

# 青藏高原 5 种害鼠 D 型肉毒素抗性 相关基因 *VAMP1* 的序列分析

黄岩淦<sup>①②</sup> 赵芳<sup>①②</sup> 张同作<sup>①③</sup> 李生庆<sup>④</sup> 李志宁<sup>④</sup>  
林恭华<sup>①③\*</sup> 苏建平<sup>①③\*</sup>

① 中国科学院西北高原生物研究所 西宁 810008; ② 中国科学院大学 北京 100049; ③ 青海省动物生态基因组学重点实验室 西宁 810008; ④ 青海省畜牧兽医科学院 西宁 810016

**摘要:** 突触小泡相关膜蛋白 1 基因 (*VAMP1*) 的变异是导致鼠类对 D 型肉毒素灭鼠剂产生抗性的主要原因。本研究利用转录组测序的方法, 分析青藏高原地区 5 种主要害鼠: 高原鼠兔 (*Ochotona curzoniae*)、高原麝鼠 (*Eospalax baileyi*)、长尾仓鼠 (*Cricetulus longicaudatus*)、青海松田鼠 (*Neodon fuscus*) 和喜马拉雅旱獭 (*Marmota himalayana*) 的 *VAMP1* 序列信息。同时, 分别采集来自 5 个地理种群的 58 只高原鼠兔和 59 只高原麝鼠, 对 *VAMP1* 基因第二外显子区序列进行分析。结果显示, 从转录组组装文件中成功获得 5 种动物的 *VAMP1* 基因全序列, 长度均为 357 bp, 共检测到 46 个核苷酸变异位点和 4 个氨基酸变异位点, 但未发现与 D 型肉毒素抗性相关的氨基酸位点。对高原鼠兔群体和高原麝鼠群体的 *VAMP1* 基因第二外显子序列的分析显示, 高原鼠兔所有个体的序列高度保守, 而在高原麝鼠中则存在一个同义突变位点, 但两物种在 D 型肉毒素抗性相关位点上均未监测出位点变异。该研究结果提示, D 型肉毒素灭鼠剂在青藏高原地区害鼠防治方面应该可以长期发挥重要作用。

**关键词:** D 型肉毒素; 鼠害防治; 突触小泡相关膜蛋白 1 基因 (*VAMP1*); 序列分析

**中图分类号:** Q958.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2017) 01-42-07

## Variations of a Botulinum Neurotoxin Type D Resistance Related Gene *VAMP1* in 5 Rodent Species Endemic to the Qinghai-Tibet Plateau

HUANG Yan-Gan<sup>①②</sup> ZHAO Fang<sup>①②</sup> ZHANG Tong-Zuo<sup>①③</sup> LI Sheng-Qing<sup>④</sup> LI Zhi-Ning<sup>④</sup>  
LIN Gong-Hua<sup>①③\*</sup> SU Jian-Ping<sup>①③\*</sup>

① Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Science, Xining 810008; ② University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049; ③ Qinghai Key Laboratory of Animal Ecological Genomics, Xining 810008;  
④ Qinghai Academy of Animal and Veterinary Sciences, Xining 810016, China

**Abstract:** Variants of the rodent vesicle-associated membrane protein 1 gene (*VAMP1*) play a key role in

**基金项目** 青海省科技支撑计划项目 (No. 2014-NS-113), 青海省科技项目 (No. 2014-NS-118);

\* 通讯作者, E-mail: lingonghua@nwipb.cas.cn, jpsu@nwipb.ac.cn;

