

文章编号:1005-3832(2022)05-0118-10

# 转基因大豆用作水产动物饲料原料的安全性研究进展

俞涛涛<sup>1,2</sup>, 张家国<sup>1,3</sup>, 张长峰<sup>1,3</sup>, 黄宝生<sup>1,3</sup>, 黄小霞<sup>1,2</sup>

(1. 山东省农产品贮运保鲜技术重点实验室, 山东 济南 250103;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

3. 国家农产品现代物流工程技术研究中心, 山东 济南 250103)

**摘要:**从转基因大豆的实质等同性研究、转基因大豆对鱼类的生长性能与饲料利用率、鱼体成分和血清免疫能力的影响、组织病理、草甘膦的残留、环境毒性和外源基因片段在机体内残留 7 个方面综述了转基因大豆用作水产动物饲料原料的安全性研究进展,提出了建立健全转基因大豆的安全性评价体系、重视转基因饲料在养殖过程中的基因漂移研究以及填补转基因大豆对亲本及子代的安全性研究空白等前瞻研究的发展趋势。

**关键词:**转基因大豆;水产动物;饲料原料;安全性

**中图分类号:**S963.71 **文献标识码:**A

## A Review: Research Progress on Safety of Genetically Modified Soybeans as Feed Materials for Animals in Aquaculture

YU Taotao<sup>1,2</sup>, ZHANG Jiaguo<sup>1,3</sup>, ZHANG Changfeng<sup>1,3</sup>, HUANG Baosheng<sup>1,3</sup>, HUANG Xiaoxia<sup>1,2</sup>

(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Storage and Transportation Technology for Agricultural Products, Jinan 250103, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. National Agricultural Products Modern Logistics Engineering Technology Research Center, Jinan 250103, China)

**Abstract:** The substantial equivalence of genetically modified soybeans, effects of genetically modified soybeans on growth performance of fish, fish feed utilization, fish body composition, histopathology, and immunotoxicity, residual and environmental toxicity of glyphosate and exogenous gene fragments in the body were review to evaluate the safety research progress of genetically modified soybeans as feed materials for animals in aquaculture. The future research trends are proposed including establishing and improving of the safety evaluation system of genetically modified soybeans for feed in aquaculture, being paid attention to the study of gene drift of genetically modified feed in the breeding process, and filling the gaps in the safety research of genetically modified soybeans on parents and offspring.

**Key words:** genetically modified soybean; animals in aquaculture; feed material; safety

转基因作物 (Genetically modified crop, GMC), 即利用基因工程技术将外源 DNA 转移并整合到植物的受体基因组, 改变其遗传性状后产生的植株及后代, 又被称为遗传修饰生物体 (Genetically modified organisms, GMOS)<sup>[1]</sup>。转基因作物的商业化种植最早始于 1996 年<sup>[2]</sup>, 截至 2018 年已有 26 个国家和地区种植转基因作物, 种植面积超  $1.90 \times 10^7 \text{ km}^2$ , 其中转基因作物大豆的种植面积为  $9.59 \times 10^6 \text{ km}^2$ <sup>[3]</sup>, 是种植面积最大的转基因作物。近年来, 中国畜牧和

水产养殖业快速发展, 对大豆的需求缺口很大, 2020 年全年大豆进口量达创纪录的  $1.00327 \times 10^8 \text{ t}$ , 比 2019 年的  $0.88513 \times 10^8 \text{ t}$  增长 13.3%, 是本土产量的 4 倍以上。同普通大豆蛋白质品质一样, 转基因大豆是良好的蛋白质来源, 目前已普遍用于水产饲料, 然而公众对转基因相关食品的争议不断, 其对水产动物的影响及食用安全性问题一直是社会食品科学问题的焦点。本文通过综述转基因大豆在水产饲料中的应用及其安全性研究进展, 可为其

收稿日期: 2021-01-02

基金项目: 农业部淡水渔业与种质资源利用重点实验室开发课题(XKQKF201901); 山东省农业重大应用技术创新项目(SD2019YY005)。

作者简介: 俞涛涛(1997-), 男, 汉族, 硕士研究生, 研究方向为营养与生理。E-mail: 18262993802@163.com

通信作者: 张家国(1964-), 男, 汉族, 二级教授。E-mail: jiaguo2088@163.com

在水产饲料中的应用和为后续研究提供参考。

## 1 转基因大豆的研究历程

转基因大豆的研究开始于 20 世纪 80 年代。1986 年美国孟山都公司从细菌中提取抗除草剂的 EPSPS (5-烯醇式丙酮酰-3-磷酸莽草酸合成酶) 基因,1988 年 Hinchey 等<sup>[4]</sup>利用农杆菌介导法将 *npt* II 基因和草甘膦抗性基因导入大豆,首次获得了抗草甘膦转基因大豆植株,标志着转基因大豆研究进入新的阶段。1994 年美国孟山都公司首次推出抗草甘膦转基因大豆,1996 年美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准在美国上市,开始商业化种植。1997 年,杜邦公司获得美国食品药品监督管理局 FDA 批准商业化种植高油酸转基因大豆。1998 年 AgrEvo 公司研制的抗草甘膦大豆被批准进行商业化生产<sup>[5]</sup>。经过 30 多年的发展,转基因大豆的研究进展迅速,目前共有 30 多种转基因大豆进入商业化种植,涉及的基因性状包括耐除草剂、抗虫、抗逆和品质改良,其中还包括了只具有单一性状的品种和具有多种性状的复合品种,应用最广的耐除草剂转基因大豆就有 14 种<sup>[6]</sup>。

