

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20200303003

http://www.yykxjz.cn/

赵新宁, 牟铭, 李昂, 柳淑芳, 庄志猛. DNA 条形码技术鉴定青岛市售三文鱼水产品. 渔业科学进展, 2021, 42(4): 184–191
ZHAO X N, MU M, LI A, LIU S F, ZHUANG Z M. Identification of salmon aquatic products sold in Qingdao using DNA barcoding technology. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(4): 184–191

DNA 条形码技术鉴定青岛市售三文鱼水产品*

赵新宁^{1,2} 牟铭^{1,2} 李昂^{2,3} 柳淑芳^{2,3}① 庄志猛^{2,3}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306;

2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室 山东 青岛 266071;

3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 山东 青岛 266200)

摘要 仅凭感官甄别市售三文鱼(鲑鳟鱼类的统称)是大西洋鲑(*Salmo salar*)或虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)难度很大, 而广泛应用于物种分类学研究的 DNA 条形码为物种快速准确鉴定提供了强有力的技术支撑。本研究采用 DNA 条形码技术, 对山东省青岛市 6 个城区大型商超和农贸市场的三文鱼商品标识与实际物种信息进行了调查。在采集的 74 份三文鱼样品中, 成分为大西洋鲑的样品有 61 份, 占比为 82.43%; 成分为虹鳟的样品有 11 份, 占比为 14.86%; 另外, 青岛市售三文鱼商品中还含有一定比例的大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta*)和银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*), 各占比为 1.35%。调查数据显示, 青岛市场流通的三文鱼商品以大西洋鲑为主, 但核对商品标识与实际物种信息发现, 14.86% 的三文鱼外包装标识商品名称与检测结果不一致, 且有多于 40% 的三文鱼商品未标注产地信息。可见, 三文鱼水产品仍存在一定的掺假风险和食品安全风险, 这一国际公认的高端水产品的市场监管还有待于加强, 建议相关部门应尽快制定产品标准和检测标准, 确保三文鱼产品质量安全可溯源。

关键词 三文鱼; DNA 条形码; 大西洋鲑; 虹鳟

中图分类号 S932.4 文献标识码 A 文章编号 2095-9869(2021)04-0184-08

“三文鱼”一词由“Salmon”音译而来, 是鲑鳟鱼类的商品名称。三文鱼因富含蛋白质和不饱和脂肪酸, 营养与保健价值极高, 成为国际公认的高档水产品。但不同种类三文鱼其肉质存在一定差异, 且不同国家消费偏好也有所不同。欧美文化中的三文鱼通常指拥有跨盐度洄游行为的大西洋鲑(*Salmo salar*), 其分类上隶属于鲑形目(Salmoniformes)、鲑科(Salmonidae)、鲑属(*Salmo*)。我国市场上流通的三文鱼主要是进口大西洋鲑, 产地有挪威、智利和丹麦等,

而消费者最认可的是挪威产大西洋鲑, 商品名为“挪威三文鱼”。

鲑鳟鱼类中还有一类生活史全部在淡水完成的物种——虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*), 其分类上隶属于鲑科、大马哈鱼属(*Oncorhynchus*)。虹鳟是 FAO 推荐的优良淡水养殖种之一, 在国际上一直被列为名贵鱼类。目前, 虹鳟是国内养殖范围较广的冷水鱼类, 已经在 29 个省市和自治区开展人工养殖(王金娜等, 2015), 且形成了一定产业规模, 据渔业统计资料显

* 国家重点研发计划(2019YFC1604702)和山东省泰山学者建设工程专项经费项目共同资助 [This work was supported by National Key Research and Development Program of China (2019YFC1604702), and Special Funds for Taishan Scholar Project of Shandong Province]. 赵新宁, E-mail: 18306391085@163.com

① 通讯作者: 柳淑芳, 研究员, E-mail: liusf@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2020-03-03, 收修改稿日期: 2020-04-01

示, 2018年我国虹鳟养殖产量达3.86万t(农业农村部渔业渔政管理局, 2019)。国内市场上虹鳟通常作为三文鱼进行销售, 例如, 青海产虹鳟商品名为“青海三文鱼”。

