

DNA 条形码技术对鱼子酱物种溯源及鉴定

谢思芸^{1,2}, 徐仁杰¹, 方丽¹, 郭泽时¹, 何振宇¹, 伍俊羽¹, 张霞^{1,2*}, 廖彩虎^{1,2}

(1. 韶关学院英东食品学院, 广东韶关 512005)(2. 广东省粤北食药资源利用与保护重点实验室, 广东韶关 512005)

摘要: 为探讨 DNA 条形码技术在鱼子酱物种鉴定中的适用性, 利用细胞色素 b (Cytochrome b, *Cyt b*) 和细胞色素氧化酶 I 亚单位 I (Cytochrome Oxidase I, *COI*) 作为 DNA 条形码对鱼子酱样品进行 DNA 提取、聚合酶链式反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR)、测序、利用 NCBI 网站和 BOLD 鉴定系统进行基因比较分析, 构建系统发育树, 鉴定鱼子酱物种, 对我国鱼子酱产品物种标签符合性情况进行检查。购买的 40 份样品, 一致性鲟鱼物种基因序列相似性均在 99% 以上, 涉及 5 个鲟鱼种, 其中杂交种占比 75%、西伯利亚鲟、施氏鲟、欧鳊、俄罗斯鲟占 25%。说明 *Cyt b*、*COI* 作为 DNA 条形码可以对鱼子酱进行物种鉴定, 检测的鱼子酱产品均为鲟鱼子酱, 无造假, 但是 45% 产品标签物种替代或物种标识不清。加强对产品物种标识重视及鉴定技术的开发, 有助于我国鱼子酱对外贸易发展, 保障我国鲟鱼产业可持续性健康发展。

关键词: 鱼子酱; DNA 条形码; 物种鉴定

文章编号: 1673-9078(2023)07-320-326

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.7.0930

DNA Barcoding for the Tracing and Identification of Caviar Species

XIE Siyun^{1,2}, XU Renjie¹, FANG Li¹, GUO Zeshi¹, HE Zhenyu¹, WU Junyu¹, ZHANG Xia^{1,2*}, LIAO Caihu^{1,2}

(1. Henry Fok College of Food Science, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China) (2. Provincial Key Laboratory for Utilization and Conservation of Food and Medicinal Resources in Northern Guangdong, Shaoguan 512005, China)

Abstract: To investigate the suitability of DNA barcoding for caviar species identification, Cytochrome b (*Cyt b*) and Cytochrome Oxidase I (*COI*) were used as DNA barcodes, and DNA extraction and polymerase chain reaction (PCR) sequencing were performed on caviar samples. Genome comparison and analysis were performed using the NCBI website and the BOLD identification system to construct a phylogenetic tree and identify the species of each caviar sample, allowing the labeling compliance of Chinese caviar products to be ascertained. Of the 40 Chinese caviar samples purchased, gene sequence similarity between the labeled and identified species generally exceeded 99%, indicating high compliance in terms of labelling. Five species of sturgeon were identified, with 75% of the products comprising several different species, while the remaining 25% were from Siberian, Amur, Beluga, and Russian sturgeon. The results suggest that *Cyt b* and *COI* can be used as DNA barcodes to identify caviar species. All of the tested caviar products were derived from sturgeon; however, 45% of the products had incorrect or unclear species labels. Improving the labeling and species identification techniques for caviar species is likely beneficial for Chinese caviar exports, and will ensure that the Chinese caviar industry continues to develop in a healthy and sustainable manner.

Key words: caviar; DNA barcode; species identification

引文格式:

谢思芸, 徐仁杰, 方丽, 等. DNA 条形码技术对鱼子酱物种溯源及鉴定[J]. 现代食品科技, 2023, 39(7): 320-326.

XIE Siyun, XU Renjie, FANG Li, et al. DNA barcoding for the tracing and identification of caviar species [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(7): 320-326.