## 2 转基因大豆的种类

依据用途不同,转基因大豆大致分为:提高品质、抗虫、抗逆、抗病和抗除草剂等类型。在提高大豆营养价值方面,常用  $\Delta^6$ -脂肪酸脱氢酶基因<sup>[7]</sup>、高油酸基因<sup>[8]</sup>和 Core Gene Similarity (CGS) 基因<sup>[9,10]</sup>来使得大豆中的  $\gamma$ -亚麻酸 (Linolenic acid, LA)、油酸和游离甲硫氨酸水平升高。抗虫病方面常用的基因有苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt) 杀虫晶体蛋白基因、蛋白酶抑制剂基因、淀粉酶抑制剂基因、凝集素基因和豇豆胰蛋白酶抑制剂 (*CpTI*) 基因等来提高植株的抗虫害作用<sup>[11-13]</sup>;常用潮霉素磷酸转移酶 (hygromycin phosphotransferase II, *hpt*) 基因与 *hrpZpsta* 基因来对抗大豆生产中的主要病害大豆花叶病毒 (Soybean Mosaic Virus, SMV) 和大豆疫霉根腐病 (*Phytophthora megasperma*)<sup>[14-16]</sup>。抗逆方面常用的基因有甜菜碱醛脱氢酶 (*BADH*) 基因、*TaDREB3* 基因和拟南芥 *AtMYB44* 基因等,以增强大豆的抗盐碱和抗干旱能力<sup>[17-19]</sup>。具有抗除草剂性质的大豆是目前转基因大豆中最主要的品系,其常用的抗草甘膦基因 *EPSPS* 广泛存在于原核生物、酵

母、真菌、植物和藻类中,可有效抵御草甘膦的作用。在抗除草剂大豆中应用面积最广、使用率最高型号是 Roundup Ready Soybean (RRS)。

## 3 转基因大豆的实质等同性研究

生物技术的应用提高了转基因植物的产量和商业应用性,转基因大豆作为第一个被批准用于食品生产的转基因作物,在水产饲料中的应用潜力十分巨大<sup>[20]</sup>。不过外源基因在转入作物的过程中具有随机性,外源基因的整合可能会影响作物内源基因的表达<sup>[21]</sup>,从而引起营养物质水平的变化,产生抗营养因子,甚至植物内毒素等<sup>[22]</sup>。但是,大多数研究表明,抗草甘膦大豆与普通大豆之间的多种营养物质水平基本相同,可以部分替代水产饲料中的普通大豆。

### 3.1 营养组分的实质等同性研究

最早在 1993 年,经济合作发展组织 (Organization for Economic Co-operation and Development, OECD) 提出了实质等同性的概念,即比较转基因作物与传统作物的营养组成成分等指标是否一致,若无差异则认为该转基因作物与传统作物具有实质等同性<sup>[23]</sup>。实质等同性原则有助于确定传统作物与新作物之间的相似性和潜在差异性,是评价转基因作物安全性的前提和基础。但这一原则仅是初步对转基因食品进行安全性评价,为了客观反映转基因食物与传统食物之间的差异还须全面分析以判断其安全性<sup>[24]</sup>。

有关抗草甘膦转基因大豆的实质等同性研究存在争议。一些研究者认为,抗草甘膦大豆与非转基因大豆间的营养成分上不存在显著性差异,具有实质等同性;然而,另一部分研究者观点正好相反,认为抗草甘膦转基因大豆与非转基因大豆间的营养成分存在差异,甚至有些差异显著,即不具有实质等同性。不可否认,转基因大豆的种植和应用在世界范围内均得到了很大程度的推广,但是对其安全性一直饱受质疑。评价抗草甘膦转基因大豆与非转基因大豆是否具有实质等同性,不止是营养成分,更需要关注其对环境、对动物影响是否相同,而这还需长期的研究。有关抗草甘膦转基因大豆与非转基因大豆的营养组分 (包括蛋白质及氨基酸、脂肪及脂肪酸、维生素和矿物元素) 的实质等同性研究结果见表 1。

### 3.2 抗营养因子的实质等同性研究

大豆中的抗营养因子是造成水产动物病理学变化的一个重要因素,是引发水产动物肠道炎症、脏体变化的主要原因。抗营养因子普遍存在于植物中,由植物代谢产生,是具有对动物产生抗营养作

用的一类物质。大豆中的抗营养因子包括蛋白酶抑制因子、脲酶、凝集素;植酸、寡糖、单宁、抗原蛋白、抗维生素因子、致甲状腺肿因子和生氰糖甙等<sup>[29]</sup>。目前转基因大豆与普通大豆的抗营养因子差异性研究情况见表2。

表1 抗草甘膦转基因大豆(RRS)的实质等同性研究

Tab. 1 Research on the substantial equivalence of glyphosate-resistant transgenic soybeans(RRS)

研究人员 Researcher	对比大豆品种 Soybean Variety Compared	指标 Index	结果 Result
Padgett 等 <sup>[25]</sup>	GTS(40-3-2 和 61-67-1)与 A5403	蛋白质、氨基酸 脂肪酸 矿物元素	保持相近 相近 相近
Taylor 等 <sup>[26]</sup>	GTS(40-3-2 和 61-67-1)与 A5403	蛋白质、氨基酸 脂肪	无显著差异 相同
Cromwell 等 <sup>[27]</sup>	H4994RR 与 H4994	氨基酸	保持相同
朱元招等 <sup>[28]</sup>	GTS(40-3-2)与普通大豆	氨基酸 矿物元素	保持相同 相同
叶增民等 <sup>[29]</sup>	RRS 与本土大豆	蛋白质 脂肪	基本相同 相同
Zhou 等 <sup>[30]</sup>	MON 87701、MON 89788 与 A5547	蛋白质、氨基酸 脂肪酸	无显著差异 相同
曹柏营 <sup>[31]</sup>	RRS 与普通大豆	蛋白质 脂肪酸	40 kDa 特殊蛋白质 RRS 含量较低
金红等 <sup>[32]</sup>	GST40-3-2 与普通大豆	蛋白质脂肪、脂肪酸	GST40-3-2 含量较高 GST40-3-2 含量较高
Brandao 等 <sup>[33]</sup>	MSOY 7575 RR 与 MSOY 7501	蛋白质	10 种蛋白质显著差异
Barbosa 等 <sup>[34]</sup>	MSOY 7575 RR 与 MSOY 7501	蛋白质	部分差异表达
金红等 <sup>[35]</sup>	GST40-3-2 与普通大豆	蛋白质	GST40-3-2 含量较高
谭建庄 <sup>[36]</sup>	GST40-3-2 与黑龙江大豆	蛋白质、氨基酸 脂肪、脂肪酸 矿物元素	GST40-3-2 含量较高 GST40-3-2 含量较低 含量不同
BØHn 等 <sup>[37]</sup>	RRS 与有机大豆和化学施肥大豆	蛋白质、氨基酸 脂肪酸 矿物元素	有区别 RRS 棕榈酸含量高 含量不同

