

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241030001

引用格式: 杨爱馥, 万超, 齐欣, 等. 基于 TaqMan 实时荧光聚合酶链式反应和 DNA 条形码技术鉴别松茸及其伪品[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(7): 12–18.

YANG AIF, WAN C, QI X, *et al.* Identification of *Tricholoma matsutake* and its counterfeits based on TaqMan real-time fluorescence polymerase chain reaction technology and DNA barcoding technology [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(7): 12–18. (in Chinese with English abstract).

基于 TaqMan 实时荧光聚合酶链式反应和 DNA 条形码技术鉴别松茸及其伪品

杨爱馥*, 万超, 齐欣, 刘雪华, 姜丽, 徐静*

(大连海关技术中心, 大连 116001)

摘要: 目的 建立松茸(*Tricholoma matsutake*)成分的 TaqMan 实时荧光聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)定性检测方法, 并结合 DNA 条形码技术鉴定松茸及其制品成分与其标签的符合性。**方法** 以松茸的 *pol* 基因为靶基因, 设计特异性引物及探针, 对其特异性、灵敏度、重复性开展研究分析, 并将建立的松茸成分 TaqMan 实时荧光 PCR 检测方法对不同种类市售松茸样品开展检测, 鉴别其真实性。**结果** 采用建立的 TaqMan 实时荧光 PCR 方法进行检测, 松茸与其他 32 种食用菌和动植物样品均无交叉反应, 方法特异性强; 灵敏度为质量分数 0.01% 的松茸和 0.01 ng/μL 松茸基因组 DNA; 对市售 160 份松茸及其制品开展真实性检测, 研究表明松茸干品存在假冒现象, 检测结果与标签不符合率为 36.70%, 采用 DNA 条形码技术进一步对假冒松茸的物种进行鉴定, 物种属性为皱环球盖菇(*Stropharia rugosoannulata*)、巨大口蘑(*Tricholoma giganteum*)和栎松口蘑(*Tricholoma bakamatsutake*), 其他收集的松茸制品成分检测结果中与标签不符合率分别为 23.70%~60.00%。**结论** 该方法灵敏度高, 特异性强, 可快速精准地对松茸成分进行真实性和符合性鉴别。

关键词: 松茸; TaqMan 实时荧光聚合酶链式反应技术; DNA 条形码技术; 快速检测; 真实性鉴别

Identification of *Tricholoma matsutake* and its counterfeits based on TaqMan real-time fluorescence polymerase chain reaction technology and DNA barcoding technology

YANG Ai-Fu*, WAN Chao, QI Xin, LIU Xue-Hua, JIANG Li, XU Jing*

(Technology Center of Dalian Customs District, Dalian 116001, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for qualitative determination of *Tricholoma matsutake* ingredients by a TaqMan real-time fluorescence polymerase chain reaction (PCR), and identify the conformity of *Tricholoma matsutake* and its products with their labels by DNA barcoding technology. **Methods** Taking the *pol* gene of

收稿日期: 2024-10-30

基金项目: 海关总署科研项目(2023HK134); 大连海关科研项目(2023DK08)

第一作者/*通信作者: 杨爱馥(1978—), 女, 博士, 正高级工程师, 主要研究方向为食品安全检验。E-mail: 519598@qq.com

*通信作者: 徐静(1982—), 女, 博士, 研究员, 主要研究方向为食品安全检验。E-mail: 1109404462@qq.com

Tricholoma matsutake as the target gene, specific primers and probes were designed to study and analyze their specificity, sensitivity and repeatability. The established TaqMan real-time PCR method of *Tricholoma matsutake* was used to detect different types of commercially available samples and identify their authenticity. **Results** The established method was used for real-time PCR detection, and there was no cross-reactivity between *Tricholoma matsutake* and 32 kinds of other edible fungi, animals and plants, indicating strong specificity of the method. The sensitivity was 0.01% *Tricholoma matsutake* and 0.01 ng/ μ L *Tricholoma matsutake* genomic DNA. The authenticity test of 160 commercially available *Tricholoma matsutake* and their products showed that there was counterfeiting of dried *Tricholoma matsutake*. The test results did not match the labels at a rate of 36.70%. DNA barcoding technology was used to further identify the species of counterfeit matsutake mushrooms, with species attributes of *Stropharia rugosoannulata*, *Tricholoma giganteum* and *Tricholoma bakamatsutake*. The non-compliance rates with labels in the authenticity testing results of other collected matsutake products were 23.70%–60.00%, respectively. **Conclusion** This method has high sensitivity and strong specificity, which can quickly and accurately identify the authenticity and compliance of *Tricholoma matsutake* ingredients.