虽然虹鳟也属于鲑科鱼类, 但国产虹鳟为淡水养殖种, 其生产成本及营养价值均低于大西洋鲑(刘延岭等, 2011; 何晓霞等, 2019), 这种混淆销售的现象引起很大争议。尤其是2018年《生食三文鱼》团体标准发布以来, 虹鳟的三文鱼冠名之争引起消费者对市场上三文鱼真实身份的高度关注。曾有新闻报道, 中国市场上的三文鱼约有1/3是虹鳟。国外也有报道称美国华盛顿地区有38%的三文鱼产品存在商品标识与实际物种不一致(Cline, 2012)。我国水产品市场上流通的三文鱼中大西洋鲑和虹鳟究竟占比多少? 市售三文鱼的商品标识与实际物种信息是否相符? 本研究采用DNA条形码技术对青岛市大型商超和农贸市场的三文鱼进行了物种鉴定, 以期对三文鱼市场监管精准施策提供基础数据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

2018年8月从山东省青岛市6区大型商超和水产品批发市场购买到商品标识为三文鱼的样品共计73份, 商品标识为鳟鱼的样品1份, 样品共计74份。其中, 市南区(SN)13份、市北区(SB)10份、城阳区(CY)11份、李沧区(LC)9份、黄岛区(HD)9份、崂山区(LS)22份, 包括冰冻、新鲜、少许调味品等不同产品类型。

1.2 实验方法

1.2.1 样本DNA提取与浓度测定 每个样品取肌肉约30mg, 按照海洋生物组织基因组DNA提取试剂盒(天根生化科技有限公司)说明书提取DNA。提取后, DNA模板经0.8%琼脂糖凝胶电泳检测。同时, 取3μL DNA模板置于核酸蛋白测定仪上测定浓度。

1.2.2 DNA条形码序列扩增与测序 DNA条形码扩增引物采用Ward等(2005)推荐的鱼类线粒体*CO I*基因通用引物, 引物序列:*CO I*-F: 5'-TCAACCAACCACAAGACATTGGCAC-3', *CO I*-R: 5'-TAGACTTC TGGGTGGCCAAAGAATCA-3'。

PCR反应体系: 2×Rapid Taq Master Mix 12.5 μL, 引物*CO I*-F和*CO I*-R各1 μL, DNA模板2 μL, 用无菌水补足总体积25 μL。

PCR反应条件: 95℃变性3 min; 95℃ 15 s, 50℃

10 s, 72℃ 40 s, 35个循环; 72℃延伸7 min。

PCR产物约为680 bp, 经1.5%琼脂糖凝胶电泳检测, 挑选出条带明亮单一的样品产物送华大基因公司进行正反向双向测序。

1.3 数据分析

使用Sequencher软件对测序结果进行校正拼接, 获得准确完整的DNA条形码序列。

使用ClustalX 2.0 (Larkin *et al*, 2007)和MEGA 6.0 (Tamura *et al*, 2013)软件对测得的DNA条形码序列进行分析, 比较不同样品、不同产地的DNA条形码特征, 将各样品序列进行编辑、排序, 采用邻接法(NJ)构建分子系统关系树, 采用Kimura-2-parameter模型计算种内和种间遗传距离, 初步确定样品的种类。

随后在中国重要渔业生物DNA条形码数据库(<http://www.fishery-barcode.cn>)和国际DNA条形码数据系统BOLD (<http://www.boldsystems.org>)中进行BLAST比对分析, 对样品进行准确的物种鉴定。

2 结果与分析

2.1 三文鱼样品的DNA条形码分析

2.1.1 DNA条形码扩增结果 DNA条形码通用引物序列位于mtDNA *CO I*基因的5'端。本研究对市场采集的74份三文鱼样品进行PCR扩增, 部分三文鱼样品与Marker DL2000的电泳图见图1。经双向测序、序列校正与拼接, 最终获得74条片段长度约680 bp的DNA条形码序列, 同时, 也表明DNA条形码通用引物对不同形式的三文鱼样品检测具有普遍适用性。

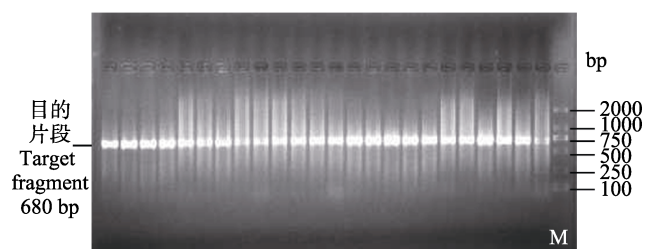


图1 三文鱼样品的DNA条形码序列电泳图

Fig.1 DNA barcodes of salmon samples on gel

M: DL2000 DNA marker

2.1.2 种间及种内的遗传距离分析 74个样品的DNA条形码序列经ClustalX同源性聚类 and 排序后可聚为4组, 第1组(GP1)包含61条序列, 第2组(GP2)有11条序列, 第3组(GP3)和第4组(GP4)各有1条序列。初步判断, 每组DNA条形码序列代表1个物种, 即74个样品包含4种鱼类。

