

论著

转 *GmDREB3* 抗旱基因小麦大鼠一代生殖发育毒性研究田洁¹,柯翔鸿¹,田梦醒¹,袁媛¹,杨文祥¹,唐晓芥¹,卓勤²,杨晓光²,刘家发¹,樊柏林¹

(1.湖北省疾病预防控制中心 应用毒理湖北省重点实验室,湖北 武汉 430079;

2.中国疾病预防控制中心营养与健康所,北京 100050)

摘要:目的 研究转 *GmDREB3* 抗旱基因小麦对大鼠生殖发育的影响。方法 无特定病原体(SPF级)Wistar大鼠随机分为基础饲料组、亲本对照组、转基因组,每组60只,雌雄各半,分别给予基础饲料、亲本对照饲料和转基因饲料,13周后组内雌雄大鼠交配产生F1代仔鼠,分析指标有:F0代和F1代大鼠的毒性表现;F0代大鼠的体质量、进食量、食物利用率;F0代雌鼠繁殖指数和性激素水平(促黄体生成素释放激素、卵泡刺激素、雌二醇);F0代雌雄大鼠脏器系数、肝脑比、脾脑比及生殖器官病理;F1代仔鼠体质量、身长、尾长、出生后21天神经病理(大脑、小脑和脑干)和出生后56天雌鼠免疫学指标(分泌性免疫球蛋白A、免疫球蛋白E、溶菌酶、二胺氧化酶)。结果 与亲本对照组比较,F0代雄鼠脏器系数降低($P<0.01$)、脾脏系数升高($P<0.05$)、脾脑比升高($P<0.01$),均差异有统计学意义;F1代仔鼠出生后第0天、第4天、第7天、第21天的尾长偏短,差异有统计学意义($P<0.05$),其他指标均差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 转 *GmDREB3* 抗旱基因小麦对大鼠生殖发育无毒性作用。

关键词:转基因小麦;大鼠;生殖发育毒性

中图分类号:R155 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2019)04-0313-07

DOI:10.13590/j.cjfh.2019.04.003

Study on one-generation reproductive development toxicity of *GmDREB3* gene modified wheat in Wistar rats

TIAN Jie¹, KE Xianghong¹, TIAN Mengxing¹, YUAN Yuan¹, YANG Wenxiang¹,
TANG Xiaoqiao¹, ZHUO Qin², YANG Xiaoguang², LIU Jiafa¹, FAN Bolin¹

(1. Hubei Provincial Key Laboratory for Applied Toxicology, Hubei Center for Disease Control and Prevention, Hubei Wuhan 430079, China; 2. National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective To evaluate reproduction toxicity of *GmDREB3* gene modified wheat in Wistar rats. **Methods** One hundred and eighty specific pathogen free healthy Wistar rats were randomly divided into basic food control group, non-Gm wheat group and Gm wheat group, with 30 male and 30 female in each group, fed with AIN 93 diet, non-Gm wheat and Gm wheat, respectively. After 13 weeks, the rats mated with the same group and produced F1 baby rats. The following indexes were analyzed: the toxic manifestations of the F0 and F1, body weight, food utilization ratio, female hormone level, pathological changes of reproductive organ, viscera coefficient, the ratio of liver and brain, the ratio of spleen and brain, the reproduction indexes of F0. Body weight, body length, tail length, pathological changes of nerve on post natal day 21 (PND21) and immunological index on post natal day 56 (PND56), including lysozyme (LYS), diamine oxidase (DAO), secretory immunoglobulin A (sIgA) and immunoglobulin E (IgE), were examined in F1 female rats. **Results** Compared with non-Gm groups, the liver coefficient decreased ($P<0.01$), spleen coefficient increased ($P<0.05$) and the ratio of spleen and brain increased ($P<0.01$) in F0 male rats, tail length of F1 rats in Gm wheat group were decreased ($P<0.05$) on PND0, PND4, PND7 and PND21. The other indexes in Gm wheat group rats had no obviously difference. **Conclusion** *GmDREB3* gene modified wheat has no reproductive development toxicity in rats.

Key words: Transgenic wheat; rats; reproductive development toxicity

收稿日期:2019-07-03

基金项目:转基因生物新品种培育重大专项(2016ZX08011005、2014ZX08011005)

作者简介:田洁 女 副主任医师 研究方向为食品药品安全性评价和功能 E-mail:1172433902@qq.com

通信作者:樊柏林 男 主任医师 研究方向为营养与食品卫生 E-mail:vandolin@163.com

1983年,ZAMBRYSKI等^[1]在利用天然细菌载体根癌农杆菌首次获得转基因植株烟草,从此世界内转基因作物的种植面积在不断扩大,转基因作物品种也在不断增多,主要包括大豆、玉米、棉花、油菜、水稻、南瓜、马铃薯、番茄、甜瓜、甜菜、甜椒、番木瓜、烟草、苜蓿、亚麻、菊苣等。外源基因的转入可提高植物抗干旱、抗虫害、抗病毒、抗除

草剂等能力。其中 *DREB* 转录因子是抗逆基因克隆和抗性分子育种的优良基因,在植物中转入 *DREB* 基因 (drought response element binding protein) 类转录因子基因在植物抵抗干旱、高盐、冷热等非生物胁迫通路上起到很重要的作用^[2-3]。转 *GmDREB3* 抗旱基因小麦 (27-4) 是以济麦 22 品系作为受体转入 *GmDREB3* 基因 (来源于大豆品种铁丰 8 号), 获得了抗旱性状的转基因植物, 该品种的转基因小麦拓宽了原品种小麦的种植范围, 提高了种植产量, 但该转基因小麦在大面积推广种植及食用前, 仍必须按照科学基础、实质等同和个案原则接受转基因食品的安全性评估^[4]。本研究对该新品种的改良小麦进行一代生殖发育毒性评价, 为其后期的投入市场进行饲养和食用安全性提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