**第一作者介绍** 黄岩淦, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物生态学; E-mail: huangyan14@163.com.

收稿日期: 2016-05-16, 修回日期: 2016-08-03 DOI: 10.13859/j.cjz.201701005

resistance to botulinum neurotoxin type D (BoNT/D) rodenticide. In this study, we analyzed the *VAMP1* gene in five species of rodents, which are endemic to the Qinghai-Tibet Plateau, using transcriptomic methods: Plateau Pika (*Ochotona curzoniae*), Plateau Zokor (*Eospalax baileyi*), Lesser Long-tailed Hamster (*Cricetulus longicaudatus*), Plateau Vole (*Neodon fuscus*) and Himalayan Marmot (*Marmota himalayana*). We sequenced the transcriptome of the brain of each species using Illumina HiSeqTM 2000 platform. We then assembled the reads using Trinity program, extracted the *VAMP1* coding sequence using blastn program, and finally analyzed their genetic variations using DNASTar and MEGA programs. We also sequenced the second exon of *VAMP1* gene of 58 plateau pikas and 59 plateau zokors from five geographical populations using Sanger sequencing methods (Table 1) and analyzed the sequence variations among individuals using MEGA program. We successfully obtained the complete coding sequences of *VAMP1* gene of the five QTP animals from transcriptome assemblies. The *VAMP1* sequences of all five animal species were 357 bp in length. There were 46 variable sites at the DNA sequence level and four variable sites at the amino acid sequence level among the five Qinghai-Tibet Plateau animals (Table 2, Fig. 1). None of the amino acid residues was identical to that involved in BoNT/D resistance in other animals. We did not detect any variable sites in the second exon of *VAMP1* gene of the 58 pikas, and only one synonymous mutation among the 59 zokors was found. Again, we did not detect any BoNT/D resistance mutants in the pikas and zokors. Our study suggests that these rodent species are unlikely to develop resistance to BoNT/D. Based on our results coupled with scientific guidance on usage, the BoNT/D rodenticide can be potentially used in rodent control in the Qinghai-Tibet Plateau.

**Key words:** Botulinum neurotoxins type D; Rodent control; Vesicle-associated membrane protein 1 gene (*VAMP1*); Sequence analysis

鼠类是繁殖能力最强的哺乳动物, 许多鼠类的过度繁殖给人类的健康和经济发展带来灾难性后果 (Buckle et al. 2015)。长期以来, 化学灭鼠剂 (如磷化锌、溴敌隆等) 是控制鼠害的主要手段, 然而化学毒杀存在环境污染、易引发抗药性、造成天敌二次中毒等缺点, 并非鼠害防治的最佳选项 (李生庆等 2015)。肉毒素是肉毒梭菌 (*Clostridium botulinum*) 产生的生物毒素, 它对鼠类有很高的毒性, 并具有不易污染环境、无二次中毒、不产生耐药性等诸多优点。自 20 世纪 80 年代末开始, 以 C 型肉毒素为代表的生物毒素灭鼠剂已在我国大面积推广, 并收到良好效果 (闫高峰等 2001)。为了防止长期使用单一生物毒素灭鼠剂导致抗药性, 我国又陆续开展使用 D 型肉毒素作为灭鼠剂的试验。相关结果显示, 除了具有 C 型肉毒素具有的优点外, D 型肉毒灭鼠剂还具有产毒

量高、对人畜更安全、稳定性更好等特点, 适合大面积推广使用 (周俗等 2006, 李生庆 2007)。

D 型肉毒素本质上是一种神经毒素, 具有蛋白水解活性, 进入动物体内后可以水解突触小泡相关膜蛋白 (vesicle-associated membrane protein, VAMP), 从而抑制神经递质释放, 导致动物神经、肌肉麻痹而死亡 (陈宁庆 2001)。最新研究显示, VAMP1 蛋白是 D 型肉毒素作用的关键靶蛋白, 在其第二外显子区的第 48 (M48I, 数字前和后的字母分别表示野生和突变型此位点的氨基酸, 下同)、60 (Q60E)、61 (K61I) 号位点发生突变后, 动物就会对 D 型肉毒素产生抗性。值得注意的是, 在脊椎动物中这些位点属于变异率相对较高的位点, 突变可在多个类群中反复发生 (Peng et al. 2014)。尽管 D 型肉毒素杀鼠剂已推广使用很多年, 然