注:表格中 GTS(40-3-2 和 61-67-1)、MSOY 7575 RR、H4994RR 等是抗草甘膦转基因大豆的编号; A5403、MSOY 7501 是非转基因大豆的编号,而 RRS、普通大豆等表示文献中未标明编号。下同

Note: In the table, GTS (40-3-2 and 61-67-1), MSOY 7575 RR, and H4994RR are the numbers for glyphosate-resistant genetically modified soybeans; A5403 and MSOY 7501 are numbers for non-transgenic soybeans, while RRS and ordinary soybeans indicate that the serial number is not shown in the literature. et sequentia

表2 抗草甘膦转基因大豆(RRS)的抗营养因子研究

Tab. 2 Research on antinutritional factors of glyphosate-resistant transgenic soybeans (RRS)

研究人员 Researcher	对比大豆品种 Soybean Variety Compared	指标 Index	结果 Result
Padgett 等 <sup>[25]</sup>	GTS(40-3-2 和 61-67-1)与 A5403	植酸磷	相近
朱元招等 <sup>[28]</sup>	GTS(40-3-2)与普通大豆	植酸磷,脲酶活性等	相同
Zhou 等 <sup>[30]</sup>	MON 87701 MON 89788 与 A5547	凝集素	相近
谭建庄 <sup>[34]</sup>	GST40-3-2 与黑龙江大豆	脲酶活性和蛋白溶解度	相近
曹柏营 <sup>[29]</sup>	RRS 与普通大豆	酚类物质	含量不同
金红等 <sup>[30]</sup>	GST40-3-2 与普通大豆	黄酮,总酚,酚酸	含量不同



## 4 转基因大豆在水产饲料中的应用

根据实质等同性原则,可将抗草甘膦转基因大豆作为水产用蛋白质原料。现已证明,抗草甘膦转基因大豆可替代部分鱼粉,并在鲤(*Cyprinus carpio*)<sup>[38]</sup>、大西洋鲑(*Salmo salar* L.)<sup>[39]</sup>、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[40]</sup>等养殖鱼类的配合饲料中得到应用,其不显著影响养殖品种的生长与品质。

### 4.1 转基因大豆对鱼类生长性能和饲料利用率的影响

鱼类的生长性能和饲料利用率是评价饲料养殖效果最为重要的指标。SUHARMAN 等用含有抗草甘膦大豆的饲料喂养平均体质量为 49.5 g 的尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼鱼<sup>[41]</sup>和平均体质量为 22 g 的幼鲤<sup>[42]</sup>长达 12 周后没有死亡,转基因大豆组与普通大豆组相比,增重率与特定增长率(Specific growth rate, SGR)、饲料效率(Feed efficiency, FE)、蛋白质效率以及蛋白质保留率都未见改变。LIU 等<sup>[38]</sup>用转基因大豆饲料饲养三种不同食性的鲤科鱼类,草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)、异育银鲫(*Carassius auratus auratus*)和青鱼(*Mylopharyngodon piceus*),8 周的饲养发现,转基因大豆与普通大豆组同种鱼类的 SGR 与 FE 没有明显差别。对斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)<sup>[43]</sup>、大西洋鲑<sup>[39]</sup>和虹鳟<sup>[40]</sup>等肉食性鱼类的类似研究也没有发现生长和饲料利用上的显著差异,说明抗草甘膦大豆与非转基因大豆对上述鱼类的饲喂效果一样。

### 4.2 抗草甘膦大豆对鱼体成分的影响

鱼体成分变化是评判转基因饲料对鱼类影响的重要指标之一。SUHARMAN 等<sup>[41]</sup>用抗草甘膦转基因大豆配制的饲料饲养尼罗罗非鱼 12 周后发现,尽管饲喂转基因饲料实验组全鱼的粗脂肪含量略高于饲喂非转基因饲料的对照组,但全鱼的水分和粗蛋白含量没有显著性差异。LIU 等<sup>[38]</sup>比较了鱼粉、抗草甘膦转基因大豆、非转基因大豆饲料对草鱼、异育银鲫和青鱼的饲喂效果,发现无论哪种鱼类,不同饲料处理不影响全鱼的粗蛋白、粗脂肪、灰分和水分含量。同样,饲喂抗草甘膦大豆饲料对鲤<sup>[42]</sup>、大西洋鲑<sup>[44]</sup>的鱼体成分的影响与饲喂普通大豆饲料的效果相同。

## 5 转基因大豆作为水产动物饲料原

## 料的安全性研究进展

### 5.1 转基因大豆对水产动物的病理学研究

转基因大豆对鱼类的病理生理学影响主要表现为引发肠道炎症和脏器指数变化。BAKKE 等<sup>[45]</sup>以普通大豆与鱼粉作为对照组,用含 17% 的抗草甘膦大豆饲喂大西洋鲑稚鱼三个月,发现各组鱼肠道炎性细胞因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白细胞介素 1 $\beta$ 、 $\gamma$  干扰素等基因表达量无差异。FROYSTAD<sup>[46]</sup>在研究抗草甘膦大豆对大西洋鲑组织学影响时发现,转基因大豆组中度炎症的发生率高于非转基因大豆组,但是,位于肠细胞刷状边缘的亮氨酸氨肽酶、麦芽糖酶和酸性磷酸酶活性以及主要组织相容性复合体 II+ 细胞数量均未见显著性差异。迄今的研究表明,食用转基因大豆和非转基因大豆均可导致微绒毛缺失、受损、变形、变短和变厚。

脏器系数可以间接反映动物脏器的受损情况。HEMRE 等<sup>[47]</sup>发现,摄食含 17%RRS 的饲料时,大西洋鲑的大西洋鲑脾脏系数稍高于普通大豆组,可能与白细胞活性有关,机体受外源刺激后激活并增殖白细胞。而 SANDEN 等<sup>[39]</sup>用 12.5%RRS 饲料喂养发现,RRS 组与普通大豆组大西洋鲑的相对器官重量没有显著差异,这与 SISSENER 等<sup>[48]</sup>的研究结果相同,还发现转基因大豆组的中肠系数显著低于普通大豆组。

