DOI: 10. 13652/j. issn. 1003-5788. 2015. 06. 017

加工食品中动物源 DNA 的提取和多重 PCR 检测方法的建立

Extraction of animal-derived DNA in processed food and establishment of multiplex PCR method

何海宁^{1,2} 洪 霞^{1,2} 冯玉升^{1,2} 汪永松^{1,2} 金 莹^{1,2}

HE Hai-ning^{1,2} HONG Xia^{1,2} FENG Yu-sheng^{1,2} WANG Yong-song^{1,2} JIN Ying^{1,2} 袁彩霞^{1,2} 载滢文^{1,2} 刘 琦^{1,2} 高志莹^{1,2}

YUAN Cai-xia^{1,2} QIAN Ying-wen^{1,2} LIU Qi^{1,2} GAO Zhi-ying^{1,2}

- (1. 甘肃省商业科技研究所流通领域动物源性制品质量安全技术创新服务平台,甘肃 兰州 730010;
 - 2. 甘肃省动物源性制品安全分析与检测技术重点实验室,甘肃 兰州 730010)
- (1. Quality and Safety Technological Innovation Service Platform on Circulation of Animal Origin, Gansu Institute of Business and Technology, Lanzhou, Gansu 730010, China; 2. Key Laboratory of Animal Products Safety Analysis and Detection Technology of Gansu Province, Lanzhou, Gansu 730010, China)

摘要:为了从深加工食品中提取高质量和数量的动物源性 DNA 片段,以优化后 CTAB 方法提取,用于 PCR 检测。根据鸭线粒体基因序列,设计合成检测鸭源性成分引物,进行 PCR 体系和反应条件的优化筛选,建立三重 PCR 方法;同时扩增出牛源性 116 bp、猪源性 212 bp 和鸭源性 322 bp 目的基因片段。建立的三重 PCR 方法特异地鉴定牛肉及其制品中掺假猪和鸭源性成分,对打击食品掺假伪造、审核食品标签、保障消费者知情权、维护消费者健康等方面有重要作用。 关键词:肉制品;DNA;CTAB法;多重 PCR;动物源性

Abstract: In order to get high quantity and quality animal—derived DNA extraction from processed food, the CTAB method was improved for the PCR test. According to duck mitochondrial gene sequences, primers were designed and synthesized for detecting PCR system, optimizing reaction conditions and screening, establishing a triple PCR method. The amplified lengths of fragments were 116 bp for bovine, 212 bp for porcine, 322 bp for duck, respectively. The triple PCR assay to distinguish pork and duck from beef was developed. Lower amounts of meat than declared on the label. These practices are of great importance in the fight of forged food, examining the food labels, protecting the right to know and the health con-

cern of consumers.

Keywords: meat; DNA; CTAB method; multiplex PCR; animal origin

肉制品的质量安全问题日益成为关系国计民生的重大问题,越来越受到有关部门和消费者的普遍关注[1],尤其肉制品掺假造假是常见的现象,某些不法商贩以低价肉类代替高价肉类出售,损害了消费者的利益,造成了不正当竞争,这不仅仅涉及经济、营养价值和食品安全等问题,更直接影响着消费者的身体健康,并涉及宗教信仰等问题。

近年来,在山东、陕西和河南等地陆续出现使用鸭肉冒充牛羊肉的报道,不法分子将大量鸭肉和少量牛羊脂肪、下脚料混合在一起作为牛羊肉出售,赚取高额利润^[2]。因为在日常生活中,熟肉制品是经过深加工处理,肉类在经过切碎、混合、高压、蒸煮、熏烤^[3,4]等加工烹调过程中加入了大量的食品添加剂、佐料和淀粉,这样会失去原有的形态学特征和质地,增加了品种鉴定的难度。

目前,食品检测机构对肉及肉制品中动物源性的鉴定主要依靠生物技术^[5,6],以 DNA 为基础的 PCR 技术^[7]被广泛用来鉴定食品中的动物源性成分,由于 PCR 方法简便,特异性和灵敏度均较高,国内外已经运用该技术和其他技术结合建立了多种鉴定食品动物源性成分的方法,如常规 PCR^[8]、多重 PCR、定量竞争 PCR、RAPD—PCR 和 AFLP—PCR^[9-13]等。近年来,基因芯片^[14,15]和实时 PCR(real-time PCR,RT—PCR)^[16]等技术也逐渐应用于食品中物种的鉴

