

DNA 条形码 COI 序列在常见肉类鉴别中的应用研究

王爽¹, 李永波¹, 马超峰¹, 张薇¹, 田晨曦², 周巍^{1,2}, 张岩¹

(1. 河北省食品检验研究院 河北省食品安全重点实验室, 河北石家庄 050071)

(2. 河北农业大学食品科技学院, 河北保定 071000)

摘要: 为了对常见的4种肉类及相关肉制品进行掺假鉴定, 判别与产品标签是否相符, 本研究以COI基因为靶基因, 建立了4种动物源性食品DNA条形码鉴别技术。分别提取牛、羊、猪、鸭四大物种的基因组DNA为模板, 以其COI基因的保守序列区设计6对通用引物, 结合文献报道及数据库提供的7对通用引物进行PCR扩增, 并将测序结果提交GenBank数据库Blast比对, 评价不同DNA条形码的检测鉴别能力。筛选出COI-A为最优序列, 在4个物种中扩增效率100%。对抽检的20个批次的肉加工品样品进行检测, 鉴定结果约有90%的样品与产品标签标示的成分相符。其中1个批次的牛丸制品因肉类成分含量低未扩增成功, 1个批次的牛丸制品检出鸭源成分, 判定掺假。DNA条形码技术快速有效, 本研究筛选的COI-A序列可直接用于牛、羊、猪、鸭及其肉制品的鉴定, 并为其它常见动物源性食品的种类鉴定提供一定参考依据。

关键词: DNA条形码; 肉; COI; 掺假鉴定

文章篇号: 1673-9078(2016)1-188-193

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.1.030

Cytochrome C Oxidase Subunit I sequence as a DNA Barcode to Identify Common Meat Species

WANG Shuang¹, LI Yong-bo¹, MA Chao-feng¹, ZHANG Wei¹, TIAN Chen-xi¹, ZHOU Wei^{1,2}, ZHANG Yan¹

(1. Hebei Food Inspection and Research Institute, Hebei Food Safety Key Laboratory, Shijiazhuang 050071, China)

(2. College of Food Science and Technology, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China)

Abstract: To detect adulteration in four common meat species and related meat products, and determine if the products are consistent with the label description, a DNA barcoding technique was established in this study. The cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene was used as the target gene to identify four types of animal-derived foods. Genomic DNA from cattle, sheep, pig, and duck was extracted and used as template and six pairs of universal primers were designed based on the conserved regions of the COI gene. Polymerase chain reaction (PCR) amplification was performed using these six pairs of universal primers as well as seven pairs of universal primers obtained from the literature. The sequencing results were aligned using basic local alignment search tool (BLAST) analysis of the GenBank database, to evaluate the identification and detection capabilities of each DNA barcode. The COI-A sequence was found to be optimal, showing 100% amplification efficiency in four species. A total of 20 batches of meat product samples were analyzed using the primer COI-A and approximately 90% samples were found to be consistent with their label descriptions. Amplification failed for one batch of beef-ball sample due to low meat content, while duck-derived material was detected in a second batch, indicating adulteration. DNA barcoding technique is rapid and effective, and the COI-A sequence selected in this study can be applied to directly identify beef, lamb, pork, and duck as well as related meat products. The results of this study provide a reference for species identification of other common animal-derived foods.

Key words: DNA barcoding; meat; cytochrome c oxidase subunit I; adulteration detection

近年来,随着生活节奏的加快和生活水平的提高,

收稿日期: 2015-04-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(31401584); 河北省食药局科技项目(PT2014003)

作者简介: 王爽(1989-), 女, 工程师, 研究方向为农产品加工及贮藏工程
通讯作者: 张岩(1979-), 男, 博士, 正高级工程师, 研究方向: 食品安全
周巍(1983-), 男, 在读博士, 高级工程师, 研究方向为农产品加工及贮藏工程