转 *GmDREB3* 抗旱基因小麦粉和亲本小麦粉由中国农业科学院作物科学研究所提供。

1.1.2 主要仪器与试剂

PL2001-L 电子天平、PL203 电子天平、Multiskan GO 1510 型酶标仪 (芬兰 Thermo Fisher)、HM340E 轮转式病理切片机 (美国 Thermo)、BX41-32H02 生物显微镜 (日本 Olympus)。

大鼠促黄体生成素释放激素 (LHRH) 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒、大鼠卵泡刺激素 (FSH) ELISA 试剂盒、大鼠雌二醇 (E2) ELISA 试剂盒、大鼠分泌性免疫球蛋白 A (sIgA) ELISA 试剂盒、大鼠二胺氧化酶 (DAO) ELISA 试剂盒、大鼠免疫球蛋白 E (IgE) ELISA 试剂盒均购自伊莱瑞特生物科技有限公司; 大鼠溶菌酶 (LYS) ELISA 试剂盒 (上海酶联生物科技有限公司)。

1.1.3 实验动物

无特定病原体 (SPF 级) Wistar 大鼠 180 只, 由湖北省实验动物研究中心提供, 实验动物生产许可证号为 SCXK (鄂) 2008-0005, 实验动物使用许可证号为 SYXK (鄂) 2008-0014。大鼠饲养室的温度为 20~26℃, 湿度为 40%~70%。

1.2 方法

1.2.1 剂量分组^[5-6]

180 只大鼠, 雌雄各 90 只, 随机分为 3 组, 基础饲料组、亲本对照组和转基因组, 三组大鼠在整个试验期间分别给予基础饲料、亲本对照饲料和转基因饲料。

1.2.2 小麦粉样品和成品饲料营养成分检测

对转 *GmDREB3* 抗旱基因小麦粉和亲本小麦粉取双份样品进行营养成分的检测, 为其掺入饲料中的配方提供依据。

1.2.3 成品饲料营养成分检测

按营养素含量均衡原则^[7] 配成转基因组、亲本对照组成品饲料。转基因组饲料中转基因小麦成分占 69.55%, 亲本对照组饲料中亲本小麦占 69.55%。配制好的成品饲料送检国家饲料质量监督检验中心 (武汉), 进行营养成分检测。

1.2.4 转基因成分检测

饲料制粒前, 对转基因组、亲本对照组的饲料混合物分别抽样, 采用聚合酶链式反应 (PCR) 方法检测各组样品中 *GmDREB3* 基因的成分。检测引物 G3-F: 5'-AGATCGCCGCCGACAATTC-3' 和 G3-R: 5'-TAGATGACACCGCGCGCA-3'。PCR 反应体系: 10 μl Bulk 2×Taq PCR StarMix with loading Dye, 0.5 μl 10 μmol/L 左右引物和 30 ng DNA 模板, 补加双蒸水至 20 μl。PCR 反应程序为 94℃ 预变性 10 min; 94℃ 变性 30 s, 57℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 34 个循环; 72℃ 延伸 10 min。

1.2.5 动物试验及检测指标

本研究参考了 GB 15193.25—2014《食品安全国家标准 生殖发育毒性试验》和 OECD TG 416 的方法进行动物生殖及相关发育指标的检测^[8-9]。F0 代各组动物喂饲受试物 13 周后, 组内雌雄动物 1:1 合笼交配, 产生 F1 代, 雌鼠分娩后第 4 天, 淘汰多余 F1 代仔鼠调整至 8 只一窝, 雌雄各半。检测 F0 代大鼠生长期 (1~13 周)、孕期 (14~16 周)、哺乳期 (17~19 周) 体质量和进食量, 雌鼠的繁殖指标, 断乳后雌鼠的血清中激素水平; F1 代仔鼠断乳后, 处死 F0 代雌雄大鼠, 进行生殖器官的病理检测。检测 F1 代仔鼠出生第 0 天、第 4 天、第 7 天、第 14 天、第 21 天的身长和尾长, 出生第 4 天、第 7 天、第 14 天、第 21 天的体质量; F1 代大鼠出生后 21 天 (PND21), 每组随机选取 20 只大鼠 (雌雄各半) 处死后, 取脑组织进行神经病理 (大脑、小脑和脑干病理) 检测; F1 代大鼠出生后 56 天 (PND56), 每组随机选取 10 只雌性大鼠采血, 分离血清, 进行免疫学指标 (IgE、LYS、DAO) 检测; 收集肠液, 检测肠液中的 sIgA。F0 代雌鼠的激素水平和 F1 代雌鼠的免疫学指标的检测严格按照试剂盒推荐方法进行。

1.3 统计学分析

计量资料 (如体质量、进食量、脏器重量、脏器系数、身长、尾长等) 采用 *t* 检验、计数资料 (如受孕率、妊娠率、存活率等) 采用 χ^2 检验进行统计分析,

$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组饲料营养成分检测结果

饲料中碳水化合物含量最高, 达到 53% ~ 56%, 其次蛋白质含量在 20% 左右, 脂肪含量则在 4% ~ 8%, 粗纤维含量在 2% ~ 4%。三组饲料中的主要营养成分含量基本一致, 并且符合 AIN-93 中生长期大鼠饲料的要求^[7], 见表 1。

