

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241111003

引用格式: 黄晓韵, 叶子园, 黄丽姣, 等. 实时荧光聚合酶链式反应法鉴定螺蛳粉螺蛳肉汤包中圆田螺和环棱螺[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(5): 255-261.

HUANG XY, YE ZY, HUANG LJ, *et al.* Identification of *Cipangopaludina* and *Bellamya* in the meat soup package of river snail rice noodle by real-time fluorescence polymerase chain reaction [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(5): 255-261. (in Chinese with English abstract).

实时荧光聚合酶链式反应法鉴定螺蛳粉 螺蛳肉汤包中圆田螺和环棱螺

黄晓韵^{1,2}, 叶子园^{1,2}, 黄丽姣^{1,2}, 韦涛^{1,2}, 巫坚^{1,2*}

[1. 广西—东盟食品检验检测中心, 南宁 530029;

2. 国家市场监督管理总局技术创新中心(天然香料香精), 南宁 530029]

摘要: **目的** 基于实时荧光聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)法建立一套鉴定圆田螺和环棱螺的方法, 并对螺蛳粉中螺蛳肉汤包的螺源性成分进行鉴定。**方法** 分别以圆田螺属和环棱螺属的线粒体基因, 设计特异性引物和探针, 从方法的特异性、灵敏性和重复性考察建立的实时荧光 PCR 法的有效性。**结果** 本研究所建立的实时荧光 PCR 鉴定方法特异性强, 仅对圆田螺属和环棱螺属的 DNA 在荧光通道有荧光信号检出, 且出现典型扩增曲线, 对多种水产品、家禽家畜、香料调味料原料等异源性动植物基因组 DNA 在荧光通道均无荧光信号检出, 也无明显的扩增曲线; 该方法对圆田螺属的检测灵敏度低至 0.002 ng/ μ L, 对环棱螺属的检测灵敏度低至 0.001 ng/ μ L; 应用该方法对商场超市流通领域中的 21 批次不同品牌预包装螺蛳粉中的螺蛳肉汤包提取 DNA 进行检测。其中 7 批次不同品牌预包装螺蛳粉中螺蛳肉汤包的 DNA 检出圆田螺属成分, 占比为 33.3%; 18 批次不同品牌预包装螺蛳粉中螺蛳肉汤包的 DNA 检出环棱螺属成分, 占比为 85.7%; 3 批次不同品牌预包装螺蛳粉中螺蛳肉汤包的 DNA 均未检出圆田螺属成分和环棱螺属成分, 占比为 14.3%; 7 批次不同品牌预包装螺蛳粉中螺蛳肉汤包的 DNA 均检出圆田螺属成分和环棱螺属成分, 占比为 33.3%。**结论** 该方法特异性强, 灵敏度高, 可有效对螺蛳粉中螺蛳肉汤包的螺源性成分进行鉴定, 为市场监管提供有力的技术支持。

关键词: 圆田螺属; 环棱螺属; 螺蛳粉; 实时荧光聚合酶链式反应法

Identification of *Cipangopaludina* and *Bellamya* in the meat soup package of river snail rice noodle by real-time fluorescence polymerase chain reaction

HUANG Xiao-Yun^{1,2}, YE Zi-Yuan^{1,2}, HUANG Li-Jiao^{1,2}, WEI Tao^{1,2}, WU Jian^{1,2*}

(1. Guangxi-Asean Food Inspection Center, Nanning 530029, China; 2. Technology Innovation Center of Natural Fragrances and Flavors, State Administration for Market Regulation, Nanning 530029, China)

收稿日期: 2024-11-11

基金项目: 广西壮族自治区市场监管局科技计划项目(GXSJKJ2023-15)

第一作者: 黄晓韵(1990—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品检验检测技术。E-mail: 1274921449@qq.com

*通信作者: 巫坚(1987—), 男, 工程师, 主要研究方向为食品安全检验检测技术。E-mail: 823561681@qq.com

ABSTRACT: Objective To establish a method based on real-time fluorescent polymerase chain reaction (PCR) for the identification of the genus *Cipangopaludina* and *Bellamya*, and identify the snail-derived ingredients in the meat soup package of river snail rice noodle. **Methods** Specific primers and probes were designed using mitochondrial genes from the genera *Cipangopaludina* and *Bellamya*, respectively. The effectiveness of the established real-time fluorescence PCR method was evaluated for its specificity, sensitivity and repeatability. **Results** The real-time fluorescence PCR identification method developed in our study exhibited strong specificity, detecting fluorescence signals only in the designated channel for the DNA of the *Cipangopaludina* and *Bellamya*, with typical amplification curves observed. No fluorescence signals were detected in the designated channel for the genomic DNA of various heterogeneous animals and plants, including aquatic products, poultry, livestock, and spice and seasoning raw materials, with no observable amplification curves. The method demonstrated sensitivity as low as 0.002 ng/ μ L for *Cipangopaludina* and 0.001 ng/ μ L for *Bellamya*. The method was employed to analyze DNA extracted from snail meat soup packets in 21 batches of prepackaged river snail rice noodle across various brands in supermarket distribution. In 7 batches of prepackaged river snail rice noodle from different brands, *Cipangopaludina* components were detected in the DNA of the snail meat soup packets, representing 33.3%. In 18 batches of prepackaged river snail rice noodle from different brands, *Bellamya* components were detected in the DNA of the snail meat soup packets, representing 85.7%. In 3 batches of prepackaged river snail rice noodle from different brands, neither *Cipangopaludina* and *Bellamya* components were detected in the DNA of the snail meat soup packets, accounting for 14.3%. In 7 batches of prepackaged river snail rice noodle from different brands, both *Cipangopaludina* and *Bellamya* components were detected in the DNA of the snail meat soup packets, representing 33.3%. **Conclusion** This method boasts strong specificity and high sensitivity, effectively identifying snail-derived components in snail meat soup packets of river snail rice noodle, thereby providing robust technical support for market regulation.