而迄今为止人们对害鼠类的 VAMP1 蛋白变异特征及其与 D 型肉毒素抗性之间的关系却很少探讨, 未能从这一角度对此类杀鼠剂的应用进行科学指导。

青藏高原是世界屋脊和中华水塔, 同时也是鼠害发生的重灾区, 因此青藏高原地区的害鼠防治对我国生态系统安全具有重要意义 (张兴禄等 2015)。本研究利用转录组测序的方法, 分析青藏高原地区 5 种主要的害鼠——高原鼠兔 (*Ochotona curzoniae*)、高原麝鼠 (*Eospalax baileyi*)、长尾仓鼠 (*Cricetulus longicaudatus*)、青海松田鼠 (*Neodon fuscus*) 和喜马拉雅旱獭 (*Marmota himalayana*) 的 VAMP1 基因序列差异。同时, 对高原鼠兔和高原麝鼠种群各来自 5 个地理种群的个体进行研究, 对第二外显子区序列进行种内变异分析, 并结合种间和种内水平的序列变异情况, 评估了上述 5 种害鼠对 D 型肉毒素产生抗性的潜在能力, 藉此来预测和评估 D 型肉毒素杀鼠剂能否长期有效使用, 为青藏高原地区生物毒素依赖的鼠害防治工作提供关键基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

高原鼠兔和高原麝鼠采自湟中县拉鸡山

(36°21'58"N, 101°29'46"E), 长尾仓鼠采自大通县向化乡 (37°5'31"N, 101°47'13"E), 青海松田鼠采自甘德县青珍乡 (34°14'7"N, 100°12'58"E), 喜马拉雅旱獭采自格尔木市西大滩 (35°47'13"N, 94°16'38"E)。所有上述动物活体带回实验室, 每种动物随机选取一个个体, 处死后迅速切取脑组织, 置于液氮中固定和临时保存, 继而转移至 -80°C 冰箱中长期保存。在青海省境内用弓形夹抓捕 5 个地理种群高原鼠兔样本, 用弓箭死捕法采集 5 个地理种群高原麝鼠样本 (表 1), 每个种群采集 11~12 只麝鼠, 现场解剖后采集腿部肌肉, 置于无水乙醇中固定保存。

### 1.2 转录组测序分析

将 5 种害鼠各 1 个个体的脑组织用干冰保存运输至百迈客生物科技有限公司, 按照 Illumina 公司提供的标准流程进行样本制备和上机文库构建, 最后用 Illumina HiSeq™ 2000 进行高通量测序, 指标为 100 bp (双向)。对测序得到的原始 reads 用 FASTX-Toolkit 软件 (Pearson et al. 1997) 进行数据评估、去除接头和低质量区域, 得到用于生物信息学分析的 clean reads, 并统计序列基本信息。用 Trinity 软件 (Grabherr et al. 2011) 对每个物种的 clean reads 进行从头组装, 组装后的序列用 CD-HIT-EST

表 1 高原鼠兔和高原麝鼠种群采样信息

Table 1 Sampling information of Plateau Pika and Plateau Zokor

物种 Species	地理种群 Geographical population	经度 (E) Longitude	纬度 (N) Latitude	样本量 (只) Sample size (ind)
高原鼠兔 <i>Ochotona curzoniae</i>	祁连县默勒镇 Mole, Qilian	100°15'16"	37°57'32"	12
	刚察县哈尔盖乡 Haergai, Gangcha	100°28'53"	37°30'11"	12
	天峻县新源镇 Xinyuan, Tianjun	99°16'58"	37°10'24"	12
	贵南县森多乡 Senduo, Guinan	101°00'00"	35°26'24"	11
	称多县称文镇 Chengwen, Chengduo	97°14'11"	33°21'23"	11
高原麝鼠 <i>Eospalax baileyi</i>	祁连县八宝镇 Babao, Qilian	100°11'35"	38°6'14"	12
	祁连县默勒镇 Mole, Qilian	100°31'31"	37°39'34"	12
	天峻县新源镇 Xinyuan, Tianjun	98°52'15"	37°10'46"	11
	泽库县巴滩牧场 Batan, Zeku	100°57'42"	35°14'15"	12
	称多县称文镇 Chengwen, Chengduo	97°14'07"	33°21'12"	12