肉制品加工业发展迅猛, 产品种类日益繁多。消费者在购买新鲜肉类产品时, 可以通过形态特征判定肉的种类, 但类似肉丸、肉片、肉干等加工产品时, 则很难通过表观特征判断成分的来源。而这, 也为一味追求高利润的不法商家提供的可乘之机。在肉制品加工的过程中, 使用不同种类的价格低廉、易混淆的动物原材料的现象屡见不鲜。肉类产品的以次充好、标识欺诈, 不仅涉及到食品掺假欺诈的商业行为, 还涉及

到民族宗教等问题, 严重时会引发消费者的食品安全问题^[1-2], 这些都是法律不允许的。因此, 加强肉类产品的掺假鉴别判定, 有利于食品标签制度的有效实施, 对合法生产者和消费者权益的保护也极为重要。

加工食品与食物原料相比, 物种原始、可识别的状态特征不明显, 这使得物种鉴别的难度加大。目前常用的肉类鉴别方法有传统的感官分析、组织学鉴定、血清免疫扩散、脂肪成分分析、肌肉组织糖原水平鉴定、生物解剖学、电泳及 DNA 杂交技术^[3-5]。这些技术虽理论上可行, 但要求的专业性高、技术复杂, 价格昂贵且具体操作耗时耗力, 在日常的快速检测鉴定中可行性较低。随着分子技术的迅速发展, PCR 技术因操作简单快速、结果可靠而优势突出, 在近年来的研究中, 已替代传统的检测方法, 成为肉类产品动物源成分鉴定的有效工具^[2,6]。基于 PCR 技术, Hebert 等人在 2003 年首次提出了 DNA 条形码的概念^[7]。其工作原理, 就是利用少数标准的、具有足够变异的、易扩增且相对较短的 DNA 片段在种内的特异性和种间多的多样性, 从而实现对物种的快速自动鉴定, 类似于超市里商品识别的商品条形码^[8-11]。DNA 条形码技术是当今生物研究的热点之一, 操作简单, 不受个体发育阶段和形态特征的限制, 并可以作为传统分类学的辅助手段, 解决物种鉴定分类等难题。虽然 DNA 条形码的研究仍存在一定的争议, 但其在动物分类学中的研究已相对成熟, 并选取动物细胞色素 C 氧化酶 I (COI) 作为动物界标准基因。Hebert 的研究发现, 细胞色素 C 氧化酶 I (COI) 是动物界中最合适的 DNA 条形码标准基因^[12]。随后, 又有大量研究证明 COI 基因在两栖类、爬行类、鸟类、鱼类、昆虫中也表现出良好的鉴别能力^[6, 13-14]。因此 COI 片段被广泛应用于动物分类学的研究中, 在国外的研究也比较成熟。在国内研究中, DNA 条形码用于食品鉴别的报道较少。行业检测标准中, 动物源成分鉴定方法的局限性也显而易见。目前技术成熟的试剂盒法, 利用物种特异性引物一次操作也仅能检测出单一的动物源成分。Wong^[10]等人报道了 DNA 条形码技术在鱼类系统分类的应用, 邱德义等人^[14]利用 COI 基因片段成功鉴别监督抽检的鱼肉产品的种类来源。Luo^[6]等人利用大量的信息化数据报道了 COI 基因片段在真核哺乳动物中的可靠性, 在 Nadia^[4]等人的研究中, 利用 PCR-RFLP 技术也成功鉴别了物种成分。这都为该项技术在国内肉类产品鉴别中的应用前景提供了有力的依据和支持。

本研究利用 COI 片段为目标片段, 采用多对引物对常见的肉类成分进行 PCR 扩增和测序比对, 比较

各序列的扩增效率和测序成功率, 检验并筛选引物的可靠性。并对市售及抽检的肉类产品进行物种鉴定和掺假判定, 为 DNA 条形码技术在动物源食品的检测技术提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

