

鱼胶基原鱼种鉴定技术研究进展

朱崧琪¹, 史亚千², 黄超华¹, 曹琛福^{1,2}, 纪帆³, 罗宝正⁴, 郑晓聪^{1,2*}

(1. 深圳海关动植物检验检疫技术中心, 深圳 518000; 2. 深圳市检验检疫科学研究院, 深圳 518000;
3. 深圳海关动植物检疫处, 深圳 518000; 4. 拱北海关技术中心, 珠海 519000)

摘要: 鱼胶作为我国传统滋补药材, 近年来其消费市场日益繁荣, 鱼胶基原鱼种来源范围不断扩大, 尤其是进口基原鱼种占比不断提升, 部分市售鱼胶真伪难辨, 鱼胶基原鱼种鉴定需求不断增加。本文概述了鱼胶基原鱼种形态学鉴定法、光学分析法和分子生物学鉴定法的发展历程、应用情况, 对比了分子生物学方法中不同基因片段、不同引物等的适用性, 分析了上述方法的优缺点。传统形态学鉴定具有快速、不需要鉴定人员具备较高实验操作能力的优势, 但依赖专家个人经验和观察手段, 且对鱼胶残片等形态特征缺失的样品鉴定能力有限; 光学分析法无法精确到种属; 而以 DNA 条形码技术为主的分子生物学方法是对某一特定区域的 DNA 序列排列顺序进行对比分析, 鉴定结果准确, 但较为耗时。由于鱼胶是动物组织干制品, 在物种鉴定方面具有形态信息较少、样品处理时间较长等特点, 本文有针对性地综合国内外相关研究, 对特殊动物组织物种鉴定研究方法进行了综述, 为以后进口贸易或市场监管中如何优化鉴定技术提供理论依据。

关键词: 鱼胶; 鉴定; 形态学; DNA 条形码

Research progress of identification techniques for original species of isinglass

ZHU Song-Qi¹, SHI Ya-Qian², HUANG Chao-Hua¹, CAO Chen-Fu^{1,2}, JI Fan³,
LUO Bao-Zheng⁴, ZHENG Xiao-Cong^{1,2*}

(1. *Animal and Plant Inspection and Quarantine Technology Center of Shenzhen Customs District, Shenzhen 518000, China*; 2. *Shenzhen Scientific Academy of Inspection and Quarantine, Shenzhen 518000, China*;
3. *Animal and Plant Quarantine Division of Shenzhen Customs District, Shenzhen 518000, China*;
4. *Technical Center of Gongbei Customs, Zhuhai 519000, China*)

ABSTRACT: As a traditional tonic medicine in China, isinglass has become increasingly prosperous in its consumption market in recent years, and the source range of original fish species has been continuously expanded, especially the proportion of those which are imported has been continuously increased, it is difficult to distinguish the authenticity of some commercially available isinglass, and the demand for identification of original fish species has been increasing. This paper summarized the development and application of morphological identification, optical analysis and molecular biology identification of original fish species for isinglass, compared the applicability of different gene sequences and different primers in molecular biology methods, and analyzed the advantages and disadvantages of the above methods. Traditional morphological identification has the advantage of being fast and

基金项目: 海关总署 2020 年科技项目(2020HK167)、原国家质检总局科技项目(2015IK246)

Fund: Supported by the 2020 Science and Technology Project of the General Administration of Customs (2020HK167), and the Science and Technology Project of Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine (2015IK246)

*通信作者: 郑晓聪, 高级兽医师, 主要研究方向为水生动物疫病, 物种鉴定。E-mail: 108914963@qq.com

*Corresponding author: ZHENG Xiao-Cong, Senior Veterinarian, Animal and Plant Inspection and Quarantine Technology Center of Shenzhen Customs District, Shenzhen 518000, China. E-mail: 108914963@qq.com

requiring no testers to have high experimental operation ability, but it relies on the personal experience and observation means of experts, and has limited identification ability for samples with missing morphological characteristics such as isinglass fragments; optical analysis cannot be accurate to species; the molecular biology method based on DNA barcode technology performs comparative analysis on the DNA sequence arrangement order of a specific region, and the identification result is accurate, but time-consuming. As isinglass is a dry product of animal tissues, it has the characteristics of less morphological information and longer sample processing time in species identification, this paper based on the relevant research at home and abroad, reviewed the research methods of species identification of special animal tissues, which will provide a theoretical basis for how to optimize the identification technology in the future import trade or market supervision.

KEY WORDS: isinglass; identification; morphological; DNA barcoding

0 引言

鱼胶,即鱼鳔(swim-bladder)经晒干之后制成的一类海产品的统称。鱼鳔是鱼类的器官之一,位于消化管与脊柱之间,为充盈 O₂、N₂ 和 CO₂ 等气体的囊状组织;主要作用是对鱼体进行比重调节,在缺氧环境中可辅助呼吸,另外对压力感知、发声也有一定作用^[1]。硬骨鱼类大多都有鱼鳔,分为管鳔类和闭鳔类,其形状大小因鱼种不同而有很大差异,如鳗鲡目(Anguilliformes)海鳗科(Muraenesocidae)的海鳗(*Muraenesox cinereus*)为管状鳔,鲤形目(Cypriniformes)的草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)和鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)为卵圆形鳔,石首鱼科(Sciaenidae)和鱈科(Sillaginidae)鱼鳔为萝卜形且具有复杂的附肢结构等。鱼鳔的主要成分为约 60%~70%以上的蛋白质、20%左右的水分和少量脂肪及灰分^[2]。不同鱼种的鱼鳔各类成分的含量略有差异,但是其所含氨基酸情况较为相似^[3],主要有甘氨酸(glycine, Gly)、丙氨酸(alanine, Ala)、谷氨酸(glutamate, Glu)以及脯氨酸(proline, Pro)、精氨酸(arginine, Arg)、天冬氨酸(aspartic, Asp)等^[4-8]。氨基酸是构成动物营养的蛋白质的基本组分,鱼鳔作为水产品的可食用副产品,具有蛋白质含量高、脂肪含量低、钙锌铁镁硒等矿物元素丰富等优点^[3]。因此,我国自古以来就有将鱼鳔腌制、煮胶冻、干制等诸多方法加工为鱼胶而食用或药用的记载^[2],其与鱼骨、鱼翅、海参、鲍鱼、干贝、鱼唇、鱼子并称为“海八珍”。中医认为,鱼胶性平微温、味厚腻,有补益肝肾、散瘀止血等功效^[2];随着生物技术的持续发展,关于鱼胶的研究不断多元化和深化,进一步证明了其所含多肽、多糖成分具有广泛而独特的生物活性,具有抗氧化、增强免疫活性等方面的功效^[9]。由于鱼鳔的重要组分为高级胶原蛋白,如新鲜鲫鳔组织中胶原蛋白含量为 115.05 mg/g,蛋白质含量高达 84.2%,且其胶原蛋白具有免疫原性低、组织相容性高、细胞活化能力强、可降解性好等多种优良生物学性状,因此除药用和食用价值外,其在化妆品、药用辅料、组织工程、药物输送、仿生材料、