收稿日期: 2022-07-23

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202110576017; 202210576017); 韶关学院自然科学类重点科研项目 (SZ2020KJ11; SZ2020KJ05); 韶关市科技计划项目 (210724144530340); 广东省自然科学基金项目 (2020A151501182)

作者简介: 谢思芸 (1987-), 女, 硕士研究生, 实验师, 研究方向: 食品加工与保藏, E-mail: 184523660@qq.com

通讯作者: 张霞 (1975-) 女, 博士研究生, 研究员, 研究方向: 食品安全检测, E-mail: zhangxia_75@126.com

鲟作为一种具有经济价值的大型鱼类, 价值主要体现在鱼子酱产品中。鱼子酱富含人体必需的各种氨基酸和不饱和脂肪酸, 与鹅肝酱、黑松露并称世界三大奢华美食^[1,2]。随着鲟鱼子酱消费市场扩大, 鲟鱼野生种群数量急剧下降。1997 年, 国际贸易公约 (International Union for Conservation of Nature and Natural Resource CITES) 将所有野生鲟鱼物种都列为濒危物种^[3,4], 人工养殖鲟鱼成为全球鱼子酱生产主要来源。我国以鱼子酱等高附加值为主的鲟鱼养殖业在

国内迅速发展^[5,6], 鲟鱼养殖产量位于全球首位^[7], 但鱼子酱销量仍然低于欧洲、美国、日本等国家, 部分原因是我国生产的鱼子酱产品标签中物种标识不明, 产品在市场上售卖价格差异较大^[8]。

国际市场上鱼子酱售价依据鲟鱼品种、制备工艺不同而有所差异。但由于鱼子酱产品无法单纯依靠感官检验进行物种鉴定, 鱼子酱造假问题在国际市场上层出不穷^[9]。严格意义的鱼子酱为鲟鱼子酱 (Caviar), 但在消费市场, 出现用其他鱼籽替代鲟鱼籽的造假事件, 如使用北方梭子鱼 (*Esox lucius*)、飞鱼 (*Hirundichthys* sp.), 团头鱼 (*Cyclopterus lumpus*) 和毛鳞鱼 (*Mallotus villosus*) 等^[10], 严重损害消费者利益。

国外学者使用种属特异性单核苷酸多态性分析、遗传核标记来辨别鲟鱼子酱种属^[11,12], 表面三维荧光光谱数据结合结合主成分分析来区分新鲜和氧化后伊朗鱼子酱^[13], Depters 等^[14]用鲟鱼卵的脂肪酸和矿物成分鉴定是养殖还是野生, 对鱼子酱贸易合法化进行监察, 保护野生鲟鱼种群。鉴于国外学者对于鱼子酱物种鉴定方法所需时间、设备成本、人员技术要求较高, 不适用于我国质量监管部门对鱼子酱贸易日常监管。我国主要为万超等^[15]应用实时荧光 PCR 方法对鱼子酱是否为俄罗斯鲟鱼物种进行鉴定, 该方法不能同时对鱼子酱其他鲟鱼物种进行判定。

基于 DNA 条形码技术已被成熟用于鲟鱼品种鉴定^[16,17], 本研究拟采用细胞色素 b (Cytochrome b, *Cytb*) 和细胞色素氧化酶 I 亚单位 I (Cytochrome Oxidase I, *COI*) 基因作为 DNA 条形码, 对我国网络平台销售的鱼子酱进行物种鉴定, 验证 *Cytb*、*COI* 的 DNA 条形码技术在鱼子酱物种鉴定中的适用性。该技术以生物的基因进化为基础, 不仅是传统物种鉴定的强有力补充, 而且较固相微萃取-气质联用技术、核磁共振技术结合主成分分析进行种类鉴定更加简单、准确, 不受加工方式、方法的影响, 且对仪器设备及人员技术要求不高, 可作为日常监管技术推广使用。了解我国生产销售的鱼子酱产品真伪、标签符合性情况, 为国内鱼子酱市场监管提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

基因组 DNA 提取试剂盒 (天根, DP324); 高保真 PCR Mix 预混液 (生工, no. B639292); 琼脂糖 (生工, no. A620014); DL2000 DNA marker (生工, no. B500350); 5X TBE 缓冲液 (生工, no. B548102)。