基金项目:甘 肃 省 科 技 计 划 资 助 (编 号: 1309RTSA025, 1009FTGA018,1306TTPA036)

作者简介:何海宁(1982-),男,甘肃省商业科技研究所工程师,硕士。E-mail: lzhhn1982@126.com

收稿日期:2015-06-25

定,提高了鉴定的灵敏度和特异性,为混合物的鉴定和定量提供了新的方法。在鉴定的过程中,提取高质量、高纯度的基因组 DNA 是开展该方面研究工作的前提和关键过程。对于深加工的动物源性食品而言,存在的一个严重问题是在深加工过程中基因组 DNA 大量降解,从而导致检测的不稳定性,造成资源和时间的浪费[17]。有关动物组织基因组 DNA 的提取已有文献[18] 报道,市场上也有多种提取生物基因组 DNA 的试剂盒销售,但是提取的时间较长,基因组 DNA 浓度和纯度不高。为了在食品检测方面能够更快速地从各种动物源性食品中提取基因组 DNA,本研究以8种不同加工类型的肉及其制品为原料,利用改进的 CTAB 方法,建立一种快速有效的动物源食品基因组 DNA 的提取方法及建立鉴别牛肉产品中掺假猪、鸭源性成分的三重 PCR 方法。

1 材料与方法

1.1 试剂和材料

1.1.1 试验材料

熏煮香肠(猪肉)、腐皮肉卷火腿肠(猪肉)、午餐肉(猪肉)、腊大肉、生鲜猪肉、五香鸡大腿肉(包装品)、白牦牛肉干、纯腿粒(鸡肉)包装品、黄牛肉、罐头(白牦牛肉)、腊牛肉、酸菜牛肉、牛肉卷、精品和极品牛肉:购自超市和送检样品。1.1.2 主要仪器

PCR 仪: Master cycler nexus GSX1 型,美国 Eppendorf

公司;

全自动凝胶成像分析仪:JS-680D型,上海培清科技有限公司:

电泳仪:DYY-12型,北京市六一仪器厂。

1.1.3 主要试剂

Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒:生工生物工程 (上海)股份有限公司;

4s Green:生工生物工程(上海)股份有限公司;

DL2,000 DNA Marker、6×Loading Buffer:宝生物工程(大连)有限公司;

2×Taq Master Mix (VazymeTM):南京诺唯赞生物科技有限公司;

CTAB(十六烷基三甲基溴化铵):分析纯,Spectrum Chemical Mfg, Corp;

异戊醇:分析纯,上海中秦化学试剂有限公司;

1.2 方法

1.2.1 引物 在 GenBank 中检索到的鸭线粒体基因全序列 (KF156760.1;EU755252.1)。用 Primer 6.0 设计引物,在 GenBank 中经 Blast 软件对相似序列搜索后,无交叉反应的 引物,作为鉴定鸭源性的特异引物(Duck-F 和 Duck-R)。其 他引物序列分别为扩增任何动物 Cyt b 的万能引物 mcb398 和 mcb869、猪源性、牛源性特异性引物,见表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Primer sequences

引物名称	基因位置	引物序列 (5'- 3')	产物大小/bp	引物来源	
mcb398	. 1	TACCATGAGGACAAATATCATTCTG	470	→ ±N□10□	
mcb869	cyt b	CCTCCTAGTTTGTTAGGGATTGATCG	472	文献[19]	
Duck-F	1.00	GCCACAAACAACAATAGTAAGC	222	∀ C 27L 2.L	
Duck-R	16S	CCCGAGGTTCAGGTCTACTA	322	新设计	
Pork-F	. 1	GCCTAAATCTCCCCTCAATGCTA	212		
Pork-R	cyt b	ATGAAAGAGGCAAATAGATTTTCG	212	文献[20]	
Beef-F	. 1	CGGAGTAATCCTTCTGCTCACAGT	11.0	→ ±4.Γ01∃	
Beef-R	cyt b	GGATTGCTGATAAGAGGTTGGTG	116	文献[21]	