生物发电等领域也有广阔的开发利用前景^[9]。

我国传统制备鱼胶的鱼类大多来自于石首鱼科,鱼胶多产于江苏、浙江、福建和广东一带。近年来,随着人民生活水平的日益提升,鱼胶的购买力市场持续扩容,同时远洋捕捞投入加大、全球化贸易进一步加深,世界各地的鱼胶涌入我国鱼胶市场,用于制备鱼胶的鱼种也逐步扩大到美洲、大洋洲和非洲等地其他有鳔的海洋和淡水鱼类^[10]。由于鱼胶来源鱼种范围不断扩大,且形态大多相似,鱼胶市场存在以常见普通基原鱼种替代珍稀基原鱼种等以假乱真、以次充好的现象,更有新闻报道近年来违法分子制售走私鱼胶,其中不乏濒危鱼种制品^[11-12],从中牟取暴利^[13-14]。因此,当前对鱼胶基原鱼种的鉴定需求非常迫切。本文综合国内外对鱼胶基原鱼种形态学鉴定法、光学分析法和分子生物学鉴定法的研究和应用发展历程,对比了分子生物学方法中不同基因片段、不同引物等的适用性。由于鱼胶是动物组织干制品,在物种鉴定方面具有形态信息较少、样品处理时间较长等特点,本文重点对特殊动物组织物种鉴定研究方法进行综述,为以后进口贸易或市场监管中如何优化鉴定技术提供理论依据。

1 我国常见鱼胶的分类情况

我国在长期的海洋经济开发过程中,对鱼胶的食用从古至今有着丰富的实践。在药食同源的民间鱼胶市场中,不同基原鱼种的鱼胶则各冠以不同商品名称。

1.1 鱼胶常见商品名称分类

郑晓聪等^[10]应用 DNA 条形码技术(DNA Barcoding)对市场采集的 94 份鱼胶样品进行基原鱼种鉴定,商品名称涉及“黄花鱼胶”“北海鱼胶”“赤筒胶”“大公肚”“赤嘴蟹鱼胶”“鳕鱼胶”“鳗鱼胶”“白花鱼胶”“蜘蛛胶”等共计 19 种。从上述商品名称可以看出,部分命名方式是以基原鱼种为依据,如“黄花鱼胶”“白花鱼胶”“鳕鱼胶”“鳗鱼胶”等;部分命名是以鱼胶形态为依据,如“赤筒胶”“细须金钱”等;还有一些是以产地为命名依据,如“北海鱼胶”“安南鱼胶”

等。由于多数鱼胶形态大同小异, 商品名称的命名原则没有明确的标准可以遵循, 部分商品名称所对应的鱼胶种类也并非唯一, 甚至有不法分子刻意混淆、以次充好。因此, 仅仅从商品名称上, 无法确定鱼胶基原鱼种。

1.2 鱼胶的常见基原鱼种

不同商品名称对应的基原鱼种也名目繁多。除石首鱼科鱼类之外, 我国传统常见鱼胶还有鳗鱼、鲟鱼等多种基原鱼种。近年来, 鱼胶基原鱼种的范围迅速扩大: 2009 年, 曹卉等^[15]通过线粒体 16S 基因序列分析了 5 种市场采集的干制鱼鳔样品基原鱼种; 2015 年, WEN 等^[16]利用线粒体 16S 基因序列对广州市某海产品干货批发场所采取的 15 份不同商品名称鱼胶样品(每份取样 40 个、每 10 个为一组)进行鉴定, 共计鉴定出 7 个种的基原鱼类, 其中只有 2 种在我国海域有分布, 其余 5 种主要分布于大洋洲、美洲和非洲。2016 年, 蔡炫等^[17]利用线粒体细胞色素氧化酶 I (cytochrome oxidase I, COI) 基因序列对来自广州 4 个药材店铺的产自 7 个不同国家的 11 个鱼胶样品进行鉴定, 结果显示这些样品基原鱼种来自 3 个科、5 个种。同年, TUULI 等^[18]利用线粒体 16S 基因序列分析了香港海鲜干货店采集的 79 个鱼胶样品, 其中 36 个样品成功获取 16S 基因序列, 在 GenBank 数据库进行比对, 鉴定出 5 个种的基原鱼种。2018 年, 彭继烽等^[19]采取 8 个成品鱼胶样品以及对照品等 4 个鱼胶样品, 共计鉴定出 9 个种的基原鱼种。上述所有鉴定情况如表 1^[15-19]所示。

表 1 近年来我国市售常见鱼胶基原鱼种鉴定结果
Table 1 Identification results of original species for common commercial isinglass in China in recent years

商品标签	鉴定结果	主要分布地区
石首鱼科	苏里南犬牙石首鱼	西大西洋
石首鱼科	菊黄半海鲶	中太平洋西部
石首鱼科	苏里南犬牙石首鱼	西大西洋
石首鱼科	苏里南犬牙石首鱼	西大西洋
石首鱼科	苏里南犬牙石首鱼	西大西洋
鳗鱼	印度原鹤海鳗	印度-西太平洋
鳗鱼	印度原鹤海鳗	印度-西太平洋
黄鱼	尼罗尖吻鲈	非洲
黄鱼	尼罗尖吻鲈	非洲
黄鱼	尼罗尖吻鲈	非洲
黄鱼	尼罗尖吻鲈	非洲
黄鱼	双棘原黄姑鱼	印度-西太平洋
鱼胶	派克沼海鲶	西大西洋
白姑鱼	加勒比海沼海鲶	西大西洋
白姑鱼	加勒比海沼海鲶	西大西洋
黄花胶	尼罗尖吻鲈	非洲

表 1(续)