从网络平台购买 11 个品牌的 40 种样品, 详见

表 1 (品牌用 A~K 替代)。

表 1 国产鱼子酱样品

Table 1 Samples of domestic caviar

样品编号	品牌	标签品种	价格/(元/10 g)
1	A	西伯利亚鲟	86
2	A	海博瑞鲟 (杂交鲟)	104
3	A	施氏鲟	121
4	A	俄罗斯鲟	157
5	A	达氏鲟	350
6	B	西伯利亚鲟	104
7	B	施氏鲟	121
8	B	海博瑞鲟 (杂交鲟)	148
9	B	俄罗斯鲟	174
10	B	达氏鲟	315
11	B	欧鲤	1,581
12	C	西伯利亚鲟	104
13	D	施氏鲟	140
14	D	西伯利亚鲟	105
15	D	俄罗斯鲟	157
16	D	欧鲤	341
17	E	西伯利亚鲟	90
18	E	施氏鲟	104
19	E	海博瑞鲟 (杂交鲟)	130
20	E	俄罗斯鲟	174
21	E	西伯利亚鲟	136
22	E	海博瑞鲟 (杂交鲟)	195
23	E	俄罗斯鲟	261
24	F	海博瑞鲟 (杂交鲟)	156
25	F	西伯利亚鲟	75
26	G	鲟鱼籽酱	86
27	H	俄罗斯鲟	139
28	H	海博瑞鲟 (杂交鲟)	78
29	I	欧鲤	527
30	I	达氏鲟	228
31	I	西伯利亚鲟	87
32	I	海博瑞鲟 (杂交鲟)	139
33	I	俄罗斯鲟	165
34	J	西伯利亚鲟	57
35	J	施氏鲟	78
36	J	海博瑞鲟 (杂交鲟)	84
37	K	西伯利亚鲟	88
38	K	施氏鲟	111
39	K	俄罗斯鲟	146
40	K	欧鲤	385

1.2 主要仪器与设备

T100 PCR 扩增仪, 美国 Biometra; 5417R 高速离心机, 德国 Eppendorf; BHIMUZDA 紫外分光光度计, Bio Specmini, EPS600 电泳仪, 上海天能, G500312 蓝光切胶仪, 上海生工。

1.3 方法

1.3.1 DNA 的提取

样品 DNA 提取采用天根海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒, 按操作说明书, 取 1 颗鱼卵进行 DNA 提取, 每个样品取 5 颗鱼卵做平行样; 用紫外分光光度计测定 DNA 纯度和浓度。

1.3.2 DNA 条形码 PCR 扩增

对提取的样品 DNA 进行 *Cyt b* 及 *COI* DNA 条形码目的片段扩增, 采用引物参考外国学者对鱼类分类使用的 *Cyt b* 及 *COI* 条形码引物序列^[18,19], 见表 2。

PCR 反应体系 50 μ L: 25 μ L PCR mix, 1 μ L DNA (约 100 ng/ μ L), *Cyt b*-F/*Cyt b*-R 或 *COI*-F/*COI*-R 引物 (10 μ mol/L) 2 μ L, ddH₂O 补足至 50 μ L。

Cyt b 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 3 min; 95 $^{\circ}$ C 30 sec, 55 $^{\circ}$ C 30 sec, 72 $^{\circ}$ C 30 sec, 35 cycles; 72 $^{\circ}$ C 3 min。*COI* 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 3 min; 95 $^{\circ}$ C 30 sec, 52 $^{\circ}$ C 30 sec, 72 $^{\circ}$ C 40 sec, 35 cycles; 72 $^{\circ}$ C 10 min。

PCR 产物做 1.2% 琼脂糖凝胶电泳, 电泳参数: 电压 160 V, 电流 300 mA, 运行 30 min。观察结果, 将阳性扩增片段送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行纯化、双向测序及拼接。

表 2 DNA 条形码扩增引物序列

Table 2 Amplification primer sequences of DNA barcoding

目标基因	引物名称	序列
<i>Cytb</i> (460 bp)	Cyt b-F	5'-AACCACCGTTGTTATTCAACT-3'
	Cyt b-R	5'-CTCCGATCTCCGGATTACAAGAC-3'
<i>COI</i> (650 bp)	COI-F	5'-TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC-3'
	COI-R	5'-TAGACTTCTGGGTGGCCAAAGAATCA-3'