研究所用阳性样本自行采购于大型超市, 包括牛肉、羊肉、猪肉、鸭肉共 4 种, 并利用 SN/T3730、3731 标准方法检测 (结果略), 以确保样本的准确性。待测样本肉干、肉卷、肉丸等为抽检样品, 共计 20 个批次。

动物基因组 DNA 提取试剂盒、Premix Taq、Marker 等 PCR 试剂购于宝生物工程 (大连) 有限公司。

1.2 仪器与设备

LX-100 手掌型离心机江苏其林贝尔公司; DYY-III2 稳压稳流电泳仪北京六一仪器厂; BS-124S 分析天平北京赛马利斯公司; Bio-rad 紫外凝胶成像系统美国伯乐公司; S1000 thermal cycler 基因扩增仪美国伯乐公司; Sigma 1-15pk 冷冻离心机德国 Sigma 公司; NanoDrop 1000 微量核算蛋白测定仪美国 Thermo 公司。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取

阳性样本及待测样本基因组 DNA 提取均采用动物基因组 DNA 提取试剂盒, 按照试剂盒的使用手册进行基因组 DNA 提取。

1.3.2 引物设计

引物 I: 参考于邱德义^[14]研究中使用的通用引物, 上游引物为 LCO1490, 下游引物为 HCO2198。引物 II: 参考于 Nadia^[4]研究中使用的通用引物, 上游引物为 LCO1490, 下游引物为 HCO2198。

引物 BC1/2/3/4/5: 参考于 BOLD 数据库 (<http://www.barcodinglife.org>) 通用引物检索筛选 Primer。

引物 COI-A/B/C/D/E/F: 根据牛、羊、猪、鸭 COI 基因序列保守区域设计引物。动物源基因序列 NCBI 序列号如下: AF492351、AF492350 (cow, *Bostaurus*), JQ996232 (sheep, *Ovisaries*), AF034253 (pig, *Susscrofa*), EU755253 (mallard duck)。

PCR 扩增所用通用引物由上海生工公司合成。

1.3.3 PCR 扩增

PCR 反应体系 (50 μ L): DNA 模板 5 μ L; Premix

Taq 25 μL; 正向引物 (10 μmol/L) 1.5 μL; 反向引物 (10 μmol/L) 2 μL; 以 ddH₂O 定容到 50 μL。PCR 扩增程序: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 30 s, 54~58 °C 30 s,

72 °C 40 s, 反应 36 个循环; 72 °C 延伸 10 min。PCR 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳分离, 使用数码凝胶成像系统分析扩增产物^[2,11]。

表 1 基因引物序列

Table 1 Primer sequences of genes

名称	上游引物 (F-Primer 5'-3')	下游引物 (R-Primer 5'-3')
I	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA
II	ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG	TAAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA
BC1	GCCCTCTCTCAATATCAAACAC	GCATGAGCTGTTACGATTACG
BC2	CTGGGGCCCTATTAGGTGAT	TATATCGGGTGCGCCAATTA
BC3	GGGGGATTCGGTAATTGATT	GGCTAGTGGTGGGTATACGG
BC4	TACAGTTGAAGCTGGCGTTG	AGCTCCAAGGATTGACGAAA
BC5	TCTCTCTTCACCTAGCCGGA	GGCAGTGATTAACCGATCA
COI-A	GCCTCCAATCAAAATACGC	GTCAAATGGGGCTCGGT
COI-B	CGAGCAGTAGCACAACAATCTCAT	GTTGGTCATAGCGAAATCGAGG
COI-C	CTACGACCCGCTACATCT	CGTTGAAGCCCGAGACT
COI-D	GACCCGCCACATCTTCA	GGCTCGGTTTGTTCAG
COI-E	AAGAACCACTACGACCCG	ACGTTGAAGCCCGAGAC
COI-F	CTTAGCCGCTACTCAATCC	TCGGACCCATAGGAAGC