商品标签	鉴定结果	主要分布地区
蝴蝶胶	克氏须魮鲷	中太平洋东部
鲨鱼胶	苏里南犬牙石首鱼	西大西洋
黄花胶	尼罗尖吻鲈	非洲
蝴蝶胶	克氏须魮鲷	中太平洋东部
鲨鱼胶	双棘原黄姑鱼	印度-西太平洋
黄花胶	尼罗尖吻鲈	非洲
黄花胶	尼罗尖吻鲈	非洲
鲨鱼胶	钩牙皇石首鱼	西大西洋
鲨鱼胶	苏里南犬牙石首鱼	西大西洋
鲨鱼胶	苏里南犬牙石首鱼	西大西洋
花胶	小鳞犬牙石首鱼/ 苏里南犬牙石首鱼	西大西洋
鳐鱼	长吻拟牙鲆	印度-西太平洋
花胶	尼罗尖吻鲈	非洲
北海	绿色犬牙石首鱼	西大西洋
赤嘴	双棘原黄姑鱼	印度-西太平洋
北海	苏里南犬牙石首鱼	西大西洋
赤嘴	双棘原黄姑鱼	印度-西太平洋
葫芦胶	派克沼海鲶	西大西洋
斗湖	十指马鲛	东大西洋
北海	绿色犬牙石首鱼	西大西洋
赤嘴蟹	短须似牙鲆	印度-西太平洋
蟹鱼	日本白姑鱼	印度-西太平洋
赤嘴	双棘原黄姑鱼	印度-西太平洋
大黄鱼	大黄鱼	西北太平洋
鳗鱼	星康吉鳗	西北太平洋
金龙鱼鳔(干)	双棘原黄姑鱼	印度-西太平洋
大北海鱼鳔(干)	短鳍犬牙石首鱼	东太平洋中部
白花鱼鳔(干)	浅色黄姑鱼	印度—中国南海、 东海—菲律宾
花胶鱼鳔(干)	尼罗尖吻鲈	非洲
深海鲨鱼鳔(干)	长吻拟牙鲆	印度-西太平洋

注: 表 1 所列鉴定结果表示样品实验结果, 不作为商品标签与基原鱼种相符与否的判断依据。

目前, 尚无规范的商品名称与基原鱼种的对应关系, 上述鱼胶商品名多为传统名称, 如黄花胶、鲨鱼胶、赤嘴胶、鳗鱼胶、北海胶、斗湖胶、葫芦胶等, 从表 1 可以看出, 其来源鱼种范围已扩大化, 分布涉及非洲、西大西洋、东大西洋、印度-西太平洋、西北太平洋、中太平洋东部、中太平洋西部等广泛海域。

2 鱼胶基原鱼种鉴定技术

鱼胶基原鱼种的鉴定技术理论上应与鱼类物种鉴定方法类似,主要有形态学鉴定方法和分子生物学鉴定方法,另偶见光学分析方法的应用。鱼类的形态学鉴定方面,传统方法是对体表特征进行鉴别,近年来发展方向更倾向于引入数字化技术,分为较早的提取轮廓特征、进行模式识别分类的浅层机器学习和基于人工神经网络的深度学习^[20];鱼类的分子生物学鉴定多数为基于聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增的 DNA 条形码^[21-24]、限制性内切酶片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)^[15,25]、随机扩增 DNA 多态性分析(random amplified polymorphic DNA, RAPD)^[26]、环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)^[27-28]、芯片生物分析^[29]等,其中主流方法 DNA 条形码还衍生微型 DNA 条形码^[30-31]、环境 DNA 宏条形码^[32]等技术。此外,高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[33]和红外光谱法^[34]等也在鱼类物种鉴别中多次应用。在上述方法中,仅 DNA 条形码技术在鱼胶基原鱼种鉴定中广泛使用,其余方法很少见于鱼胶基原鱼种鉴定的相关报导。

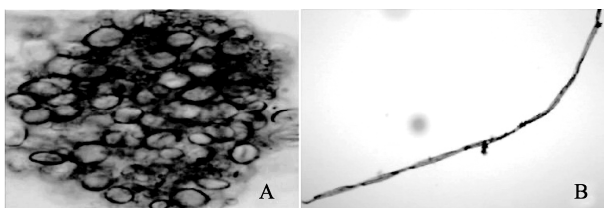
2.1 形态学鉴定方法

2.1.1 传统形态学鉴定

1963 年,朱元鼎^[35]对我国石首鱼科鱼类鱼鳔的外形和附肢等特征作了详细描述,将分布于我国海域的石首鱼鱼鳔分为石首鱼型、叫姑鱼型、毛鳔型、黄唇鱼型和黄鱼型 5 类。此后,郭昶畅^[36]将我国海域的石首鱼鱼鳔分类细化为拟石首鱼型、白姑鱼型、黄唇鱼型、黄鱼型、黑姑鱼型、牙鳔型、毛鳔型、银姑鱼型、黄姑鱼型和叫姑鱼型 10 类。另外,2003 年, MCKAY 以鱼鳔形态和附肢特征为依据将已知的西太平洋鳔科鱼类进行分类^[37]。但除上述对石首鱼科以及鳔科鱼类的鱼鳔有较为详尽的形态学鉴定描述之外,其他鱼类鱼鳔形态特征的相关研究资料相对匮乏。

2.1.2 显微特征鉴定

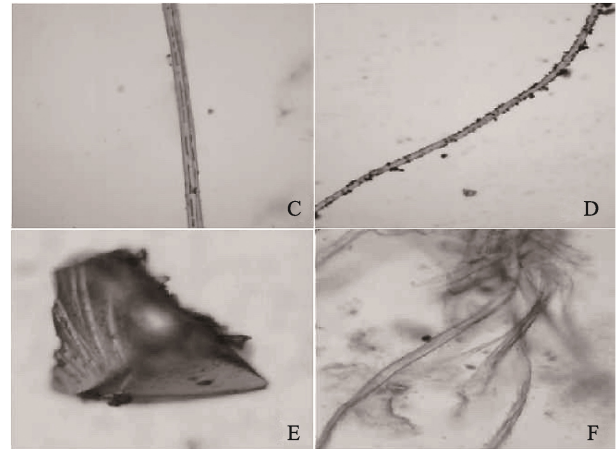
2020 年,段秀俊等^[38]在 200 倍显微镜下观察河鱼鱼鳔和海鱼鱼鳔的显微特征,说明了鱼鳔蛋白和平滑肌纤维的不同状态,如图 1 和图 2。但该实验的显微特征鉴定无法鉴定到种,仅适用于考虑有其他物质冒充的鱼胶真伪判别,以及特征明显的非近缘鱼种的鉴别。



注: A 为蛋白; B 为平滑肌纤维。

图 1 鱼胶显微特征($\times 200$)^[38]

Fig.1 Microscopic features about isinglass ($\times 200$)^[38]



注: C 为肌膜凹陷的平滑肌纤维; D 为带毛刺平滑肌纤维; E 为成层平滑肌纤维; F 为成束平滑肌纤维。

图 2 鱼胶平滑肌纤维显微特征($\times 200$)^[38]

Fig.2 Microscopic features about smooth muscle fiber of isinglass ($\times 200$)^[38]