进一步采用 MEGA 6.06 软件基于 K2P 模型计算这 4 种鱼类的种内和种间遗传距离。数据分析显示(表 1), 4 种鱼的种内平均遗传距离均小于 0.005, 平均值为 0.003; 种间遗传距离范围为 0.074~0.165, 平均值为 0.126; 种间遗传距离是种内的 42 倍。Hebert 等(2003)指出, *CO I* 基因序列作为 DNA 条形码鉴别物种的关键点是种内遗传距离应小于 0.020, 且种间与种内遗传距离差异大于 10 倍。可见, 种间及种内的遗传距离分析结果进一步验证了 ClustalX 聚类结果。鉴于此, 运用 DNA 条形码技术将 74 个样品准确鉴定为 4 个有效物种。

表 1 三文鱼样品的种内和种间遗传距离
Tab.1 Species interspecific/intraspecific distance

	GP1	GP2	GP3	GP4
GP1	0.002			
GP2	0.149	0.004		
GP3	0.151	0.074	0	
GP4	0.165	0.109	0.106	0

2.1.3 三文鱼样品的物种鉴定 将 74 条 DNA 条形码序列分别在 BOLD 数据库 (<http://www.boldsystems.org>) 和中国重要渔业生物 DNA 条形码数据库 (<http://www.fishery-barcode.cn>) 中进行 BLAST 比对分析, 物种鉴定结果为: GP1 的 61 条序列与数据库中大西洋鲑标准 DNA 条形码序列相似度为 99%~100%; GP2 的 11 条序列与数据库中虹鳟标准 DNA 条形码序列相似度为 99%~100%; GP3 的 1 条序列与数据库中银大麻哈鱼 (*Oncorhynchus kisutch*) 标准 DNA 条形码序列相似度为 99%; GP4 的 1 条序列与数据库中大麻哈鱼 (*Oncorhynchus keta*) 标准 DNA 条形码序列相似度为 99%。

为了进一步验证上述分析和鉴定结果, 从 BOLD 数据库和中国重要渔业生物 DNA 条形码数据库分别下载 1 条大西洋鲑、虹鳟、银大麻哈鱼、大麻哈鱼的标准 DNA 条形码, 与本研究的三文鱼样品 DNA 条形码合并构建 NJ 分子系统树。如图 2 所示, 74 条样品序列与 8 条鲑科鱼类标准 DNA 条形码序列共聚为 4 个分支, 其中, GP1 的 61 条序列与大西洋鲑标准 DNA 条形码序列聚为一个独立分支; GP2 的 11 条序列与虹鳟聚为一个独立分支, 再与 GP3 的银大麻哈鱼和 GP4 的大麻哈鱼互为姐妹分支。分子系统树不但确证了三文鱼样品的物种鉴定结果, 且支持了生物分类学观点, 即虹鳟、麻哈鱼、银大麻哈鱼为大马哈鱼属 (*Oncorhynchus*) 内近缘种, 而大西洋鲑则属于鲑属, 它们均属于鲑形目、鲑科。

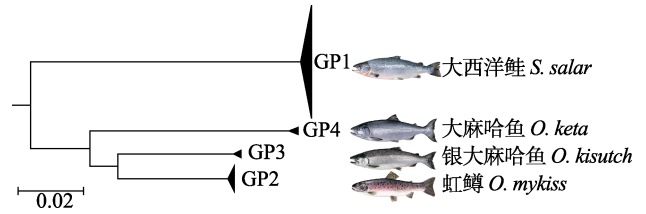


图 2 74 个三文鱼样品与鲑科 4 种类别的 DNA 条形码 NJ 分子系统树

Fig.2 NJ molecular tree of DNA barcodes for 74 salmon samples and 4 species of salmonidae

2.2 三文鱼样品调查结果分析

2.2.1 大型商超三文鱼成分鉴定 从青岛市 6 个区的大型商超购得样品共计 54 份, 其中, 商品标识为三文鱼的样品 53 份, 商品标识为鳟鱼的样品 1 份。经 DNA 条形码鉴定(表 2), 其中, 44 份三文鱼商品的物种鉴定结果为大西洋鲑, 占比 81.48%; 7 份三文鱼商品和 1 份鳟鱼商品被鉴定为虹鳟, 占比 14.82%; 另外 2 份三文鱼商品分别被鉴定为大麻哈鱼和银大麻哈鱼(也称银鲑), 各自占比 1.85%。在商品价格方面, 原料为虹鳟的商品其单价普遍低于同类商品形式的大西洋鲑。