1.3.3 鱼子酱样品物种鉴别

将测序结果进行基因序列数据库比对。*Cyt b* 测序结果, 结合 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), BLAST 功能进行近源种同源基因比较分析; *COI* 测序结果应用 NCBI 网站和 BOLD 鉴定系统 (<http://www.boldsystems.org/>) 进行序列比对; 序列相似性达到 98% 以上匹配, 可以认为同一物种序列^[20,21]。

1.3.4 数据分析及系统发育树构建

从 GenBank 中选取鲟鱼物种相似序列, 运用 MEGA 7.1 进行鱼子酱 *COI/Cytb* 基因分子系统发育的分析, 通过邻接法 (NJ) 构建系统树。自展 (Bootstrap) 法检测系统树的置信度, 重复数为 1 000。

2 结果与分析

2.1 DNA 提取质量

利用紫外分光光度计检测单颗鱼子酱提取 DNA 纯度为 OD₂₆₀/OD₂₈₀=1.85~1.92, 纯度较好, 说明鱼子酱制备时盐渍等工艺对鱼籽的 DNA 破坏较轻, 不影响鱼子酱 DNA 的提取。每颗鱼子酱提取的 DNA 浓度在 150 μ g/mL 左右, PCR 扩增时取 1 μ L DNA 溶液即可满足扩增需求。