(Li et al. 2006) 进一步去重, 最终得到可用的 unigene 序列。使用 BLAST + 软件包中的 makeblastdb 程序对每个物种的 unigene 序列文件构建本地 blast 库, 从 GenBank 中下载小鼠 (*Mus musculus*, NM\_009496.3) 和豚鼠 (*Cavia porcellus*, XM\_003463283.2) 的 *VAMP1* 基因的编码区序列, 再用 BLAST+ 软件包中的 blastn 程序调取各物种包含 *VAMP1* 基因的 unigene 序列。将这些 unigene 序列及上述小鼠、豚鼠 *VAMP1* 基因的编码区序列合并至一个文本文档, 用 MEGA 软件进行序列比对, 同时翻译成氨基酸序列, 最终得到所有物种的 *VAMP1* 基因编码区 DNA 序列及氨基酸序列。用 DNasp 软件 (Librado et al. 2009) 分析 DNA 序列的变异位点, 而氨基酸水平的变异位点直接在 MEGA (Tamura et al. 2011) 中统计。用 DNASTAR 软件包 (<http://www.dnastar.com/>) 中的 Megalign 软件分析 DNA 序列和氨基酸序列的相似性 (%)。

### 1.3 高原鼠兔和高原麝鼠 *VAMP1* 基因测序分析

采用 DNeasy Blood & Tissue Kit 试剂盒 (Qiagen) 提取高原鼠兔和高原麝鼠基因组 DNA。根据高原鼠兔和高原麝鼠基因组序列 (中国科学院昆明动物研究所施鹏研究员提供) 分别设计扩增两物种 *VAMP1* 基因第二外显子区的引物。在高原鼠兔中为 PVA-F 5'-CTG CAT CCC TTG TAC GTG TCC-3'/ PVA-R 5'-TCC TTC TGA CAG TTC CGA T-3'; 在高原麝鼠中为 ZVA-F 5'-CTT TGT TTC TGC ACC CCG TC-3'/ ZVA-R 5'-TCC TAG AAA CAG CAC AAG ACC-3'。PCR 扩增使用 40  $\mu$ l 反应体系, 包括 40 ~ 60 ng 的基因组 DNA, 0.6 mmol/L dNTPs, 0.2  $\mu$ mol/L 的正/反向引物, 1 U *Taq* 酶, 以及 1  $\times$  buffer, 去离子水加至 40  $\mu$ l。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 45 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 75 s, 共进行 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。PCR 产物用 CASpure PCR Purification Kit (Casarray, 中国上海) 纯

化, 用扩增引物进行四色荧光末端终止法测序。用 MEGA 5 中内嵌的 Clustal W (Thompson et al. 1997) 程序比对测序得到的序列, 并辅以人工校对。第二外显子区的序列范围参考小鼠的同源区序列 (GenBank No. GQ905710) 确定。对第二外显子区的序列变异情况在 MEGA 中统计。

## 2 结果

### 2.1 种间 *VAMP1* 基因变异情况

转录组测序得到海量 reads, 每个物种都在 40 亿碱基以上。经组装拼接后, 每个物种得到 94 536 ~ 112 587 条 unigene 序列, 其中 N50 (unigene 序列从大到小排列, 当其累计长度刚刚超过所有 unigene 序列总长度 50% 时, 最后一个 unigene 的大小即为 N50) 的长度为 1 586 ~ 2 673 bp, 说明测序结果比较理想。经 blast 搜索和 MEGA 比对, 得到 5 个物种 *VAMP1* 基因编码区的完整序列, 长度均为 357 bp, 与小鼠、豚鼠此基因序列等长。在 DNA 序列水平上, 5 种动物 *VAMP1* 基因编码区序列比对后存在 46 个变异位点; 与小鼠的序列相似性为 91.6% ~ 93.6%, 而与豚鼠的序列相似性为 93.3% ~ 95.0% (表 2)。

在 *VAMP1* 基因编码区序列所推导的 *VAMP1* 氨基酸序列水平上, 5 种动物存在 4 个变异位点, 与小鼠和豚鼠的序列相似性都为 97.5% ~ 100%, 具体位点变异分布情况见图 1。高原鼠兔、高原麝鼠及长尾仓鼠 *VAMP1* 氨基酸序列完全相同, 且与小鼠和豚鼠也相同 (图 1); 与上述 5 种动物相比, 青海松田鼠发生 M28L 变异, 而喜马拉雅旱獭存在 3 个氨基酸变异 (A9T、A15T、A103V) (图 1)。以上所有 7 种动物的 *VAMP1* 氨基酸序列在 48、60、61 号氨基酸位点 (分别为 M、Q、K) 都属 D 型肉毒素敏感型氨基酸 (图 1)。