2.2.2 水产品批发市场三文鱼成分鉴定 从青岛市 6 个区的水产品批发市场购得商品标识为三文鱼的样品共计 20 份, DNA 条形码鉴定结果显示(表 3), 其中, 17 份三文鱼商品的物种鉴定结果为大西洋鲑, 占比 85%; 3 份三文鱼商品被鉴定为虹鳟, 占比 15%。水产品批发市场的三文鱼样品中, 大西洋鲑和虹鳟所占比重与大型商场基本一致。就价格而言, 多数批发市场的三文鱼价格低于商超货架上的同类商品, 但批发市场销售的不同原料成分三文鱼其价格差异并不明显。

2.2.3 三文鱼样品调查结果比较分析 本次调查共取得市售三文鱼样品 74 份, 运用 DNA 条形码技术对三文鱼商品进行物种鉴定。结果显示(表 4), 青岛市场流通的三文鱼商品以大西洋鲑为主, 占比为 82.43% (61/74); 虹鳟占青岛三文鱼商品的比例为 14.86% (11/74); 另外, 三文鱼商品中还有一定比例的大麻哈鱼和银大麻哈鱼(也称银鲑), 占比分别为 1.35% (1/74)。核对样品的商品标识, 其中, 61 份三文鱼商品为大西洋鲑, 1 份三文鱼排(银鲑)鉴定结果为银鲑, 1 份烟熏鳟鱼切片(虹鳟)鉴定结果为虹鳟, 即外包装标识的商品名称与检测结果吻合率为 85.14% (63/74); 另有 10 份三文鱼样品鉴定结果为虹鳟, 还有 1 份样品被鉴定为大麻哈鱼, 即标识商品名称与检测结果不一致的比例为 14.86% (11/74)。

表2 大型商超三文鱼物种鉴定结果
Tab.2 Identification results of salmon samples from large supermarkets

序号 No.	样品标号 Sample ID	商品标识(成分) Labeling (ingredient)	原产地 Patria	单价/(元·kg ⁻¹) Unit price(CNY·kg ⁻¹)	鉴定结果 Identification result
1	CY5_2	三文鱼鱼段	未标注 Unlabeled	112	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
2	CY6_1	三文鱼片	未标注 Unlabeled	348	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
3	CY6_2	三文鱼扒	智利 Chile	194	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
4	CY6_3	三文鱼扒	智利 Chile	250	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
5	CY7_1	三文鱼刺身	挪威 Norway	276	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
6	CY7_2	三文鱼鱼段	挪威 Norway	80	虹鳟 <i>O. mykiss</i>
7	CY7_3	三文鱼头	挪威 Norway	45	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
8	HD1	三文鱼生鱼片	未标注 Unlabeled	336	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
9	HD2	三文鱼鱼段	未标注 Unlabeled	243	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
10	HD4	三文鱼排(银鲑)	智利 Chile	136	银大麻哈鱼 <i>O. kisutch</i>
11	HD8	三文鱼鱼皮	未标注 Unlabeled	216	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
12	HD10	三文鱼头	智利 Chile	210	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
13	HD11	三文鱼鱼段	未标注 Unlabeled	224	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
14	HD12	三文鱼刺身	未标注 Unlabeled	334	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
15	LS01	三文鱼生鱼片	未标注 Unlabeled	210	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
16	LS02	三文鱼鱼段	未标注 Unlabeled	276	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
17	LS03	三文鱼鱼皮	未标注 Unlabeled	32	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
18	LS04	三文鱼刺参	丹麦 Danmark	368	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
19	LS05	三文鱼刺参	丹麦 Danmark	380	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
20	LS06	三文鱼鱼片	未标注 Unlabeled	396	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
21	LS07	三文鱼鱼腩	未标注 Unlabeled	398	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
22	LS08	三文鱼头	未标注 Unlabeled	60	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
23	LS16	烟熏三文鱼切片	智利 Chile	320	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
24	LS17	烟熏三文鱼切片	智利 Chile	346	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
25	LS18	烟熏鳟鱼切片(虹鳟)	智利 Chile	240	虹鳟 <i>O. mykiss</i>
26	LS19	冰鲜三文鱼柳	智利 Chile	230	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
27	LS20	三文鱼刺身	上海市 Shanghai	180	虹鳟 <i>O. mykiss</i>
28	LS21	烟熏三文鱼	上海市 Shanghai	160	虹鳟 <i>O. mykiss</i>
29	LS22	三文鱼生鱼片	丹麦 Danmark	360	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
30	LS23	三文鱼肉	未标注 Unlabeled	278	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
31	LS24	三文鱼切身	智利 Chile	192	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
32	SB01	冻三文鱼扒	智利 Chile	175	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
33	SB02	三文鱼头	未标注 Unlabeled	48	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
34	SB08	三文鱼皮	未标注 Unlabeled	48	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
35	SB09	三文鱼段	美国 USA	227	大麻哈鱼 <i>O. keta</i>
36	SB10	寿司三文鱼皮	未标注 Unlabeled	40	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
37	SN02	三文鱼生鱼片	未标注 Unlabeled	368	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
38	SN03	三文鱼生鱼片	挪威 Norway	722	大西洋鲑 <i>S. salar</i>