1.3.4 PCR 产物测序及比对

PCR 产物送上海生工有限公司进行双向测序, 测序引物同于扩增引物。所得的测序结果经拼接并删除两端引物序列, 提交 GenBank 数据库进行 Blast 比对, 同时使用 BOLD 数据库 (<http://www.boldsystems.org>) 对样品的 COI 序列进行鉴定和相似度分析。利用 Clustal 进行多序列比对, 并利用 MEGA5.0 绘制系统进化树分析^[14]。

引物并不一定适合所有物种。

表 2 阳性样品不同引物的 PCR 扩增结果

Table 2 Results of different primers amplified by PCR from positive samples

样品类型/ 引物编号	牛肉	羊肉	猪肉	鸭肉	空白
I	N	N	N	N	N
II	N	N	N	N	N
BC1	N	N	N	N	N
BC2	N	N	N	N	N
BC3	N	N	√	√	N
BC4	N	N	N	N	N
BC5	N	N	N	N	N
A	√	√	√	√	N
B	√	√	√	N	N
C	√	√	N	N	N
D	N	N	N	N	N
E	N	√	N	N	N
F	N	N	N	√	N

注: N 为扩增出条带; √为扩增出清晰条带。

2 结果与分析

2.1 DNA 条形码序列片段的扩增

提取牛肉、羊肉、猪肉、鸭肉生肉肌肉组织, 按照试剂盒操作步骤提取动物源基因组 DNA。利用 Nanodrop2000 检测提取 DNA 的质量和浓度, OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值在 1.8~2.1 左右, 且浓度较高, 可用于后续的实验或 -20 °C 保存待用。

分别以参考文献提供的通用引物 I、引物 II, BOLD 数据库提供的通用引物 BC1、BC2、BC3、BC4、BC5 及根据动物 COI 基因序列保守区域设计的通用引物 COI-A、B、C、D、E、F 进行 PCR 扩增, 并以无菌水作为模板进行阴性对照。扩增产物以 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。实验结果如图 1 和表 2 所示。

由表 2 看出, 引物 I 和引物 II 在本实验的阳性样本中的扩增效果并不理想。这可能是由于, 不同种属, 其进化程度及遗传信息不一致, 适合某一物种的通用

邱德义^[14]利用引物 I 以鱼肉制品为模板, 成功扩增出的清晰条带, 并对抽检的鱼肉制品的成分来源进行了进一步的客观分析。Nadia^[4]等人利用引物 II 在驴血样品及 7 种生肉样本中成功扩增出大小为 710 bp 左右的条带, 因肉眼无法区别条带差异, 又利用 RFLP 技术酶切条带进行区分鉴定。为保证引物的扩增效率,

本实验分别对扩增体系、扩增程序进行多次优化,均未得到清晰单一条带。

引物 BC1-BC5 来源于 BOLD (Barcoding life) DNA 条形码数据库。在 Primer 数据库中,以哺乳动物和 COI 基因为筛选条件进行引物搜索筛选,最终组合并确定了引物 BC1-BC5 共计 5 对通用引物。如表 2 所示,引物 BC1、BC2、BC4、BC5 在各个样本中均未扩增出条带,引物 BC3 在猪肉和鸭肉样本中得到单一条带。同上,本研究也分别对扩增体系、扩增程序进行多次优化,仍未得到清晰单一条带。

理想的 DNA 条形码应符合一些基本标准:(1) 具有足够的遗传变异性和一定的分化度;(2) 标准的 DNA 片段;(3) 包含足够的系统进化信息;(4) 便于通用引物设计;(5) 目标 DNA 足够短便于提取和扩增^[8]。目前, BOLD 数据库及大量文献为动物 DNA 条形码的研究提供了多对通用引物,但仅能作为参考。

