

双重实时荧光 PCR 法鉴别大西洋鲑鱼和虹鳟鱼

周露*, 丁清龙, 杨晨, 杨丹婷, 苏章庭

(广东省食品检验所, 广州 510435)

摘要: **目的** 建立双重实时荧光 PCR 法同时鉴别大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的检测方法。**方法** 在现有单一物种检测方法的基础上, 应用多重实时荧光 PCR 检测技术对大西洋鲑鱼和虹鳟鱼同时进行检测, 并对 PCR 反应时间和反应温度进行优化。**结果** 该方法通过 1 管 PCR 反应实现对大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的同时鉴别, 反应时间缩短至 1 h 以内, 方法的特异性好, 灵敏度可达到 0.1%(DNA 质量分数)。**结论** 该方法检测效果好、时间短、成本低, 可为监管部门解决三文鱼市场监管问题提供技术手段。

关键词: 大西洋鲑鱼; 虹鳟鱼; 双重实时荧光 PCR

Simultaneous identification of *Salmo salar* and *Oncorhynchus mykiss* by dual real-time PCR

ZHOU Lu*, DING Qing-Long, YANG Chen, YANG Dan-Ting, SU Zhang-Ting

(Guangdong Institute of Food Inspection, Guangzhou 510435, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous identification of *Salmo salar* and *Oncorhynchus Mykiss* by dual real-time PCR. **Methods** On the basis of the reported single species detection method, multiple real-time PCR technology was applied to simultaneous identification of *Salmo salar* and *Oncorhynchus mykiss*, and the PCR reaction time and reaction temperature were optimized. **Results** The method could identify *Salmo salar* and *Oncorhynchus mykiss* by one PCR reaction, and the reaction time was shortened to less than 1 h. The specificity was well, and the sensitivity was up to 0.1% (DNA mass percent). **Conclusion** This method has the advantages of good detection effect, short operation time and low detection cost, which can provide technical support for the supervision department to solve problems of salmon market.

KEY WORDS: *Salmo salar*; *Oncorhynchus mykiss*; dual real-time PCR

1 引言

三文鱼是世界著名的高值经济鱼类之一, 其肉质鲜嫩, 鱼肉中富含 ω -3 不饱和脂肪酸, 营养丰富, 是深受中国老百姓喜爱的一种水产品^[1-4]。在中国市场上, 三文鱼的主要品种是大西洋鲑鱼 (*Salmo salar*) 和虹鳟鱼 (*Oncorhynchus mykiss*)。从分类学上讲, 大西洋鲑鱼和虹鳟

都属于鲑形目鲑科鱼中的鲑亚科(Salmoniae)。在属水平上, 大西洋鲑鱼为鲑属(*Salmo*), 虹鳟鱼为大马哈鱼属(*Oncorhynchus*)^[5,6]。

大西洋鲑鱼的价格比虹鳟鱼价格高一半左右, 经过加工的大西洋鲑鱼和虹鳟鱼鱼肉在外观上极为相似, 消费者无法用肉眼直接判断, 这给不法商贩带来了可乘之机。很多三文鱼水产品不标识品种和产地, 或者用低价的虹鳟

基金项目: 广东省食品药品监督管理局科技创新项目(2018TDZ05)

Fund: Supported by the Science and Technology Innovation Project of Guangdong Food and Drug Administration (2018TDZ05)

***通讯作者:** 周露, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品生物安全。E-mail: zhoulu1982@sohu.com

***Corresponding author:** ZHOU Lu, Ph.D, Senior Engineer, Guangdong Institute of Food Inspection, Guangzhou 510435, China. E-mail: zhoulu1982@sohu.com

鱼来冒充价格较高的大西洋鲑鱼^[7]。这种掺杂使假行为侵犯了消费者的知情权和经济利益,需引起政府监管部门的重视。

目前鉴别大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的检测技术主要有分子生物学方法和光谱法^[8,9]。分子生物学方法有实时荧光 PCR 方法^[10-13]、等温 PCR 方法^[14]和依赖于测序^[15,16]或生物传感器的普通 PCR 方法^[17]。现有实时荧光 PCR 方法和等温 PCR 方法一次只能检测一个物种,比较麻烦;普通 PCR 方法检测周期长,费时费力;光谱法对基质要求比较高,方法依赖复杂的数学计算,准确性还有待提高。这些问题给三文鱼水产品市场监管带来了较大困扰。因此,亟需开发一种可以同时鉴别大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的简单快速的检测方法。

本研究应用多重实时荧光 PCR 技术在现有单一物种检测方法的基础上,建立了一种可以同时鉴别大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的检测方法,以期对政府部门加强三文鱼市场监管,打击三文鱼掺杂使假行为,提供技术支撑。