续表 2

序号 No.	样品标号 Sample ID	商品标识(成分) Labeling (ingredient)	原产地 Patria	单价/(元·kg ⁻¹) Unit price/(CNY·kg ⁻¹)	鉴定结果 Identification result
39	SN04	三文鱼生鱼片	未标注 Unlabeled	613	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
40	SN05	三文鱼生鱼片	未标注 Unlabeled	680	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
41	SN06	三文鱼生鱼片	挪威 Norway	1700	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
42	SN07	三文鱼生鱼片	挪威 Norway	1368	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
43	SN08	三文鱼生鱼片	未标注 Unlabeled	296	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
44	SN10	三文鱼切身	智利 Chile	262	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
45	SN11	三文鱼尾	挪威 Norway	60	虹鳟 <i>O. mykiss</i>
46	SN12	三文鱼尾	挪威 Norway	60	虹鳟 <i>O. mykiss</i>
47	SN13	三文鱼尾	挪威 Norway	60	虹鳟 <i>O. mykiss</i>
48	SN14	三文鱼尾	挪威 Norway	60	虹鳟 <i>O. mykiss</i>
49	LC01	三文鱼头	未标注 Unlabeled	40	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
50	LC05	三文鱼皮	未标注 Unlabeled	46	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
51	LC06	三文鱼骨	未标注 Unlabeled	48	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
52	LC07	速冻三文鱼切身	智利 Chile	230	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
53	LC08	三文鱼切段	智利 Chile	158	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
54	LC09	三文鱼肉丁	智利 Chile	432	大西洋鲑 <i>S. salar</i>

表 3 水产品批发市场三文鱼物种鉴定结果

Tab.3 Identification results of salmon samples from aquatic markets

序号 No.	样品标号 Sample ID	商品标识(成分) Labeling (ingredient)	原产地 Patria	单价/(元·kg ⁻¹) Unit price/(CNY·kg ⁻¹)	鉴定结果 Identification result
1	CY1	速冻三文鱼切身	未标注 Unlabeled	120	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
2	CY2	速冻三文鱼切身	智利 Chile	100	虹鳟 <i>O. mykiss</i>
3	CY3	三文鱼刺身	智利 Chile	204	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
4	CY4	速冻三文鱼切身	智利 Chile	133	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
5	HD06	三文鱼头	青岛 Qingdao	234	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
6	HD07	三文鱼段	未标注 Unlabeled	150	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
7	LS09	三文鱼段	澳大利亚 Australia	190	虹鳟 <i>O. mykiss</i>
8	LS10	三文鱼段	挪威 Norway	220	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
9	LS11	三文鱼段	挪威 Norway	220	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
10	LS12	三文鱼头	挪威 Norway	20	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
11	LS13	三文鱼头	挪威 Norway	30	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
12	SB03	三文鱼肉	未标注 Unlabeled	110	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
13	SB04	野生三文鱼肉	丹麦 Danmark	158	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
14	SB05	三文鱼肉	未标注 Unlabeled	112	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
15	SB06	三文鱼头	未标注 Unlabeled	16	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
16	SB07	三文鱼头	未标注 Unlabeled	20	虹鳟 <i>O. mykiss</i>
17	SN09	三文鱼生鱼片	挪威 Norway	180	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
18	LC02	三文鱼头	挪威 Norway	80	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
19	LC03	三文鱼尾	挪威 Norway	80	大西洋鲑 <i>S. salar</i>
20	LC04	三文鱼生鱼片	挪威 Norway	200	大西洋鲑 <i>S. salar</i>