由此可见,大豆对大西洋鲑所造成的肠道炎症与转基因无关,转基因大豆不会显著影响大西洋鲑的脏器指数。目前转基因作物对水产生物影响的研究较少,以上研究尚不能得知转基因大豆是否对水产生物产生病理学影响。目前大部分报道转基因作物对其他动物的器官发育没有影响。刘莎莎等<sup>[49]</sup>研究发现,转基因大豆对饲养 21 d 的肉仔鸡 3 个免疫器官指数和 42 d 的肉仔鸡胸腺和脾脏器官指数没有影响。Hammond 等<sup>[50]</sup>用转基因玉米饲喂小鼠 90 d 发现:转基因玉米含量为 11% 和 33% 组与普通对照组的小鼠脏器指数不存在显著性差异。Momma<sup>[51]</sup>等研究发现,转大豆球蛋白基因大米对转基因组小鼠与商品饲料组、常规饲料组小鼠的免疫器官指数、病理学症状、组织病理学等都不存在显著差异。

### 5.2 转基因大豆对水产动物血清免疫能力的影响

目前有关转基因大豆对鱼类的免疫性能研究主要集中于常规非特异性免疫分析,如全血与血清

生化指标、溶菌酶;特异性体液免疫分析,如免疫球蛋白 M。受到外界影响或环境变化使鱼体发生生理或病理变化时,鱼体液各项指标必定会出现相应变化,引起多种激素、血清底物浓度、血细胞参数或各种血清和脏器中酶活性的变化<sup>[52]</sup>。LIU 等<sup>[38]</sup>研究了普通大豆与抗草甘膦转基因大豆对草鱼、异育银鲫和青鱼的影响,发现这三种鲤科鱼类的天冬氨酸氨基转移酶活性和肝胰腺总抗氧化能力不受大豆的种类和热处理的影响。摄食含转基因大豆或非转基因大豆日粮的异育银鲫肝胰脏谷丙转氨酶活性明显高于摄食鱼粉日粮的异育银鲫,这可能是大豆对异育银鲫的肝脏损害较大,而与大豆是否为转基因无关。HEMRE 等<sup>[47]</sup>实验发现,添加 17%RRS 组大西洋鲑的血液参数、血浆营养浓度和血浆中特异性酶的水平与非转基因大豆组显著相比不差异。同样的,SANDEN 等<sup>[39]</sup>发现,添加 12.5%RRS 组大西洋鲑稚鱼的甘油三酯水平低于普通大豆组,血浆营养物浓度和酶活性没有变化,可能是抗草甘膦转基因大豆增强了大西洋鲑的能量代谢或是两种大豆的皂甙水平略有不同所致。抗草甘膦大豆对大西洋鲑的溶菌酶活性或远端肠的总免疫球蛋白 M 含量未见显著性差异<sup>[46]</sup>。

由此可见,抗草甘膦转基因大豆对草鱼、异育银鲫、青鱼和大西洋鲑的免疫毒性没有显著性差异,即使存在差异也与大豆是否为转基因无关。这与刘莎莎等对肉仔鸡及初欢欢等<sup>[53]</sup>对生长猪的研究结果相近:转基因大豆饲养 21 d 组与 42 d 组的肉仔鸡,与普通大豆对照组相比,谷丙转氨酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶活性和葡萄糖和甲状腺素含量不存在显著性差异;用含 26.5%转基因饲料饲养生长猪 35 d 后,其血清谷草转氨酶和谷丙转氨酶活性、葡萄糖、甘油三酯、总胆固醇、总蛋白、白蛋白、球蛋白、尿素氮含量与普通大豆添加组无显著差异,碱性磷酸酶活性明显高于普通大豆组。

### 5.3 草甘膦残留对水产动物的环境毒性研究

目前使用最为广泛的 RRS 大豆具有抗草甘膦特性,种植时直接喷洒大量草甘膦以达到除草的目的。虽然早在 1997 年,美国环保部对转基因大豆、大豆饲料、大豆干草中的草甘膦残留限制分别放宽为  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和  $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ <sup>[54]</sup>,但这并不代表草甘膦的毒性较低。廖艺钰等<sup>[55]</sup>的急性毒性研究发现,草甘膦对斑马鱼的 96 h  $LC_{50}$  (96 h 半数

致死浓度) 为  $0.879 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;41%草甘膦异丙铵盐水剂对草鱼、鲢和鲫的 96 h  $LC_{50}$  为  $0.2518 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.2588 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.2599 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ <sup>[56]</sup>。

肖永红等<sup>[57]</sup>研究发现,亚致死剂量  $0.79 \text{ ml} \cdot \text{L}^{-1}$  的草甘膦溶液对中华大蟾蜍 (*Bufo gargarizans*) 的蝌蚪生长、发育不利,降低蟾蜍在蝌蚪期的生理功能和环境适应度,最终影响蟾蜍的生长。张彬彬<sup>[58]</sup>为了探究转基因大豆中残留的草甘膦对鲫的影响,用上限值为  $2.56 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 5 个不同梯度的草甘膦溶液研究了鲫肝脏内膜系统和超氧化物歧化酶 (SOD) 活性。结果表明,随着草甘膦浓度的增加,鲫肝细胞内膜系统中线粒体肿胀及空泡化、内质网空泡化。这种核结构的改变预示着机体内细胞死亡或坏死;不同质量浓度的草甘膦处理均使鲫肝脏中 SOD 活性增强,且随着草甘膦浓度的升高而升高,在 96 h 时体内 SOD 不足以清除多余的氧自由基,出现抑制效应,这与范瑾煜<sup>[59]</sup>对鲫暴露于草甘膦中的影响结果相似。

综上,斑马鱼、草鱼、鲢和鲫的半数致死浓度均远低于美国农业局的标准,说明草甘膦残留就算在标准之下也不一定安全;高浓度的草甘膦残留会引起某些水产生物的毒理学变化,但目前的研究都是直接添加高浓度草甘膦溶液进行研究,普通大豆或转基因大豆中草甘膦残留对水产动物的影响却鲜有报道,因此在实际应用中转基因大豆是否会因为草甘膦残留而对养殖物种产生额外影响还不得而知,所以,探究转基因大豆饲料中草甘膦残留必须作为一个饲用安全性考虑的范畴,因此需结合先进的检测技术去研究草甘膦在鱼体内的残留量、长期投喂积累量的变化及对鱼类是否产生不利影响等。