2 材料与方法

2.1 材 料

大西洋鲑鱼和虹鳟鱼阳性样品于市场购买;王鲑和银鲑样品来自广东省三文鱼风险监测专项;标识为大西洋鲑鱼的三文鱼刺身样品来自广东省三文鱼风险监测专项;标识为虹鳟鱼的三文鱼刺身由网络平台购买;标识为虹鳟的烟熏三文鱼 1 份由网络平台购买,1 份在酒店参会用餐时获得。

扩增引物由生物工程(上海)股份有限公司负责合成,引物和探针的名称及序列见表 1^[14,18,19]。

表 1 引物名称及序列
Table 1 The name and DNA sequence of primers

检测靶标	引物名称	序列(5'-3')
大西洋鲑鱼	SS-F	AGCAGAACTCAGCCAGCCT
	SS-R	AAAGGAGGGGAGGGAGAAGTCAA
	SS-P	FAM-CCTTCTGGGAGATGACC-MGB
虹鳟鱼	OM-F	ACCATTAATTAACATAAAACCTCCAG
	OM-R	GTAATGCCTGCTGCCAGGA
	OM-P	VIC-CGTTTGAGCCGTGCTA-MGB
细胞色素氧化酶亚基 I	C-F	TCAACCAACCACAAAGACATTGGC
	C-R	TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA

注:SS 表示 *Salmo salar*, 代表大西洋鲑鱼;OM 表示 *Oncorhynchus mykiss*, 代表虹鳟鱼,C 表示 cytochrome oxidase subunit I, 表示细胞色素氧化酶亚基 I;F 代表上游引物;R 代表下游引物;P 代表探针。

2.2 仪器和试剂

QuantStudio 6 Flex 荧光定量 PCR 仪、1300 系列 A2 级别生物安全柜、Sorvall™ ST 8 离心机(美国 Thermofisher 公司);Biospec-nano 核酸蛋白测定仪(日本岛津公司);Sub-cell GT 核酸电泳仪、PowerPac Basic 电泳仪电泳、GelDoc XR+凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

PCR 产物测序由生物工程(上海)股份有限公司完成。

DNA 提取试剂:血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒(货号 DP304-02, 分子生物学试剂, 天根生化科技(北京)有限公司);荧光 PCR 试剂 Takara Premix Ex Taq (Probe qPCR) RR390A、普通 PCR 试剂 TaKaRa Ex Taq RR001A、琼脂糖 Code No.5260 和 DL2000 Marker Code No.3427Q 均为分子生物学试剂,购买于宝生物工程(大连)股份有限公司。

2.3 实验方法

2.3.1 DNA 提取

用无菌剪刀称取样品置于 2 mL 无菌离心管中,DNA 提取步骤见商业化 DNA 提取试剂盒说明书。

2.3.2 DNA 浓度测定

取 3 μL 提取的 DNA 置于核酸蛋白测定仪上,以灭菌水作为参比,进行浓度测定。

2.3.3 荧光 PCR 扩增

大西洋鲑鱼扩增体系:PCR Mix 12.5 μL, 上游引物 0.25 μL (工作浓度 10 μmol/L), 下游引物 0.5 μL(工作浓度 10 μmol/L), 探针 0.35 μL(工作浓度 10 μmol/L), DNA 模板 25~100 ng, 用灭菌水补足至总体积 25 μL。

虹鳟鱼扩增体系:PCR Mix 12.5 μL, 上游引物 0.5 μL(工作浓度 10 μmol/L), 下游引物 0.75 μL(工作浓度 10 μmol/L), 探针 0.325 μL(工作浓度 10 μmol/L), DNA 模板 25~100 ng, 用灭菌水补足至总体积 25 μL。

大西洋鲑鱼和虹鳟鱼扩增条件:95 °C 15 min; 95 °C 15 s; 63 °C 1 min, 并收集荧光信号, 40 个循环。

大西洋鲑鱼和虹鳟鱼扩增结果判定;若 *Ct* 值 ≤30, 则检测结果判定为阳性;若 *Ct* 值 > 30, 则检测结果判定为阴性。

2.3.4 普通 PCR 扩增及测序

扩增体系;10×Buffer 2.5 μL, dNTP 2.0 μL, 上游引物和下游引物各 1 μL(工作浓度 10 μmol/L), Taq 酶 0.2 μL, DNA 模板 20~100 ng, 用灭菌水补足至总体积 25 μL。