KEY WORDS: *Cipangopaludina*; *Bellamya*; river snail rice noodle; real-time fluorescence polymerase chain reaction

0 引言

人类捕捞利用淡水螺的历史悠久,有研究表明,广西地区对淡水螺的捕捞食用利用史可追溯至史前人类的旧石器时代时期^[1-6]。淡水螺不但在中药上具有疗效作用,肉质鲜美,营养丰富,风味独特,还可作为禽畜饲料^[7-8],甚至是人们口中的水产美食。淡水螺种类繁多,外壳形态多有相似,但并不是所有淡水螺适合食用,误认误食往往存在较大风险。例如,和圆田螺(*Cipangopaludina*)比较相似的福寿螺(*Pomacea canaliculata*)^[9-12],是传播广州管圆线虫病的主要中间宿主^[13-16]。截至目前,螺类的鉴别主要还是依靠传统形态学进行鉴定^[17-22],但该方法比较局限于螺生长的特定阶段,且要求个体保持完整,对经过深加工后无法完成鉴定。

在我国,以圆田螺和环棱螺(*Bellamya*)为代表的淡水螺分布范围广泛。在广西柳州,螺蛳粉成为了家喻户晓的地方特色美食名片。柳州螺蛳粉得益于螺蛳肉熬制的汤料,而具有独特的“鲜”味,其中,螺蛳肉汤料主要成分就是以圆田螺和环棱螺为主要原材料。在类似柳州螺蛳粉的螺蛳肉汤包这种深加工类别食品中,无法通过直观的形态学去

分辨添加螺肉的具体种类。螺蛳肉汤包中成分复杂,包含了螺肉、禽畜肉、香料等材料,且内容物经粉碎过筛。在食品安全监测和市场监管中急需一种准确、快速、灵敏的鉴定方法来鉴别添加螺肉种类。分子生物学方法在物种鉴定、食品掺伪等领域具有独特优势且应用广泛^[23-25]。实时荧光聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)法是一种基于核酸物质鉴定物种源性成分的分子生物学方法,具有特异性高、检出限低、简单快速的特点^[26-27]。分子生物学检测方法应用在圆田螺和环棱螺鉴定的研究应用比较少,多应用在种群的遗传性分析方面^[28-29]。一方面可能是因为这两种淡水螺在传统形态学鉴定方法比较成熟,另一方面可能是因为它们都非有害淡水螺。但随着柳州螺蛳粉产业的发展,带动了这两种淡水螺的养殖和供销等问题的研究。同时,柳州螺蛳粉行业的发展,在食品安全以及高质量发展方面也受到人们越来越多的关注。此时,面对多深加工产品,传统的形态学方法无法发挥优势。因此,王炬光等^[30]和胡江如等^[31]利用分子生物学方法中的普通PCR法,分别研究了环棱螺和圆田螺的鉴定方法。但是普通PCR方法需通过电泳、凝胶成像观察结果,存在实验耗时较长的缺点。邓婷婷等^[32]利用16S rRNA基因,设计了

特异性的引物探针,完成对螺蛳粉中螺肉成分的鉴定,但是该方法无法明确区分螺肉成分的具体种类。

本研究拟基于实时荧光 PCR 法建立一套针对螺蛳粉螺蛳肉汤包中圆田螺和环棱螺的鉴定方法,通过提取螺蛳肉汤包中有效的核酸物质,寻找关键基因序列并设计特异性引物探针,通过特异性、灵敏度等实验优化检测体系和程序,并对生产企业所用的螺肉种类进行分析,为市场监管提供数据,提高螺蛳粉行业高质量发展。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

在南宁市农贸交易市场购买圆田螺、环棱螺、福寿螺、白蛤、大车螺、花蛤、油蛤、鸡肉、鸭肉、鱼肉、牦牛肉、黄牛肉、水牛肉、山羊肉、猪肉、马肉、八角、茴香、大豆;在南宁市当地商场超市购买 21 批次不同生产企业预包装螺蛳粉的螺蛳肉汤料包。