## 6 转基因大豆在水产动物体内残留的安全性问题

中国目前只允许进口转基因大豆用于饲料加工,这些作物生产的转基因产品还面临着各种争议,公众质疑转基因食品是否具有潜在的毒性、过敏反应以及抗生素风险等<sup>[60]</sup>。美国是世界上转基因作物应用最广的国家,虽然在过去的二十多年里美国没有出现过严格意义上的有关转基因食品有害研究的报道<sup>[61]</sup>,但很多人还是十分抵触直接接触转基因产品。因此作为饲料原料的转基因大豆在养殖



动物体内的残留就成了研究内容。菌株 CP4 EPSPS 赋予对除草剂草甘膦的耐受性<sup>[61]</sup>,因此这些大豆含有由花椰菜花叶病毒 (*Cauliflower mosaic virus*, *CaMV*) 启动子组成的重组基因。该启动子调控 CP4 EPSPS 和胭脂碱合酶 (Nopaline synthase, NS) 基因的终止子,使得 *CaMV*35S 启动子片段仅能在转基因大豆中检测到。

SUHARMAN 等<sup>[41]</sup>分别给体质量 49.5 g 的尼罗罗非鱼头欵添加了 34% 和 48% 的转基因大豆等量的普通大豆饲养 12 周,用 PCR 测定鱼体肌肉中 *CaMV*35S 启动子片段的存在。结果表明,在非转基因饲料组的鱼体肌肉样品中未检测到 *CaMV*35S 启动子片段;而在第 8 周结束时,从喂食 48% 转基因饲料组的 20 尾鱼的 2 个鱼肉样品中检测到了该碎片,在第 12 周结束时,饲喂 34% 转基因饲料鱼体肌肉样本中,1/10 为阳性。序列分析验证了鱼肌肉样品中 *CaMV*35S PCR 产物的身份,表明其与 *CaMV*35S 启动子参考序列 (GenBank 登录号 V00141) 相同。改用非转基因饲料后,在原先饲喂两组转基因饲料的鱼体肌肉样品中均未检测到 *CaMV*35S 启动子片段。SUHARMAN 等<sup>[61]</sup>为了研究抗草甘膦转基因大豆的转基因片段在血液和器官中转移的可能性,又用含 48% 转基因或非转基因大豆的饲料喂养体质量为 78.0 g 的尼罗罗非鱼 21 d。在此期间,先用转基因大豆蛋白饲料喂养 12 d,再用非转基因大豆蛋白饲料喂养 9 d,以确定转移的 *CaMV*35S 启动子片段的剩余寿命。在喂食期间,每 3 d 取一次血、脾、肝、肠、肾和肌肉组织样品,提取总 DNA,进行 PCR 分析,以确定 *CaMV*35S 启动子的 108 bp 片段的存在。结果显示,在除肌肉外的所有器官样品中都检测到少量和信号微弱的 *CaMV*35S 启动子片段,而在改喂非转基因生物基质饲料 3 d 后没有检测到,证实了 *CaMV*35S 启动子片段在鱼的肌肉和器官透射率非常低。同样,CHAINARK 等<sup>[64]</sup>用转基因大豆配制的饲料饲养虹鳟 12 周 PCR 检测发现,鱼肌肉中含转基因大豆蛋白的 *CaMV*35S 启动子片段,但在改喂非转基因饲料后第 5 d 启动子片段消失。随后,测量了转基因植物和非转基因植物中含有外来 DNA 片段的降解情况,评估其对鱼类的安全性,发现这些外源基因片段在胃和肠中没有完全降解,可能通过胃肠道进入器官。说明投喂含有转基因大豆配制的饲料会在尼罗罗非鱼和虹鳟体内残留,但转

基因大豆的基因残留是暂时的,会随着机体的代谢排出体外。

## 7 展望

### 7.1 建立健全转基因大豆作为水产饲料的安全性评价体系

目前,国际上公认的转基因植物安全性评价主要包括环境和食品安全性两方面,而评价体系中的实质等同性原则存在着一定的缺陷。该原则可以作为评估转基因食物安全性的参考,但不能作为评估安全性的准则。评估转基因作物对水产动物的安全性,需考虑对水产动物生长、肉质和免疫安全性,转基因作物作为原料饲喂水产动物来的营养品质等效性。免疫安全性评价是食品安全性评价中最为有效的评价手段,是转基因食品安全评价体系中重要的组成部分。目前的研究大部分集中在对全血和血液生化指标的分析或者肠道组织病变与其他免疫器官的脏器指数分析,而鲜见其他免疫指标的研究报道。免疫安全性评价方面的欠缺需要从组织病理学观察、免疫器官指数分析、常规非特异性免疫分析、特异性体液免疫分析、细胞免疫分析、肠道黏膜免疫分析等 6 个方面着手<sup>[65]</sup>,目前在动物,特别是水产动物中,对相关毒理与病理学的研究很少且不深入,这需要大量的实验去分析与验证;评估转基因饲料饲喂的水产动物对人体的安全性即为食品安全,由转基因蛋白质的消化率和其在水产动物体内的掺入量决定,转基因蛋白质消化的不完全以及其在机体内的高渗入量会给食用这些水产动物的人们带来安全性上的担忧,即基因残留的安全隐患,而养殖体体内的残留可能会进入人体,产生未知的生理影响。不过转基因或含有外源基因片段残留的食品是否对人体有害目前尚无定论<sup>[66]</sup>。因此,建立完善的转基因大豆的安全性评价体系尤为迫切。

### 7.2 加强外源基因残留的安全性研究

测定外源基因的残留必须是评估转基因大豆对水产动物安全性的重要一环。含有基因残留的水产动物可能与野生及非转基因同属动物杂交而产生“基因漂移”,可能影响野生动物种群的遗传多样性<sup>[67]</sup>。然而,目前已有的研究仅局限于鱼体本身。在使用转基因饲料养殖水产动物的过程中,剩余饲料和水产动物产生的粪便都有可能含有转基因片段,

其对环境水体是否造成污染以及是否对周围生态物种产生影响尚未见报道。应当加强对用转基因饲料养殖水产动物水环境的检测与分析,了解转基因片段在水环境中的转移途径与有效存在时间,分析其在水环境的含量,评估基因漂移对养殖对象与周围生态环境的影响程度。基因漂移所造成的后果可能远比对养殖物种所造成影响的后果可怕,它可能会影响生态环境、破坏生态圈的完整性,造成长远的不良影响。