扩增条件;95 °C 5 min; 95 °C 20 s; 54 °C 20 s; 72 °C 1 min, 40 个循环; 72 °C 5 min。

扩增后的产物进行琼脂糖电泳, 琼脂糖胶浓度为 1%。电泳条件为恒压 120 V 40 min。

电泳结束后将扩增产物送去测序, 测序结果在 NCBI(national center for biotechnology information)中比对。

3 结果与分析

3.1 双重 PCR 体系的构建

提取大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的 DNA, 采用引物 C-F 和 C-R 扩增其 COI 序列并进行测序, 将测序结果在 NCBI 中比对, 比对结果与物种标识信息一致。因此, 可以将大西洋鲑鱼和虹鳟鱼 DNA 作为实验过程中的阳性对照。

将大西洋鲑鱼的引物探针(SS-F、SS-R、SS-P)和虹鳟鱼的引物探针(OM-F、OM-R、OM-P)同时加入到 1 个 PCR 管中, 进行双重实时荧光 PCR 反应。向实验组 1 的管中加入 50 ng 大西洋鲑鱼 DNA, 向实验组 2 的管中加入 50 ng 虹鳟鱼的 DNA, 向实验组 3 的管中加入 25 ng 大西洋鲑鱼的 DNA 和 25 ng 虹鳟鱼的 DNA, 向实验组 4 中加入 ddH₂O 作为阴性对照。

结果如图 1 所示。根据判定规则, 实验组 1 的鉴定结果为大西洋鲑鱼阳性; 实验组 2 的鉴定结果为虹鳟鱼阳性; 实验组 3 的鉴定结果为大西洋鲑鱼阳性, 虹鳟鱼阳性; 实验组 4 的鉴定结果为阴性。实验结果说明, 该双重实时荧光 PCR 方法通过 1 管 PCR 反应即可同时鉴别大西洋鲑鱼和虹鳟鱼。

3.2 PCR 反应条件的优化

为了缩短 PCR 反应时间, 对 PCR 反应程序进行优化。将预变性时间由 15 min 改为 3 min, 变性时间由 1 min 改为 10 s。在这个条件下, 研究退火延伸时间在 60 s、40 s 和 20 s 时的 PCR 反应情况, 扩增结果见图 2。从图中可以看出, 不同退火延伸时间对大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的检出结果无影响。为了缩短反应时间, 选择 20 s 的退火延伸时间。

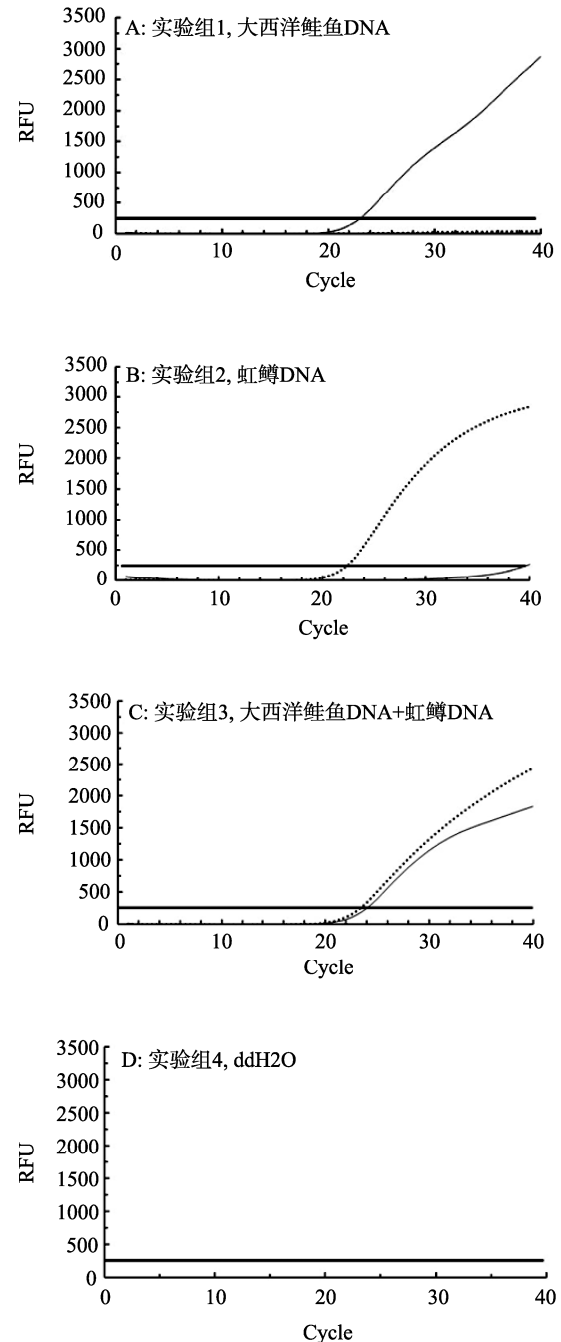
采用梯度 PCR 的方式, 在 50~63 °C 之间设置 8 个温度点(63、62.3、60.8、58.2、55.1、52.6、50.8、50 °C), 研究退火延伸温度对 PCR 反应的影响, 结果如图 3 所示。从图中可以看出, 不同退火延伸温度对大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的检出结果无影响。但是退火延伸温度越高, PCR 反应从变性阶段进入退火延伸阶段所需要的时间越短。因此, 在不影响检测结果的情况下, 选择 63 °C 作为退火延伸温度, 可使整个 PCR 反应的时间最短。