KEY WORDS: *Tricholoma matsutake*; TaqMan real-time fluorescence polymerase chain reaction; DNA barcoding technology; rapid detection; authenticity identification

0 引言

松茸(*Tricholoma matsutake*)又称松口蘑, 属于世界上珍贵的药食同源性天然野生菌类^[1-3]。因含有松茸醇、松茸多糖及松茸多肽等活性物质, 营养和商业价值极高, 更有“菌中之王”的美誉^[4-7]。

我国作为松茸生产和出口的主要国家之一, 每年有大量优质的松茸出口至欧洲和日本。由于松茸是我国国家二级重点保护野生植物, 属于国家限制出口货物; 同时因松茸现无人工栽培种植技术且自然产量极其有限, 供不应求的市场关系导致其经济价值急剧上升, 市场价格更是居高不下^[8-9]。为了获取更高利润, 一些商家将名字中含有“松茸”二字的姬松茸、白松茸、赤松茸等其他廉价菌类按照松茸价格进行售卖, 对消费者造成误导, 更有不法商家销售假冒或掺假的松茸产品^[10]。

目前, 松茸的鉴定方法主要包含形态特征识别^[11-12]及理化检测方法^[13-14], 但受形态完整性和加工工艺等因素的影响, 难以实现松茸的精准和快速鉴别^[15]。TaqMan 实时荧光聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)技术及 DNA 条形码技术因操作简便、特异性强、稳定性高且不受样品基质状态影响, 已成为物种鉴定及食品真实性检测公认的主流手段^[16-18], 并在深加工食品鉴别^[19-20]、微生物检测^[21-22]、动植物源性成分鉴定^[23-25]等领域广泛应用。其中, 核糖体内转录间隔区(internal transcribed space, ITS)是真菌公认的通用 DNA 条形码。AOKI 等^[26]采用 DNA 条形码技术中 ITS 分子标记验证了来自 8 个国别松茸样品的系统进化树可聚成一个松茸群。MURATA 等^[27]基于 PCR 方法将 3 类反转录转座子和单拷贝基因进行比较, 通过分

析它们之间的基因组拷贝数以阐明松茸的系统发育树, 更有效地区分与松茸相近的其他物种。周亭亭等^[28]采用 DNA 指纹鉴定技术将松茸及其制品与其他 7 种易伪品进行鉴别, 研究表明方法可有效区别松茸部分伪品。但面对目前我国没有松茸真伪鉴别检验标准的现状, 急需建立一种简便、准确、高效的松茸鉴别方法, 为海关执法及市场监管提供技术保障^[29]。

本研究靶向松茸的 *Pol* 特异性基因序列, 建立基于 TaqMan 实时荧光 PCR 检测技术的松茸成分快速、精准的检测方法, 适用于原料及其制品中松茸成分的真伪鉴别, 旨在为保护消费者权益、营造良好营商环境、促进我国松茸产业健康稳定发展提供技术保障。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

收集产自吉林延边、四川甘孜和云南香格里拉地区的松茸样品各 10 份; 松茸易伪品食用菌 3 种, 包括姬松茸、赤松茸、白松茸; 其他食用菌 24 种, 包括黑松露、白松露、金针菇、褐盖牛肝菌、网纹牛肝菌、黄牛肝菌、白牛肝菌、皱盖牛肝菌、黑牛肝菌、羊肚菌、元蘑、白口蘑、栎松口蘑、黑虎掌菌、杏鲍菇、猴头菌、黑木耳、鸡油菌、香菇、黑皮鸡枞、银耳、茶树菇、红菇、竹荪; 其他异源性动物、植物样品共计 5 种, 包括猪肉、鲑鱼、鸡肉、牛肉、大豆。所收集样品均采购于吉林、四川、云南和大连地区各农贸市场及超市。

植物基因组 DNA 提取试剂盒(货号 DP305, 天根生化科技北京有限公司); PrimeSTAR® Max DNA Polymerase (货号 R045Q)、Premix Ex Taq™ Probe qPCR(货号 RR390

A)[宝生物工程(大连)有限公司]; 引物、探针及扩增产物均委托华大基因合成和测序。

1.2 仪器与设备

QuantStudio6Flex 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司); 5415R 小型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); DK-8D 电热恒温水浴锅(上海一恒科学仪器有限公司); Epoch 酶标仪(美国 Biotek 公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 样品的处理及 DNA 的提取