表 1 各组饲料中营养成分含量检测结果

Table 1 Nutrition component of rats foods

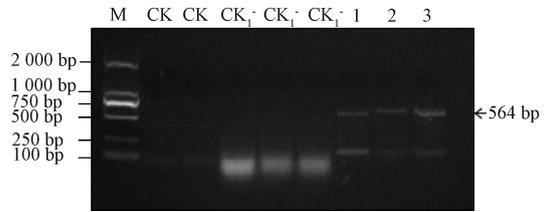
营养成分含量	基础对照组	亲本对照组	转基因组
水分/%	8.4	6.5	6.5
灰分/(g/100 g)	7.0	7.4	8.5
脂肪/(g/100 g)	4.29	7.62	6.84
碳水化合物/(g/100 g)	55.98	55.45	53.82
粗纤维/(g/100 g)	3.44	2.83	3.49
蛋白质/(g/100 g)	20.89	20.20	20.85
钙/(g/100 g)	1.19	1.49	1.49
磷/(g/100 g)	0.78	0.98	1.01
铁/(mg/kg)	466	226	230
铜/(mg/kg)	44.9	32.2	31.2
锰/(mg/kg)	168	127	130
锌/(mg/kg)	160	132	133
维生素 A/(IU/kg)	1.36	1.18	1.07
维生素 E/(mg/kg)	142.00	84.70	114.00
维生素 B ₂ /(mg/kg)	13.11	12.20	13.60
总能量/kJ	1 445.5	1 550.6	1 504.9

2.2 饲料中转基因成分检测结果

转基因饲料 DNA 中扩增出 *GmDREB3* 基因 564 bp 特异性条带(1~3 泳道), 而亲本对照饲料和基础饲料中未扩增出相应条带, PCR 结果见图 1。

2.3 临床观察结果

整个试验期间, F0 代和 F1 代大鼠均未发现健



注: M: DNA marker; CK: 基础饲料; CK₁⁻: 亲本对照饲料;

1~3: 转基因饲料

图 1 转 *GmDREB3* 抗旱基因小麦动物试验饲料 PCR 检测结果

Figure 1 PCR product of three group foods

康状况不良、行为改变、毒性反应及死亡等情况, 也未发现分娩困难或延迟等情况。

2.4 F0 代体质量和进食量结果

与亲本对照组比较, 生长发育期 F0 代转基因组雌鼠体质量在 10、12、13 周增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其他时间点各组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 转基因组雌鼠受孕期间体质量变化与亲本对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见图 2、表 2。F0 代转基因组大鼠生长发育期的进食量, F0 代转基因组雌性大鼠妊娠期、哺乳期每日进食量与亲本对照组比较均差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 进食量结果见图 3~4。

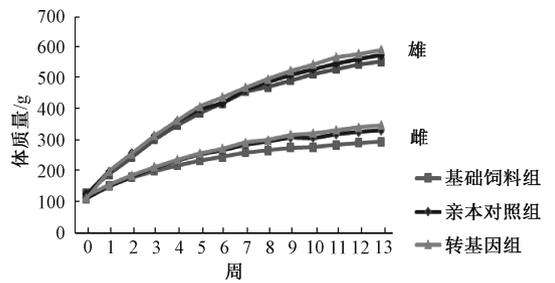


图 2 F0 代大鼠生长发育期间体质量

Figure 2 F0 body weight during growth and development

表 2 F0 代雌鼠怀孕期间体质量变化情况 ($\bar{x} \pm s, n = 30, g$)

Table 2 Body weight of F0 female mice during pregnancy

组别	受孕期间体质量				
	0 d	7 d	14 d	21 d	总增重
基础饲料组	297.1 ± 25.3	325.0 ± 29.0	361.3 ± 30.0	479.1 ± 35.1	182.6 ± 19.1
亲本对照组	336.6 ± 28.1	369.1 ± 30.4	405.9 ± 35.6	524.5 ± 53.7	194.2 ± 35.9
转基因组	362.7 ± 24.6	385.8 ± 27.6*	419.7 ± 30.5*	541.9 ± 44.6*	187.0 ± 24.8

注: * 表示与基础饲料组比较 $P < 0.05$

2.5 F0 代脏器系数、肝脑比及脾脑比结果

与亲本对照组比较, 转基因组雄鼠肝脏系数降低 ($P < 0.01$), 脾脏系数升高 ($P < 0.05$), 脾脑比升高 ($P < 0.01$), 均差异有统计学意义; 转基因组雌鼠的各个脏器系数均差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 结果见表 3。

2.6 F0 代大鼠生殖器官及 F1 代仔鼠 PND21 神经病理指标

F0 代雌鼠卵巢中可见不同发育阶段的卵泡及

黄体, 子宫结构清楚; 雄鼠睾丸曲细精管、直细精管、睾丸网结构清楚, 曲细精管内可见不同发育阶段的生精细胞分层排列, 附睾管结构清楚, 腔内有多量成熟精子, 三组均未见明显病理改变。

F1 代 PND21 仔鼠大脑组织有明显的灰质和白质两部分, 灰质内未见血管袖套现象及胶质小结; 小脑可见明显的分子层、浦肯野细胞层及颗粒层, 未见炎性细胞浸润及胶质细胞增生等病理改变;

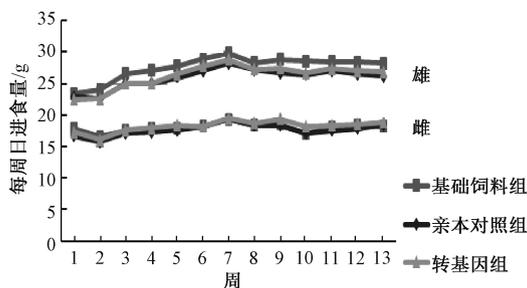


图3 F0代大鼠生长发育期间每周日进食量
Figure 3 Daily food intake of F0 rats during growth and development