十六烷基三甲基溴化铵、三氨基甲烷、乙二胺四乙酸二钠、乙酸钠、苯酚、核酸抽提液(分析纯,北京索莱宝科技有限公司);氯化钠、氢氧化钠、盐酸、异丙醇、无水乙醇、三氯甲烷(氯仿)(分析纯,上海沪试实验室器材股份有限公司);食品 DNA 提取试剂盒[德国凯杰(QIAGEN)公司];荧光 PCR 试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]。

1.2 仪器与设备

Lab Dancer 涡旋混合仪(德国艾卡公司);OSE-DB-03 型恒温震荡金属浴、OSE-260-01TGem Plus 型全波长微量分光光度计[天根生化科技(北京)有限公司];3K15 型离心机(德国希格玛公司);MINIP-2500 型微孔离心机(杭州米欧仪器有限公司);MIKPO185 型小型离心机(德国赫提驰科学仪器公司);DLAB D1008E 型掌上离心机[大龙兴创实验仪器(北京)股份公司];Applied Biosystems™ QuantStudio 5 实时荧光定量 PCR 仪(美国应用生物系统公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 DNA 提取方法

按照 QIAGEN 食品 DNA 提取试剂盒对各个样本进行 DNA 提取,并使用全波长微量分光光度计对所提到的 DNA 进行纯度和浓度的测定,−20 °C 保存备用。

1.3.2 引物探针设计

从 Genbank 上搜索圆田螺属(中华圆田螺和中国圆田螺)、螺蛳属、福寿螺(瓶螺属)以及河螺属等物种的线粒体全基因组序列,通过基本局部对齐搜索工具(basic local alignment search tool, BLAST)分析比对,根据实时荧光 PCR 引物探针设计原则、利用核酸技术与信息学(nucleic acid technology and informatics, NTI)软件中引物设计模块设计特异性引物和探针,如表 1。

1.3.3 实时荧光 PCR 条件优化

实时荧光 PCR 反应体系的配制见表 2。

两步法反应程序:95 °C 预变性 15 min;95 °C 变性 5 s,48 °C 退火/延伸 30 s,40 个循环。

1.3.4 特异性验证

用 1.3.1 中的 DNA 提取方法,对 1.1 中的圆田螺、环棱螺、福寿螺、白蛤、大车螺、花蛤、油蛤、鸡肉、鸭肉、鱼肉、牦牛肉、黄牛肉、水牛肉、山羊肉、猪肉、马肉、八角、茴香、大豆样本进行基因组 DNA 提取,并测定其纯度和浓度, A_{260}/A_{280} 比值宜在 1.6~2.1 之间。

表 1 引物和探针序列
Table 1 Primer and probe sequences

序号	引物探针名称	碱基序列	扩增片段长度/bp	序列所在基因名称
1	YTL-F	5'-GTTTTGTGTTA ATTATAGTGA-3'	78	线粒体 <i>trnF</i> 基因
2	YTL-R	5'-ATGCTCTACT CTCAACTT-3'		
3	YTL-P	5'FAM-TTGTGGT AATTAAT-3'TAMRA	67	线粒体 <i>trnV</i> 基因
4	HLL-F	5'-ATAAGTCGT AACATAGTAA-3'		
5	HLL-R	5'-ACATTACA TTTTATGTTA-3'		
6	HLL-P	5'FAM-TCTTCCT AAGGACAA-3'MGB		

表 2 实时荧光 PCR 反应体系
Table 2 Reaction system for real-time PCR

试剂名称	工作液浓度	加样量/ μ L	终浓度
反应预混液	2×	12.50	1×
上游引物	10 μ mol/L	0.50	200 nmol/L
下游引物	10 μ mol/L	0.50	200 nmol/L
探针 P	10 μ mol/L	0.50	200 nmol/L
ROX	50×	0.25	0.5×
DNA 模板	10~100 ng/L	2.00	-
ddH ₂ O	-	8.75	-

注:ROX 荧光试剂仅在具备 ROX 校正通道的实时荧光 PCR 仪上进行扩增时添加,且终浓度根据仪器匹配的浓度按量加入,否则用 ddH₂O 补足;-表示该项无法计算。

为保证 DNA 模板的有效性,按照 GB/T 38164—2019 《常见畜禽动物源性成分检测方法 实时荧光 PCR 法》中的真核生物 18S rRNA 基因内参引物、探针,以及上机体系和程序进行检测。所有样本的 DNA 检测荧光通道有荧光信号检出,且出现典型的扩增曲线,循环阈(cycle threshold, Ct)值<30.0。

按照 1.3.3 的实时荧光 PCR 反应体系,分别用引物探针 YTL-F、YTL-R、YTL-P 和 HLL-F、HLL-R、HLL-P 对所提到的样本 DNA 进行实时荧光 PCR 扩增,同时用 ddH₂O 作为空白对照,检测建立的实时荧光 PCR 方法的特异性。