将收集的样品经研磨处理后, 按照植物基因组 DNA 提取试剂盒操作说明进行所有样品的 DNA 提取, 并使用酶标仪测定提取基因组 DNA 的纯度和浓度。

1.3.2 物种属性鉴定

依据行业标准 SN/T 4625—2016《DNA 条形码筛选与质量要求》中 ITS 引物序列(ITS5/ITS4), 对收集的松茸及其他食用菌样品基因组 DNA 进行 PCR 扩增反应, 并将扩增产物进行测序, 扩增片段序列在美国国家生物技术信息中心(National Center of Biotechnology Information, NCBI)进行 BLAST 同源性比对, 以确认各试验样品的物种属性。

1.3.3 TaqMan 实时荧光 PCR 法引物及探针的设计

在 NCBI 数据库中下载松茸 *Pol* 基因扩增靶标参考序列(GenBank: AB016926.1), 使用 Mega 4 软件对序列进行比对和分析, 再按照引物探针的差异性原则, 采用 Primer Premier 5.0 软件设计目的基因的引物和探针。具体引物探针基因序列如表 1 所示。

表 1 TaqMan 实时荧光 PCR 法引物探针序列信息
Table 1 Primer and probe sequence information by TaqMan real-time fluorescence PCR

类别	引物名称	引物序列(5'-3')
上游引物	<i>Pol-F</i>	CAGATGCAGCGTCACCTATCC
下游引物	<i>Pol-R</i>	GGCTGAACGGTTCTCAATCAC
探针	<i>Pol-P</i>	FAM-AGGCAGACGTGATGGATGG AATACCTGTCAAG-TAMRA

1.3.4 TaqMan 实时荧光 PCR 法反应体系及反应条件

反应体系: Premix Ex Taq™ 12.5 μL, 上下游引物(浓度均为 10 μmol/L)各 1.0 μL, TaqMan 探针(浓度为 10 μmol/L) 0.5 μL, 模板 DNA 2.0 μL, ddH₂O 8 μL, 总反应体系共计 25 μL。

反应条件: 95 °C 30 s, 1 个反应循环; 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 40 个反应循环。荧光阈值为实时荧光定量 PCR 仪默认值。

1.3.5 TaqMan 实时荧光 PCR 法特异性试验

按照 1.3.1 节提取松茸及其他食用菌和其他异源性动、植物样品的基因组 DNA, 并测定其纯度和浓度后进行 TaqMan 实时荧光 PCR 扩增反应, 同时以 ddH₂O 水作为空白对照, 测试本试验的特异性。

1.3.6 TaqMan 实时荧光 PCR 法灵敏度试验

松茸成分质量分数灵敏度试验: 将赤松茸、白松茸、白口蘑和栎松口蘑 4 种易混食用菌等量混匀后, 按照 100.00%、10.00%、1.00%、0.10% 和 0.01% 的质量比例与待测物松茸样品混合制成模拟试验研究基质, 分别提取基因组 DNA 后进行 TaqMan 实时荧光 PCR 反应, 以确定松茸成分质量分数的检测灵敏度。

松茸成分质量浓度灵敏度试验: 将提取的松茸基因组 DNA 按照 10 倍系列稀释, 稀释后各质量浓度分别为 100.00、10.00、1.00、0.10 和 0.01 ng/μL, 以此分别为 DNA 反应模板进行 TaqMan 实时荧光 PCR 反应, 以确定松茸成分质量浓度的检测灵敏度。

1.3.7 重复性和稳定性试验

将质量浓度为 100.00、10.00 和 1.00 ng/μL 的松茸基因组 DNA 分别作为模板进行 TaqMan 实时荧光 PCR 反应, 通过检测结果的 Ct 值计算变异系数。

1.3.8 实际市售样品松茸成分的检测试验

采购松茸及其制品共计 160 份, 包括松茸鲜品 15 份、松茸冻品 15 份、松茸干品 30 份、松茸酱 20 份、松茸调味粉 20 份、松茸饼干(米粉)15 份、标签含松茸成分的杂菌包干货 15 份、标签含松茸成分的杂菌碎干货 10 份以及标签不含松茸成分的杂菌包干货 10 份、标签不含松茸成分的杂菌包碎干货 10 份, 检测其是否含有松茸成分。