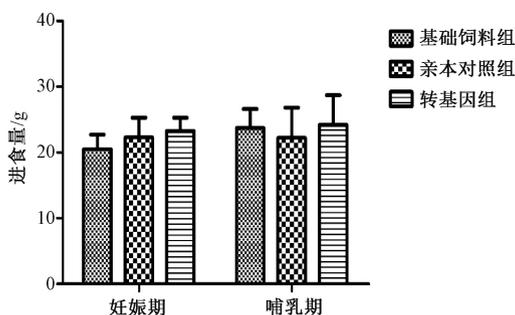


图4 F0代雌鼠妊娠期和哺乳期每日进食量
Figure 4 Daily food intake of F0 female rats during pregnancy and lactation

表3 F0代雌雄鼠脏器系数、肝脑比及脾脑比情况 ($\bar{x} \pm s, n = 30$)

Table 3 Viscera coefficient and ratio of F0 rats

脏器	基础饲料组		亲本对照组		转基因组	
	雌	雄	雌	雄	雌	雄
心/%	0.33±0.03	0.25±0.03	0.32±0.04	0.24±0.05	0.32±0.05	0.24±0.04
肝/%	4.03±0.50	3.05±0.48	4.03±0.53	3.05±0.37	3.97±0.48	2.76±0.43 ^{*##}
脾/%	0.24±0.03	0.19±0.05	0.23±0.04	0.18±0.03	0.23±0.04	0.20±0.04 [#]
双肾/%	0.73±0.11	0.63±0.10	0.69±0.09	0.59±0.07	0.69±0.08	0.58±0.07 [*]
脑/%	0.59±0.05	0.36±0.05	0.52±0.05 [*]	0.34±0.04	0.51±0.04 [*]	0.33±0.04 [*]
子宫/%	0.20±0.08	—	0.18±0.05	—	0.19±0.08	—
卵巢/%	0.08±0.03	—	0.07±0.02	—	0.07±0.02	—
睾丸/%	—	0.61±0.09	—	0.58±0.14	—	0.62±0.11
附睾/%	—	0.24±0.05	—	0.22±0.03	—	0.23±0.03
前列腺/%	—	0.22±0.07	—	0.23±0.06	—	0.24±0.06
肝脑比	6.86±1.19	8.62±1.70	7.76±1.08 ^{**}	9.10±1.81	7.92±1.25 ^{**}	8.49±1.61
脾脑比	0.40±0.06	0.53±0.16	0.44±0.09	0.53±0.04	0.46±0.07 ^{**}	0.62±0.15 ^{*##}

注：*表示与基础饲料组比较 $P < 0.05$ ；**表示与基础饲料组比较 $P < 0.01$ ；#表示与亲本对照组比较 $P < 0.05$ ；##表示与亲本对照组比较 $P < 0.01$ ；—为无此项

脑干可见明显灰质、白质和网状结构，神经纤维及神经细胞形态正常。三组均未见明显异常，见图5。

2.7 雌鼠繁殖指数和性激素指标

与亲本对照组比较，转基因组雌鼠受孕率、妊娠率、妊娠天数和性激素水平 (FSH、LHRH、E2) 均差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，结果见表4。

2.8 仔鼠生长发育情况

与亲本对照组比较，转基因组 F1 代仔鼠出生活仔率、4 d 存活率、哺育存活率、雌雄性别比、每窝平均仔鼠数差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，结果见表5。与亲本对照组比较，转基因组仔鼠出生后体质量增加，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，但到 PND21 体质量无差异；转基因组第 0 天、第 4 天、第 7 天的身长减少，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，但到 PND21 无差异；转基因组第 0 天、第 4 天、第 7 天、第 21 天的尾长偏短，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)，但差异小于 10%，结果见表6、图6。