从样品分布区域看,市南区的三文鱼商品中虹鳟的检出率最高(4/13),为 30.77%;其次是城阳区(2/11)和崂山区(4/22),虹鳟检出率均为 18.18%;黄岛区和李沧区获得的样品数量最少,同时,2 个区的虹鳟检出率均为 0(表 4)。

表 4 三文鱼样品鉴定结果
Tab.4 Identification results of salmon samples

区域 Area	鉴定结果 Identification result			
	大西洋鲑 <i>S. salar</i>	虹鳟 <i>O. mykiss</i>	银大麻哈鱼 <i>O. kisutch</i>	大麻哈鱼 <i>O. keta</i>
市南区 SN	9	4	—	—
市北区 SB	8	1	—	1
李沧区 LC	9	—	—	—
城阳区 CY	9	2	—	—
崂山区 LS	18	4	—	—
黄岛区 HD	8	—	1	—
合计 Total	61	11	1	1

从样品产地来源看,青岛市售三文鱼样品中 40.54%未标注产地(30/74);产地标识清晰的样品以进口三文鱼为主,占比为 55.41%(41/74),其中,24.32%来自挪威(18/74),22.97%来自智利(17/74),5.41%来自丹麦(4/74),还有少量来自美国和加拿大,分别占 1.35%(1/74);国产三文鱼占比较少,仅有 4.05%(3/74)(图 3)。

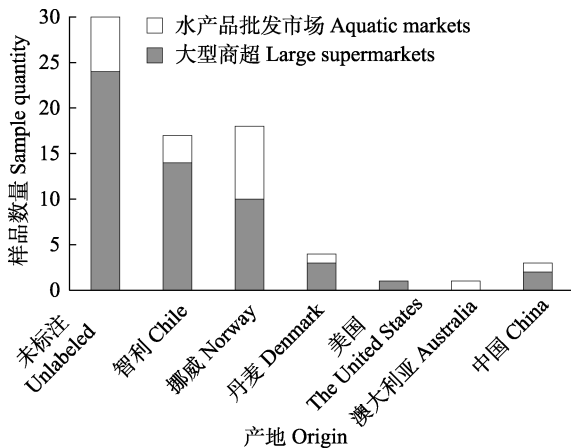


图 3 74 份三文鱼样品的产地来源
Fig.3 Origin of 74 salmon samples

3 讨论

随着分子分类学的发展, DNA 条形码越来越多的用于物种分类学研究。生命条形码联盟(The Consortium for the Barcode of Life, CBOL)推荐使用线粒体细胞色素 C 氧化酶 I (cytochrome c oxidase subunit I, CO I) 基因来构建动物的物种鉴别体系

(Remigio *et al*, 2004)。2005 年, Ward 等(2005)通过对部分鱼类的 CO I 基因分析,准确区分出 204 个物种,验证了 DNA 条形码识别鱼类的功效。本团队也多次验证了该项技术在鱼种鉴定分类中的有效性(柳淑芳等, 2016a、b、c)。迄今,国际生命条形码数据库系统(Barcode of Life Data Systems, BOLD)系统包含了约 26.7 万物种的 570 万条 DNA 条形码序列。中国重要渔业生物 DNA 条形码信息平台 (<http://www.fisherybarcode.cn>) 是我国渔业生物 DNA 条形码信息发布与数据查询的重要平台,目前收录了 2587 种渔业生物的 DNA 条形码序列 4 万余条。相较于传统形态分类学, DNA 条形码不受组织部位、发育时期和样品状态的限制(Khedkar *et al*, 2014),具有操作简便快捷、高效准确和特异性灵敏度高优势(王敏等, 2015),为物种的快速准确鉴定提供了强有力的技术支持。本研究使用 DNA 条形码技术对青岛市售三文鱼进行成分鉴定,通过同源性聚类、种内和种间遗传距离计算、标准 DNA 条形码数据信息系对比及分子系统树构建等系列分析过程,将 74 份三文鱼商品准确鉴定为大西洋鲑、虹鳟、银大麻哈鱼和大麻哈鱼 4 个物种。可见, DNA 条形码技术为三文鱼成分的快速准确鉴定提供了有效技术手段。