1.2.2 样品处理 取 5 g 各种真空包装和盐泽熏烤肉等试验材料,置于经过 $160 \,^{\circ}\mathrm{C}$, $2 \, \mathrm{h}$ 高温处理的研钵中,充分研磨后各称取 $50 \, \mathrm{mg}$ 于 $2 \, \mathrm{mL}$ 离心管中用 $3 \, \mathrm{m}$ 方法提取 DNA。
1.2.3 改良 CTAB 法提取 DNA 称取 $50 \, \mathrm{mg}$ 经预处理样品于 $2 \, \mathrm{mL}$ 离心管中磨碎,加入 $600 \, \mu \mathrm{L}$ CTAB 裂解液 [1%] CTAB(十六烷基三甲基溴化铵); $0.05 \, \mathrm{mol/L}$ Tris—HCl $(\mathrm{pH} \, 8.0)$; $0.7 \, \mathrm{mol/L}$ NaCl; $0.01 \, \mathrm{mol/L}$ EDTA $(\mathrm{pH} \, 8.0)$],充分振荡混匀;加入 $600 \, \mu \mathrm{L}$ (酚、氯仿、异戊醇)体积比为 (25:24:1) 的混合液,充分震荡 $30 \, \mathrm{s}$,12 $000 \, \mathrm{r/min}$ 离心 $3 \, \mathrm{min}$;取上清液,加 $0.8 \, \mathrm{em}$ 件积的异丙醇,轻轻摇动 $30 \, \mathrm{s}$, $12 \, 000 \, \mathrm{r/min}$ 离心 $4 \, \mathrm{min}$;取沉淀,加入 $500 \, \mu \mathrm{L}$ 70% 乙醇清洗 $1 \, \mathrm{cm}$ 次,常温干燥 $10 \, \sim \, 20 \, \mathrm{min}$;加入 $100 \, \mu \mathrm{L}$ $0.5 \, \times \, \mathrm{TE}$ $(\mathrm{pH} \, 8.0)$ 溶液溶解, $-20 \, \mathrm{cm}$ 保存备用。

1.2.4 试剂盒法 操作按照 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒,编号 SK8252 说明书提取 DNA。

1.2.5 异硫氰酸胍法提取动物产品基因组 DNA 称取 50 mg经预处理的样品于 2 mL 离心管中充分磨碎,加 200 μ L TE溶液(pH 8.0),混匀;加 400 μ L 裂解液[5 mol/L 异硫氰酸胍,0.05 mol/L Tris—HCl (pH 6.4),0.02 mol/L EDTA (pH 8.0),1.3% TritonX-100],涡旋混匀;加600 μ L 酚:氯仿:异戊醇(25 : 24 : 1),剧烈振荡 15 s,13 000 r/min离心 10 min;取上清,加等体积氯仿:异戊醇(24 : 1),剧烈振荡 15 s,13 000 r/min离心 10 min;取上清,加等体积氯仿,剧烈振荡 15 s,13 000 r/min离心 10 min;取上清,加等体积氯仿,剧烈振荡 15 s,13 000 r/min离心 10 min;取上清,加等体积氯仿,剧烈振荡 15 x,13 000 r/min离心 10 min;取上清,加 0.6 倍体积的异丙醇,12 000 r/min离心 10 min;取沉淀,70% 乙醇清洗 1 次,干燥,加 100 μ L TE 溶液溶解,

-20 ℃保存备用。

1.2.6 Cyt b 片段的 PCR 扩增 PCR 反应体系为:2×Taq Master Mix (VazymeTM) 混合液 25 μ L,上、下游引物 (10 μ mol)为 2 μ L,模板 DNA 为 0.8~1.0 μ g,ddH₂O 将体积调整为 50 μ L。PCR 反应条件:95 ℃预变性 10 min,95 ℃变性 45 s,53 ℃退火 60 s,72 ℃延伸 60 s,35 个循环;72 ℃延伸 7 min。PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,在凝胶成像系统中观察并记录。