2.9 F1代雌鼠 PND56 免疫学指标

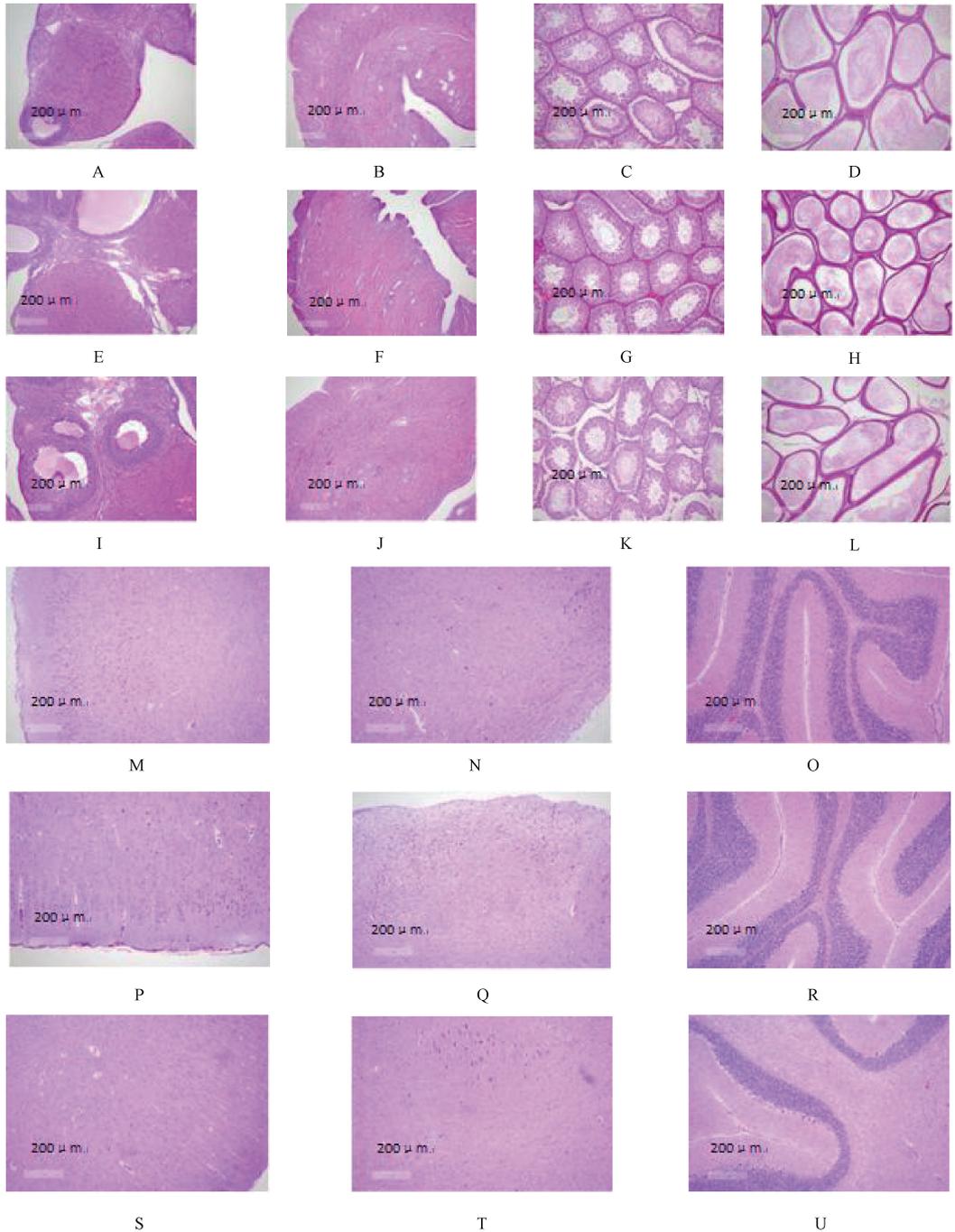
F1 代雌鼠的肠道冲洗液中 sIgA、LYS、DAO 和 IgE 的含量，三组之间差异无统计学意义 ($P >$

0.05)，结果见表7。

3 讨论

转基因食品是通过基因工程技术将一种或几种外源性基因转移到某种特定的生物体中并使其有效地表达出相应的产物 (多肽或蛋白质)，此过程叫转基因。以转基因生物为原料加工生产的食品就是转基因食品。转基因食品的安全问题主要集中在转基因食品的毒性问题：产生大量如蛋白质抑制剂、溶血栓、神经毒素等的毒性物质和营养因子，插入特定的基因片断所表达特定的蛋白导致食品过敏性，与目的基因一起转入的抗生素标记基因引起的对抗生素的抗性，食物的营养价值下降或造成体内营养素紊乱^[10]。

小麦是重要的农作物，也是中国乃至全世界种植面积最大的农作物，对于小麦优质高产的研究主要集中在抗病、抗虫、抗旱涝、抗盐碱、抗除草剂等，其中干旱是制约小麦产量的最大因素，植物抗旱性是由多基因控制的复杂性状，常规育种难度大、周期较长，但转基因技术改良品种克服了传统培育的缺点^[11]。



注:A~D 分别为转基因雌鼠卵巢、雌鼠子宫、雄鼠附睾、雄鼠睾丸;E~H 分别为亲本对照雌鼠卵巢、雌鼠子宫、雄鼠附睾、雄鼠睾丸;I~L 分别为基础饲料组雌鼠卵巢、雌鼠子宫、雄鼠附睾、雄鼠睾丸;M~O 分别为转基因仔鼠的大脑、脑干、小脑;P~R 分别为亲本对照组仔鼠的大脑、脑干、小脑;S~U 分别为基础饲料组仔鼠的大脑、脑干、小脑

图 5 F0 代大鼠生殖器官及 F1 代 PND21 仔鼠神经病理(100×)

Figure 5 Pathological result of F0 reproductive organ and F1 brain(100×)

表 4 F0 代雌鼠繁殖指数和血清性激素水平

Table 4 Reproduction index and female hormone level of F0 rats

组别	受孕率/% (n=30)	妊娠率/% (n=30)	妊娠天数/d (n=30)	LHRH/(mIU/ml) (n=15)	FSH/(ng/ml) (n=15)	E2/(pg/ml) (n=15)
基础饲料组	93.3	89.3	22.2±0.4	105.01±8.26	35.25±8.95	1 245.24±205.37
亲本对照组	93.3	100.0	22.3±0.4	104.65±12.30	45.17±18.32	1 079.62±200.83
转基因组	83.3	96.0	22.2±0.4	99.87±14.75	35.63±11.96	1 130.01±314.44

转 *GmDREB3* 抗旱基因小麦是将有持久耐旱性大豆铁丰 8 号的 *GmDREB3* 基因导入济麦 22 而获

得新品系。赵金鹏等^[12]的研究表明该转基因小麦在保留亲本小麦的基本营养含量不变的情况下,

表5 F1代仔鼠存活和性别情况表

Table 5 Survival rate and gender of F1 newborn rats

组别	出生活仔率 /%	4 d存活率 /%	哺育存活率 /%	雌雄性别比	每窝平均仔鼠数 /只
基础饲料组	97.34	99.39	98.50	0.96	13.0±3.3
亲本对照组	94.67	98.07	100.00	1.00	13.8±3.9
转基因组	98.69	96.05	100.00	1.04	15.2±3.8*