1.3.5 灵敏性和重复性实验

分别将圆田螺和环棱螺样本的基因组 DNA 进行梯度稀释, 圆田螺样本的基因组 DNA 梯度稀释至质量浓度为 20.000、2.000、0.200、0.020、0.002 ng/ μ L, 环棱螺样本的基因组 DNA 梯度稀释至质量浓度为 10.000、1.000、0.100、0.010、0.001 ng/ μ L, 每个稀释度 3 个平行, 进行实时荧光 PCR 检测, 确定建立方法的灵敏度, 同时通过平均值和变异系数考察其重复性。

1.3.6 方法应用检测

从流通领域的商场超市购买各品牌预包装螺蛳粉, 对其中的螺蛳肉汤包进行 DNA 提取^[33], 并分别命名为 LSF01~LSF21 按照 GB/T 38164—2019 中的 18S rRNA 基因内参引物、探针, 以及上机体系和程序进行检测验证样本 DNA 的有效性, 用以上建立的实时荧光 PCR 方法分别检测是否含有圆田螺和环棱螺成分。

1.4 数据处理

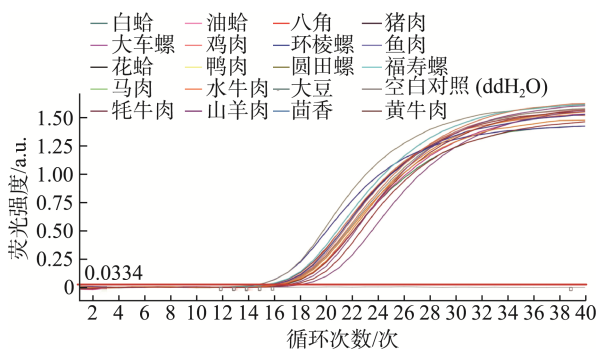
使用 NTI 10.0 软件设计探针引物, 采用 Microsoft Excel 2010 绘制表格, 采用 Applied Biosystems™ QuantStudio 5 实时荧光定量 PCR 仪进行图谱生成和判读。

2 结果与分析

2.1 特异性实验

2.1.1 样本 DNA 有效性

经用真核生物 18S rRNA 基因内参引物、探针上机扩增检测, 所提取到的样本 DNA 均有荧光信号, 出现典型的扩增线, 且 $14.0 < Ct$ 值 < 18.0 , 表明样本 DNA 均是有效的, 适用于下一步的实时荧光 PCR 检出实验(图 1)。



注: 与横坐标平行的红色横线为阈值线, 下同。

图 1 样本 DNA 的有效性检测

Fig.1 Validity testing of sample DNA

2.1.2 特异性检测

圆田螺属的引物和探针的特异性实验结果表明, 以环棱螺等其他异源性动植物的样本 DNA 作为阴性对照均没有检测到扩增的荧光信号(图 2); 环棱螺属引物和探针的特异性实验结果表明, 圆田螺等其他异源性动植物的样

本 DNA 作为阴性对照均没有检测到扩增的荧光信号(图 3); 说明建立的实时荧光 PCR 检测方法特异性良好。

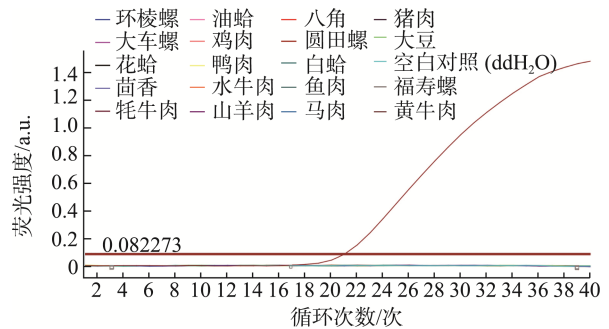


图 2 圆田螺属鉴定引物探针特异性检测

Fig.2 Specific detection of the identification primer and probe for *Cipangopaludina*

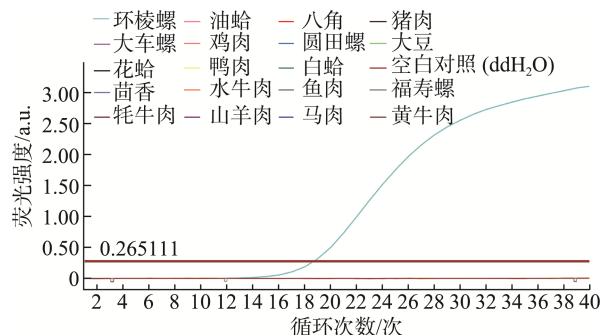


图 3 环棱螺属鉴定引物探针特异性检测

Fig.3 Specific detection of the identification primer and probe for *Bellamya*

2.2 灵敏性和重复性实验

2.2.1 圆田螺属鉴定引物探针的灵敏性和重复性实验

将圆田螺的 DNA 梯度稀释至 0.002 ng/ μ L 进行灵敏度实验, 结果显示, 出现典型的扩增曲线, 该方法对圆田螺属的基因组 DNA 检出限低至 0.002 ng/ μ L(图 4)。5 个稀释梯度, 每个稀释梯度进行的 3 个平行实验结果显示, 变异系数在 0.109%~0.970%, 说明建立的实时荧光 PCR 检测方法有较好的重复性(表 3)。