采用 3.1 中的反应程序, 大西洋鲑鱼和虹鳟鱼双重实时荧光 PCR 反应时间为 131 min。采用优化后的反应程序, 整个 PCR 反应所需时间为 59 min。反应程序优化后, PCR 反应时间缩短了一半。

3.3 方法的特异性

采用中国三文鱼市场中比较常见的王鲑(*Oncorhynchus tshawytscha*)和银鲑(*Oncorhynchus kisutch*)的 DNA, 对该方法引物的特异性进行验证。设置 6 个实验组。向实验组 1 的管中加入 50 ng 王鲑 DNA, 向实验组 2 的管中加入 50 ng 银鲑的 DNA, 向实验组 3 的管中加入 25 ng

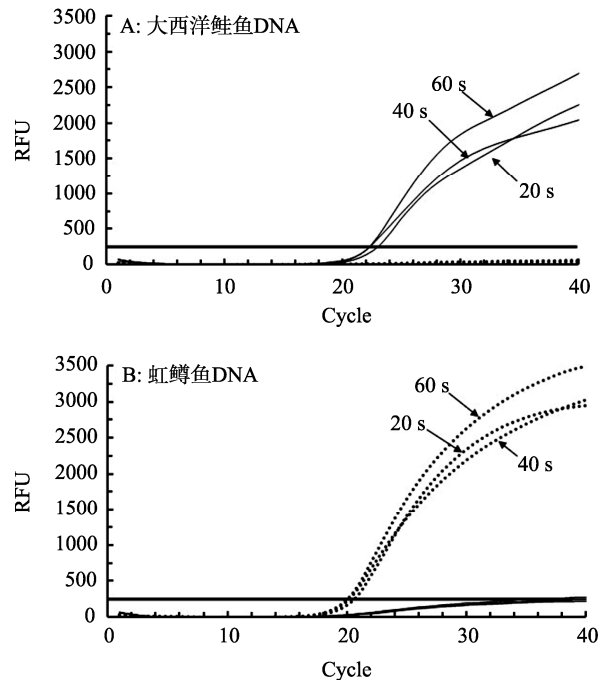
大西洋鲑鱼的 DNA 和 25 ng 王鲑的 DNA, 向实验组 4 的管中加入 25 ng 虹鳟的 DNA 和 25 ng 王鲑的 DNA, 向实验组 5 的管中加入大西洋鲑鱼的 DNA 和 25 ng 银鲑的 DNA, 向实验组 6 的管中加入虹鳟的 DNA 和 25 ng 银鲑的 DNA。



注: A: 实验组 1; B: 实验组 2; C: 实验组 3; D: 实验组 4。细实线表示大西洋鲑鱼的扩增曲线, 圆点线表示虹鳟的扩增曲线, 粗实线表示阈值线。

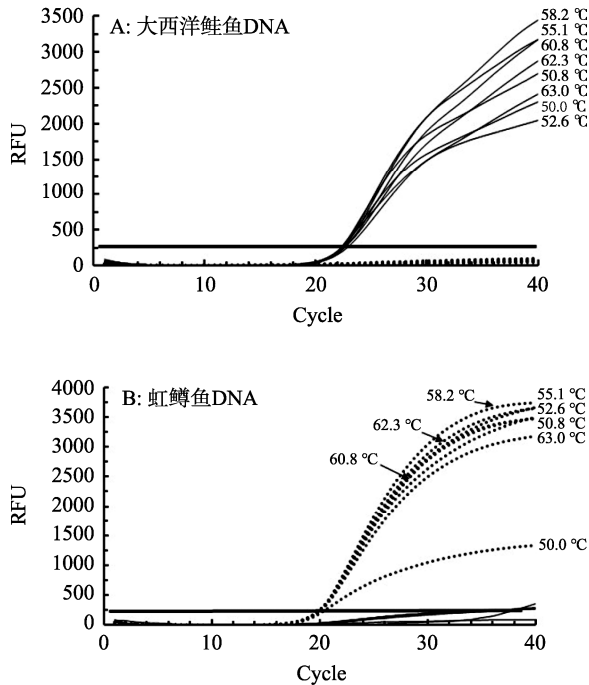
图 1 大西洋鲑鱼 DNA 和虹鳟鱼 DNA 在双重实时荧光 PCR 鉴别体系中的扩增曲线