为此,本实验在 Genbank 数据库中下载物种 COI 基因序列,利用 DNAMAN 软件对序列进行比对分析,利用 Primer5 对保守区域设计的引物 COI-A/B/C/D/E/F,结果如表 2 所示。引物扩增效果较好,扩增率较高。其中,引物 COI-A 和引物 COI-B 在大多数物种中均扩增出清晰的条带,扩增效果见图 1 所示。引物 COI-C 在牛肉和羊肉中扩增出条带,COI-D/E/F 仅分别在羊、鸭肉中扩增出条带。

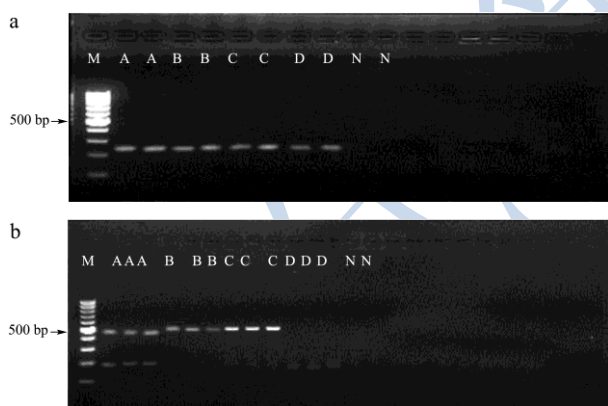


图 1 阳性样品基因片段的 PCR 扩增电泳图

Fig.1 Electrophoresis images of gene fragments amplified by PCR from positive samples

注: M: Marker: 1000、900、800、700、600、500、400、300、200、100bp; A: 牛; B: 羊; C: 猪; D: 鸭; N: 阴性对照。

图 1a 为引物 COI-A 扩增电泳图,以牛、羊、猪、鸭为模板,扩增出 250 bp 左右大小的单一条带。图 1b 为引物 COI-B 扩增电泳图,以羊、猪肉为模板,扩增出 500 bp 左右大小的单一条带,与设计时预期条带大小一致;在牛肉中扩增出 500 bp、200 bp 左右大小的

两条带;在鸭肉中扩增出 200 bp 左右较浅条带,近乎不见。

2.2 PCR 产物测序分析

将上述 PCR 扩增产物送生物公司双向测序,测序结果提交 GenBank 进行 Blast 比对分析,同时使用

BOLD 数据库比对分析,结果如表 3 所示。

各引物序列在扩增样品中比对均成功,相似率为 90% 以上。引物 COI-A 在牛肉中分别扩增到 200、500 bp 大小的条带两条,测序比对均成功。

经过以上实验,以 COI 基因为靶基因序列设计的通用引物 COI-A 和引物 COI-B,具有较好的扩增效率及测序成功率,且在不同动物源物种中有较高的通用性。尽管统计样本容量较小,但统计结果仍为肉制品检验 DNA 条形码的有效选取提供一定的指导和参考。综上分析,引物 COI-A 可作为候选基因片段进行后续实验。

此外,以往的实验通常仅选用一对引物进行实验,在日常检验中,不一定能有 100% 的扩增效率。本研究根据物种的 COI 基因 5' 端保守序列设计通用引物 COI-A,该序列扩增效率较高,可以满足猪、牛、羊、鸭动物源成分的鉴定。有研究报道多基因片段组合可实现植物类群的条形码鉴定。同理,在多种类的动物源鉴定分析中,选用通用引物组合会相互弥补,提高动物源鉴定的成功率。

表 3 COI 序列数据库比对鉴定结果

Table 3 Identification of COI sequence in GenBank and BOLD databases

样品类型/ 引物编号	牛肉	羊肉	猪肉	鸭肉	空白
I	N	N	N	N	N
II	N	N	N	N	N
BC1	N	N	N	N	N
BC2	N	N	N	N	N
BC3	N	N	√	√	N
BC4	N	N	N	N	N
BC5	N	N	N	N	N
A	√	√	√	√	N
B	√	√	√	N	N
C	√	√	N	N	N
D	N	N	N	N	N
E	N	√	N	N	N
F	N	N	N	√	N