1.4 数据处理

试验数据采用 Microsoft Excel 2016 对检测结果的标准偏差进行分析。

2 结果与分析

2.1 样品属性符合性鉴定

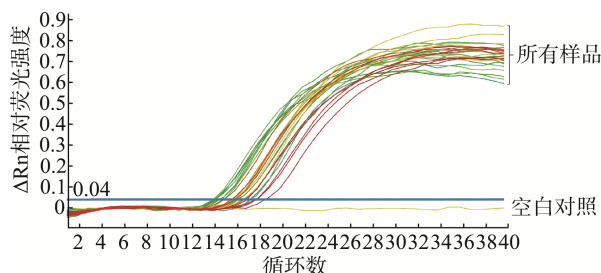
基于 DNA 条形码技术对收集的松茸及其近源食用菌样品的属性进行符合性鉴定, 经 BLAST 同源性比对后, 各样品的物种属性鉴定结果如表 2 所示, 从鉴定结果可知 3 份松茸样品及 27 种其他食用菌样品的属性均与商品标识相一致。

2.2 真核生物 18S rRNA 内参基因检测结果

参照行业标准 SN/T 5637—2023《6 种常见黑松露成分定性检测方法实时荧光 PCR 法》中真核生物 18S rRNA 通用引物序列, 对收集的 35 种样品基因组 DNA 进行 TaqMan 实时荧光 PCR 扩增反应。检测结果如图 1 所示, 包括松茸在内的 35 种样品 18S rRNA 内参基因检测结果均为阳性, 以双蒸水为 DNA 模板的空白对照未出现典型性扩增曲线, 所有样品的 Ct 值在 14.16~18.78 范围之间。测试结果表明当本研究采用 TaqMan 实时荧光 PCR 方法对松茸进行特异性成分检测时, 所提取的样品 DNA 溶液均适用于扩增反应。

表 2 松茸和其他食用菌物种属性鉴定名称
Table 2 Species attribute identification names of *Tricholoma matsutake* and other edible mushrooms

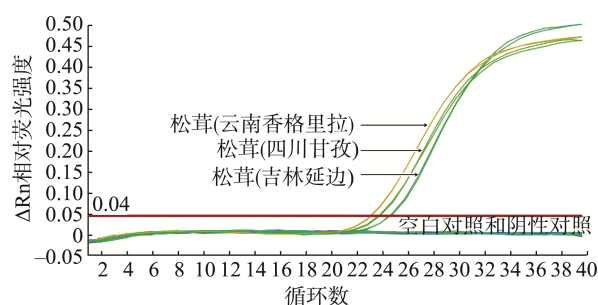
样品编号	样品名称	鉴定结果
1	松茸(吉林延边)	<i>Tricholoma matsutake</i>
2	松茸(四川甘孜)	<i>Tricholoma matsutake</i>
3	松茸(云南香格里拉)	<i>Tricholoma matsutake</i>
4	姬松茸	<i>Agaricus blazei</i>
5	赤松茸	<i>Stropharia rugosoannulata</i>
6	白松茸	<i>Tricholoma giganteum</i>
7	黑松露	<i>Tuber indicum</i>
8	白松露	<i>Tuber huidongense</i>
9	金针菇	<i>Flammulina yunnanensis</i>
10	褐盖牛肝菌	<i>Boletus umbrinipileus</i>
11	网纹牛肝菌	<i>Boletus reticulatus</i>
12	黄牛肝菌	<i>Leccinum aurantiacum</i>
13	白牛肝菌	<i>Boletus bainiugan</i>
14	皱盖牛肝菌	<i>Rugiboletus extremiorientalis</i>
15	黑牛肝菌	<i>Neoboletus obscureumbrinus</i>
16	羊肚菌	<i>Morchella sextelata</i>
17	元蘑	<i>Hohenbuehelia serotina</i>
18	白口蘑	<i>Tricholoma album</i>
19	栎松口蘑	<i>Tricholoma bakamatsutake</i>
20	黑虎掌菌	<i>Sarcodon aspratus</i>
21	杏鲍菇	<i>Pleurotus eryngii</i>
22	猴头菌	<i>Hericium erinaceus</i>
23	黑木耳	<i>Auricularia auricula</i>
24	鸡油菌	<i>Cantharellus yunnanensis</i>
25	香菇	<i>Lentinula edodes</i>
26	黑皮鸡枞	<i>Oudemansiella raphanipies</i>
27	银耳	<i>Tremella fuciformis</i>
28	茶树菇	<i>Agrocybe salicaciola</i>
29	红菇	<i>Russula vinosa</i>
30	竹荪	<i>Dictyophora indusiata</i>