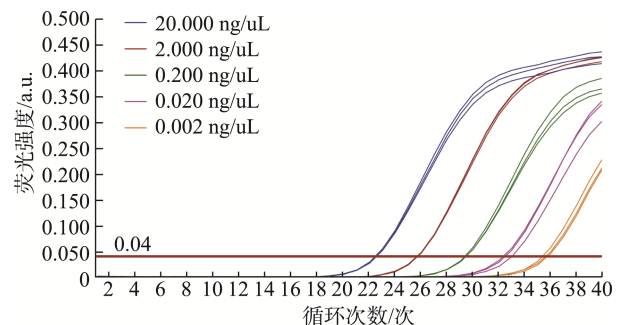


图 4 圆田螺属鉴定引物探针灵敏度和重复性检测

Fig.4 Sensitivity and repeatability detection of the identification primer and probe for *Cipangopaludina*

表 3 圆田螺属鉴定引物探针的重复性实验
Table 3 Repetitive tests on identification primer probes for *Cipangopaludina*

DNA 质量浓度/(ng/μL)	Ct 值平均值	变异系数/%
20.000	22.473	0.226
2.000	25.687	0.109
0.200	29.404	0.216
0.020	32.586	0.970
0.002	35.568	0.562

2.2.2 环棱螺属鉴定引物探针的灵敏性和重复性实验

将环棱螺的 DNA 梯度稀释至 0.0021 ng/μL 进行灵敏度实验, 结果显示, 出现典型的扩增曲线, 该方法对圆田螺属的基因组 DNA 检出限低至 0.001 ng/μL(图 5)。5 个稀释梯度, 每个稀释梯度进行的 3 个平行实验结果显示, 变异系数在 0.151%~0.904%, 说明建立的实时荧光 PCR 检测方法有较好的重复性(表 4)。

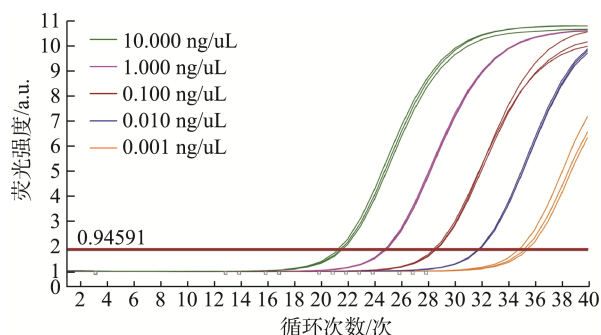


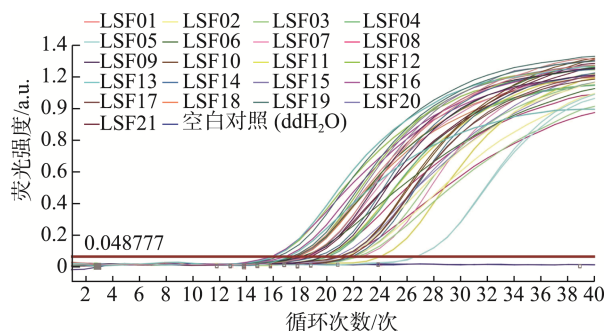
图 5 环棱螺属鉴定引物探针灵敏度和重复性检测
Fig.5 Sensitivity and repeatability detection of the identification primer and probe for *Bellamya*

表 4 圆田螺属鉴定引物探针的重复性实验
Table 4 Repetitive tests on identification primer probes for *Bellamya*

DNA 质量浓度 (ng/μL)	Ct 值平均值	变异系数/%
10.000	21.447	0.788
1.000	24.832	0.286
0.100	28.555	0.356
0.010	31.832	0.151
0.001	35.157	0.904

2.3 方法应用检测实验

经用真核生物 18S rRNA 基因内参引物、探针上机扩增检测, 从 21 个不同品牌螺蛳粉的螺蛳肉汤包中提取得到的 DNA 均有荧光信号, 出现典型的扩增曲线, 且 Ct 值 <30.0, 表明样本 DNA 均是有效的, 适用于下一步的实时荧光 PCR 检出实验(图 6)。



注: LSF01~LSF21 分别代表 21 个不同品牌螺蛳粉的螺蛳肉汤包, 下同。

图 6 样本 DNA 的有效性检测
Fig.6 Validity testing of sample DNA

用建立的圆田螺属鉴定方法检测, 结果显示 21 批次不同品牌预包装螺蛳粉中, 7 批次的螺蛳肉汤包检出圆田螺属成分(图 7)