2.2 PCR 扩增结果

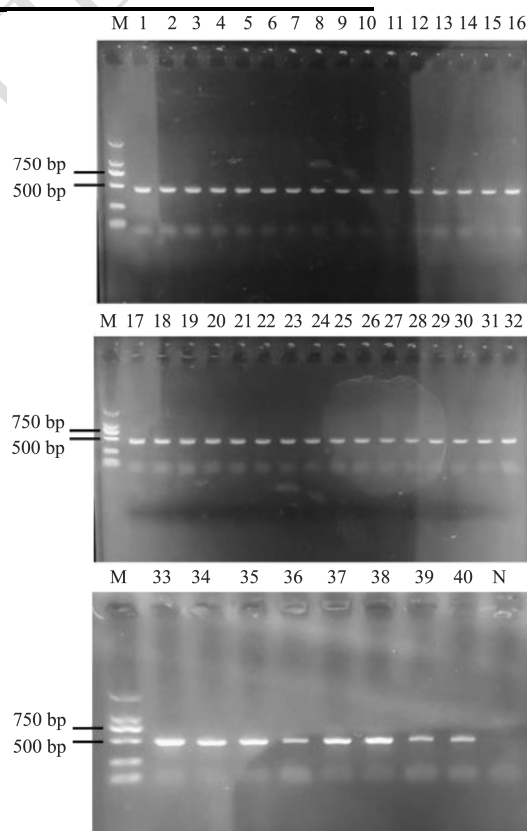


图 1 样品 *Cyt b* 基因扩增电泳图

Fig.1 Amplified fragments of *Cyt b* target

注: M DL2000 DNA Marker; 1~40 为样品编号; N 为空白对照。图 2 同。

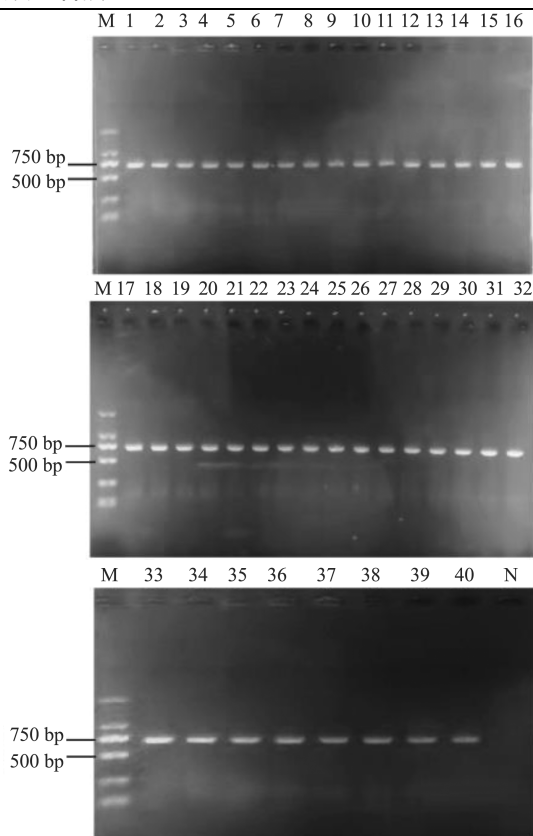


图2 样品 COI 基因扩增电泳图

Fig.2 Amplified fragments of COI target genes

对 11 个品牌的 40 份鱼子酱，每份做 5 颗鱼籽，共计提取 200 份 DNA 样品，按照 1.3.2 进行 PCR 扩增，成功扩增出 200 个样品，Cyt b 目的片段在 460 bp 左右，COI 目的片段在 650 bp 左右，部分样品结果如图 1、图 2 所示。

2.3 序列比对及系统发育树的构建

从 GenBank 中分别选取 *Acipenser baerii* (序列号 KP833617、OK094493)、*Acipenser gueldenstaedti* (序列号 KJ789859、FJ392605)、*Huso huso* (序列号 AY442351、ON097833)、*H. dauricus*♀ × *A. schrenckii*♂ 或者 *H. dauricus* (序列号 KY132098、LC125896)、*A. schrenckii* (序列号 MH973733、KX276659) 的 COI 序列，构建邻接法系统发育树 (图 3)。从图中可以看出，相同鲟鱼种的鱼子酱样品与 GenBank 中同种鲟鱼聚集在一起，且置信度在 86 以上，大部分为 100，说明与 BLAST 比对出的同源性物种 (见表 3) 亲缘关系最近。

从 GenBank 中分别选取 *Acipenser baerii* (序列号 MW856904、OK094493)、*Acipenser gueldenstaedti* (序列号 AF283748、AJ249692)、*Huso huso* (序列号 AY442351、KC130117)、*H. dauricus*♀ × *A. schrenckii*♂ 或者 *H. dauricus* (序列号 KY132098、LC125896)、

A. schrenckii (序列号 MH973734、KX276660) 的 Cyt b 序列，构建邻接法系统发育树 (图 4)。从图中可以看出，相同鲟鱼种的鱼子酱样品与 GenBank 中同种鲟鱼聚集在一起，且置信度在 88 以上，说明与 BLAST 比对出的同源性物种 (见表 3) 亲缘关系最近。

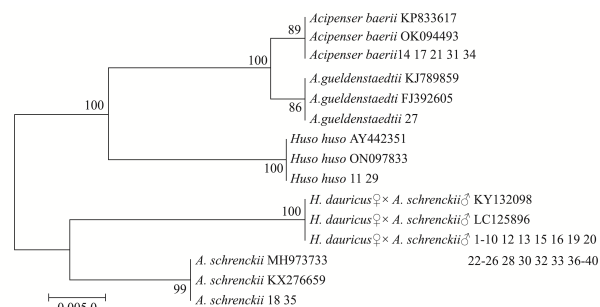


图3 基于鲟鱼类 COI 基因的 NJ 系统树

Fig.3 Molecular phylogenetic tree of sturgeon based on NJ analyses of COI gene sequences

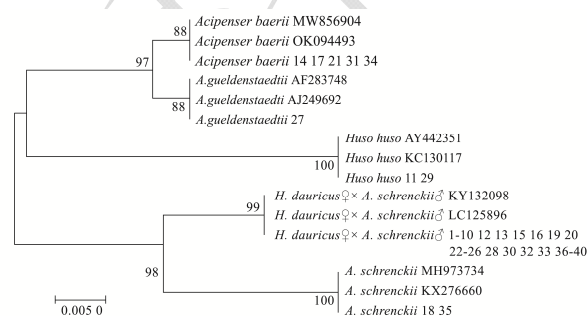


图4 基于鲟鱼类 Cytb 基因的 NJ 系统树

Fig.4 Molecular phylogenetic tree of sturgeon based on NJ analyses of Cytb gene sequences