Fig.1 The amplification result of *Salmo salar* and *Oncorhynchus mykiss* DNA in the dual real-time PCR



注: A: 大西洋鲑鱼 DNA; B: 虹鳟鱼 DNA。细实线表示大西洋鲑鱼的扩增曲线, 圆点线表示虹鳟的扩增曲线, 粗实线表示阈值线。
图 2 不同退火延伸时间对大西洋鲑鱼和虹鳟鱼双重实时荧光 PCR 反应的影响

Fig.2 Effects of different annealing extension time on the dual real-time PCR of *Salmo salar* and *Oncorhynchus mykiss*



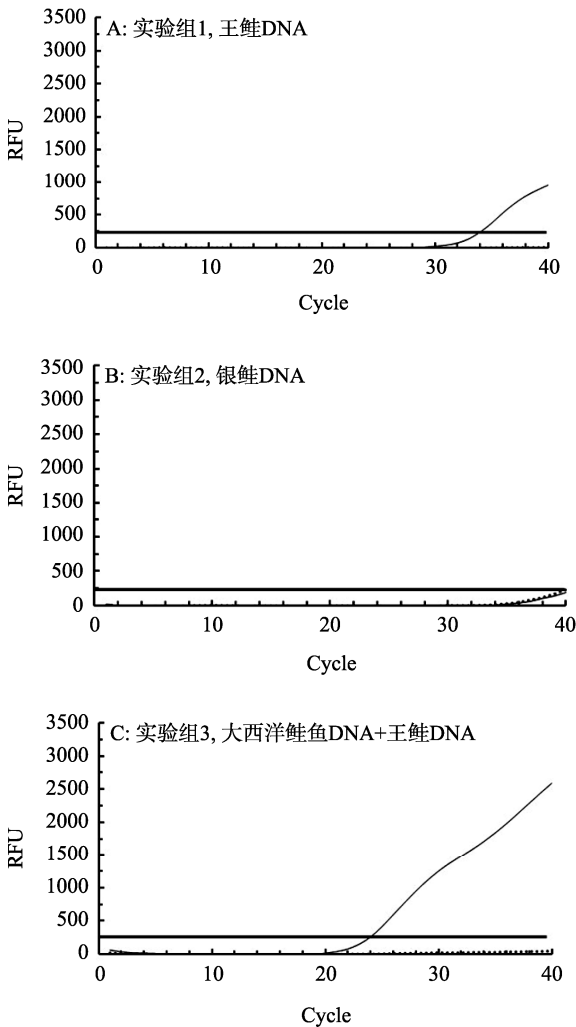
注: A: 大西洋鲑鱼 DNA; B: 虹鳟鱼 DNA。细实线表示大西洋鲑鱼的扩增曲线, 圆点线表示虹鳟的扩增曲线, 粗实线表示阈值线。
图 3 不同退火延伸温度对大西洋鲑鱼和虹鳟鱼双重实时荧光 PCR 反应的影响

Fig.3 Effects of different annealing extension temperatures on the dual real-time fluorescence PCR of *Salmo salar* and *Oncorhynchus mykiss*

各实验组的实时荧光 PCR 扩增图谱如图 4 所示。实验组 1 和实验组 2 的鉴定结果为阴性; 实验组 3 和实验组 5 的鉴定结果为大西洋鲑鱼阳性; 实验组 4 和实验组 6 的鉴定结果为虹鳟鱼阳性。以上实验结果说明, 本方法具有很好的特异性, 不会受到王鲑、银鲑等其他亲缘关系较近的品种影响。

