柳青(1984-),女,助理研究员,硕士,主要从事转基因玉米产业化研发中规模化玉米遗传转化和转基因玉米种质鉴评等研究工作。

通讯作者: 刘相国,男,博士,副研究员, E-mail: liu9983@163.com

有统计学差异,还应充分考虑这种差异是否在这一类食品的参考范围内。已有研究发现转基因棉籽、抗虫水稻及耐除草剂水稻和玉米等转基因食品营养成分与传统食品是基本一致的<sup>[6-9]</sup>。但有些针对性改良营养成分的转基因食品其目标成分会有较大变化,例如高赖氨酸玉米,新增加的营养成分需要额外评价暴露量和最大允许摄入量。

自1981年科学家提纯并命名了苏云金芽孢杆菌杀虫晶体蛋白Cry(简称Cry蛋白)后,美国科学家把Cry基因转入玉米和棉花中,成功获得了抗虫转基因新品种。其中Cry蛋白家族中,Cry1Ab蛋白、Cry1Ac蛋白和Cry9C蛋白对亚洲玉米螟的杀虫活性最强。但是关于这些蛋白的营养成分分析至今未有报道。目前,Cry基因的获得主要是从天然苏云芽孢杆菌或自然宏基因组文库中克隆,并进一步利用大肠杆菌表达、抗虫性鉴定等研究策略高通量筛选新型抗虫基因。物种之间通过不断加速进化竞争性生存,但由于自然界菌株变异速率相对较慢,获得更高抗虫性的Cry蛋白越来越困难,因此,获得进化率快的Cry基因对于高抗虫材料的获得至关重要。

由于转Cry基因作物杀虫蛋白的表达存在着时空差异,不同生育期、不同部位杀虫效果不同。转Cry基因玉米的抗虫性强弱与植物体内的杀虫蛋白含量直接相关,亦即与Cry基因在植物体内的表达水平直接相关<sup>[10]</sup>。为了获得具有自主知识产权的抗虫蛋白,研究团队采用蛋白质进化分析技术和人工蛋白重组技术,最终构建64个重组Cry蛋白;通过大肠杆菌表达和体外抗虫性鉴定等研究,鉴定出对亚洲玉米螟幼虫毒性最高、幼虫死亡率最高的重组Cry1Ab-1Ab-1Gc蛋白;对Cry1Ab-1Ab-1Gc基因进行密码子改造,合成抗虫基因NGc,表达该抗虫基因NGc得到最优新型重组抗虫蛋白NGc,获得的重组抗虫蛋白NGc包含由Cry1Ab和Cry1Gc毒素片段组成的嵌合肽。

笔者团队合成的抗虫基因NGc与已报道的Cry基因最大同源性为77%;与Cry1Ab基因和Cry1Gc基因相比,大大增强了其在植物中的表达;在心叶期、吐丝期高密度人工接种亚洲玉米螟均显现出突出的抗玉米螟活性,且抗玉米螟级别为高抗免疫级别,为抗虫基因的推广及商业化奠定基础。此外,该抗虫基因NGc可以转化玉米、水稻、棉花、大豆、高粱、小麦、大麦、燕麦、烟草、马铃薯、番茄、水果、树木或蔬菜等作物,使其具备相应的抗虫活性,从而降低农药的使用量,以减

少环境污染和生产成本,具有重要的经济价值和广阔的应用前景。笔者团队培育出的新型高抗玉米螟虫、耐除草剂草铵膦转基因玉米HiII-NGc-a,已进入农业部环境释放阶段,本研究对转基因玉米HiII-NGc-a与原亲本非转基因玉米的营养成分,包括水分、脂肪、粗灰分、蛋白质、氨基酸、脂肪酸、矿物质和抗营养因子等进行分析,为其食品安全性的进一步研究奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料及地点

玉米HiII-NGc-a是吉林省农业科学院自主研制的转基因材料,世代为T<sub>5</sub>代,是用农杆菌转化的方法,将含有抗虫基因*cry1Ab/Gc*和耐除草剂基因*bar*的载体转到HiII玉米中。HiII用于作非转基因玉米对照。转基因材料HiII-NGc-a和非转基因对照材料HiII均种植在国家转基因中试及产业化基地(公主岭)试验田。试验地位于东北平原的中部,地势平坦,土壤肥沃,属温带气候,四季明显。