### 2.2 高原鼠兔和高原麝鼠 *VAMP1* 基因

对 58 只高原鼠兔和 59 只高原麝鼠的样品进行测序, 两对引物都成功获得扩增结果, 经

表 2 本研究中 5 种害鼠及豚鼠、小鼠 VAMP1 基因编码区 DNA 序列（上三角）和氨基酸序列（下三角）相似度(%)

Table 2 Similarity (%) among DNA sequences (upper triangular) and amino acid sequences (lower triangular) of VAMP1 coding sequence of five rodents from the Qinghai-Tibet Plateau as well as Mouse and Guinea Pig

物种 Species	1	2	3	4	5	6	7
1 小鼠 <i>Mus musculus</i>		93.6	92.2	93.6	93.0	92.7	91.6
2 豚鼠 <i>Cavia porcellus</i>	100		93.8	95.0	94.1	93.3	93.8
3 高原鼠兔 <i>Ochotona curzoniae</i>	100	100		100	100	99.2	97.5
4 高原鼯鼠 <i>Eospalax baileyi</i>	100	100	93.8		100	99.2	94.7
5 长尾仓鼠 <i>Cricetulus longicaudatus</i>	100	100	92.7	95.5		99.2	93.6
6 青海松田鼠 <i>Neodon fuscus</i>	99.2	99.2	92.4	94.7	96.6		92.7
7 喜马拉雅旱獭 <i>Marmota himalayana</i>	97.5	97.5	92.7	97.5	97.5	96.6	



图 1 青藏高原 5 种害鼠及小鼠、豚鼠 VAMP1 氨基酸序列变异位点分布

Fig. 1 Variable sites distribution of VAMP1 amino acid sequences of five species of rodents endemic to the Qinghai-Tibet Plateau as well as Mouse and Guinea Pig

序列中的点表示与小鼠序列相同。The dots show identities to mouse.

序列校对和拼接，得到完整的 VAMP1 基因第二外显子序列，比对后的全长为 159 bp。序列分析显示，高原鼠兔第二外显子 DNA 序列在所有个体之间都无变异，而高原鼯鼠在第二外显子的 30 号位点(对应于基因编码区全序列的

159 号位点)上出现 C/T 单核苷酸多态性，经翻译确认为同义突变。在所采集的个体中，来自祁连县八宝镇所有个体都为胸腺嘧啶 (T)，而来自泽库县巴滩牧场和称多县称文镇所有个体都为胞嘧啶 (C)，其余在两个种群中，3 种

类型 (T、C、T/C) 都有出现。但是, 这两个物种在 48、60、61 号氨基酸位点对应的 DNA 序列都未发现变异。有趣的是, 本研究中涉及的其他 6 个物种 (包括小鼠和豚鼠), 此位点都为保守的 C。

### 3 讨论

鉴于 *VAMP1* 基因在 D 型肉毒素杀鼠剂抗性方面起关键作用 (Peng et al. 2014), 因此对 *VAMP1* 基因遗传变异分析, 有助于杀鼠剂的科学合理使用、延长杀鼠剂更新换代年限, 以降低灭鼠成本。然而遗憾的是, 迄今为止尚未见关于害鼠 *VAMP1* 基因变异与 D 肉毒素敏感性方面的研究。本研究中的目标动物是青藏高原及周边地区重要的害鼠, 其中高原麴鼠和高原鼠兔是青藏高原高寒草甸生态系统的主要地下害鼠和地上害鼠, 长尾仓鼠则是农田区的优势害鼠。比较之下, 另外两种动物——喜马拉雅旱獭和青海松田鼠对草地的危害相对较轻, 然而, 它们却是青藏高原“喜马拉雅旱獭鼠疫自然疫源地”和“青海松田鼠鼠疫自然疫源地”的关键疫源动物 (贺雄等 2010), 其种群增长对本地区的鼠疫疫情有关键性影响。本研究的结果显示, 尽管这 5 种动物的 *VAMP1* 基因序列差异较大, 但在氨基酸水平却相对比较保守。尤为重要的是, 在这 5 种害鼠中均未检测到已知抗性位点 (M48I、Q60E、K61I) 的突变, 因此我们认为这 5 种害鼠可能都不存在对 D 型肉毒素杀鼠剂的抗药性。