注: N: 未测序比对; √: 比对成功。

2.3 采集样品的 DNA 鉴定

利用试剂盒法,提取采集的的肉干、肉卷、肉丸等肉制品,共计 20 个批次待测样本的基因组 DNA,利用筛选的引物 COI-A 进行 PCR 扩增,并利用无菌水作 DNA 模板进行阴性对照,扩增结果如图 2 所示。

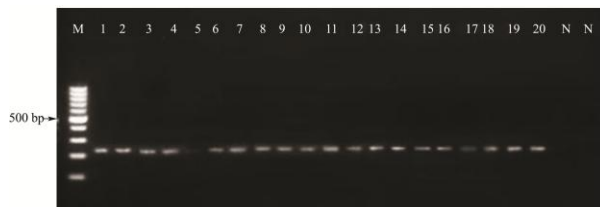


图 2 待测样品基因片段的 PCR 扩增电泳图

Fig.2 Electrophoresis images of gene fragments amplified by PCR

注: M: MarkerI: 1000、900、800、700、600、500、400、300、200、100bp; 1: 牛肉干A; 2: 牛肉干B; 3: 牛肉干C; 4: 牛肉干D; 5: 牛肉丸A; 6: 牛肉丸B; 7: 牛肉卷A; 8: 牛肉卷B; 9: 牛肉卷C; 10: 牛肉卷D; 11: 羊肉卷A; 12: 羊肉卷B; 13: 羊肉卷C; 14: 羊肉卷D; 15: 猪肉脯A; 16: 猪肉脯B; 17: 火腿A; 18: 火腿B; 19: 鸭脖; 20: 鸭翅; N: 阴性对照。

表 4 采样产品物种鉴定结果

Table 4 Identification of sample species

序号	样品名称	DNA 条形码鉴定结果 (相似率/%)	判定结果
1	牛肉干-A	牛肉 (99%)	符合
2	牛肉干-B	牛肉 (99%)	符合
3	牛肉干-C	牛肉 (99%)	符合
4	牛肉干-D	牛肉 (99%)	符合
5	散装牛丸-A	测序不成功	掺假
6	散装牛丸-B	鸭肉 (93%)	掺假
7	盒装牛肉卷-A	牛肉 (99%)	符合
8	盒装牛肉卷-B	牛肉 (96%)	符合
9	散装牛肉卷-C	牛肉 (98%)	符合
10	散装牛肉卷-D	牛肉 (96%)	符合
11	盒装羊肉卷-A	羊肉 (98%)	符合
12	盒装羊肉卷-B	羊肉 (99%)	符合
13	散装羊肉卷-C	羊肉 (99%)	符合
14	散装羊肉卷-D	羊肉 (98%)	符合
15	猪肉脯-A	猪肉 (100%)	符合
16	猪肉脯-B	猪肉 (98%)	符合
17	炭烤火腿-A	猪肉 (96%)	符合
18	果木火腿-B	猪肉 (97%)	符合
19	鸭脖	鸭肉 (98%)	符合
20	鸭翅	鸭肉 (96%)	符合

以 20 个样品为模板,利用 COI-A 引物进行 PCR 扩增。除 5 号样品外,19 个样品均得到了单一且清晰的条带。5 号样品为散装牛肉丸产品,条带浅弱近乎不见。阴性对照组无扩增条带,证明 PCR 体系未污染。

将扩增的 PCR 液送生物公司测序。测序结果如下表 4 所示。抽检的 20 个肉制品样品,经 DNA 条形码技术实验鉴定,大多数产品的动物源成分与产品标签符合,同时也暴露出肉类的掺假问题。