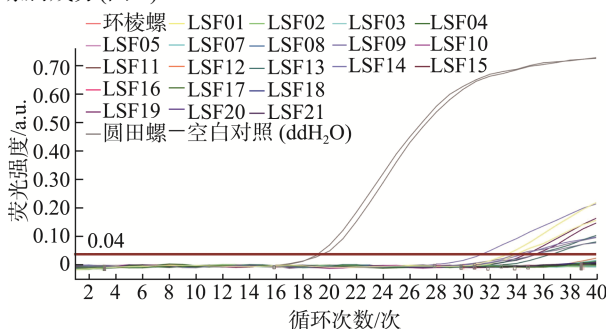


图 7 螺蛳肉汤包中圆田螺属成分检测
Fig.7 Detection of the components of *Cipangopaludina* from snail meat soup packets

用建立的环棱螺属鉴定方法检测, 结果显示 21 批次不同品牌预包装螺蛳粉中, 18 批次的螺蛳肉汤包检出环棱螺属成分(图 8)。

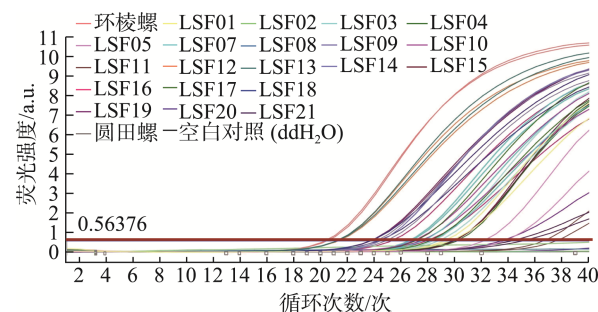


图 8 螺蛳肉汤包中环棱螺属成分检测
Fig.8 Detection of the components of *Bellamya* from snail meat soup packets

对 21 批次不同品牌预包装螺蛳粉中的螺蛳肉汤包检测结果显示: 其中 7 批次检出圆田螺属成分, 占比为 33.3%; 18 批次检出环棱螺属成分, 占比为 85.7%; 3 批次均

未检出圆田螺属成分和环棱螺属成分, 占比为 14.3%; 7 批次检出圆田螺属成分和环棱螺属成分, 占比为 33.3%。

3 讨论与结论

目前, 柳州螺蛳粉中螺蛳肉汤包的螺蛳种类主要是圆田螺属和环棱螺属, 但尚未见这两种淡水螺在生产行业中的应用比例数据报道。从本研究的结果显示, 螺蛳粉生产企业中有 85.7% 使用了环棱螺属, 使用圆田螺属的企业仅占 33.3%。这可能与这两种淡水螺的营养成分有关, 解婧媛等^[34]对这两种淡水螺的营养成分分析表明, 环棱螺属的总氨基酸含量, 特别是谷氨酸的含量要高于圆田螺属, 而柳州螺蛳粉的“鲜”味主要就是来源所用螺肉熬制。有部分生产企业的螺蛳肉汤包中检出圆田螺属成分, 不排除可能在养殖过程中混入的原因。本研究利用圆田螺属和环棱螺属的特异性基因, 分别设计了引物探针, 成功建立了鉴定方法, 并对商场超市内流通的不同生产企业的螺蛳粉中螺蛳肉汤包鉴定了圆田螺属和环棱螺属成分, 发现有 33.3% 检出圆田螺属成分, 有 85.7% 检出了环棱螺属成分, 有 33.3% 均检出圆田螺属成分和环棱螺属成分, 而有 14.3% 既未检出圆田螺属成分, 也未检出环棱螺属成分。这为市场监管提供了技术支持, 同时为螺蛳粉行业的高质量发展决策和方向提供可靠数据支撑。