为了进一步了解该基因在害鼠群体内的变异情况, 研究中还选取青藏高原最重要的鼠害防治对象——高原鼠兔和高原麴鼠, 对其第二外显子序列进行变异分析。结果显示, *VAMP1* 基因在这两种动物中也极为保守, 仅高原麴鼠中存在一个同义突变位点。此外, 对于已知的 3 个导致 D 型肉毒素抗性的变异位点 (Peng et al. 2014), 本研究并未在任何一种研究对象中检测到。考虑到自然存在的抗性基因型是物种对杀鼠剂产生抗药性的遗传学基础, 因此对高原鼠

兔和高原麴鼠群体的研究结果表明, 它们对 D 型肉毒素杀鼠剂短期内不太可能存在抗药性。综合上述的研究, 我们认为 D 型肉毒素杀鼠剂在青藏高原地区害鼠防治方面应该可以在较长的时间内发挥重要作用。需要指出的是, 肉毒素是复杂的蛋白质大分子, 具有一定的免疫原性, 动物可能对进入体内的毒素产生免疫应答 (Fabbri et al. 2016)。因此, 对于 D 型肉毒素杀鼠剂而言, 除了 *VAMP1* 靶位点突变因素外, 抗体蛋白的产生也可能会导致害鼠产生抗药性。另一方面, 尽管高原鼠兔、高原麴鼠、长尾仓鼠、小鼠和豚鼠 *VAMP1* 氨基酸序列完全相同, 但是 D 型肉毒素杀鼠剂口服半致死剂量 ( $LD_{50}$ ) 在小鼠、高原鼠兔、豚鼠三者之间可达十几或几百倍的差异 (闫高峰等 2001)。因此, 在遗传学研究的基础上, 从多个角度来思考生物毒素灭鼠的问题, 应该是未来的重要研究方向。

### 参 考 文 献

- Buckle A P, Smith R H. 2015. *Rodent Pests and Their Control*. London: CAB International.
- Fabbri M, Leodori G, Fernandes R M, et al. 2016. Neutralizing antibody and botulinum toxin therapy: A systematic review and Meta-analysis. *Neurotoxicity Research*, 29(1): 105–117.
- Grabherr M G, Haas B J, Yassour M, et al. 2011. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nature Biotechnology*, 29(7): 644–652.
- Li W Z, Godzik A. 2006. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences. *Bioinformatics*, 22(13): 1658–1659.
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452.
- Pearson W R, Wood T, Zhang Z, et al. 1997. Comparison of DNA sequences with protein sequences. *Genomics*, 6(1): 24–36.
- Peng L, Adler M, Demogines A, et al. 2014. Widespread sequence variations in *VAMP1* across vertebrates suggest a potential selective pressure from botulinum neurotoxins. *PLoS Pathogen*,

- 10(7): e1004177.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28(10): 2731–2739.
- Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. 1997. The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleotide Acids Research*, 25(24), 4876–4882.
- 陈宁庆. 2001. 实用生物毒素学. 北京: 中国科学技术出版社.
- 贺雄, 王虎. 2010. 现代鼠疫概论. 北京: 科学出版社.
- 李生庆. 2007. D 型肉毒灭鼠剂对高原鼠兔的灭鼠效果研究调查. *青海畜牧兽医杂志*, 37(4): 22–22.
- 李生庆, 张同作, 李志宁, 等. 2015. D 型肉毒灭鼠剂在贵南县防治高原鼠兔的适宜剂量. *草业与畜牧*, (4): 48–50.
- 阎高峰, 张西云. 2001. 肉毒梭菌毒素灭鼠研究进展. *草业科学*, 18(6): 55–59.
- 张兴禄, 李广. 2015. 高原鼠兔和高原鼯鼠在高寒草甸生态系统的作用. *草业科学*, 32(5): 816.
- 周裕, 谢红旗, 阮芳泽. 2006. 肉毒素防治草原鼠害试验与示范. *草业科学*, 23(6): 89–90.