### 1.2 试验方法及依据

水分测定采用直接干燥法,参照GB5009.3-2010规定。

蛋白质测定采用微量凯氏定氮法,参照GB5009.5-2010规定。

脂肪测定采用索氏提取法,参照GB/T 5009.6-2003规定。

灰分测定采用马福炉灰化法,参照GB 5009.4-2010规定。

粗纤维的测定参照GB/T 5009.10-2003规定。

脂肪酸的测定参照GB/T 17377-2008规定。

氨基酸参照GB/T 5009.124-2003规定。

矿质元素铁参照GB/T 5009.90-2003、钾参照GB/T 5009.91-2003、钠参照GB/T 5009.91-2003、锰参照GB/T 5009.90-2003、钙参照GB/T 5009.92-2003、磷参照GB/T5009.87-2003、铜参照GB/T 5009.13-2003、镁参照GB/T 5009.90-2003、锌参照GB/T 5009.14-2003。

植酸参照GB/T 5009.153-2003规定。

胰蛋白酶抑制剂参照NY/T 1103.2-2006规定。

维生素E参照GB/T 5009.82-2003规定。

维生素B<sub>1</sub>参照GB 5413.11-2010规定。

维生素B<sub>2</sub>参照GB 5413.12-2010规定。

## 2 结果与分析

### 2.1 常规营养成分分析

转基因玉米 HiII-NGc-a 和非转基因玉米 HiII 的常规营养成分:水分、灰分、蛋白质、脂肪、粗纤维的含量见表 1。转基因玉米的灰分、脂肪、碳水化合物略高于非转基因玉米,水分、蛋白质略低于非转基因玉米,但无显著性差异。只有转基因玉米的粗纤维低于非转基因玉米 29.61%。

表 1 转基因玉米 HiII-NGc-a 和非转基因玉米 HiII 的常规营养成分含量 g/100 g

成分	转基因玉米	非转基因玉米
水分	9.44	9.69
灰分	1.91	1.79
蛋白质	11.1	11.3
脂肪	3.63	3.33
碳水化合物	72.13	71.57
粗纤维	1.79	2.32

### 2.2 脂肪酸含量分析

从表 2 中可以看出,转基因玉米成分中棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、花生酸、山嵛酸略低于非转基因玉米,亚油酸、亚麻酸略高于非转基因玉米,但差异不显著。

表 2 转基因玉米 HiII-NGc-a 和非转基因玉米 HiII 的脂肪酸含量 %

成分	转基因玉米	非转基因玉米
棕榈酸	14.21	14.72
棕榈油酸	0.14	0.16
硬脂酸	2.25	2.97
油酸	30.74	34.45
亚油酸	50.42	45.50
亚麻酸	0.93	0.86
花生酸	0.47	0.52
山嵛酸	0.11	0.12
其他	0.73	0.70

### 2.3 氨基酸含量分析

从表 3 中可以看出,转基因玉米的天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、赖氨酸、精氨酸、脯氨酸略低于非转基因玉米的含量;谷氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸略高于非转基因玉米的含量,蛋氨酸、异亮氨酸与非转基因玉米的含量相同。转基因玉米与非转基因玉米氨基酸含量无显著性差异。

表 3 转基因玉米 HiII-NGc-a 和非转基因玉米 HiII 的氨基酸含量 g/100 g

成分	转基因玉米	非转基因玉米
天冬氨酸	0.64	0.72
苏氨酸	0.23	0.29
丝氨酸	0.46	0.50
谷氨酸	2.81	2.78
甘氨酸	0.30	0.32
丙氨酸	0.89	0.93
缬氨酸	0.45	0.47
蛋氨酸	0.13	0.13
异亮氨酸	0.34	0.34
亮氨酸	1.71	1.68
酪氨酸	0.37	0.33
苯丙氨酸	0.52	0.51
赖氨酸	0.22	0.25
组氨酸	0.26	0.23
精氨酸	0.29	0.31
脯氨酸	0.65	0.88

### 2.4 矿质元素成分分析

对矿质元素成分分析(表 4)发现:转基因玉米的铁、镁、锰、铜、钙略高于非转基因玉米,钾、钠、锌、磷略低于非转基因玉米,转基因玉米与非转基因玉米矿物质元素含量无显著性差异。

表 4 转基因玉米 HiII-NGc-a 和非转基因玉米 HiII 的矿质元素成分

成分	转基因玉米	非转基因玉米	单位
铁	2.55	2.46	mg/100g
镁	98.1	89.9	mg/100g
锰	0.420	0.305	mg/100g
铜	3.27	3.26	mg/kg
钙	49.2	47.2	mg/100g
钾	261	290	mg/100g
钠	9.40	10.3	mg/100g
锌	21.5	24.0	mg/kg
磷	$2.58 \times 10^2$	$2.71 \times 10^2$	mg/100g

### 2.5 维生素含量分析

从表 5 中可以看出,转基因玉米的维生素 B<sub>1</sub> 明显高于非转基因玉米,成分含量超出 50%,维生素 B<sub>2</sub> 略低于非转基因玉米,无显著性差异。