2.2 光学分析法

2011 年,杨璐等^[34]用红外光谱和拉曼光谱对作为文物修复胶料的鱼鳔胶进行分析,通过红外吸收光谱指出鱼鳔胶在 1076 cm^{-1} 附近存在特征吸收峰,该峰主要是由丝氨酸侧链上 C-O 键的伸缩振动产生,由于丝氨酸在动物从水生到陆生的进化过程中逐渐转变成了羟脯氨酸,因此该峰在陆生哺乳动物胶的红外光谱中并不显著,如图 3。同样,该实验仅对鱼鳔胶和陆生哺乳动物胶进行了判别,并未对鱼胶基原鱼种鉴定到种;张童童等^[39]采用红外光谱法对比大黄鱼、小黄鱼两种石首鱼药材与棘头梅童鱼的多处吸收峰,认为一维红外谱图无论是峰形、峰数和峰强都比较相近,不利于鉴定;选取 $1800\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ 波段范围进一步采用二阶导数谱图消除背景和基线影响后,谱图间差异扩大,3 种样品均出现各自特定峰,有效实现鱼种鉴别。推论红外光谱分析鉴定鱼胶理论上也可以鉴定到种,但不适用于近缘鱼种鱼胶以及大批量鱼胶样品的鉴别。

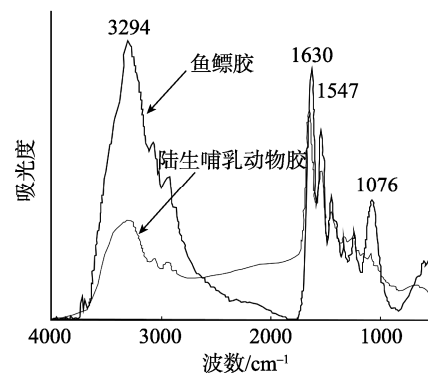


图 3 鱼鳔胶和陆生哺乳动物胶的红外吸收光谱^[34]

Fig.3 Infrared absorption spectra of fish bladder glue and terricolous mammal glue^[34]

2.3 分子生物学鉴定方法

由于目前世界范围内已知鱼类超 30000 种^[40], 传统的形态学鉴定方法存在较大的局限性, 光学分析法应用较少, 对于部分形态学特征已经破坏的鱼胶样本和非传统基原鱼种鱼胶的鉴定无法仅依靠形态学鉴定和光学分析方法, 因此鉴定范围更广、结果更准确的分子生物学方法近年来在鱼胶基原鱼种鉴定领域的应用较为广泛。目前, 普遍采用基于 PCR 技术的 DNA 条形码技术对鱼胶进行基原鉴定, 并在核酸提取、基因片段选择、引物选择等方面逐步实现优化。

2.3.1 核酸提取

由于鱼胶作为鱼类器官干制品, 其已经过干燥和一段时间的储存, 样品 DNA 已发生一定程度的降解, 核酸提取的难度有一定程度的增加。TUULI 等^[18]对在香港采集的 79 份鱼胶样品进行扩增后发现, 有超过一半没有扩增出目标序列; 通过多次实验对同一样品不同部位取样提取核酸获得的扩增效果相似。除样品 DNA 发生降解之外, TUULI 等^[18]和彭继烽等^[19]均考虑到陈旧样品受细菌污染的可能性。因此, 彭继烽等^[19]尝试优化鱼胶 DNA 的提取方法和鱼胶 DNA 模板扩增体系。在 DNA 提取方面, 主要选择离心柱法和磁珠法试剂盒, 传统的离心柱法是通过将核酸吸附于硅胶膜, 再加入洗涤剂反复离心, 最后进行洗脱; 磁珠法是对磁珠修饰可吸附核酸的活性官能团, 使核酸产生特异性结合, 再利用磁珠磁性和外磁场的共同作用实现核酸的定向移动与富集。不同品牌和型号的试剂盒的实际效果取决于样品特性、缓冲液结合能力和试剂盒容量等诸多因素。本文所收集的实验案例中, Magen 磁珠法组织 DNA 提取试剂盒容量受限, 获得的模板浓度不足; 天根深加工食品 DNA 提取试剂盒获得的模板浓度最高, 但纯化效果较差。综合来看, Magen HiPure Tissue DNAMini Kit 和原平皓组织/细胞基因组 DNA 快速提取试剂盒在样本浓度和纯化效果方面均有不错表现。具体效果如表 2 所示。

2.3.2 基因片段选择

DNA 条形码技术的基本思路是找到一段目标基因, 通过基本局部比对搜索工具(basic local alignment search

tool, BLAST)等工具分析其序列来进行物种鉴定。作为 DNA 条形码的基因片段必须能够体现足够变异、相对保守、便于扩增、片段相对较短、必须是较为标准的序列区域、目标序列区域包含足够的系统进化信息, 便于在物种分类系统中准确定位^[41]。2003 年, HEBERT 等^[42]对比研究了脊椎动物和无脊椎动物共 11 门 13320 个物种的 *COI* 基因序列, 发现 98% 的物种的种内遗传距离差异在 0%~2% 之间, 这一距离差在种间则平均提高到 11.3%; 因此 HEBERT 等^[42]提出可以分析一段长度为 648 bp 的 *COI* 基因片段的种内、种间差来区分动物物种, 建立一种适用于动物物种的可标准化的、更准确的鉴定方法。目前, 鱼类物种鉴定已应用的基因片段较多, 除 *COI* 基因外, 16S rRNA、12S rRNA、细胞色素 b (cytochrome b, Cytb) 基因、NADH 脱氢酶 1 (nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase, ND1)、NADH 脱氢酶 2 (nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase, ND2)、控制区 D-loop、腺苷三磷酸酶 6 (adenosine triphosphatase6, ATPA6) 和腺苷三磷酸酶 8 (adenosine triphosphatase8, ATPA8) 等均有应用^[43-44]。而针对鱼胶基原鱼种的 DNA 条形码鉴定相对不多, 目前仅见 *COI*、16S rRNA 和 12S rRNA 基因的运用^[45]。*COI* 基因突变速率适中, 适用于多数动物物种的鉴定, 数据库覆盖率高, 应用较广泛, 但有时也出现难以鉴别分化程度低的物种的情况; 12S rRNA 和 16S rRNA 比较适用于属间和分化较早的种间系统关系^[43-44]; 16S rRNA 既具有高度保守性, 又有足够的变异, 且其序列的变异与遗传距离相对应, 但数据库覆盖范围有限, 有待进一步扩大; 12S rRNA 基因也是在高度保守的同时具有种间可辨性, 主要用于种以上分类单元的系统学研究。

曹卉等^[15]、WEN 等^[16]、TUULI 等^[18]分别以 16S rRNA 为目标片段开展鱼胶基原鱼种的鉴定。2015 年, 阎婷等^[45]以 12S rRNA 基因序列为目标片段, 设计了通过特异性引物来分别配成试剂盒的快速鉴定方法, 该技术在 PCR 反应时只需加入模板, 反应完成后可直接电泳, 大大简化了鉴定流程, 在相关检测机构对鱼胶真伪鉴定时具有较高的应用价值。2014 年, 朱惠敏等^[46]以 *COI* 基因为目标片段对市