1.2.7 牛肉样品中鸭和猪源性成分的多重 PCR 检测 采用新设计的鸭、猪、牛引物及最佳多重引物混合配比分别对猪、牛和鸭基因组 DNA 进行扩增,引物最适配比为牛:猪:鸭=1:1:1(1代表 25 pmol/ μ L)。 PCR 反应条件:94 ℃ 预变性 5 min,94 ℃ 变性 45 s,57 ℃ 退火 45 s,72 ℃ 延伸 60 s,40 个循环;72 ℃延伸 7 min。 PCR 产物用 3%琼脂糖凝胶电泳检测,在凝胶成像系统中观察并记录。

1.2.8 样品中动物源性检测 对送检的 10 种牛肉样品进行市场检测,确定销售的牛肉产品有无掺假。

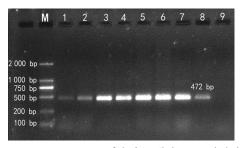
1.2.9 PCR 产物序列测定 将琼脂糖凝胶电泳检测阳性的 PCR 产物送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

2 结果与讨论

2.1 琼脂糖凝胶电泳检测改良 CTAB 法提取 DNA 的结果

用改良 CTAB 法提取的 DNA 经分光光度计测定, $OD_{260~nm}/OD_{280~nm}$ 值在 $1.7\sim1.9$,达到 PCR 反应的要求,将提取的基因组 DNA 用万能引物 mcb398 和 mcb869 进行 PCR 扩增,其扩增片段电泳检测结果见图 1。由图 1 可知,利用改良 CTAB 法能较快地从各种加工动物源制品中提取出高质量和浓度的基因组 DNA 进行 PCR 扩增。

对于单一性质的材料,使用试剂盒提取,其方法方便简单,且提取的基因组 DNA 纯度和浓度较高^[22]。但人们常吃的食品成分比较复杂,包含植物油、动物脂肪、植物成分、各种添加剂和调味料等,尤其是大多数熟制食品经过高温高压、添加了高盐、各种佐料和防腐剂,有些加入了大量的淀粉和粘稠剂等^[23],其中的动物源成分经过复杂条件变化后,改



M. DNA marker DL2000 1. 熏煮香肠(猪肉) 2. 腐皮肉卷火腿肠(猪肉) 3. 午餐肉(猪肉) 4. 腊大肉 5. 生鲜猪肉 6. 五香鸡大腿肉(包装品) 7. 白牦牛肉干 8. 纯腿粒(鸡肉)包装品 9. 空白对照(水为模板)

图 1 改良 CTAB 法提取基因组 PCR 扩增结果

Figure 1 Improved CTAB method to extract DNA and PCR results

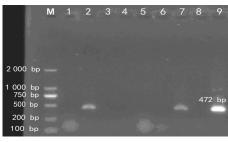
变了原有的质地,相应细胞中基因组 DNA 也被降解,这些物质一方面会影响 DNA 的有效提取 $[^{24}]$,另一方面可能会抑制 PCR 扩增,如胶原、各种金属元素、糖原等都是 PCR 抑制剂 $[^{25,26}]$ 。所以在动物源性鉴定之前,必须从样品中提取到高质量和浓度的基因组 DNA,PCR 检测才能顺利扩增,否则就会影响 PCR 扩增,产生错误的判定。本试验对传统的CTAB法进行了优化,提取过程中不需加入蛋白酶 K,直接加入裂解液裂解 $5\sim10$ min,即可进入下一步的提取,简化了提取的步骤,30 min 可以完成 DNA 的提取。为了证实提取方法的有效性,通过万能引物 mcb398 和 mcb869 进行 PCR 扩增,凝胶电泳显示,改良 CTAB 法能快速地提取到 PCR 扩增需要的 DNA 浓度和纯度。

2.2 琼脂糖凝胶电泳检测试剂盒提取 DNA 的结果

用万能引物 mcb398 和 mcb869 对 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒提取的基因组 DNA 进行 PCR 扩增,其扩增片段电泳检测结果见图 2,样品腊大肉和白牦牛肉干 PCR 扩增出了目的片段,其他样品 PCR 没有扩增出目的片段,说明使用试剂盒提取基因组 DNA 有一定的局限性。笔者通过调查发现市场上销售的大多数动物组织基因组 DNA 提取试剂盒是根据柱层析原理制造的,这些试剂盒对于单一的动物组织提取比较快速方便[27],而复杂的动物源性食品(如火腿肠等)掺杂大量的淀粉、油脂等物质,在柱层析过程中阻碍了 DNA 的吸附,因此无法提取到 PCR 扩增要求的基因组 DNA 数量和质量。