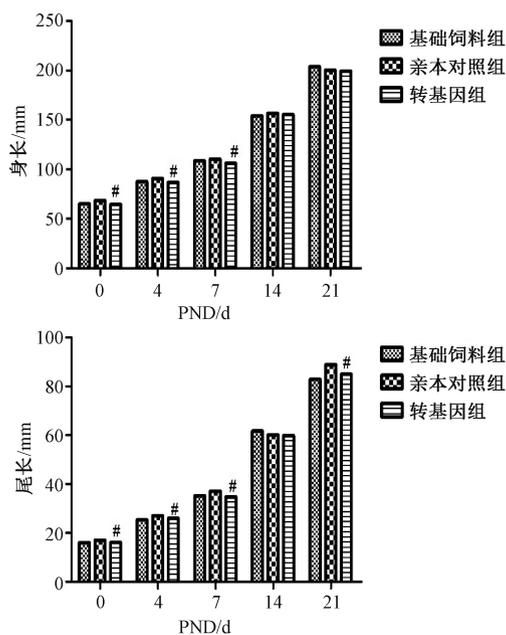
注：*表示与基础饲料组比较 $P < 0.05$

表6 F1代仔鼠体质量情况($\bar{x} \pm s, g$)

Table 6 Body weight of F1 rats

组别	出生后仔鼠窝重	第7天体质量	第14天体质量	第21天体质量
基础饲料组	87.1±18.9	18.3±3.0	39.1±3.8	64.0±6.1
亲本对照组	81.1±23.8	18.4±3.0	40.7±4.6*	68.8±7.6*
转基因组	91.5±23.1*#	17.8±3.4#	40.8±3.4*	69.3±5.7*

注：*表示与基础饲料组比较 $P < 0.05$ ；#表示与亲本对照组比较 $P < 0.05$



注：#表示与亲本对照组比较, $P < 0.05$

图6 F1代仔鼠出生后身长和尾长变化图

Figure 6 Body length and tail length of F1 rats

表7 F1代仔鼠 PND56 免疫学指标检测结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 7 Immunological results of F1 rats

组别	sIgA / (ng/ml)	LYS / ($\mu g/L$)	DAO / (ng/ml)	IgE / (ng/ml)
基础饲料组	64.14±22.30	24.80±13.32	340.95±90.57	263.82±17.49
亲本对照组	53.78±22.94	26.56±8.28	311.76±107.46	174.87±27.00
转基因组	71.48±34.98	24.80±9.04	314.91±83.64	253.50±25.65

增加了总膳食纤维、泛酸、叶酸、维生素 B₁₂ 的含量, 且提高了原小麦的耐旱性。

毒理学评价是转基因食品食用安全评价中不可缺少的一部分, 包括对外源基因表达产物以及全食品的毒理学检测。对全食品的毒理学研究主要是检测转基因作物的非预期效应, 涉及到急性毒性、遗传毒性、生殖毒性、亚慢性毒性和慢性毒性动

物试验等, 其中的生殖发育毒性试验由于耗时较长, 需要的人力、物力和样品的量也较多, 所以目前国内对转基因食品生殖发育毒性的研究不多。本课题依据 GB 15193.25—2014 进行剂量设计, 考虑到转 *GmDREB3* 抗旱基因小麦的毒性预期很低, 因此采取最大的饲料中掺入剂量, 设置一个受试物剂量组 (限量试验), 进行大鼠的一代繁殖试验, 除了 GB 15193.25—2014 中生殖发育的常规指标外, 本研究还增加了 F0 代雌鼠性激素水平和 F1 代雌鼠免疫学指标的检测。与亲本对照组比较, F0 代转基因组雌鼠体质量在 10、12、13 周增高外, 其他时间点差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 转基因组雄鼠肝脏系数降低, 但肝脑比没有差异; 脾脏系数和脾脑比升高, 但脾脏系数及脾脑比在 Wistar 大鼠的正常范围内; F1 代转基因组仔鼠的尾长变短, 但差异未超过 10%; F0 和 F1 代转基因组大鼠其他指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。综上所述, 该转 *GmDREB3* 抗旱基因小麦对大鼠的生殖发育无毒性作用。但由于本研究中所用实验动物的品系、试验指标和试验时间的限制, 本试验结果是否能外推到包括人在内的其他动物的生殖发育毒性效应, 还需要进行更多、更长时间、更深入的研究。

参考文献

[1] ZAMBRYSKI P, JOOS H, GENETELLO C, et al. Ti plasmid vector for the introduction of DNA into plant cells without alteration of their normal regeneration capacity [J]. EMBO J, 1983, 2(12): 2143-2150.

[2] 李小双, 梁玉青, 高贝, 等. 植物抗逆相关转录因子基因 *DREB* 的研究展望 [J]. 分子植物育种, 2017, 15(7): 2612-2622.

[3] CHEN M, XU Z S, XIA L Q, et al. Cold-induced modulation and functional analyses of the DRE-binding transcription factor gene, *GmDREB3*, in soybean (*Glycine max* L.) [J]. J Exp Bot, 2009, 60(1): 121-135.

[4] 陈亮, 黄庆华, 孟丽辉, 等. 转基因作物饲用安全性评价研究进展 [J]. 中国农业科学, 2015, 48(6): 1205-1218.

[5] 张敏, 卓勤, 宫照龙, 等. 转 *GmDREB1* 基因抗旱小麦对大鼠肠道菌群的影响 [J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(6): 695-701.