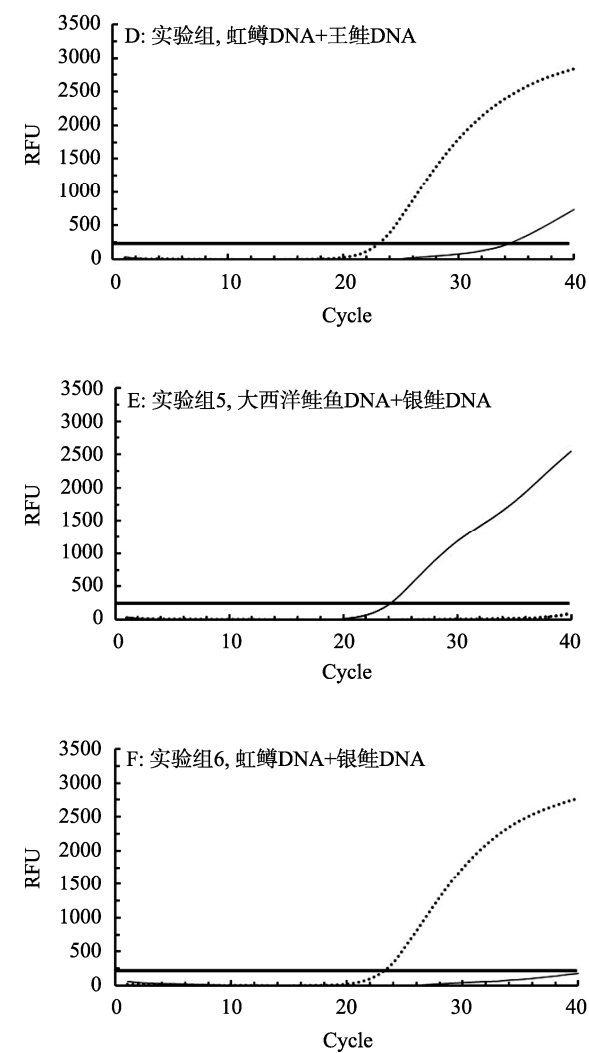
3.4 方法的灵敏度

采用大西洋鲑鱼 DNA 和虹鳟 DNA 确定本方法的灵敏度, 设置 2 个实验组。向实验组 1 中加入 0.5 ng 大西洋鲑鱼 DNA 和 500 ng 虹鳟 DNA, 实验组 1 中大西洋鲑鱼 DNA 的质量分数为 0.1%; 向实验组 2 中加入 0.5 ng 虹鳟 DNA 和 500 ng 大西洋鲑鱼 DNA, 实验组 2 中虹鳟的质量分数为 0.1%。



注: A: 实验组 1; B: 实验组 2; C: 实验组 3; D: 实验组 4; E: 实验组 5; F: 实验组 6。细实线表示大西洋鲑鱼的扩增曲线, 圆点线表示虹鳟的扩增曲线, 粗实线表示阈值线。

图 4 方法特异性的验证
Fig.4 The specificity verification of the method



注: A: 实验组 1; B: 实验组 2; C: 实验组 3; D: 实验组 4; E: 实验组 5; F: 实验组 6。细实线表示大西洋鲑鱼的扩增曲线, 圆点线表示虹鳟的扩增曲线, 粗实线表示阈值线。

续图 4 方法特异性的验证

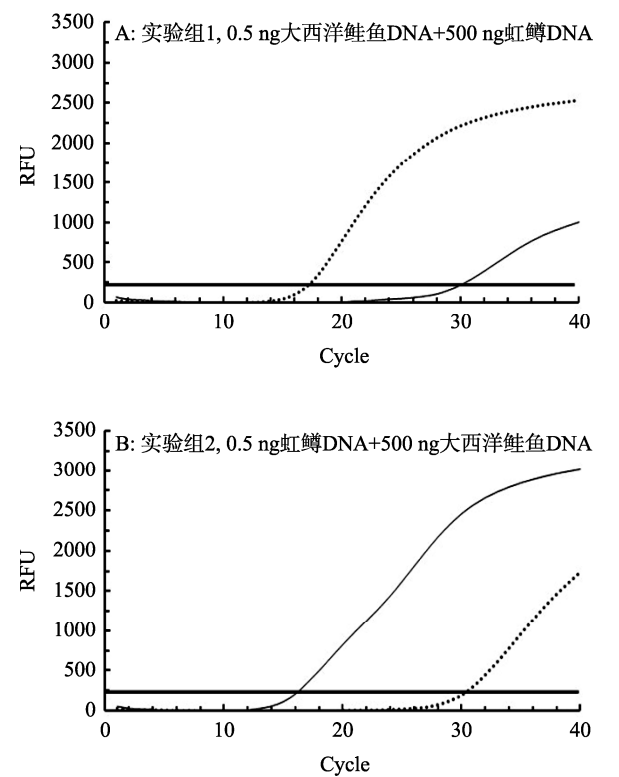
Fig.4 The specificity verification of the method

各实验组的实时荧光 PCR 图谱如图 5 所示。实验组 1 的检测结果为大西洋鲑鱼阳性, 说明本方法可以检测到质量分数为 0.1% 的大西洋鲑鱼; 实验组 2 的检出结果为虹鳟阳性, 说明本方法可以检测到质量分数为 0.1% 的虹鳟鱼。以上实验结果说明, 本方法对大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的灵敏性均可达到 0.1%。

3.5 市售三文鱼样品的检测

从市场上随机购买 10 份具有物种标识或产地标识的三文鱼水产品, 采用本文所述方法进行检测, 检测结果见表 2。7 份样品的检测结果为大西洋鲑鱼阳性, 虹鳟鱼阴性; 3 份样品的虹鳟鱼阳性, 大西洋鲑鱼阴性。同时, 采用 C-F