2.3 PCR 扩增异硫氰酸胍法提取动物产品 DNA 结果

用异硫氰酸胍法提取的 DNA 经分光光度计测定, $OD_{260 \text{ nm}}/OD_{280 \text{ nm}}$ 值在1.7~1.9,达到 PCR 反应的要求,用万能引物 mcb398 和 mcb869 进行 PCR 扩增,其扩增片段电泳检测结果见图 3。由图 3 可知,样品熏煮香肠(猪肉)和腐皮肉卷火腿肠(猪肉)PCR 没有扩增出目的片段,其他样品 PCR 扩增出目的片段,说明异硫氰酸胍法所提取的 DNA 达到 PCR 反应的浓度,操作时间需要 1 h 完成,但提取的 DNA 纯度不高,在 PCR 扩增中有影响作用,与文献[23]报道相一致。

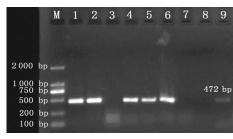


M. DNA marker DL2000 1. 熏煮香肠(猪肉) 2. 腊大肉 3. 午餐肉(猪肉) 4. 腐皮肉卷火腿肠(猪肉) 5. 纯腿粒(鸡肉)包装品6. 五香鸡大腿肉(包装品) 7. 白牦牛肉干 8. 空白对照(水为模板) 9. 牛鲜猪肉

图 2 试剂盒提取基因组 PCR 扩增结果

Figure 2 DNA extraction by the DNeasy Tissue Kit and PCR assays

安全与检测

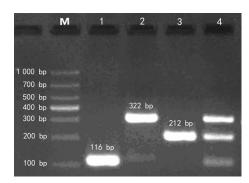


M. DNA marker DL2000 1. 午餐肉(猪肉) 2. 生鲜猪肉 3. 熏煮香肠(猪肉) 4. 腊大肉 5. 五香鸡大腿肉(包装品) 6. 白牦牛肉干 7. 腐皮肉卷火腿肠(猪肉) 8. 空白对照(水为模板) 9. 纯腿粒(鸡肉)包装品

图 3 异硫氰酸胍法提取基因组 PCR 扩增结果

Figure 3 DNA extraction by the guanidine thiocyanate method and PCR assays

2.4 **多重** PCR 检测结果



M. DNA marker DL1000 1. 牛源性 2. 鸭源性 3. 猪源性4. 多重 PCR 扩增的(牛、鸭、猪)混合基因片段

图 4 三重 PCR 扩增凝胶电泳图

Figure 4 Triple PCR amplification gel electrophoresis

2.5 DNA 测序结果

多重 PCR 与单一 PCR 相比,要省时、节约试剂^[29-31]。但是应用多重 PCR 时,可能由于多对引物存在竞争,常常出现假阳性。为了判定 PCR 扩增结果的准确性,对多重 PCR 扩增的阳性产物进行测序,测序结果通过序列比对同源性在98%以上。

2.6 多重 PCR 检测应用结果

分别对 10 种牛肉卷、精品牛肉和极品牛肉进行了多重 PCR 检测,结果发现在标记 3 种牛肉卷和 2 种精品牛肉样品 中均有掺假鸭源性成分,并且在牛肉卷中最多,结果见表 2。

表 2 三重 PCR 检测样品结果[†]

Table 2 Triple PCR test of sample results

样品名称	编号	牛源性	鸭源性	猪源性
	A1	+	+	_
牛肉卷	A2	+	+	_
	A 3	+	+	_
	B1	+	_	_
炸口	B2	+	+	_
精品牛肉	В3	+	+	_
	B4	+	_	_
	C1	+	_	_
极品牛肉	C2	+	_	_
	С3	+	_	_