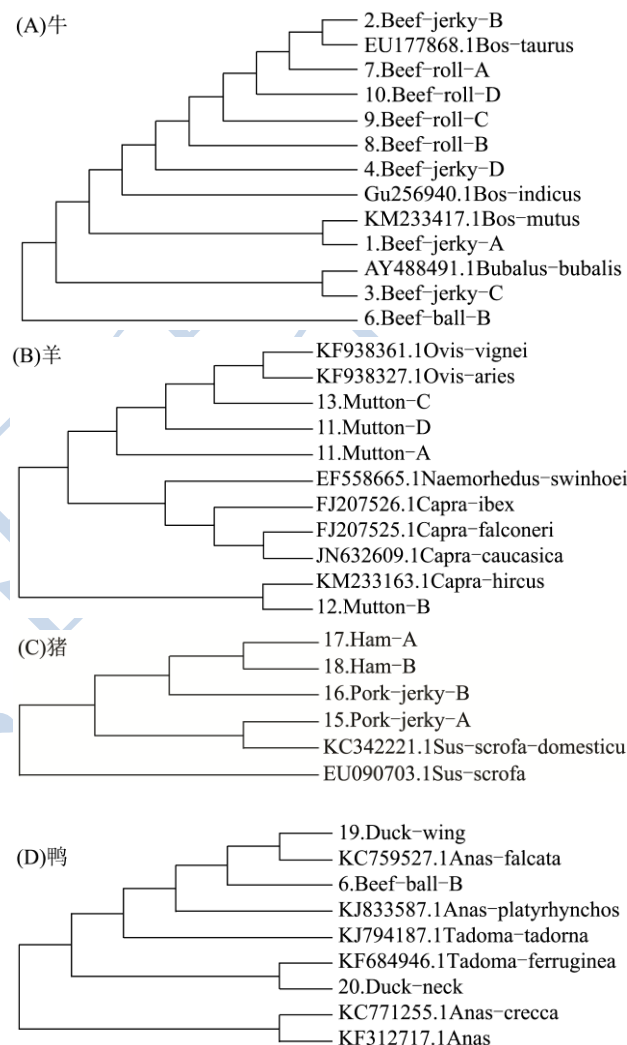


图 3 待测样品 COI 序列与 GenBank 数据库 COI 序列的聚类同源树

Fig.3 Phylogenetic trees based on the COI sequences from meat samples and GenBank database

5 号样品为散装牛丸,条带较弱近乎不见。多次检测并测序,条带浓度仍较低,未测序成功。排除 DNA 提取浓度较低的因素,怀疑肉源成分含量较低,淀粉成分较高,并掺入牛肉类香精成分混淆消费者。6 号样品同样为散装牛丸,该样品的 PCR 条带清晰,但测序鉴定的结果为鸭肉成分,相似率为 93%,未检测出牛肉,初步判定掺入了价格低廉的鸭肉成分。17 号样

品为炭烤火腿, 测序结果为猪肉成分, 但条带较弱, 推测产品中猪肉成分含量较低。

为了进一步分析样品的成分, 对上述样品的测序结果与 Genbank 数据库中下载的物种基因序列进行聚类分析, 并绘制 N-J 系统进化树, 见图 3 所示。

图(A)显示: 6号样品牛肉丸 B 与其它牛肉制品亲源性较远, 判定为非牛肉成分, 与 Blast 结果一致。1号牛肉干 A 为牦牛肉 (*Bosmutus*), 3号牛肉干 C 为水牛肉 (*Bubalus bubalis*), 其余的样品均为家牛 (*Bostaurus*) 成分。

图(B)显示: 12号样品羊肉卷 B 为山羊肉 (*Capra hircus*), 其余均为绵羊肉 (*Ovisaries*)。

图(C)显示: 17、18号猪肉脯样品均为家猪 (*Susscrofadomesticus*) 成分。

图(D)显示: 19号鸭翅为罗纹鸭 (*Anasfalcata*), 20号鸭脖为赤麻鸭 (*Tadornaferruginea*)。6号牛肉丸 B 样品与罗纹鸭亲源性较近, 判定含鸭肉成分。