2.4 鱼子酱物种鉴别

对 40 份鱼子酱样品进行 DNA 条形码物种鉴定，标签物种与实际鉴定物种相符的有 22 个样品，不符 18 个样品。在相符的 22 个样品中 13 个样品测序结果显示有可能是杂交种 A (母系为达氏鳇的杂交鳇) 或纯达氏鳇、杂交种 B (母系为施氏鳇的杂交鳇) 或纯施氏鳇，由于 COI 基因和 Cyt b 基因是线粒体基因部分，而子代线粒体基因均遗传于母系，所以无法依靠 COI 基因和 Cyt b 基因对纯种或杂交种进行区别。在这种情况下，物种鉴定参考标签情况进行判定。如果标签显示物种为杂交鳇 (或海博瑞鳇)，则判定为杂交鳇 (标签符合)；如标签显示达氏鳇或施氏鳇 (如样品 5、10、18、30、35)，则判定为相应的纯种鳇 (标签符合)。如果标签显示为其他纯种鳇 (如西伯利亚鳇、欧鳇、俄罗斯鳇等)，则为标签不符，本研究中 18 个样品标签不符均为此种情况。

表3 鱼子酱物种鉴定结果

Table 3 Results of caviar species identification

样品 编号	COI		Cytb		鉴定物种	标签物种	符合情况
	NCBI Blast	Bold ID's	NCBI Blast				
1	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	西伯利亚鲟	标签不符	
2	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	杂交鲟	标签符合	
3	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	施氏鲟	标签不符	
4	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	俄罗斯鲟	标签不符	
5	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	达氏鳇	标签符合	
6	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	西伯利亚鲟	标签不符	
7	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	施氏鲟	标签不符	
8	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	杂交鲟	标签符合	
9	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	俄罗斯鲟	标签不符	
10	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	达氏鳇	标签符合	
11	欧鳇 100%	欧鳇 100%	欧鳇 100%	欧鳇	欧鳇	标签符合	
12	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	西伯利亚鲟	标签不符	
13	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	施氏鲟	标签不符	
14	西伯利亚鲟 100%	西伯利亚鲟 100%	西伯利亚鲟 100%	西伯利亚鲟	西伯利亚鲟	标签符合	
15	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	俄罗斯鲟	标签不符	
16	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	欧鳇	标签不符	
17	西伯利亚鲟 99.5%	西伯利亚鲟 100%	西伯利亚鲟 100%	西伯利亚鲟	西伯利亚鲟	标签符合	
18	杂交种(B)/施氏鲟 100%	杂交种(B)/施氏鲟 100%	杂交种(B)/施氏鲟 100%	施氏鲟	施氏鲟	标签符合	
19	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	杂交鲟	标签符合	
20	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	俄罗斯鲟	标签不符	
21	西伯利亚鲟 99.5%	西伯利亚鲟 100%	西伯利亚鲟 100%	西伯利亚鲟	西伯利亚鲟	标签符合	
22	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	杂交鲟	标签符合	
23	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	俄罗斯鲟	标签不符	
24	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	杂交鲟	标签符合	
25	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	西伯利亚鲟	标签不符	
26	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	鲟鱼	标签符合	
27	俄罗斯鲟 100%	俄罗斯鲟 100%	俄罗斯鲟 100%	俄罗斯鲟	俄罗斯鲟	标签符合	
28	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	杂交鲟	标签符合	
29	欧鳇 100%	欧鳇 100%	欧鳇 100%	欧鳇	欧鳇	标签符合	
30	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇		标签符合	
31	西伯利亚鲟 99.5%	西伯利亚鲟 100%	西伯利亚鲟 100%	西伯利亚鲟	西伯利亚鲟	标签符合	
32	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	杂交鲟	标签符合	
33	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	俄罗斯鲟	标签不符	
34	西伯利亚鲟 99.5%	西伯利亚鲟 100%	西伯利亚鲟 100%	西伯利亚鲟	西伯利亚鲟	标签符合	
35	杂交种(B)/施氏鲟 100%	杂交种(B)/施氏鲟 100%	杂交种(B)/施氏鲟 100%	施氏鲟	施氏鲟	标签符合	
36	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	杂交鲟	标签符合	
37	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	西伯利亚鲟	标签不符	
38	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	施氏鲟	标签不符	
39	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	俄罗斯鲟	标签不符	
40	杂交种(A)/达氏鲟 100%	达氏鳇 100%	杂交种(A)/达氏鲟 100%	杂交种(A)或达氏鳇	欧鳇	标签不符	