† +表示含有动物源性成分,-表示不含有动物源性成分。

3 结论

本研究对 CTAB 法提取加工食品中动物源 DNA 过程进行了优化,优化后能快速从加工肉制品中提取到 PCR 扩增的 DNA 浓度和纯度。采用改良的 CTAB 法,大大缩短了组织裂解时间,提高了提取效率,并且消除了部分影响因子的干扰。通过与异硫氰酸胍法和试剂盒 3 种提取 DNA 的方法比较,改良的 CTAB 方法获得基因组 DNA 的效果优于其他两种方法,适合于加工肉产品基因组 DNA 的提取,但如果样品较为复杂、取样量较多、裂解和抽提时间太短,提取的基因组 DNA 中含有大量蛋白质,会影响 PCR 的扩增。其次,本研究建立了三重 PCR 方法,能快速、简便、准确鉴别牛肉产品中掺假猪、鸭源性成分,为今后研究出鉴定动物源性种类更多、特异性较好的多重 PCR 方法提供理论依据。

参考文献

- 1 王梅. 肉制品检测技术的应用[J]. 肉类研究, 2009(7): 50~53.
- 2 王建昌,王金凤,陈瑞春,等. 鸭肉冒充牛羊肉的分子生物学检测[J]. 肉类研究, 2012, 26(6): 20~23.
- 3 Aslan O, Hamill R M, Sweeney T, et al. Integrity of nuclear genomic deoxyribonucleic acid in cooked meat: Implications for food traceability[J]. J. Anim Sci., 2009, 87(1): 57~61.
- 4 Pascoal A, Prado M, Calo P, et al. Detection of bovine DNA in raw and heat-processed foodstuffs, commercial foods and specific risk materials by a novel specific polymerase chain reaction method[J]. European Food Research and Technology, 2005, 220(3~ 4): 444~450.
- 5 Dalvit C, De Marchi M, Cassandro M. Genetic traceability of livestock products: A review[J]. Meat Sci., 2007, 77 (4): 437~449.
- 6 潘良文,陈家华,丁燕,等.进口肉骨粉中牛成分检测研究[J]. 生物技术通报,2001(5):23~26.
- 7 高琳,徐幸莲,周光宏. PCR 技术用于食品中原料肉物种鉴别的研究进展[J]. 肉类研究,2006(10): 19~21.
- 8 刘辉,杨利平,张滨. PCR 及其改进技术在食品检测中的应用「JT、食品与机械,2008,24(4):166~169.

- 9 Meyer R, Candrian U, Luthy J. Detection of pork in heated meat products by the polymerase chain reaction[J]. J. AOAC Int., 1994, 77(3): 617~622.
- Matsunaga T, Chikuni K, Tanabe R, et al. A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay[J]. Meat Science, 1999, 51(2): 143~148.
- 11 López-Andreo M, Lugo L, Garrido-Pertierra A, et al. Identification and quantitation of species in complex DNA mixtures by real-time polymerase chain reaction[J]. Analytical Biochemistry, 2005, 339(1): 73~82.
- 12 Wolf C, Lüthy J. Quantitative competitive (QC) PCR for quantification of porcine DNA[J]. Meat Science, 2001, 57(2): 161~168.
- 13 高丹丹, 陈燕, 王迎华, 等. 动物肉制品基因组 DNA 的提取和 纯化[J]. 食品科技, 2007, 42(8): 42~44.
- 14 唐亚丽, 卢立新, 赵伟. 生物芯片技术及其在食品营养与安全 检测中的应用[J]. 食品与机械, 2010, 26(5): 164~168.
- 15 李山云, 林奇, 李维强. 基因芯片技术及其在食品工业中的应用[J]. 食品与机械, 2005, 21(4): 72~75.
- 16 李文静,李燕俊. 分子学方法鉴定肉制品种属来源的研究进展 [J]. 国外医学(卫生学分册),2009,36(3):151~158.
- 17 周丽, 李飞, 魏刚. 动物 DNA 提取方法概述[J]. 畜牧与兽医, 2008, 40(3): 66~68.
- 18 邵碧英, 杨婕, 张体银. 动物产品的 DNA 提取方法[J]. 畜牧与兽医, 2005, 37(9): 47~49.
- 19 Novel universal primers establish identity of an enormous number of animal species for forensic application [J]. Molecular Ecology Notes, 2003, 3(1): 28~31.
- 20 毕道荣,高宏伟,孙敏,等. PCR 方法扩增种属特异性片段检测猪源成分[J]. 中国动物检疫,2008,25(8):34~36.
- 21 Dooley J J, Paine K E, Garrett S D, et al. Detection of meat species using TaqMan real-time PCR assays [J]. Meat Sci.,