### 7.3 填补转基因大豆对亲本及子代的安全性研究空白

转基因作物是否会通过亲本进行代际遗传是个根本性的问题,相关研究对养殖动物和人类的影响意义重大。水产的相关研究尚属空白,但对水产养殖业的健康和可持续发展意义重大,亟须未来的研究者去填补。目前仅见 SISSENER 等<sup>[68]</sup>给斑马鱼 (*Danio rerio*) 亲本与子一代投喂添加转基因大豆饲料中,发现其肝对生长和应激影响的报道,肝脏中 RNA 总量和 SOD-1 的 mRNA 转录水平偏低。BRAKE 和 EVENSON<sup>[69]</sup>研究了抗草甘膦转基因大豆对三代小鼠睾丸发育的影响,连续三代小鼠一生中六个定期的生殖细胞数量,确定饮食在生命的任何阶段都不会对睾丸发育产生可检测的影响。DALEPRANE 等<sup>[70]</sup>测量两代大鼠的净蛋白质比率和蛋白质功效比率,研究了抗草甘膦转基因大豆和有机大豆的使用情况。虽然两组大豆大鼠的体质量比、蛋白质摄入量和品质等存在一定差异,但从亲本到子代,在同一组中没有观察到显著的体质量差异。TUDISCO 等<sup>[71]</sup>研究了用草甘膦耐受大豆喂养两代山羊 (20 只怀孕山羊在宰杀前的 60 d、30 d 和 15 d) 15 d、30 d 和 60 d 血液和乳汁中转基因 DNA 片段的存在。结果发现,乳酸脱氢酶 (LDH) 活性和乳酸脱氢酶同工酶之间的替换有显著差异。普通大豆组山羊的肝脏 (LDH1) 和肾脏 (LDH1)、肌肉 (LDH1 和 LDH2) 中的 LDH 活性增加,而在饮用转基因组山羊羊奶的幼体中,心脏 (LDH2 和 LDH3) 和肌肉 (LDH5) 中的 LDH 活性减少。组织中 LDH 水平升高表明细胞代谢增加,但血清中相应的酶活性保持不变,因此这种影响尚不清楚,作者不认为这是一个健康问题。简而言之,TUDISCO 等表明了转基因大豆可能会对新陈代谢产生一些影响,尽管尚不清楚这是否表明存在健康风险问题。

### 参考文献

- [1] KAMTHAN A, CHAUDHURI A, KAMTHAN M, *et al.* Genetically modified (GM) crops: milestones and new advances in crop improvement [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, 129(9): 1639–1655.
- [2] 朱银玲. 转 EPSPS 基因抗除草剂大豆对土壤原核微生物群落生态影响的研究[D]. 南京: 南京大学, 2015.
- [3] International service for the acquisition of agri-biotech applications China biotechnology. 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.
- [4] HINCHEE M A W, CONNOR-WARD D V, NEWELL C A, *et al.* Production of transgenic soybean plants using agrobacterium-mediated DNA transfer [J]. *Biotechnology*, 1988, 6(8): 915–922.
- [5] 余永亮, 梁慧珍, 王树峰, 等. 中国转基因大豆的研究进展及其产业化[J]. *大豆科学*, 2010, 29(1): 143–150.
- [6] 肖琴, 李建平, 刘冬梅. 转基因大豆冲击下的中国大豆产业发展对策[J]. *中国科技论坛*, 2015(6): 137–141, 153.
- [7] 宋丽雅, 盖燕, 何聪芬. 向大豆导入琉璃苣  $\Delta^6$ -脂肪酸脱氢酶基因的初步研究[J]. *大豆科学*, 2012, 31(2): 173–177.
- [8] LIU M, LI D M, WANG Z K, *et al.* Transgenic expression of ThIPK2 gene in soybean improves stress tolerance, oleic acid content and seed size[J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 2012, 111(3): 277–289.
- [9] 于洋. 组成型表达 AtDCCS 转基因大豆的获得及鉴定[D]. 北京: 中国农业科学院, 2010.
- [10] KIM W S, KRISHNAN H B. Expression of an 11 kDa methionine-rich delta-zein in transgenic soybean results in the formation of two types of novel protein bodies in transitional cells situated between the vascular tissue and storage parenchyma cells[J]. *Plant Biotechnology J*, 2004, 2(3): 199–210.
- [11] MCPHERSON R M, MACRAE T C. Evaluation of transgenic soybean exhibiting high expression of a synthetic *Bacillus thuringiensis* cry1A transgene for suppressing lepidopteran population densities and crop injury [J]. *J Econ Entomol*, 2009, 102(4): 1640–1648.
- [12] 郭东全, 杨向东, 包绍君, 等. 转 CryIA 和 CpTI 双价抗虫基因大豆的获得与稳定表达 [J]. *中国农业科学*, 2008, 41(10): 2957–2962.
- [13] 武小霞, 李静, 王志坤, 等. cryIIaI 基因转化大豆及抗虫性的初步评价 [J]. *上海交通大学学报*, 2010, 28(5): 414–419.