注: 杂交种(A)为达氏鳇♀×施氏鲟♂; 杂交种(B)为施氏鲟♀×达氏鳇♂。

分析标签不符的原因,有可能是生产企业对标签物种符合性要求不重视,或者对同一物种的鱼子酱加贴不同标签物种,增加其鱼子酱品种多样性,此为物种替代,是标签不合规的表现。同时也存在利用杂交鲟假冒其他纯种鲟达到提高鱼子酱售价的可能性,如假冒欧鲟、俄罗斯鲟鱼子酱。采集到的2个欧鲟鱼子酱样品,售价分别为500元/10g、1500元/10g,用杂交鲟冒充欧鲟的鱼子酱售价为300元/10g左右,俄罗斯鲟鱼子酱售价均价为170元/10g,均高于杂交鲟鱼子酱平均售价129元/10g。

检测的鱼子酱样品实际物种以杂交鲟(达氏鲟♀×施氏鲟♂)鱼籽为主,30个样品、占75%;西伯利亚鲟4个(10%),施氏鲟、欧鲟、俄罗斯鲟各2个样品,分别占5%,此鱼子酱物种鉴定情况与《鲟鱼子酱产业现状分析》文章中,“目前我国鱼子酱生产的主要鲟品种有达氏鲟×施氏鲟、施氏鲟、鲟、俄罗斯鲟、西伯利亚鲟等5种,达氏鲟×施氏鲟已取代施氏鲟成为我国鲟鱼子酱生产的主要品种,全年鱼子酱总产量的70.67%”结论相符。

3 讨论

在本研究工作中发现基于线粒体基因的 *COI* 与 *Cyt b* DNA 条形码技术也存在无法解决的问题。第一,无法实现对杂交种与纯种(母系)的鉴定,需要继续开发适用于杂交型鱼子酱物种鉴别的 DNA 条形码,为国内其他杂交鱼种的鉴定奠定技术基础。第二,利用 DNA 条形码技术无法实现野生鲟鱼与人工养殖鲟鱼的鉴别。如何对野生还是养殖鲟鱼进行鉴别,后续可以利用同位素质谱法或者其他化学分析仪器对脂肪或矿物质等成分构成、特征性图谱等进行产地溯源方面的研究,保护濒危野生鲟鱼。

4 结论

目前 DNA 条形码技术已经广泛应用在深加工食品、尤其是无法通过形态学手段进行物种鉴定。在鱼类分类中,多以 *COI* 基因、*Cyt b* 基因作为 DNA 条形码,进行种的鉴定。本研究对鱼子酱物种应用两种基因进行 DNA 条形码鉴定、构建进化树,鉴定结果一致。同时,实验结果显示鱼子酱的加工方式对 DNA 提取无明显影响,DNA 质量可以满足 PCR 扩增要求,*COI* 与 *Cyt b* 在鱼子酱物种鉴定中可以正常发挥 DNA 条形码的作用。

在本研究中鉴定的40个样品均为鲟鱼子酱,无造假现象,但是存在物种替代和物种标识不清的情况,标签相符情况仅为55%。作为世界第一鲟养殖国和鱼

子酱生产大国,中国鲟产业发展迅速,对我国乡村产业振兴、经济发展起到支撑和推动作用。但国内鲟鱼产品加工行业发展不规范制约了我国鲟鱼产业可持续发展。根据 CITES 规定,鱼子酱的国际贸易对鲟的种质要求极其严格,必须标签明确种类,盲目杂交或鱼子酱物种标识不明、信息不准确都将导致鱼子酱出口遭遇 CITES 技术壁垒。所以加强对产品物种标识的重视程度,强调标签符合性与国际行业要求接轨,对于扩大我国鱼子酱产业对外贸易,保障我国鲟鱼产业可持续性健康发展具有重要的作用。