虽然,“三文鱼”是鲑鳟鱼类的统称,但因三文鱼食材品质考究且市场价格昂贵,人工养殖的淡水虹鳟与公众印象中来自大西洋的名贵三文鱼难以相提并论。近年来,养殖虹鳟的大量供给对世界三文鱼贸易带来较大冲击,引发了一场“真假三文鱼”大战。然而对普通消费者来说,仅凭感官甄别市售三文鱼是大西洋鲑或虹鳟难度很大。水产品市场上流通的三文鱼究竟包含哪些种类?其商品标识是否真实? Cline (2012)采用 DNA 条形码技术调查了美国华盛顿地区三文鱼产品,发现 38%的商品标识与实际物种不一致。Wong 等(2008)利用 DNA 条形码技术对北美市场销售的 91 个样品进行分析,有 23 个海产品的标签与实物不相符。Filonzi 等(2010)通过 DNA 条形码技术对意大利市场上的 69 份鱼类样品进行分析,发现 32%存在错贴标签的现象。丁清龙等(2019)对广东省市售三文鱼调查发现,三文鱼主要成分以大西洋鲑为主,占 93.88%,虹鳟仅有 4.08%。本研究采用 DNA 条形码技术对青岛市部分地区销售三文鱼成分进行甄别,调查数据显示,三文鱼种类以大西洋鲑为主,占比 82.43%;虹鳟占比 14.86%;另外,市售三文鱼商品中还含有 2.7%的大麻哈鱼和银大麻哈鱼。核对商品标识与实际物种信息,14.86%的三文鱼外包装标识与检测结果不一致。

目前,我国尚无三文鱼物种鉴别相关的产品标准与检测方法标准。尽管本调查结果显示三文鱼商品中虹鳟占比不到 1/6,但仅采集到 1 份产品标注了鳟鱼切片,其他产品的商品名或成分仅标注了三文鱼。如果商家能够严格把控养殖生产和市场流通过程的各个环节,其实国产虹鳟也不失为一种味美价廉的生食鱼种,可为国民提供更多的选择。另外,调查发现,有 40% 多的三文鱼商品未标注产地信息。产地信息不透明将增加三文鱼产品的掺假风险和食品安全风险。可见,对这一高端水产品的市场监管还有待于加强,且应尽快制定相关标准,确保三文鱼水产品质量安全可溯源。