表 2 部分核酸提取试剂盒效果评价
Table 2 Evaluations of partial nucleic acid extraction kits

DNA 提取试剂盒	获得模板浓度/(ng/μL)	A_{280}/A_{260}	A_{260}/A_{230}
Magen HiPure Tissue DNAMini Kit	>100(大部分)	1.80	2.00~2.30
Magen 磁珠法组织 DNA 提取试剂盒	<50	1.80	2.00~2.30
原平皓组织/细胞基因组 DNA 快速提取试剂盒	>100(大部分)	1.60	<2.00
天根海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒	>20	1.54	<2.00
天根深加工食品 DNA 提取试剂盒	>150	1.60	<2.00

场采集的 10 个鱼胶样品进行真伪鉴定; 2018 年, 彭继烽等^[19]优化了鱼胶 DNA 的提取方法和鱼胶 DNA 模板扩增体系; 对不同 DNA 提取试剂盒的效果、不同引物扩增效果、不同消化时间的效果、不同退火温度和不同酶的效率进行比较, 为 DNA 条形码技术在鱼胶分子生物学鉴定方法的优化给予了参考。鱼胶 DNA 条形码鉴定常用基因片段对比情况如表 3。

2.3.3 引物选择

在鱼胶分子生物学鉴定的引物选择上, 如表 4 所示, 生命条形码联盟(consortium for the barcode of life, CBOL)和中国药典推荐的 LCO1490/HCO2198 动物通用引物在不同实验中扩增的目标条带均较弱^[17], 出现较多非特异性条带^[19]。2018 年, 彭继烽等^[19]使用 ITS3/ITS4 基因扩增引物也出现较多非特异性扩增, 而蝾螈科物种 *COI*引物 DK1-CO1/DK1-CO2、PALUMBI 等报道的 16SAR/16SBR 引物对、鱼类通用引物 Fish F/Fish R 和 Fish F2/Fish R2 均获得清晰、稳定的目标扩增条带。此外, 在个别鱼胶基原

鱼种的快速鉴定方面, 2015 年, 阎婷等^[45]采用十六烷基三甲基溴化铵法(cetyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)提取大黄鱼、小黄鱼还有另外 6 个常见混淆或冒充品共计 8 种鱼鳔样品的 DNA, 依托其 12S rRNA 基因序列, 设计适用于大黄鱼和小黄鱼的特异性引物, 经 PCR 反应, 显示该引物 Fish-F1/FishD-R1 对大黄鱼鱼鳔的扩增能够得到单一且清晰的目标条带, 可作为大黄鱼鱼鳔特异性引物; Fish-F1/FishX-R2 扩增小黄鱼鱼鳔时也能够得到单一且清晰的目标条带, 可作为小黄鱼鱼鳔特异性引物; 因此本方法可以精准鉴别大、小黄鱼鱼鳔及其混淆品, 阎婷等^[45]认为上述两对特异性引物可分别配成试剂盒, PCR 时只需加入模板, 反应完成后即可直接电泳, 能够简化鉴定流程, 适用于检测机构对大、小黄鱼鱼胶真伪的快速鉴定。综合考虑已有研究, LCO1490/HCO2198 动物通用引物和 ITS3/ITS4 引物扩增效果稍弱, 而相对于 DK1-CO1/DK1-CO2、16SAR/16SBR 等针对部分鱼种效果更好的引物而言, 鱼类通用引物 1、2 适用范围更广泛、效果普遍较好。

表 3 鱼胶 DNA 条形码鉴定常用基因片段对比
Table 3 Comparison of common gene sequences of DNA barcoding for isinglass

DNA 条形码	基因片段来源	优缺点比较
<i>COI</i>	线粒体基因组中编码细胞色素 C 氧化酶亚基 I 的基因	在进化中相对保守 ^[46] , 突变速率适中, 应用广泛, 有时难以辨别分化程度低的物种 ^[43]
12S rRNA	真核生物线粒体内核糖体的组成部分, 由 mtDNA 编码的两种 rRNA 之一	适用于属间和分化较早的种间系统关系 ^[43]
16S rRNA	真核生物线粒体内核糖体的组成部分, 由 mtDNA 编码的两种 rRNA 之一	适用于属间和分化较早的种间系统关系 ^[43] , 具有强保守性, 进化慢 ^[44] , 被称为“进化分子钟”

表 4 鱼胶鉴定常用引物扩增效果比较
Table 4 Comparison of amplification effects of common primers for isinglass identification

引物对名称	引物说明	5'→3'	扩增效果
LCO1490/HCO2198 ^[17,19]	CBOL 推荐动物通用引物	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG/TAAACTT CAGGGTGACCAAAAAATCA	条带弱, 扩增成功率较低
DK1-CO1/DK1-CO2 ^[17]	蝾螈科物种 <i>COI</i> 引物	CAACTAACCACAAAAGACATCGG/CTTCTGGGT GGCCGAAAAACA	条带清晰、稳定, 扩增后测序成功率高
16SAR/16SBR ^[15-16,18]	PALUMBI 等报道	CGCCTGTTTATCAAAAACAT/CCGGTCTGAAC TCAGATCACGT	条带清晰, 获得预期扩增
Fish F/Fish R ^[19,46]	鱼类通用引物 1	TCAACCAACCACAAAAGACATTGGCAG/TAGAC TTCTGGGTGGCCAAAAGAATCA	条带清晰, 可获得预期扩增
Fish F2/Fish R2 ^[19]	鱼类通用引物 2	TCGACTAATCATAAAGATATCGGCAC/ACTTCA GGGTGACCGAAGAATCAGAA	条带清晰, 可获得预期扩增
ITS3/ITS4 ^[19]	辅助序列	GCATCGATGAAGAACGCAGC/TCCTCCGCTTA TTGAATATGC	出现较多非特异性扩增

3 现行鉴定技术应用情况讨论

鱼鳔作为鱼胶的制作原料, 其本身作为鱼类的器官之一, 所具备的形态学特征较少, 主要集中在其形态(萝卜型、漏斗型、Y 字型、纸片型、橄榄型、圆萝卜型、圆筒型、扁袋型、琵琶型、T 字型、U 字型、心型、月牙型、

长圆锥型等^[47])、层数(单层、双层)、是否具有附肢等。再加上受制作工艺、鱼鳔本身完整性的影响, 传统的形态学鉴定方法在当前鱼胶基原鱼种来源范围不断扩大的情况下, 已无法满足准确鉴定的迫切需求。因此, 可准确鉴定到种的 DNA 条形码技术等分子生物学鉴定方法迅速发展, 填补了这一需求, 在鱼胶基原鱼种鉴定方面已成为常见应用