3 结论

3.1 本研究根据动物 COI 基因的保守序列设计 6 对通用引物, 并结合已有研究报道及数据库提供的 7 对通用引物, 进行 PCR 扩增检测。

3.2 结果显示 COI-A 序列在常见的牛、羊、猪、鸭四大物种中有较强的适用性及鉴别能力, 并成功对 20 个批次的动物源制品完成掺假检测及判定。本研究为动物 DNA 条形码技术的在肉产品动物源成分鉴定方面的应用提供一定参考, 这也为后续广泛而深入研究提供理论依据。

参考文献

- [1] Wang Q, Zhang X, Zhang H Y, et al. Identification of 12 animal species meat by T-RFLP on the 12S rRNA gene [J]. Meat Science, 2010, 85(2): 265-269
- [2] Kesmen Z, Yetim H, Sahin F. Identification of different meat species used in sucuk production by PCR assay [J]. GIDA, 2010, 35(2): 81-87
- [3] Abdel-Rahman S M, El-Saadani M A, Ashry K M & Haggag A S. Detection of adulteration and identification of cat's, dog's, donkey's and horse's meat using species-specific PCR and PCR-RFLP techniques [J]. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2009, 3(3): 1716-1719
- [4] Nadia H, Imad N, Bassam A S. Identification of meat species by PCR-RFLP of mitochondrial COI gene [J]. Meat Science, 2012, 90: 490-493
- [5] Thitika K, Kuangtiwa S, Phuvadol T. Direct-multiple PCR assay for meat species identification in food products [J]. Food Chemistry, 2014, 163: 77-82
- [6] Luo A R, Zhang A B, Simon Y W H, et al. Potential efficiency of mitochondrial genes for animal DNA barcoding: a case study using eutherian mammals [J]. BMC Genomics, 2011, 12(84): 1471-1484
- [7] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes [J]. Proceedings of the Royal Society of London - Series B: Biological Sciences, 2003, 270: 313-322
- [8] 王晓明, 姬可平, 牛宪力, 等. DNA 条形码与动植物分类学的研究 [J]. 生物信息学, 2012, 10(2): 83-86
WANG Xiao-ming, Ji Ke-ping, Niu Xian-li, et al. Study of DNA barcoding about taxonomy of plants and animals [J]. Chinese Journal of Bioinformatics, 2012, 10(2): 83-86
- [9] 伏建国, 杨晓军, 钱路, 等. 植物 DNA 条形码技术在出入境检验检疫领域的应用 [J]. 植物检疫, 2012, 26(2): 64-69
FU Jian-guo, YANG Xiao-jun, QIAN Lu, et al. Application of plant DNA barcoding in inspection and quarantine [J]. Plant Quarantine, 2012, 26(2): 64-69
- [10] Wong E H K, Hanner R H. DNA barcoding detects market substitution in North American seafood [J]. Food Research International, 2008, 41(8): 828-837
- [11] 李新光, 王璐, 赵峰, 等. DNA 条形码技术在鱼肉及其制品鉴别中的应用 [J]. 食品科学, 2013, 34(18): 337-342
LI Xin-guagn, WANG Lu, ZHAO Feng, et al. Application of DNA Barcoding to Identify Commercial Fish and Fish Products. Food Science, 34(18): 337-342
- [12] Hebert P D, Penton E H, Burns J M, et al. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101: 14812-14817
- [13] Ford C S, Ayres K L, Toomey N, et al. Selection of candidate DNA barcoding regions for use on land plants [J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2009, 159: 1-11
- [14] 邱德义, 胡佳, 刘德星, 等. DNA 条形码技术在肉品防欺诈鉴别中的应用 [J]. 肉类研究, 2013, 27(4): 40-43
QIU De-yi, HU Jiang, LIU De-xing, et al. Application of DNA barcoding in anti-fraud identification of aquatic products [J]. Meat Science, 2013, 27(4): 40-43