[6] 蔡婷峰, 陈润涛, 谢植伟, 等. 虫螨腈原药对 SD 大鼠两代繁殖毒性研究 [J]. 中国职业医学, 2014, 41(4): 389-394.

[7] REEVES P G, NIELSEN F H, FAHEY G C. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet [J]. J Nutr, 1993, 123(11): 1939-1951.

[8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 生殖发育毒性试验: GB 15193.25—2014 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.

[9] OECD. OECD guideline for the testing of chemicals 416: two-generation reproduction toxicity study [R]. Paris: OECD, 2001: 1-13.

- [10] 杨晓光.转基因食品安全评估[J].华中农业大学学报,2014,33(6):110-111.
- [11] AYALA F, FEDRIGO G V, BURACHIK M, et al. Compositional equivalence of event IND-00412-7 to non-transgenic wheat[J].Transgenic Res, 2019, 28(2):165-176.
- [12] 赵金鹏,韩超,任硕,等.转 *GmDREB3* 基因抗旱小麦与亲本小麦的营养成分比较与分析[J].中国食物与营养,2017,23(12):21-24.

(上接第312页)

2.工艺必要性。该物质是ABS乳液聚合过程中的一种沉淀剂。与其他同类功能的添加剂相比,其可以减少或替代加工过程中酸或腐蚀性盐的使用,从而降低腐蚀的风险。

(二)1,3:2,4-双-*O*-[(3,4-二甲基苯基)亚甲基]-*D*-葡萄糖醇

1.背景资料。该物质在室温下为固体。GB 9685—2016 批准其作为添加剂用于聚乙烯(PE)和聚丙烯(PP)塑料中,本次申请将其使用范围扩大至聚1-丁烯(PB-1)塑料。欧盟委员会和南方共同市场均允许其用于食品接触用PB-1塑料材料及制品。

2.工艺必要性。该物质是一种澄清剂。添加了该物质的PB-1具有较高的澄清度和较低的雾度。

(三)芥酸酰胺

1.背景资料。该物质在室温下为固体。GB 9685—2016 批准其作为添加剂用于粘合剂、纸,以及聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)和聚偏二氯乙烯(PVDC)等多种塑料中。本次申请将其使用范围扩大至聚1-丁烯(PB-1)塑料。美国食品药品监督管理局和欧盟委员会均允许其用于食品接触用PB-1塑料材料及制品。

2.工艺必要性。该物质是一种润滑剂,可以减小PB-1材料间的摩擦力。此外,该物质还具有较好的耐热性,可在较高的加工温度下使用。

(四)硬脂酸钙

1.背景资料。该物质是硬脂酸(十八烷酸)的钙盐,常温下为白色粉末,不溶于水。GB 2760—2014 批准其作为食品添加剂使用;GB 9685—2016 批准其作为添加剂用于橡胶、粘合剂、纸,以及聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)、聚苯乙烯(PS)和丙烯腈-苯乙烯共聚物(AS)等多种塑料中。本次申请将其使用范围扩大至聚1-丁烯(PB-1)塑料。美国食品药品监督管理局和欧盟委员会均允许其用于食品接触用PB-1塑料材料及制品。

2.工艺必要性。该物质作为抗粘剂用于PB-1,防止PB-1材料在储存过程中粘附,使其容易分离。

(五)硬脂酸锌

1.背景资料。该物质在常温下为白色粉末。GB 9685—2016 批准其作为添加剂用于聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)、聚苯乙烯(PS)和丙烯腈-苯乙烯共聚物(AS)等多种塑料中。本次申请将其使用范围扩大至聚4-甲基-1-戊烯(PMP)塑料。美国食品药品监督管理局和欧盟委员会均允许其用于食品接触用PMP塑料材料及制品。

2.工艺必要性。该物质作为抗氧化剂,可增强PMP树脂在热加工过程中的稳定性。

(六)四[3-(3,5-二叔丁基-4-羟基苯基)丙酸]季戊四醇酯

1.背景资料。该物质在常温常压下为白色固体粉末。GB 9685—2016 批准其作为添加剂用于橡胶、涂料及涂层、粘合剂,以及聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)、聚苯乙烯(PS)和丙烯腈-苯乙烯共聚物(AS)等多种塑料中。本次申请将其使用范围扩大至聚4-甲基-1-戊烯(PMP)塑料。美国食品药品监督管理局和欧盟委员会均允许其用于食品接触用PMP塑料材料及制品。

2.工艺必要性。该物质作为抗氧化剂,可增强PMP树脂在热加工过程中的稳定性。

(七)三(2,4-二叔丁基苯基)亚磷酸酯

1.背景资料。该物质常温下为白色结晶粉末。GB 9685—2016 批准其作为添加剂用于橡胶、涂料及涂层、粘合剂、纸和纸板,以及聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)、聚苯乙烯(PS)和乙烯-乙酸乙烯酯共聚物(EVA)等多种塑料中。本次申请将其使用范围扩大至聚4-甲基-1-戊烯(PMP)塑料。美国食品药品监督管理局和欧盟委员会均允许其用于食品接触用PMP塑料材料及制品。

2.工艺必要性。该物质作为辅助抗氧化剂,与主抗氧化剂发挥协同作用,改善PMP树脂在热加工过程中的稳定性。

(八)2-丙烯酸丁酯与2-丙烯酸-2-乙基己基酯的聚合物

1.背景资料。该物质是一种食品接触材料及制品用添加剂,常温下为清澈到浅黄色液体,不溶于水,易溶于有机溶剂。GB 9685—2016 批准其作为添加剂用于油墨。本次申请将其使用范围扩大至涂料及涂层。美国食品药品监督管理局和欧洲委员会均允许其用于食品接触用涂料及涂层。

2.工艺必要性。该物质在涂料中用作流平剂,有助于形成光滑平整的涂层。

(九)*N,N'*-二(十八酰基)-乙二胺与氮杂环十三烷-2-酮的均聚物和1-异氰酸根合十八碳烷的反应产物

(下转第344页)

isolated from food sources; a particular cluster of ST188 strain was identified [J]. *J Food Sci*, 2016, 81(3):715-718.