方法; 现有研究表明, DNA 条形码技术能够标准化鉴定流程、可利用有机体的部分残片碎片等进行有效鉴定; 对包括鱼胶在内的动植物制品尤其是失去原有形态的动植物制品鉴定具有重要意义。开展鱼胶基原鱼种鉴定可以促进鱼类资源的保护和合理利用、规范市场贸易行为、对鱼胶行业存在的“以次充好”“以假乱真”情况进行有效监督, 为打击濒危野生物种走私违法犯罪活动提供技术支持等。

但另一方面, 从上述研究也看出现有技术鱼胶基原鱼种鉴定中存在下列问题: 1) 部分适用于鱼类物种鉴定的引物, 如 CBOL 推荐的通用引物 LCO1490 和 HCO2198 在鱼胶鉴定过程中扩增成功率不理想, 鱼类生命条形码数据库(FISH-BOL)针对鱼类物种鉴定提供的“鸡尾酒”引物在实践中应用烦琐、成本较高。2) 由于鱼胶作为动物器官组织深加工干制品的特性, 有时存在因样品韧性较大而导致粉碎效果不佳、部分陈旧样品菌类滋生造成非特异性扩增严重等情况。3) COI 条码序列长度仅为 648 bp 左右, 突变速率相对于线粒体 DNA 控制区等慢, 难于分辨分化程度过低的物种。4) 线粒体基因中可能会存在杂交或者基因渗透现象, 不能揭示某些复杂生物的关系, 因此有些基原物种需要联合几个核内基因来增加分子标记数。上述问题一方面揭示鱼胶作为鱼类组织, 与鱼类物种鉴定有相通之处, 鱼类物种鉴定方法对鱼胶基原鱼种鉴定有广泛的参考意义; 另一方面揭示了干制品的加工特性又给鱼胶引入了与鱼类新鲜组织样品在样品处理和 DNA 提取结果等的不同之处。因此, 建立有针对性的鱼胶基原鱼种鉴定方法对国内鱼胶市场监管和进口相关贸易监管有重要意义。由于消费市场对于流通速度的要求, 快速、准确的鉴定方法必然是今后鱼胶基原鱼种鉴定方法优化的趋势所在。近年来, 物种鉴定的分子生物学方法不断取得新进展, 如 LAMP^[27-28] 和重组酶聚合酶扩增技术 (recombinase polymerase amplification, RPA)^[48] 等, 此类技术可在等温条件下反应, 与常规 PCR 相比, 不需要模板的热变性、温度循环, 具有简单、快速、特异性强的特点^[49-52]。但此类技术目前尚未见在鱼胶基原鱼种鉴定中的应用报道, 研究人员应尽快建立 LAMP、RPA 等无需反复加热、退火、可适用于常温条件的市场快速检测方法, 推动现场可移动式检测设备的研发和应用。

4 结束语

由于我国鱼胶消费市场不断扩大, 对市售鱼胶的快速检测需求和国境口岸截获鱼胶制品的快速鉴定需求日益迫切; 而目前鱼胶样品处理过程较长、鉴定时间较长, 无法满足上述检测鉴定需要。近年来, 重组酶聚合酶扩增技术及其他等温扩增技术由于其简单快速、灵敏度高、剪异性强、反应速率快等优势, 受到广泛关注和应用。其最显

著的特点是在等温条件下反应, 能够摆脱复杂精密的温度控制系统, 大大提升现场快速检测的可能性。在目前国内消费市场商品种类繁多、品质良莠不齐的大环境下, 鱼胶等动物制品的物种鉴定尤其是快速、准确鉴定的必要性将更加凸显, 探索建立高通量、低成本、反应快速、操作便捷的鉴定技术, 对食品消费市场监管具有重要意义。

参考文献

- [1] MICHAEL LF, KARL LM, CHARLES K, *et al.* Movement and sound generation by the toadfish swim bladder [J]. *J Comp Physiol A*, 2001, 187(5): 371-379.
- [2] 朱凯悦, 孙娜, 董秀萍, 等. 鱼胶的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(3): 284-290.
ZHU KY, SUN N, DONG XP, *et al.* Research progress of isinglass [J]. *Food Ferment Ind*, 2022, 48(3): 284-290.
- [3] 赵敏豪, 黎攀, 张豫粤, 等. 不同来源鱼鳔的营养成分比较分析[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(24): 12-17.
ZHAO MH, LI P, ZHANG YY, *et al.* Comparative analysis of nutritional components of fish maws from different sources [J]. *Food Res Dev*, 2020, 41(24): 12-17.
- [4] ALVES A, BASSOT A, BULTEAU AL, *et al.* Glycine metabolism and its alterations in obesity and metabolic diseases [J]. *Nutrients*, 2019, 11(6): 1356.
- [5] JIHAD AR, MUBARAK ZM, MUSTAFA A. The effect of *L*-arginine of treatment for infertile men on semen parameters [J]. *Tikrit J Pure Sci*, 2019, 24(5): 1.
- [6] ZHANG YF, YANG JY, MENG XP, *et al.* *L*-arginine protects against T-2 toxin-induced male reproductive impairments in mice [J]. *Theriogenology*, 2019, 126: 249-253.
- [7] PAHLAVANI N, SADEGHI O, EBRAHIMI F, *et al.* The effects of *L*-arginine supplementation on athletic performance and risk factors of car-diovascular disease: Review of current evidence [J]. *J North Khorasan Univ Med Sci*, 2019, 11(2): 8-16.
- [8] AQUINO PEA, SOUZA TDFG, SANTOS FA, *et al.* The woundhealing property of N-methyl-(2S,4R)-trans-4-hydroxy-*L*-pro-line from *Sideroxylon obtusifolium* is related to its anti-inflammatory and antioxidant actions [J]. *J Evid Based Integr Med*, 2019, 24: 1986516X-2515690X.
- [9] 李玉玲, 范志强, 刘雯恩, 等. 鱼鳔胶原蛋白的研究进展[J]. *大连海洋大学学报*, 2015, 35(1): 31-38.
LI YL, FAN ZQ, LIU WEN, *et al.* Research progress of swim bladder collagen [J]. *J Dalian Ocean Univ*, 2015, 35(1): 31-38.
- [10] 郑晓聪, 朱崧琪, 徐浩, 等. 应用 DNA 条形码技术对深圳市售花胶基原鱼种鉴定与分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(3): 963-971.
ZHENG XC, ZHU SQ, XU H, *et al.* Identification and analysis on original species of isinglass for sale in Shenzhen through DNA barcoding [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(3): 963-971.
- [11] 搜狐网. 走私“鱼胶之王”2 万个, 涉案 8 亿多元! 11 人被提起公诉 [EB/OL]. [2019-03-06]. https://www.sohu.com/a/299422601_161795 [2022-05-18].
Sohu Network. Smuggling 20000 “king of isinglass”, involving more than 800 million yuan! Eleven people were prosecuted [EB/OL]. [2019-03-06]. https://www.sohu.com/a/299422601_161795 [2022-05-18].