### 2.6 抗营养因子含量分析

从表 6 中可以看出,转基因玉米的抗营养因子植酸、胰蛋白酶抑制剂的含量略低于非转基因玉米的含量,但无显著性差异。

表5 转基因玉米 HiII-NGc-a 和非转基因玉米 HiII 的维生素含量 mg/100 g

营养成分	转基因玉米	非转基因玉米
维生素 B <sub>1</sub>	8.19×10 <sup>-2</sup>	5.15×10 <sup>-2</sup>
维生素 B <sub>2</sub>	5.48×10 <sup>-2</sup>	5.87×10 <sup>-2</sup>

表6 转基因玉米 HiII-NGc-a 和非转基因玉米 HiII 的抗营养因子含量

成分	转基因玉米	非转基因玉米	单位
植酸	8.23	8.47	mg/g
胰蛋白酶抑制剂	1.33×10 <sup>3</sup>	1.41×10 <sup>3</sup>	TIU/g

### 3 讨论

转基因作物的食用安全评价和管理不仅关系到我国人民的身体健康和环境安全,而且也关系到我国农业生物技术产业的可持续发展。对转基因作物的食用安全性评价是转基因食品商品化的前提条件,转基因食品与亲本之间的营养成分差异是衡量转基因食品安全性的重要指标之一。

目前,国际上进行转基因食品的安全性评价原则是经济发展合作组织(OECD)1993年提出的“实质等同性”原则,即通过对转基因食品中的各种主要营养成分、主要的营养拮抗物质、毒性物质及过敏性物质等成分的种类和含量进行分析,并与传统的相对应食品进行比较,若二者之间没有明显的差异,则认为该转基因食品与传统食品在食用安全性方面具有实质等同性,不存在安全性问题。

本研究选用已有的材料转基因玉米 HiII-NGc-a 具有高抗亚洲玉米螟虫、耐至少6倍草铵磷,进入农业部环境释放,对其营养成分进行分析,作为衡量其食用安全评价的基础。根据 OECD 参考范围,分析发现6种常规营养成分、8种脂肪酸、16种氨基酸、9种矿物质元素、2种微量元素、2种抗营养因子均在范围内,且大部分差异不显著。朱元招等<sup>[11]</sup>对抗草甘膦大豆及豆粕营养成分和抗营养因子进行研究时发现,抗草甘膦大豆、豆粕中8种普通营养成分、17种氨基酸、14种脂肪酸、4种微量元素营养指标与未经基因修饰的普通品种相比基本一致,具有营养学的实质等同性;植酸磷、胰蛋白酶抑制因子、脲酶活性和蛋白溶解度4种抗营养因子含量也未发生显著变化。

但值得注意的是,本研究中转基因玉米的粗

纤维含量 1.79%, 低于非转基因玉米粗纤维含量 2.32%, 差异百分比达 29.61%。这一结果与已有研究转植酸酶玉米的粗纤维含量结果趋势一致,转植酸酶玉米粗纤维含量为 1.84%, 非转基因玉米含量 2.19%<sup>[12]</sup>。转基因玉米的粗纤维含量低于非转基因玉米近 20%。粗纤维是植物细胞壁的主要组成成分,从营养的角度来看,由于人体消化器官中不存在水解粗纤维的各种酶,所以它不能被人体消化和吸收。相反,由于它的含量较多,反而会影响动物对食品中营养成分的消化吸收。有研究表明在一定范围内,粗纤维水平的提高降低了动物的营养物质消化吸收<sup>[13]</sup>。因此外源基因转入到玉米基因组中,可能对子粒的细胞壁产生影响。但从作为饲料成分来讲,粗纤维的含量降低对其他营养物质的吸收应该影响不大。另外,转基因玉米的维生素 B<sub>1</sub> 明显高于非转基因玉米,成分含量超出 50%。维生素 B<sub>1</sub> 主要存在于种子的外皮和胚芽中,如米糠和麸皮中含量很丰富,研究表明维生素 B<sub>1</sub> 是保证正常神经功能和碳水化合物新陈代谢不可缺少的物质<sup>[14]</sup>,维生素 B<sub>1</sub> 缺乏也可导致老年性痴呆<sup>[15]</sup>等。至于维生素 B<sub>1</sub> 过多,因其极易随尿排出,所以至今尚无报道因过多而造成中毒的情况。因此本研究维生素 B<sub>1</sub> 含量虽高于非转基因玉米,但在参考范围内,推测对安全影响不大。