和 C-R 引物对这 10 份样品的 COI 序列进行扩增, 扩增产物经测序比对, 与表 2 中的检测结果一致。



注: A: 实验组 1; B: 实验组 2。图中细实线表示大西洋鲑鱼的扩增曲线, 圆点线表示虹鳟的扩增曲线, 粗实线表示阈值线。

图 5 方法灵敏度的验证

Fig.5 The sensitivity verification of the method

3.6 与现有方法的比较

目前, 大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的检测方法主要有实时荧光 PCR 法、等温 PCR 法、普通 PCR 法和光谱法(表 3)。与现有方法相比, 本方法可以在 1 h 内完成 PCR 反应, 检测时间短。本方法可通过 1 管 PCR 反应同时检测大西洋鲑鱼和虹鳟鱼, 无需 1 个检测指标对应 1 管 PCR, 节省了试剂耗材。在结果判定方法, 本方法直接依据 Ct 值判定, 无需进行测序或进行数据库比对, 结果准确。

4 结 论

针对三文鱼产品中用虹鳟鱼冒充大西洋鲑鱼的问题, 本研究建立了一种可以同时鉴别大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的双重实时荧光 PCR 检测方法, 并优化了反应条件, 鉴定可在 1 h 以内完成。同时, 本研究对该方法的特异性和灵敏性进行了验证, 并应用该方法对 10 份市售三文鱼样品进行了检测, 检测结果与采用 COI 片段测序鉴定的结果一致。表明该方法对大西洋鲑鱼和虹鳟鱼的鉴定具有较好的检测效果,

表 2 对 10 份市售三文鱼水产品的检测结果
Table 2 The test results for 10 batches of salmon in the market

编号	名称	物种标识	产地标识	鉴定结果
1	三文鱼刺身	大西洋鲑鱼	智利	大西洋鲑鱼阳性, 虹鳟阴性
2	三文鱼刺身	大西洋鲑鱼	挪威	大西洋鲑鱼阳性, 虹鳟阴性
3	三文鱼刺身	大西洋鲑鱼	澳大利亚	大西洋鲑鱼阳性, 虹鳟阴性
4	三文鱼刺身	大西洋鲑鱼	法罗群岛	大西洋鲑鱼阳性, 虹鳟阴性
5	三文鱼刺身	大西洋鲑鱼	丹麦	大西洋鲑鱼阳性, 虹鳟阴性
6	三文鱼刺身	大西洋鲑鱼	英国	大西洋鲑鱼阳性, 虹鳟阴性
7	三文鱼刺身	大西洋鲑鱼	加拿大	大西洋鲑鱼阳性, 虹鳟阴性
8	三文鱼刺身	虹鳟	青海	虹鳟阳性, 大西洋鲑鱼阴性
9	烟熏三文鱼	虹鳟	—	虹鳟阳性, 大西洋鲑鱼阴性
10	烟熏三文鱼	虹鳟	—	虹鳟阳性, 大西洋鲑鱼阴性

表 3 本方法与现有检测方法的比较
Table 3 The comparison of this method and existing detection methods

方法名称	PCR 反应时间	可以同时检测的物种数	结果判定	结果准确性
本方法	1 h 以内	2	直接判定	准确
现有实时荧光 PCR 方法 ^[13,14,16,17]	大于 1 h	1	直接判定	准确
等温 PCR 方法 ^[9]	1 h 以内	1	直接判定	准确
普通 PCR 方法 ^[11,12,15]	大于 1 h	1	测序后与数据库比对后判定	准确
光谱法 ^[8,10]	—	—	与数据库比对, 计算复杂	有待提高

效率高, 灵敏度高, 特异性好。该方法的建立为政府加强三文鱼水产品市场监管力度, 打击三文鱼水产品中的掺杂使假行为, 保障消费者的合法权益, 提供了有力的技术手段。

参考文献

[1] 周井娟, 陈林兴. 世界三文鱼的贸易格局及发展预测[J]. 农业经济与管理, 2012, (2): 86–92.
Zhou JJ, Chen LX. World salmon trade pattern and development forecast [J]. Agric Econ Manag, 2012, (2): 86–92.

[2] 张静, 陶宁萍, 王明福. 三文鱼头、金枪鱼头及鲮鱼头脂质组成及脂肪酸组成分析[C]. 青岛: 中国食品科学技术学会第 15 届年会, 2018.
Zhang J, Tao NP, Wang MF. Characterization of lipids composition and fatty acids profile from three fish heads [C]. Qingdao: The 15th Annual Meeting of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018.

[3] 徐玉兰, 牛洪波. 三文鱼多不饱和脂肪酸分析及稳定性研究[J]. 烟台职业学院学报, 2018, 24(3): 90–92.
Xu YL, Niu HB. Analysis and stability of polyunsaturated fatty acids in salmon [J]. J Yantai Vocational Coll, 2018, 24(3): 90–92.