参考文献

- [1] 熊芝琴. 广西史前人类对水生动物和植物的利用研究[D]. 南宁: 广西民族大学, 2023.
XIONG ZQ. Research on the utilization of aquatic animals and plants by prehistoric humans in Guangxi [D]. Nanning: Guangxi Minzu University, 2023.
- [2] 何乃汉. 广西史前时期农业的产生和发展初探[J]. 农业考古, 1985(2): 90-95, 129.
HE NH. A preliminary study on the emergence and development of agriculture in prehistoric Guangxi [J]. Agricultural archaeology, 1985(2): 90-95, 129.
- [3] 张扬. 广西靖西地区寒武纪芙蓉世界乐生物群腕足动物研究[D]. 北京: 中国石油大学, 2022.
ZHANG Y. Brachiopods from the Guole Biota (Cambrian, Furongian) of Jingxi district, Guangxi, China [D]. Beijing: China University of Petroleum, 2022.
- [4] 韩乃仁, 唐兰, 韦仁山, 等. 广西靖西果乐晚寒武世地层[J]. 桂林工学院学报, 2000(4): 350-355.
HAN NR, TANG L, WEI RS, et al. Stratigraphy of Upper Cambrian from Guole, Jingxi, Guangxi [J]. Journal of Guilin University of Technology, 2000(4): 350-355.
- [5] 胡相. 自然环境与钉螺壳形的变异[J]. 化石, 1993(1): 17-19.
HU X. The variation of natural environment and snail shell shape [J]. Fossil, 1993(1): 17-19.
- [6] 王惠基. 广西来宾合山上二叠统腹足类化石[J]. 古生物学报, 1982(4): 491-496, 529-530.
WANG HJ. Late permian gastropods from heshan of laibin, Guangxi Province [J]. Acta Palaeontologica Sinica, 1982(4): 491-496, 529-530.
- [7] 王凯, 方礼豹, 文衍红, 等. 一种环棱螺生物饲料发酵剂, 生物饲料及其制备方法: 中国, CN117467578A[P]. 2024-01-30.
WANG K, FANG LB, WEN YH, et al. A fermentation agent, biological feed, and preparation method for circular ribbed snail biological feed: China, CN117467578A [P]. 2024-01-30.
- [8] 薛玲华, 颜若彤, 韩晓磊. 2 种壳色福寿螺营养成分研究[J]. 水产养殖, 2024, 45(7): 20-25.
XUE LH, YAN RT, HAN XL. Comparative analysis of the two shell color *Pomacea canaliculata* nutrition [J]. Journal of Aquaculture, 2024, 45(7): 20-25.
- [9] 蒋玲, 赵永波, 李天美. 我国外来入侵生物福寿螺的物种鉴定[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2024, 42(3): 384-388, 398.
JIANG L, ZHAO YB, LI TM. Species identification of the invasive *Pomacea* sp. in China [J]. Chinese Journal Parasitology and Parasit, 2024, 42(3): 384-388, 398.
- [10] NURHASAN M, MAEHRE HK, MALDE MK, et al. Nutritional composition of aquatic species in Laotian rice field ecosystems [J]. Journal Food Composition & Analysis, 2010, 23(3): 205-213.
- [11] 李小慧, 胡隐昌, 宋红梅, 等. 中国福寿螺的入侵现状及防治方法研究进展[J]. 中国农学通报, 2009, 25(14): 229-232.
LI XH, HU YC, SONG HM, et al. Invasion and monitoring methods of *Pomacea canaliculata* for in China [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(14): 229-232.
- [12] 罗明珠, 章家恩, 胡九龙, 等. 福寿螺和田螺的纤维素酶反应体系对不同 pH 和温度的响应[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(4): 55-58.
LUO MZ, ZHANG JEN, HU JL, et al. Responses of cellulase reaction systems of *Pomacea canaliculata* and *Cipangopaludina chinensis* to different pH and temperature [J]. Journal of South China Agricultural University, 2015, 36(4): 55-58.
- [13] LV S, GUO YH, WEI FR, et al. Control of eosinophilic meningitis caused by *Angiostrongylus cantonensis* in China [J]. Advances in Parasitology, 2020, 110: 269-288.
- [14] 李曰进, 许艳, 郗夏颖, 等. 广州管圆线虫病的研究进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(8): 978-981.
LI YJ, XU Y, XI XY, et al. Research progress of *Angiostrongyliasis cantonensis* [J]. Journal of Pathogen Biology, 2022, 17(8): 978-981.
- [15] 张榕燕, 欧阳榕, 林陈鑫, 等. 福建省广州管圆线虫病自然疫源地调查[J]. 海峡预防医学杂志, 2017, 23(5): 4-6.
ZHANG RY, OUYANG R, LIN CX, et al. Investigation on natural epidemic foci of *Angiostrongyliasis cantonensis* [J]. Strait Journal of Preventive Medicine, 2017, 23(5): 4-6.
- [16] 王荟, 仇昊, 仇锦波. 广州管圆线虫病的传播与流行研究进展[J]. 实验与检验医学, 2010, 28(4): 377-378.
WANG H, QIU H, QIU JB. Research progress on the transmission and prevalence of Guangzhou roundworm disease [J]. Experimental and Laboratory Medicine, 2010, 28(4): 377-378.
- [17] 陆冠亚, 许萍萍, 杨诣, 等. 鸚鵡螺类与平旋壳形菊石类形态学鉴别要点[J]. 中国口岸科学技术, 2024, 6(1): 34-44.