致谢: 感谢渔业生物分子生态学实验室的马騫、胡鹏、张金勇、项子龙、杨龙、姜邴轩和李蒙等老师与同学在市场调查取样过程中给予的帮助。

参 考 文 献

- Bureau of Fishery Administration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Aquatic Technology Popularization Station, Chinese Fishery Association. China fishery statistical yearbook. Beijing: China Agricultural Press, 2019, 25 [农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社, 2019, 25]
- CLINE E. Marketplace substitution of Atlantic salmon for Pacific salmon in Washington State detected by DNA barcoding. *Food Research International*, 2012, 45(1): 388–393
- DING Q L, ZENG X C, ZHOU L, *et al.* Investigation of salmon adulteration. *Journal of Food Safety and Quality*, 2019(13): 4080–4085 [丁清龙, 曾晓琮, 周露, 等. 三文鱼水产品掺假情况调查. 食品安全质量检测学报, 2019(13): 4080–4085]
- FILONZI L, CHIESA R, VAGHI R, *et al.* Molecular barcoding reveals mislabelling of commercial fish products in Italy. *Food Research International*, 2010, 43(5): 1383–1388
- HE X X, XU Y L, XU Y, *et al.* Adulteration identification of salmon and institutional preventive measures and suggestion. *Journal of Food Safety and Quality*, 2019, 10(1): 220–225 [何晓霞, 许艳丽, 徐颖, 等. 麻哈鱼掺假鉴定及制度防范措施和建议. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(1): 220–225]
- HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, *et al.* Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2003, 270(1512): 313–321
- KHEDKAR G D, JAMDADE R, NAIK S, *et al.* DNA barcodes for the fishes of the Narmada, one of India's longest rivers. *PLoS One*, 2014, 9(7): e101460
- LARKIN M A, BLACKSHIELDS G, BROWN N P, *et al.* ClustalW and ClustalX version 2.0. *Bioinformatics*, 2007, 23(21): 2947–2948
- LIU S F, LI X R, DU T F, *et al.* DNA barcoding and electronic microarray for common fish species in Shandong coastal waters. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2016b, 23(4): 777–790 [柳淑芳, 李献儒, 杜腾飞, 等. 山东近海习见鱼类 DNA 条形码及其电子芯片分析. 中国水产科学, 2016b, 23(4): 777–790]
- LIU S F, LI X R, LI D, *et al.* Development of DNA barcode-microarray for identification of Engraulidae fishes. *Progress in Fishery Sciences*, 2016a, 37(6): 19–25 [柳淑芳, 李献儒, 李达, 等. 鳀科(Engraulidae)鱼类 DNA 条形码电子芯片研究. 渔业科学进展, 2016a, 37(6): 19–25]
- LIU S F, LI X R, YANG Y, *et al.* A DNA barcode for the Scorpaeniformes and construction of a DNA microarray for Scorpaenidae fish. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2016c, 23(5): 1006–1022 [柳淑芳, 李献儒, 杨钰, 等. 鲷形目鱼类 DNA 条形码分析及鲷科 DNA 条形码电子芯片建立. 中国水产科学, 2016c, 23(5): 1006–1022]
- LIU Y L, DING L. Comparison of the nutrition components in muscles of Norway salmon and artificial breeding salmon. *Food and Fermentation Technology*, 2011, 47(6): 84–86 [刘延岭, 邓林. 养殖三文鱼与挪威三文鱼营养成分的比较分析. 食品与发酵科技, 2011, 47(6): 84–86]
- REMIGIO E A, HEBERT P D N. Testing the utility of partial COI sequences for phylogenetic estimates of gastropod relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 29(3): 641–647
- TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, *et al.* MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(12): 2725–2729
- WANG J N, TAI D M, AN M. Survey of the development of *Oncorhynchus mykiss* culture. *Journal of Hebei Fisheries*, 2015(3): 62–65 [王金娜, 邵定敏, 安苗. 虹鳟鱼养殖发展研究概况. 河北渔业, 2015(3): 62–65]
- WANG M, LIU H, HUANG H, *et al.* Identifying fish products in Shenzhen through DNA barcoding. *Journal of Food Science*, 2015(20): 254–258 [王敏, 刘荻, 黄海, 等. DNA 条形码技术在深圳鱼肉制品鉴定中的应用. 食品科学, 2015(20): 254–258]
- WARD R D, ZEMLAK T S, INNES B H, *et al.* DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2005, 360(1462): 1847–1857
- WONG H K, HANNER R H. DNA barcoding detects market substitution in North American seafood. *Food Research International*, 2008, 41(8): 828–837

(编辑 马瑾艳)

Identification of Salmon Aquatic Products Sold in Qingdao Using DNA Barcoding Technology

ZHAO Xinning^{1,2}, MU Ming^{1,2}, LI Ang^{2,3}, LIU Shufang^{2,3}^①, ZHUANG Zhimeng^{2,3}

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Qingdao, Shandong 266071, China;

3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao, Shandong 266200, China)

Abstract “Salmon” is the trade name of salmon and trout, these are internationally recognized high-grade aquatic products. In recent years, the large-scale supply of rainbow trout has had a great impact on the world salmon trade, triggering a war of “real” and “fake” salmon. The public impression is that the high quality and high market price of the famous Atlantic salmon (*Salmo salar*) from Atlantic Ocean is not comparable to the cultured freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Thus, it is important to have knowledge about the species of salmon available in the aquatic market and whether the species information indicated on the label is true. It is very difficult for ordinary consumers to identify the species of salmon in the market. DNA barcoding has been widely used in the study of species taxonomy. It is a powerful technology for rapid and accurate identification of species. In this study, DNA barcoding was used to investigate the consistency between label information and the actual species of salmon in products across six large supermarkets and aquatic markets in Qingdao. Of the 74 salmon samples collected, 61 were *S. salar*, accounting for 82.43%; 11 were *O. mykiss*, accounting for 14.86%; and *O. keta* and *O. kisutch* accounted for 1.35%. Although the survey data shows that Atlantic salmon is the main salmon product in Qingdao, we identified that 14.86% of labels on salmon products were inconsistent with the test results, and more than 40% of the salmon products did not provide origin information. Thus, there are still some adulteration and food safety risks in aquatic salmon products. Market supervision of this internationally recognized high-end aquatic product needs to be strengthened. The relevant departments should urgently formulate product standards and testing standards to ensure the safety and traceability of salmon quality before inferior species affect the high public impression of salmon products.

Key words Salmon; DNA barcoding; *Salmo salar*; *Oncorhynchus mykiss*

① Corresponding author: LIU Shufang, E-mail: liusf@ysfri.ac.cn