- $2004, 68(3): 431 \sim 438.$
- 22 Di Pinto A, Forte V, Guastadisegni M C, et al. A comparison of DNA extraction methods for food analysis[J]. Food Control, 2007, 18(1): 76~80.
- 23 何建文, 韩建林, 罗玉柱. 利用不同方法从深加工牦牛肉产品中提取基因组 DNA 效果的比较[J]. 生物技术通报, 2010(10): $162\sim167$.
- 24 Ebbehoj K F, Thomsen P D. Species differentiation of heated meat products by DNA hybridization[J]. Meat Sci., 1991, 30 (3): 221~234.
- 25 Matsunaga T, Chikuni K, Tanabe R, et al. A quick and simple method for the identification of meat species and meat products by PCR assay[J]. Meat Sci., 1999, 51(2): 143~148.
- 26 Arslan A, Ilhak O I, Calicioglu M. Effect of method of cooking on identification of heat processed beef using polymerase chain reaction (PCR) technique[J]. Meat Sci., 2006, 72(2): 326~330.
- 27 Koontz D, Baecher K, Amin M, et al. Evaluation of DNA extraction methods for the detection of Cytomegalovirus in dried blood spots[J]. J. Clin Virol, 2015, 66: 95~99.
- 28 Miklós Gyuranecz, Jeffrey T Foster, Ádám Dán, et al. Worldwide phylogenetic relationship of avian poxviruses[J]. J. Virol, 2013, 87(9): 4 938~4 951.
- 29 Dalmasso A, Fontanella E, Piatti P, et al. A multiplex PCR assay for the identification of animal species in feedstuffs[J]. Mol Cell Probes, 2004, 18(2); 81~87.
- 30 Kox L F, Jansen H M, Kuijper S, et al. Multiplex PCR assay for immediate identification of the infecting species in patients with mycobacterial disease[J]. J. Clin Microbiol, 1997, 35(6): 1492~1498.
- 31 Xu Wan-hong, McDonough M C, Erdman D D. Species-specific identification of human adenoviruses by a multiplex PCR assay [J]. J. Clin Microbiol, 2000, 38(11): 4 114~4 120.

信息窗

美国:新研究发现蘑菇孢子可刺激降雨

众所周知,蘑菇在我们的食用和药用方面起着相当大的作用,但是在最近,科学家们发现了蘑菇另一个让人意想不到的功能——蘑菇的孢子可以刺激降雨。

这篇研究成果是在 PLOS One 杂志上发表的, 里面详细地介绍了科学家如何发现并且研究出真菌孢子可以促进降雨作用。文中提到,在降雨过程中雨水可以促进蘑菇的生长,并加速蘑菇释放孢子。当孢子释放到空气中后,孢子可以把空气中的水蒸气凝结到一起并且形成液滴,当这些液滴越来越多从而形成云,最终促使降雨。

Nicholas Money 教授是这篇论文的作者之一,也是迈阿密大学的教授。他在文中描述道"我们通过一些卫星照片看到,一些树冠周围形成了许多的小云朵,而周围就是蘑菇生长密集的地方,我们也可以看到这些蘑菇也正在释

放孢子。"Money 补充说:"我们并不是说只有孢子是形成云的唯一因素,但是这可能是这些孢子起到了促进作用,这是相当惊人的。"

根据这项研究,每年大约有百万吨的真菌孢子释放到大气中,担子菌每秒可以释放 30 000 个孢子。该研究表示,这是一个循环系统,降雨可以促进蘑菇的生长,从而促进孢子的释放,最后导致降雨。研究人员称,这个系统在热带地区是显而易见的,热带地区里大约有 16 000 种蘑菇。最后 Money 称:"该系统是在非常潮湿的环境中才能形成,不过在温带地区也可以起到刺激作用,如英国(湿气含量较大的地区),但是在其他的地区,这个系统有可能不会起到什么作用。"

(来源:www.foodmate.net)