- [14] 刘德璞,廖林,袁鹰,等.导入外源 DNA 获得抗 SMV 大豆品系[J].大豆科学,1997,16(4):278-282.
- [15] FURUTANI N, HIDAKA S, KOSAKA Y, *et al.* Coat protein gene-mediated resistance to soybean mosaic virus in transgenic soybean[J]. *Breed Sci*, 2006, 56(2): 119-124.
- [16] 张云月,付永平,王丕武,等.转 hrpZpsta 抗病基因大豆的研究[J].西北农林科技大学学报,2011,39(9):87-91.
- [17] 宋立娟,王宏燕,李传宝,等.抗盐碱转基因大豆对根际与非根际土壤氨氧化古菌多样性的影响[J].农业环境科学学报,2011,30(10):2091-2098.
- [18] 张彬彬,刘森,高冬梅,等.转 TaDREB3 基因大豆的农艺性状研究 [J]. 东北农业大学学报,2010,41(12):6-10.
- [19] SEO J S, SOHN H B, KAEYOUNG N, *et al.* Expression of the arabidopsis AtMYB44 gene confers drought /salt-tress tolerance in transgenic soybean [J]. *Mol Breeding*, 2012, 29(3): 601-608.
- [20] 马启彬,卢翔,杨策,等.转基因大豆及其安全性评价研究进展[J].安徽农业科学,2020,48(16):20-24,51.
- [21] CELLINI F, CHESSON A, COLQUHOUN I, *et al.* Unintended effects and their detection in genetically modified crops [J]. *Food & Chemical Toxicology*, 2004, 42(7): 1089-1125.
- [22] 周则卫,王德芝,沈秀,等.用 BDI-GS 体系综合评价进口转基因大豆的功效与安全[J].大豆科学,2012,31(5):822-826.
- [23] OECD. Safety Evaluation of Foods Derived by Modern Biotechnology [Z]. Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development, 1993.
- [24] Safety Assessment of Roundup Ready Soybean Event 40-3-2 [EB/OL]. [http://www.monsanto.com/monsanto/about\\_us/monsanto\\_pledge/transparency/pss\\_roundup-soybean.pdf](http://www.monsanto.com/monsanto/about_us/monsanto_pledge/transparency/pss_roundup-soybean.pdf).
- [25] PADGETTE S R, TAYLOR N B, NIDA D L, *et al.* The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans [J]. *Journal of Nutrition*, 1996, 126:702-716.
- [26] TAYLOR N B, FUCHS R L, MAC DONALD J, *et al.* Compositional analysis of glyphosate-tolerant soybeans treated with glyphosate [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1999, 47:4496-4473.
- [27] CROMWELL G L, LINDEMANN M D, RANDOLPH J H, *et al.* Soybean meal from roundup ready or conventional soybeans in diets for growing-finishing swine [J]. *Journal of Animal Science*, 2002, 80(3):708-715.
- [28] 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,2010,32(2):178-182.
- [29] 叶增民,潘婕.转基因大豆及其制品的安全性研究分析[J].农产品加工·创新版,2009(7):44-46.
- [30] ZHOU J, BERMAN, KRISTINA H, BREEZE MATTHEW L, *et al.* Compositional variability in conventional and glyphosate-tolerant soybean (glycine max L.) varieties grown in different regions in Brazil [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59(59):11652-11656.
- [31] 曹柏营.转基因大豆酚类物质、脂肪酸和蛋白质组成的研究[D].广州:暨南大学,2006.
- [32] 金红,孙琪,张斌,等.利用蛋白质 SDS-PAGE 电泳方法检测转基因大豆的初步研究[J].食品研究与开发,2010(5):156-158,164.
- [33] BANDAO A R, BARBOSA H S, ARRUDA M A Z. Image analysis of two-dimensional gel electrophoresis for comparative proteomics of transgenic and non-transgenic soybean seeds [J]. *J roteomics*, 2010, 73(8):1433-1440.
- [34] BARBOSA H S, ARRUDA S C, AZEVEDO R A, *et al.* New insights on proteomics of transgenic soybean seeds: evaluation of diferential expressions of enzymes and proteins[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 402(1):299-314.
- [35] 金红,张斌,李鹏宇,等.转基因与非转基因大豆营养及次生物质的比较[J].食品研究与开发,2011,32(5):140-143.
- [36] 谭建庄.抗草甘膦转基因豆粕对肉仔鸡的饲用安全性评定[D].北京:中国农业科学院,2011.
- [37] BØHN T, CUHRA M, TRAAVIK T, *et al.* Compositional differences in soybean s on the market: glyphosate accumulates in roundup ready GM soybeans [J]. *Food Chem*, 2014, 153(3):207-215.
- [38] LIU H, LIU X, HAN D, *et al.* Effects of genetically modified and non-genetically modified soybeans with different heat treatments on growth and health of Cyprinidae species with different feeding habits[J]. *Aquaculture Research*, 2019, 50(2):599-610.
- [39] SANDEN M, KROGDAHL Å, BAKKE A M, *et al.* Growth performance and organ development in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. parr fed genetically modified (GM) soybean and maize [J]. *Aquaculture Nutrition*, 2010, 12(1):1-14.
- [40] BROWN P B, WILSON K A, JONKER Y, *et al.* Glyphosate tolerant canola meal is equivalent to the parental line in diets fed to rainbow trout [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(15):4268-4272.
- [41] SUHARMAN I, SATOH S, HAGA Y, *et al.* Utilization of