参考文献

- [1] Billard R, Lecointre G. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish [J]. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 2001, 10: 355-392.
- [2] 纪锋,王炳谦,孙大江,等.我国冷水性鱼类产业现状及发展趋势探讨[J].*水产学杂志*,2012,25(3):63-68.
- [3] Bronzi P, Chebanov M, Michaels J T, et al. Sturgeon meat and caviar production: Global update 2017 [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2019, 35(1): 257-266.
- [4] Phaedra D, Pikitch E K, Anna R, et al. Testing the effectiveness of an international conservation agreement: marketplace forensics and CITES caviar trade regulation [J]. *Plos One*, 2012, 7(7): e40907.
- [5] 孙大江,张颖,马国军.鲟鱼子酱的生产与国际贸易概况[J].*水产学杂志*,2014,27(1):1-7.
- [6] 刘晓勇,李鸯鸯,赵明军.中国鲟鱼养殖产业发展战略思考[J].*中国渔业经济*,2013,31(6):69-76.
- [7] Sicuro, Benedetto. The future of caviar production on the light of social changes: a new dawn for caviar? [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2019, 11(2): 204-219.
- [8] Pappalardo A M, Petraccioli A, Capriglione T, et al. From fish eggs to fish name: caviar species discrimination by COI-Bar-RFLP, an efficient molecular approach to detect fraud in the caviar trade [J]. *Molecules*, 2019, 24(13): 2468.
- [9] Tavakoli S, Luo Y, Regenstein J M, et al. Sturgeon, caviar, and caviar substitutes: from production, gastronomy, nutrition, and quality change to trade and commercial mimicry [J]. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 2021, 39: 1-25.
- [10] Kneibelsberger, Thomas, Guenther, et al. Full-length and mini-length DNA barcoding for the identification of seafood commercially traded in Germany [J]. *Food Control*, 2017, 73, 922-929.
- [11] Boscarì E, Barmintseva A, Pujolar J M, et al. Species and hybrid identification of sturgeon caviar: a new molecular

- approach to detect illegal trade [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2014, 14(3): 489-498.
- [12] Boscari E, Vitulo N, Ludwig A, et al. Fast genetic identification of the Beluga sturgeon and its sought-after caviar to stem illegal trade [J]. *Food Control*, 2017, 75: 145-152.
- [13] Monavar H M, Alimardani R, Omid M, et al. Prediction of species and freshness of caspian caviar during storage by front-face fluorescence spectroscopy [J]. *International Journal of Agricultural Technology*, 2012, 8(5): 1555-1569.
- [14] Depeters E J, Puschner B, Taylor S J, et al. Can fatty acid and mineral compositions of sturgeon eggs distinguish between farm-raised versus wild white (*Acipenser transmontanus*) sturgeon origins in California? Preliminary report [J]. *Forensic Science International*, 2013, 229(1-3): 128-132.
- [15] 万超,代弟,屈菲,等.实时荧光定量 PCR 法鉴别俄罗斯鲟鱼子酱分子[J].*食品安全质量检测学报*,2021,12(2):514-518.
- [16] Pla A, Vc A, Mvr A, et al. Detection of fish species substitution frauds in Italy: a targeted national monitoring plan-science direct [J]. *Food Control*, 2019, 101: 151-155.
- [17] Ludwig A, Lieckfeldt D, Jahrl J, et al. Mislabeled and counterfeit sturgeon caviar from Bulgaria and Romania [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2015, 31(4): 587-591.
- [18] David M, Irwin, Thomas D, et al. Evolution of the cytochrome b gene of mammals [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1991, 32(2): 128-144.
- [19] Ward R D, Hanner R H, Hebert P. The campaign to DNA barcode all fishes, fish-bol [J]. *Journal of Fish Biology*, 2010, 74(2): 329-356.
- [20] Zeng L, Armani A, Wen J, et al. Molecular identification of seahorse and pipefish species sold as dried seafood in China: A market-based survey to highlight the actual needs for a proper trade [J]. *Food Control*, 2019, 103: 175-181.
- [21] Barbuto, M, Galimberti A, Ferri E, et al. DNA barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products: The Italian case of “palombo” (*Mustelus* spp.) [J]. *Food Research International*, 2010, 43(1): 376-381.