[4] 罗刚. 三文鱼营养研究概况[J]. 畜牧与饲料科学, 2009, 30(5): 23.
Luo G. Overview of salmon nutrition research [J]. Anim Husb Feed Sci, 2009, 30(5): 23.

[5] 孙大江, 王炳谦. 鲑科鱼类及其养殖状况[J]. 水产学杂志, 2010, 23(2):

56–63.
Sun DJ, Wang BQ. Aquaculture of salmonids in China [J]. Chin J Fish, 2010, 23(2): 56–63.

[6] Knapp G, Roheim CA, Anderson JL. The great salmon run: Competition between wild and farmed salmon [M]. The Great Salmon Run: Competition between Wild and Farmed Salmon, 2007.

[7] 何晓霞, 许艳丽, 徐颖. 麻哈鱼掺假鉴定及制度防范措施和建议[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(1): 220–225.
He XX, Xu YL, Xu Y. Adulteration identification of salmon and institutional preventive measures and suggestion [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(1): 220–225.

[8] 吴霆, 钟南, 杨灵. 红外光谱技术的三文鱼肉假冒鉴别[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, (10): 96–100, 167.
Wu T, Zhong N, Yang L. Infrared spectroscopy of salmon meat counterfeit identification [J]. Spectrosc Spect Anal, 2017, (10): 96–100, 167.

[9] 朱逢乐. 基于光谱和高光谱成像技术的海水产品品质快速无损检测[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
Zhu FL. Rapid and non-destructive detection of marine fish quality based on spectroscopy and hyperspectral imaging technique [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.

[10] 李青娇. 利用分子生物学技术对几种水产加工品原料的鉴定研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2013.
Li QJ. Authentication of several processed aquatic products based on

- molecular biology method [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2013.
- [11] Hellberg RSR, Morrissey MT, Hanner RH. A multiplex PCR method for the identification of commercially important salmon and trout species (*Oncorhynchus* and *Salmo*) in north America [J]. J Food Sci, 2010, 75(7): 12.
- [12] 李新光, 赵峰, 马丽萍, 等. 基于 SYBR-Green 熔解曲线快速鉴别挪威三文鱼及其制品的方法[J]. 中国食品学报, 2014, (3): 170–176.
- Li XG, Zhao F, Ma LP, *et al.* A method for rapid identification of Norwegian salmon and its products based on sybr-green melting curve [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2014, (3): 170–176.
- [13] 李进波, 李想, 湛鸿超, 等. 实时荧光 PCR 法鉴定食品中鲑亚科鱼成分[J]. 食品科学, 2013, 34(20): 194–198.
- Li JB, Li X, Shen HC, *et al.* Identification of salmoninae in foods by real-time PCR [J]. Food Sci, 2013, 34(20): 194–198.
- [14] 冯俊丽, 叶剑, 孟璐, 等. 环介导等温扩增技术快速检测大西洋鲑的研究[J]. 核农学报, 2017, 31(5): 868–875.
- Feng JL, Ye J, Meng L, *et al.* Rapid detection of arctic salmon by ring-mediated isothermal amplification [J]. J Nucl Agric Sci, 2017, 31(5): 868–875.
- [15] 孟玮, 杨天燕, 海萨, 等. 基于线粒体 COI 基因序列的亚东鲑 DNA 条形码研究[J]. 水产学杂志, 2010, 23(1): 6–10.
- Meng W, Yang TY, Hai S, *et al.* Study of DNA barcoding based on the mitochondrial COI gene sequences in salmotruttafraio [J]. Chin J Fish, 2010, 23(1): 6–10.
- [16] Rasmussen RS, Morrissey MT, Hebert PDN. DNA barcoding of commercially important salmon and trout species (*Oncorhynchus* and *Salmo*) from north America [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(18): 8379–8385.
- [17] 赵紫霞, 张瀚元, 徐桂彩. 用于鉴别大西洋鲑和虹鳟的生物传感检测方法[J]. 生物技术通报, 2017, 33(6): 54–61.
- Zhao ZX, Zhang HY, Xu GC. Electrochemical bio-sensing method for identification of atlantic salmon and rainbow trout [J]. Biotechnol Bull, 2017, 33(6): 54–61.
- [18] Nataliav I, Tylers Z, Roberth H, *et al.* Universal primer cocktails for fish DNA barcoding [J]. Mol Ecol Res, 2010, 7(4): 544–548.
- [19] Folmer O. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. Mol Mar Biotechnol, 1994, 3(5): 294–299.

(责任编辑: 苏笑芳)

作者简介



周 露, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品生物安全。

E-mail: zhoululu1982@sohu.com