- genetically modified soybean meal in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* diets [J]. Fisheries Science, 2009, 75 (4):967-973.
- [42] SUHARMAN I, SATOH S, HAGA Y, *et al.* Suitability of genetically modified soybean meal in a dietary ingredient for common carp *Cyprinus carpio* [J]. Fisheries Science, 2010, 76(1):111-117.
- [43] HAMMOND B G, VICINI J L, HARTNELL G F, *et al.* The feeding value of soybeans fed to rats, chickens, catfish and dairy cattle is not altered by genetic incorporation of glyphosate tolerance [J]. Journal of Nutrition, 1996, 126 (3):717-727.
- [44] SANDEN M, BRUCE I J, RAHMAN M A, *et al.* The fate of transgenic sequences presents in genetically modified plant products in fish feed, investigating the survival of GM soybean DNA fragments during feeding trials in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. [J]. Aquaculture, 2004, 237 (1-4):391-405.
- [45] BAKKE A M, KOPPANG E O, GUNNES G, *et al.* Histological, digestive, metabolic, hormonal and some immune factor responses in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. fed genetically modified soybeans [J]. Journal of Fish Diseases, 2010, 30(2):65-79.
- [46] FRØYSTAD M K, LILLEENG E, BAKKE A M, *et al.* Gene expression in distal intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed genetically modified soybean meal [J]. Aquaculture Nutrition, 2008, 14(3):204-214.
- [47] HEMRE G, SANDEN M, BAKKE A M, *et al.* Growth, feed utilization and health of Atlantic salmon *Salmo salar* L. fed genetically modified compared to non modified commercial hybrid soybeans [J]. Aquaculture Nutrition, 2005, 11(3):157-167.
- [48] SISSENER N H, SANDEN M, BAKKE A M, *et al.* A long term trial with Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed genetically modified soy; focusing general health and performance before, during and after the parr-smolt transformation-ScienceDirect [J]. Aquaculture, 2009, 294 (1-2): 108-117.
- [49] 刘莎莎,谭建庄,孙哲,等.不同水平抗草甘膦转基因豆粕日粮对AA肉仔鸡免疫功能的影响[J].中国畜牧杂志,2011,47(13):41-46.
- [50] HAMMOND B G, DUDEK R, LEMEN J K, *et al.* Results of a 90-day safety assurance study with rats fed grain from corn borer-protected corn [J]. Food and Chemical Toxicology, 2006, 44(7):1092-1099.
- [51] MOMMA K, HASHIMOTO W, YOON H J, *et al.* Safety assessment of rice genetically modified with soybean glycinin by feeding studies on rats [J]. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 2000, 64 (9): 1881-1886.
- [52] SOIVIO A, NIKINMAA M. The swelling of erythrocytes in relation to the oxygen affinity of the blood of the rainbow trout, *Salmo gairdneri* [M]. Pickering Academic Press, London, 1981: 103-109.
- [53] 初欢欢,司倩倩,徐玉,等.转基因豆粕对生长猪免疫机能、小肠消化酶活性和血清生化指标的影响[J].青岛农业大学学报:自然科学版,2016,33(2):119-123.
- [54] 杨明升,汪茹群,袁玉伟,等.从大豆草甘膦残留限量看我国大豆质量安全标准体系和产业安全[J].农产品质量与安全,2011(3):14-16.
- [55] 廖艺钰,惠吕佳,严吉祥,等.草甘膦农药对斑马鱼的急性毒性和慢性毒性研究[J].广州化工,2020,48 (21):66-68.
- [56] 傅建伟,史梦竹,李建宇,等.草甘膦对草鱼、鲢鱼和鲫鱼的毒性[J].生物安全学报,2013,22(2):119-122.
- [57] 肖永红,廖永强,周昌旭,等.除草剂草甘膦对中华大蟾蜍的慢性毒性[J].四川动物,2007,26(2):430-433.
- [58] 张彬彬.草甘膦对鲫鱼肝脏内膜系统和超氧化物歧化酶的影响[J].湖北农业科学,2010,49(7):1681-1683.
- [59] 范瑾煜.水环境中低浓度草甘膦及制剂对鲫鱼的毒性效应研究[D].南京:南京大学,2013.
- [60] 黄洁虹.转基因食品的安全性浅谈[J].现代食品,2018 (4):66-69.
- [61] 夏川.转基因技术应用与农业发展[J].新农业,2018 (21):55-56.
- [62] PADGETTE S R, KOLACZ K H, DELANNAY X, *et al.* Development, identification, and characterization of a glyphosate-yolerant soybean line [J]. Crop Science, 1995, 35(5):1451-1461.
- [63] SUHARMAN INDRA, SHUICHI SATOH, YUTAKA HAGA, *et al.* Detection of transgenic and endogenous plant DNA in blood and organs of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fed a diet formulated with genetically modified soybean meal [J]. AACL Bioflux, 2015, 8(5): 714-722.
- [64] CHAINARK P, SATOH S, HIRONO I, *et al.* Availability of genetically modified feed ingredient: investigations of ingested foreign DNA in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. Fisheries Science, 2008, 74(2):380-390.
- [65] 齐丽娟,李宁.免疫毒理学的评价方法及其研究进展[J].国外医学:卫生学分册,2008,35(3):174-180.
- [66] 余舒斐.转基因食品安全问题的认识与管理[J].现代

- 食品, 2018(21):73-75.
- [67] 王昕阳. 利用转基因大豆生产水产饲料的安全隐患[J]. 黑龙江水产, 2010, 139(5):44-45.
- [68] SISSENER N H, JOHANNESSEN L E, HEVROY M E, *et al.* Zebrafish (*Danio rerio*) as a model for investigating the safety of GM feed ingredients (soya and maize); performance, stress response and uptake of dietary DNA sequences [J]. British Journal of Nutrition, 2010, 103(01):3-15.
- [69] BRAKE D G, EVENSON D P. A generational study of glyphosate-tolerant soybeans on mouse fetal, postnatal, pubertal and adult testicular development [J]. Food & Chemical Toxicology an International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2004, 42(1):29-36.
- [70] BELTRAME D J, TOMAZ P J, TELES B G. Evaluation of protein quality from genetically modified and organic soybean in two consecutive generations of wistar rats [J]. Brazilian Archives of Biology and Technology, 2009, 52(4): (841-847).
- [77] TUDISCO R, MASTELLONE V, CUTRIGNELLI M I, *et al.* Fate of transgenic DNA and evaluation of metabolic effects in goats fed genetically modified soybean and in their offsprings[J]. Animal, 2010, 4(10):1662-1671.

(上接第 105 页)

### 参 考 文 献

- [1] 黄荣静. 石山口水库浮游生物群落结构及水环境分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2013.
- [2] 林海, 蔡怡清, 李冰, 等. 北京市奶水河底泥微生物群落结构特征[J]. 生态学报, 2018, 39(20):7592-7601.
- [3] 张旭. 淡水水体底泥微生物群落特征及微生物指标评价研究[D]. 上海: 上海大学, 2016.
- [4] 王佳, 彭剑峰, 宋永会, 等. 浑河底泥微生物群落季节性变化特征[J]. 环境科学研究, 2016, 29(2):202-210.
- [5] 陈重军, 张海芹, 汪瑶琪, 等. 基于高通量测序的 ABR 厌氧氨氧化反应器各隔室细菌群落特征分析[J]. 环境科学, 2016, 37(7):2652-2658.
- [6] 黄勇. 基于高通量测序的微生物基因组学研究[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2013.
- [7] 程莹寅, 吴山功, 郑英珍, 等. 主养草鱼池塘底泥微生物群落多样性研究[J]. 淡水渔业, 2011, 41(6):43-49.
- [8] 刘强, 赵本宣, 李汝伟, 等. 舟山群岛不同功能区划海域细菌群落结构分析[J]. 微生物学报, 2018, 58(2):247-263.
- [9] 但言, 沈子伟, 余凤琴, 等. 嘉陵江合川段秋季微生物多样性研究[J]. 淡水渔业, 2019, 49(1):5-10.
- [10] 高雨飞, 欧阳克蕙, 瞿明仁, 等. 利用 MiSeq 测序技术分析锦江牛瘤胃细菌多样性[J]. 动物营养学报, 2016, 28(1):244-248.
- [11] 李林春, 郭旭升, 冯亚玲, 等. 石山口水库富营养化演化研究[J]. 水利渔业, 2007(2):80-81.
- [12] 李林春. 南湾水库富营养化现状与养鱼调控的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.
- [13] 谷孝鸿, 刘桂英. 滤食性鲢鳙鱼对池塘浮游生物的影响[J]. 农村生态环境, 1996(1):6-10, 41.