现阶段对转基因玉米营养成分的分析主要针对单基因转基因玉米,包括转植酸酶基因玉米、耐草甘膦玉米<sup>[12,16-17]</sup>,而对复合性状转基因作物的营养成分分析尚未见报道。本研究对抗虫耐除草剂转基因玉米的成分进行分析,与非转基因玉米相比,尽管有部分营养成分略有提高或降低,但均与世界范围内非转基因玉米的组成成分相近,说明转基因玉米在营养成分含量上与非转基因玉米具有实质等同性,因此认为耐除草剂转基因玉米中营养成分并没有因为插入抗虫基因 *cry1Ab/Gc* 而受到影响,说明该基因的插入并没有干扰玉米的营养平衡。

相比单一性状转基因作物,复合性状转基因作物在营养成分含量上与非转基因作物可能存在差异,这可能与某些复合性状转基因作物中包含的多个基因间有协同、抑制或非关联等相互作用有关,导致相比单一性状转基因作物有不同的安全评价效果<sup>[9]</sup>。复合性状转基因作物的安全评价体系把重点放在基因间的相互作用方面,进而为后续的毒性过敏性分析、环境影响分析和营养价

值评价提供依据。下一步,本研究将继续对转基因玉米 HiIII-NGc-a 进行多点多地营养成分分析,对复合性状转基因作物和单性状亲本转基因作物的目的蛋白表达水平相比较,分析多个基因间是否发生相互作用,进而对转基因食品安全性的研究奠定基础。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Clive J. 2015 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, 2016, 36(4): 1-11.
- [ 2 ] 赫福霞, 郎志宏, 陆伟, 等. 以耐草甘膦 2mG2-epSpS 基因为选择标记的玉米转化体系的建立[J]. 生物技术通报, 2008(5): 92-97.
- [ 3 ] 袁英, 李启云, 孔祥梅, 等. 转双价抗虫基因 Bt-ptA 玉米植株的获得[J]. 中国农学通报, 2006, 22(10): 131-134.
- [ 4 ] 杨召军, 郎志宏, 张杰, 等. 转 Bt cryIAh/cry He 双价基因抗虫玉米的研究[J]. 中国农业科技导报, 2012, 14(4): 39-45.
- [ 5 ] 刘培磊, 赵永国, 李宁, 等. 转基因技术对粮食安全的影响及对策[J]. 中国农业科技导报, 2010, 12(4): 1-5.
- [ 6 ] 唐茂芝, 黄昆仑, 唐小革, 等. 外源蛋白基因对棉籽营养成分影响的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(11): 55-58.
- [ 7 ] Li X, Huang K, He X, et al. Comparison of nutritional quality between Chinese indica rice with *scK* and *cryIAc* genes and its nontransgenic counterpart[J]. Journal of Food Science, 2007, 72(6): S420.
- [ 8 ] Xin L, He X, Luo Y, et al. Comparative analysis of nutritional composition between herbicide-tolerant rice with *bar* gene and its non-transgenic counterpart[J]. Journal of Food Composition & Analysis, 2008, 21(7): 535-539.
- [ 9 ] Snell C, Bernheim A, Berge J B, et al. Assessment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: a literature review[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(3): 1134-1148.
- [ 10 ] 姜志磊, 刘德璞, 李晓辉, 等. 转基因抗虫玉米 Bt 毒蛋白的时空表达分析[J]. 吉林农业科学, 2008, 33(6): 35-37.
- [ 11 ] 朱元招, 王凤来, 尹靖东. 抗草甘膦大豆及豆粕营养成分和抗营养因子研究[J]. 营养学报, 2010(2): 178-182.
- [ 12 ] 刘晋生, 邓俊良, 牛一兵, 等. 转基因植酸酶玉米主要营养成分及其猪消化率的测定[J]. 中国饲料, 2012(14): 10-14, 18.
- [ 13 ] 李新建, 常纪亮, 吕刚, 等. 粗纤维和赖氨酸水平对生长期豫南黑猪的影响[J]. 家畜生态学报, 2013, 34(9): 38-43.
- [ 14 ] 史宏, 史关燕, 杨成元, 等. 小米的营养保健及食疗价值的探讨[J]. 杂粮作物, 2007, 27(5): 376-378.
- [ 15 ] 李文霞, 柯尊记. 维生素 B<sub>1</sub> 缺乏与老年性痴呆[J]. 生命科学, 2013, 25(2): 184-190.
- [ 16 ] 朱亚熙, 贺晓云, 马丽艳, 等. 转 G2-*aroA* 基因耐草甘膦玉米和非转基因玉米营养成分的比较分析[J]. 中国食物与营养, 2012, 18(9): 65-69.
- [ 17 ] 聂文龙. 转 *aroA* CC-M 耐草甘膦玉米和非转基因玉米营养成分的比较分析[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2016.

(责任编辑:王昱)