- [12] 搜狐网. 携 15 公斤鱼胶进境被海关查处, 涉案货值为近年最大[EB/OL]. [2018-10-13]. https://www.sohu.com/a/259277638_672426 [2022-05-18].
Sohu Network. Carrying 15 kg of isinglass into the country was investigated and dealt with by the customs, and the value involved was the largest in recent years [EB/OL]. [2018-10-13]. https://www.sohu.com/a/259277638_672426 [2022-05-18].
- [13] 搜狐网. 这些鱼翅、花胶你敢吃吗? 广东破获多起走私案[EB/OL]. [2021-06-03]. https://www.sohu.com/a/470250681_449247 [2022-05-18].
Sohu Network. Dare you eat these shark fin and isinglass? Guangdong cracked a number of smuggling cases [EB/OL]. [2021-06-03]. https://www.sohu.com/a/470250681_449247 [2022-05-18].
- [14] 中国质量新闻网. 深圳机场截获大批名贵鱼胶[EB/OL]. [2016-07-12]. https://www.cqn.com.cn/zj/content/2016-07/12/content_3144035.htm [2022-05-18].
China Quality News Network. Shenzhen airport intercepted a large number of valuable isinglass [EB/OL]. [2016-07-12]. https://www.cqn.com.cn/zj/content/2016-07/12/content_3144035.htm [2022-05-18].
- [15] 曹卉, 田晓玲, 刘昕. 鱼鳔的分子鉴别及其止血作用的药理学研究[J]. 中国食品学报, 2009, 9(4): 170–176.
CAO H, TIAN XL, LIU X. Molecular identification of swim bladder and pharmacological study on its hemostatic effect [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2009, 9(4): 170–176.
- [16] WEN J, ZENG L, SUN Y, *et al.* Authentication and traceability of fish maw products from the market using DNA sequencing [J]. Food Control, 2015, 55: 185–189.
- [17] 蔡炫, 邱雯, 田恩伟, 等. 用 DNA 条形码技术对市售花胶进行基原鉴定[J]. 中药材, 2016, 39(9): 1956–1959.
CAI X, QIU W, TIAN ENW, *et al.* Identification of original species of fish maw by DNA barcoding [J]. J Chin Med Mater, 2016, 39(9): 1956–1959.
- [18] TUULI CD, SADOVY Y, NG WC, *et al.* Molecular identification of croaker dried swim bladders (maw) on sale in Hong Kong using 16S rRNA nucleotide sequences and implications for conservation [J]. Fish Res, 2016, 174: 260–269.
- [19] 彭继烽, 林晓君, 郑剑红, 等. 基于 DNA 条形码的鱼胶鉴别技术的研究[J]. 汕头大学医学院学报, 2018, 31(4): 201–205.
PENG JF, LIN XJ, ZHENG JH, *et al.* Study of the molecular identification for isinglass on DNA barcodes [J]. J Shantou Univ Med, 2018, 31(4): 201–205.
- [20] 李洋. 基于卷积神经网络的鱼类图像识别应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
LI Y. Application of fish recognition based on convolutional neural network [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020.
- [21] NAAUM AM, HANNER R. Community engagement in seafood identification using DNA barcoding reveals market substitution in Canadian seafood [J]. DNA Barcodes, 2015, 3(1): 74–79.
- [22] HARRIS DJ, ROSADO D, XAVIER R. DNA barcoding reveals extensive mislabeling in seafood sold in portuguese supermarkets [J]. J Aquat Food Prod Technol. 2016, 25(8): 1375–1380.
- [23] YAN S, LAI G, LI L, *et al.* DNA barcoding reveals mislabeling of imported fish products in Nansha new port of Guangzhou, Guangdong province, China [J]. Food Chem, 2016, 202: 116–119.
- [24] NAGALAKSHMI K, ANNAM PK, VENKATESHWARLU G, *et al.* Mislabeling in Indian seafood: An investigation using DNA barcoding [J]. Food Control, 2016, (59): 196–200.
- [25] 李新光. 基于 DNA 条形码的鱼片(肉)真伪鉴别技术研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2013.
LI XG. Authentic identification techniques for fish fillets or fish based on DNA barcodes [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2013.
- [26] HSIEH CH, CHANG WT, CHANG HC, *et al.* Puffer fish-based commercial fraud identification in a segment of cytochrome b region by PCR-RFLP analysis [J]. Food Chem, 2010, 121(4): 1305–1311.
- [27] SAULL J, DUGGAN C, HOBBS G, *et al.* The detection of atlantic cod (*Gadus morhua*) using loop mediated isothermal amplification in conjunction with a simplified DNA extraction process [J]. Food Control, 2016, 59: 306–313.
- [28] 石磊, 王曼, 时国强, 等. 环介导等温扩增技术研究进展[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2021, 41(5): 565–571.
SHI L, WANG M, SHI GQ, *et al.* Research progress of loop-mediated isothermal amplification technology [J]. J Hebei Univ (Nat Sci Ed), 2021, 41(5): 565–571.
- [29] 齐欣, 闫平平, 曲世超, 等. 基于色质谱与芯片技术在鳕鱼物种鉴定中的应用研究[C]. 中国化学会第 22 届全国色谱学术报告会及仪器展览会论文集(第三卷), 2019.
QI X, YAN PP, QU SC, *et al.* Application of chromatography and chip technology in COD species identification [C]. Proceedings of the 22nd National Chromatography Symposium and Instrument Exhibition of Chinese Chemical Society (Volume III), 2019.
- [30] 程鹏, 张爱兵, 王忠锁. 微型 DNA 条形码在鱼类识别上的应用[J]. 首都师范大学学报(自然科学版), 2012, 33(2): 47–52.
CHENG P, ZHANG AIB, WANG ZS. Mini DNA barcode utilizes in fish classification [J]. J Capital Norm Univ (Nat Sci Ed), 2012, 33(2): 47–52.
- [31] 邢炳鹏, 张雅兰, 王彦国, 等. 微型 DNA 条形码在鱼类物种鉴定中的适用性研究[J]. 应用海洋学学报, 2020, 39(4): 559–565.
XING BP, ZHANG ZL, WANG YG, *et al.* Suitability of mini-DNA barcoding for classification of fishes [J]. J Appl Oceanogr, 2020, 39(4): 559–565.
- [32] 高旭. 太湖鱼类环境 DNA 宏条形码快速监测技术应用研究[D]. 南京: 南京大学, 2020.
GAO X. Application research on rapid monitoring of tai lake fish by environmental DNA metabarcoding [D]. Nanjing: Nanjing University, 2020.
- [33] 顾得月, 任西杰, 迟长风, 等. 大黄鱼 HPLC 指纹图谱的建立及其在产地溯源和物种鉴别中的应用[J]. 水产学报, 2016, 40(2): 164–177.
GU DY, REN XJ, CHI CF, *et al.* Establishment of HPLC fingerprint of *Pseudosciaena crocea* and its application in origin traceability and species identification [J]. J Fish China, 2016, 40(2): 164–177.
- [34] 杨璐, 王丽琴, 黄建华, 等. 文物胶料鱼鳔胶的红外光谱、拉曼光谱及氨基酸分析[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2011, 41(1): 63–66.
YANG L, WANG LQ, HUANG JH, *et al.* The investigation of fish bladder glue, a kind of binder commonly used in painted relics, by using FTIR, micro-Raman spectroscopy and amino acid analysis [J]. J Northwest Univ (Nat Sci Ed), 2011, 41(1): 63–66.
- [35] 朱元鼎. 中国石首鱼分类系统的研究和新属新种的叙述[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1963.
ZHU YD. Studies on the Sciaenidae taxonomic system of in China and descriptions of new genera and species [M]. Shanghai: Shanghai Science