[15] SHIN E, HONG H, PARK J, et al. Characterization of *Staphylococcus aureus* faecal isolates associated with food-borne disease in Korea [J]. *J Appl Microbiol*, 2016, 121(1):

277-286.

[16] 汪永禄,李凤娟,王多春,等. 马鞍山地区耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的分子特征研究[J]. *中华流行病学杂志*, 2015, 36(3):285-289.

(上接第319页)

1.背景资料。该物质是一种食品接触材料及制品用基础树脂,可溶于水。美国食品药品监督管理局以及荷兰卫生、福利和体育部均允许其用于食品接触用涂料及涂层。

2.工艺必要性。该物质能够使涂层具有较好的延展性和耐化学性。

(十二)二甲基乙醇胺部分中和的缩水甘油封端双酚 A/环氧氯丙烷共聚物与苯乙烯、甲基丙烯酸甲酯、丙烯酸 2-乙基己酯、丙烯酸和甲基丙烯酸的反应产物

1.背景资料。该物质是一种食品接触材料及制品用基础树脂,不溶于水。美国食品药品监督管理局和欧洲委员会均允许其用于食品接触用涂料及涂层。

2.工艺必要性。该物质能够使涂层具有较好的延展性和耐化学性。

(十三)1,3-苯二甲酸与 1,4-苯二甲酸、1,4-丁二醇、1,2-乙二醇和己二酸的聚合物

1.背景资料。该物质是一种食品接触材料及制品用基础树脂,不溶于水。美国食品药品监督管理局和欧洲委员会均允许其用于食品接触用涂料及涂层。

2.工艺必要性。该物质作为流平剂用于粉末涂料中,协助均匀固化薄膜。

(十四)5-异氰酸根合-1-(异氰酸根合甲基)-1,3,3-三甲环己烷的均聚物与 2,2-二甲基-1,3-丙二醇、二甘醇、1,4-二(羟甲基)环己烷、1,3-苯二甲酸、氢化二聚 C18 不饱和脂肪酸和 ε-己内酰胺的反应产物

1.背景资料。该物质是一种食品接触材料及制品用基础树脂,不溶于水。美国食品药品监督管理局和欧洲委员会均允许其用于食品接触用涂料及涂层。

2.工艺必要性。该物质易于形成较高密度的交联网络,有较好的耐化学性能。

(十五)1,3-苯二甲酸与 1,4-苯二甲酸、1,3-二氢-1,3-二氧代-5-异苯并咪唑羧酸、己二酸、2-甲基-1,3-丙二醇和 2,2'-氧双[乙醇]的聚合物

1.背景资料。该物质是一种食品接触材料及制品用基础树脂,为无色到浅黄色液体,不溶于水。美国食品药品监督管理局和欧洲委员会均允许其用于食品接触用涂料及涂层。

2.工艺必要性。该物质有较好的耐酸耐蒸煮能力、附着力和柔韧性。

三、食品添加剂新品种

(一)L-γ-谷氨酰-L-缬氨酰-甘氨酸

1.背景资料。L-γ-谷氨酰-L-缬氨酰-甘氨酸的分子式是 C₁₂H₂₁N₃O₆。联合国粮农组织/世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会、美国食用香料和提取物制造者协会、国际食品用香料香精工业组织等允许其作为食品用香料在各类食品中按生产需要适量使用。

2.工艺必要性。该物质配制成食品用香精后用于各类食品(《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》<GB 2760>表 B.1 食品类别除外),改善食品的味道。该物质的质量规格按照公告的相关内容执行。

(二)二氧化硅

1.背景资料。二氧化硅作为食品添加剂已列入《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》(GB 2760),允许用于乳粉(包括加糖乳粉)和奶油粉及其调制产品、固体饮料等食品类别。本次申请使用范围扩大到其他特殊膳食用食品(仅限 1~10 岁特殊医学用途配方食品)(食品类别 13.05)。国际食品法典委员会、欧盟委员会、美国食品药品监督管理局、澳大利亚和新西兰食品标准局等允许其作为抗结剂用于特殊医学用途配方食品。根据联合国粮农组织/世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会评估结果,该物质的每日允许摄入量为“不需要限定”。

2.工艺必要性。该物质作为抗结剂用于其他特殊膳食用食品(仅限 1~10 岁特殊医学用途配方食品)(食品类别 13.05),防止产品结块。其质量规格应执行《食品添加剂 二氧化硅》(GB 25576—2010)。

(三)β-环状糊精

1.背景资料。β-环状糊精作为食品添加剂已列入《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》(GB 2760),允许用于方便米面制品、预制肉制品、熟肉制品等食品类别,本次申请扩大使用范围到腌渍的蔬菜(食品类别 04.02.02.03)。国际食品法典委员会、欧盟委员会、日本厚生劳动省等允许其作为食品添加剂用于食品。根据联合国粮农组织/世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会评估结果,该物质的每日允许摄入量为 5 mg/kg BW。

2.工艺必要性。该物质用于腌渍的蔬菜(食品类别 04.02.02.03),防止加工过程中风味降解和损失。其质量规格应当执行《食品添加剂 β-环状糊精》(GB 1886.180—2016)。

(四)硫磺

(下转第 384 页)