- LU GY, XU PP, YANG Y, *et al.* Key points of morphological differentiation of *Nautiloids* and *Helicoceramites* [J]. *China Port Science and Technology*, 2024, 6(1): 34–44.
- [18] 刘敏锋, 吴明煜, 吴长春, 等. 一种快速鉴别湖北钉螺(*Oncomelania hupensis*)雌雄性的方法[J]. *湖北大学学报(自然科学版)*, 2021, 43(1): 28–32.
- LIU MF, WU MY, WU CC, *et al.* A quick way to discriminate between male and female of *Oncomelania hupensis* [J]. *Journal of Hubei University (Natural Science)*, 2021, 43(1): 28–32.
- [19] 何毛贤, 欧泽奎. 一种马蹄螺性别的鉴别和标记方法: 中国, CN107484693B[P]. 2019-06-11.
- HE MX, OU ZK. A method for identifying and labeling the sex of horseshoe snails: China, CN107484693B [P]. 2019-06-11.
- [20] 江颖, 张仪, 郭云海. 应用形态学及 DNA 条形码技术条形码技术鉴别广西横县地区两种豆螺[J]. *中国血吸虫病防治杂志*, 2016, 28(3): 284–288.
- JIANG Y, ZHANG Y, GUO YH. Identification of two *Bithynia* species from Heng County, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China by using morphological and DNA barcoding methods [J]. *Chinese Journal of Schistosomiasis Control*, 2016, 28(3): 284–288.
- [21] TIRADO T, SAURA M, ROLÁN-ALVAREZ E, *et al.* Historical biogeography of the marine snail *Littorina saxatilis* inferred from haplotype and shell morphology evolution in NW Spain [J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0161287.
- [22] LU HF, DU LN, LI ZQ, *et al.* Morphological analysis of the Chinese *Cipangopaludina* species (Gastropoda: Caenogastropoda: Viviparidae) [J]. *Dongwuxue Yanjiu*, 2014, 35(6): 510–27.
- [23] 焦宪军, 董桂花. 分子生物学技术在食品微生物检测中的应用[J]. *食品安全导刊*, 2024(15): 152–154.
- JIAO XJ, DONG GH. Application of molecular biology techniques in food microbial detection [J]. *China Food Safety Magazine*, 2024(15): 152–154.
- [24] 张丹, 王颖莉, 杜晨晖, 等. 生物学技术在药用植物鉴定中的研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(1): 214–222.
- ZHANG D, WANG YL, DU CH, *et al.* Research progress of molecular biology techniques in identification of medicinal plants [J]. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*, 2021, 27(1): 214–222.
- [25] 俞可心, 胡情情, 姚逸安, 等. 野生动物鉴定技术研究进展[J]. *科技通报*, 2022, 38(2): 1–10, 18.
- YU KX, HU QQ, YAO YAN, *et al.* Research progress on wildlife identification technology [J]. *Bulletin of Science and Technology*, 2022, 38(2): 1–10, 18.
- [26] ZENG L, WEN J, FAN SG, *et al.* Identification of sea cucumber species in processed food products by PCR-RFLP method [J]. *Food Control*, 2018, 90: 166–171.
- [27] AL-KAHTANI HA, ISMAIL EA, ASIF AM. Pork detection in binary meat mixtures and some commercial food products using conventional and real-time PCR techniques [J]. *Food Chemistry*, 2017, 219: 54–60.
- [28] 周康奇, 李育森, 林勇, 等. 广西地区中华圆田螺不同地理种群遗传多样性分析[J]. *广西科学*, 2024, 31(2): 269–278.
- ZHOU KQ, LI YL, LIN Y, *et al.* Genetic diversity analysis of different geographical populations of *Cipangopaludina cathayensis* in Guangxi Region [J]. *Guangxi Sciences*, 2024, 31(2): 269–278.
- [29] WANG JG, ZHANG D, JAKOVLIĆ I, *et al.* Sequencing of the complete mitochondrial genomes of eight freshwater snail species exposes pervasive paralogy within the Viviparidae family (Caenogastropoda) [J]. *PLoS One*, 2017, 12(7): e0181699.
- [30] 王炬光, 王卫民. 一种环棱螺类线粒体 COI 基因的扩增引物及其应用: 中国, CN106560519A [P]. 2017-04-12.
- WANG JG, WANG WM. A primer for amplification of mitochondrial COI gene in *Spirogyra* and its application: China, CN106560519A [P]. 2017-04-12.
- [31] 胡江如, 蒋艳, 韩素素, 等. 运用多重 PCR 技术建立一种田螺的基因检测方法[J]. *现代食品*, 2022, 28(7): 195–197, 201.
- HU JR, JIANG Y, HAN SS, *et al.* A genetic detection method for *Cipangopaludina chinensis* by multiplex PCR technology [J]. *Modern Food*, 2022, 28(7): 195–197, 201.
- [32] 邓婷婷, 陈颖, 卢思远, 等. 一种用于检测螺蛳粉中螺肉成分的试剂盒及方法: 中国, CN118166122A [P]. 2024-06-11.
- DENG TT, CHEN Y, LU SY, *et al.* A kit and method for detecting the composition of snail meat in Luosifen: China, CN118166122A [P]. 2024-06-11.
- [33] 黄晓韵, 杨丽玉, 巫坚. 螺蛳肉汤包的 DNA 提取方法效果比较及优化研究[J]. *现代食品*, 2024, 30(1): 147–152.
- HUANG XY, YANG LY, WU J. Study on the comparison and optimization of DNA extraction methods of snail meat soup packets [J]. *Modern Food*, 2024, 30(1): 147–152.
- [34] 解婧媛, 孙涛, 廖芳, 等. 柳州地区中华圆田螺和方形环棱螺的含肉率及营养分析[J]. *现代食品*, 2021(17): 203–205.
- XIE JY, SUN T, LIAO F. *et al.* Meat content and nutritional analysis of *Cipangopaludina cathayensis* and *Bellamyia quadrata* in Liuzhou [J]. *Modern Food*, 2021(17): 203–205.

(责任编辑: 安香玉 于梦娇)