- and Technology Press, 1963.
- [36] 郭昶畅. 中国沿海石首鱼科鱼类的鉴定、分类和分子系统发育研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2017.
- GUO CC. Identification, classification and molecular phylogeny of Sciaenidae species from Chinese waters [D]. Xiamen: Xiamen University, 2017.
- [37] MCKAY. FAO species identification guide for fishery purposes. The living marine resources of the Western Central Pacific. Volume 4: Bony fishes part 2 (Order PERCIFORMES: PERCOIDEI) [Z]. <https://www.fao.org/3/x2400e/x2400e00.htm>
- [38] 段秀俊, 刘培, 杨超, 等. 鱼鳔质量标准的提升[J]. 中成药, 2020, 42(5): 1144–1149.
- DUAN XJ, LIU P, YANG C, *et al.* Improvement of quality standard for fish maws [J]. *Chin Tradit Pat Med*, 2020, 42(5): 1144–1149.
- [39] 张童童, 王百龙, 李高燕, 等. 石首鱼药材及其易混品的红外光谱鉴别[J]. 山东中医药大学学报, 2021, 45(6): 821–825.
- ZHANG TT, WANG BL, LI GY, *et al.* Identification of Shishouyu (*Larimichthys*) and its adulterant by infrared spectroscopy [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med*, 2021, 45(6): 821–825.
- [40] 世界鱼类数据库[DB/OL]. https://www.fishbase.in/home_chinese.htm [2022-04-14].
- Global information system on fishes [DB/OL]. https://www.fishbase.in/home_chinese.htm [2022-04-14].
- [41] SHEN Y, KANG J, CHEN W, *et al.* DNA barcoding for the identification of common economic aquatic products in central China and its application for the supervision of the market trade [J]. *Food Control*, 2016, 61: 79–91.
- [42] HEBERT PDN, CYWINSKA A, BALL SL, *et al.* Biological identification through DNA barcodes [J]. *Proc Royal Soc B: Biol Sci*, 2003, 270: 313–321.
- [43] 廖弘宇. 基于 16S rRNA、12S rRNA 和 *Cytb* 基因的中华稻蝗和日本稻蝗遗传多样性分析[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2016.
- LIAO HY. Genetic diversity analysis of 16S rRNA, 12S rRNA and *Cytb* gene among *Oxya chinensis* and *Oxya japonica* [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2016.
- [44] 李伟, 陈婷, 董文鸽. 基于线粒体 16S rRNA 序列和线粒体基因组裂化程度分析吸虱亚目系统发育[J]. 应用昆虫学报, 2020, 57(6): 1350–1361.
- LI W, CHEN T, DONG WG. Phylogeny of the Anoplura based on variation in 16S rRNA sequences and the extent of mitochondrial genome fragmentation in this group [J]. *Chin J Appl Entomol*, 2020, 57(6): 1350–1361.
- [45] 阎婷, 李娜, 贾景明, 等. 高特异性聚合酶链反应法鉴别大、小黄鱼鱼鳔及其混淆品[J]. 中国药房, 2015, 26(4): 491–493.
- YAN T, LI N, JIA JM, *et al.* Identification of swimming bladder of *Pseudosciaena crocea* and *Pseudosciaena polyactis* and their adulterants by highly specific PCR [J]. *China Pharm*, 2015, 26(4): 491–493.
- [46] 朱惠敏, 连一阳, 王中锋, 等. 基于 *cox1* 条形码的鱼肚 DNA 分子鉴定[J]. 广东海洋大学学报, 2014, 34(6): 1–5.
- ZHU HM, LIAN YY, WANG ZD, *et al.* DNA molecular identification of fish maw based on mitochondrial *cox1* sequences [J]. *J Guangdong Ocean Univ*, 2014, 34(6): 1–5.
- [47] 林柏岸. 中国市场经济中常见花胶的 DNA 条形码(*COI*)鉴定[D]. 厦门: 厦门大学, 2018.
- LIN BAN. Species identification of fish maw in China trade markets using DNA barcoding (*COI*) [D]. Xiamen: Xiamen University, 2018.
- [48] DU XJ, ZANG YX, LIU HB, *et al.* Recombinase polymerase amplification combined with lateral flow strip for *Listeria monocytogenes* detection in food [J]. *J Food Sci*, 2018, 83(4): 1041–1047.
- [49] HTUNZ M, ROTCHANAPREEDA T, RUJIRAWAT T, *et al.* Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for identification of *Pythium insidiosum* [J]. *Int J Infect Dis*, 2020, 101: 149–159.
- [50] FERRARA M, LOGRIECO AF, MORETTIA, *et al.* A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for rapid detection of fumonisin producing *Aspergillus species* [J]. *Food Microbiol*, 2020, 90: 103469.
- [51] IVAN ML, CIARA K, O’SULLIVAN CK. Recombinase polymerase amplification: Basics, applications and recent advances [J]. *Trends Anal Chem*, 2018, 98: 19–35.
- [52] DENG H, GAO Z. Bioanalytical applications of isothermal nucleic acid amplification techniques [J]. *Anal Chim Acta*, 2015, 853: 30–45.

(责任编辑: 张晓寒 韩晓红)

作者简介



朱崧琪, 兽医师, 主要研究方向为动物检疫, 物种鉴定。

E-mail: 1409901805@qq.com



郑晓聪, 高级兽医师, 主要研究方向为水生动物疫病, 物种鉴定。

E-mail: 108914963@qq.com