注: 0.04 线条为荧光阈值, 下同。
图 1 松茸及其他试验样品 18S rRNA 检测结果
Fig.1 Detection results of 18S rRNA for *Tricholoma matsutake* and other samples

2.3 松茸成分 TaqMan 实时荧光 PCR 特异性检测结果

采用本研究收集的松茸以及 27 种食用菌样品和其他 5 种异源性动、植物样品进行松茸成分 TaqMan 实时荧光 PCR 方法的特异性研究。检测结果如图 2 所示, 产自吉林延边、四川甘孜和云南香格里拉地区的松茸样品检测结果为阳性, 均出现典型性扩增曲线; 姬松茸、赤松茸、白松茸、黑松露、白松露等其他 27 种食用菌样品和猪肉等 5 种异源性动、植物样品及双蒸水阴性对照检测结果均为阴性。结果显示, 无论松茸近源物种还是异源物种与其之间均不存在交叉反应, 说明本研究建立的松茸成分 TaqMan 实时荧光 PCR 检测方法特异性良好, 适用于松茸成分的精准检测。

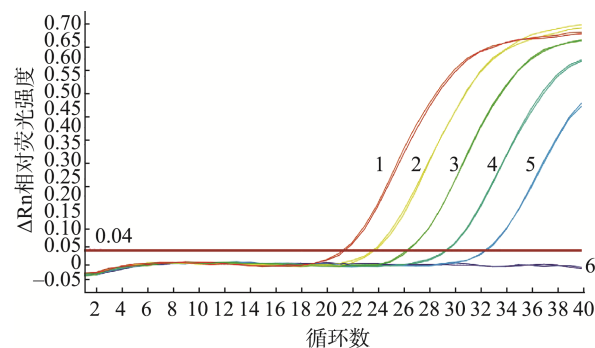


注: 阴性对照: 27 种其他食用菌样品和 5 种动、植物样品;
空白对照: ddH₂O。
图 2 松茸成分 TaqMan 实时荧光 PCR 特异性检测结果
Fig.2 Specific detection results of *Tricholoma matsutake* by TaqMan real-time fluorescence PCR

2.4 松茸成分 TaqMan 实时荧光 PCR 灵敏度检测结果

2.4.1 松茸成分质量分数灵敏度试验结果

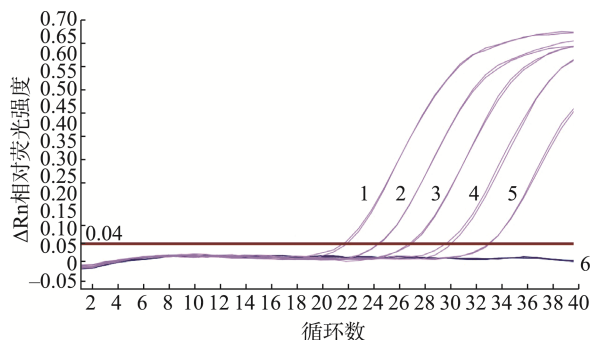
将 4 种易和松茸混淆的食用菌等量混匀后, 按照不同质量比例再与松茸样品进行混合制成模拟基质, 分别提取其基因组 DNA, 以此为模板采用 TaqMan 实时荧光 PCR 方法检测松茸成分质量分数的灵敏度。结果如图 3 所示, 松茸成分 TaqMan 实时荧光 PCR 方法的质量分数检测灵敏度可达 0.01%。



注: 1. 100.00%松茸; 2. 10.00%松茸; 3. 1.00%松茸; 4. 0.10%松茸; 5. 0.01%松茸; 6. 空白对照 ddH₂O。
图 3 模拟样品灵敏度检测结果
Fig.3 Sensitivity test results of simulated samples

2.4.2 松茸成分质量浓度灵敏度试验结果

以 10 倍系列稀释后制备的 5 个不同质量浓度松茸样品基因组 DNA 为模板, 采用 TaqMan 实时荧光 PCR 方法检测松茸成分。检测结果如图 4 所示, 当松茸成分质量浓度为 0.01 ng/ μ L 时, 松茸成分检测结果为阳性, 仍有典型性扩增曲线的出现。确定松茸成分 TaqMan 实时荧光 PCR 方法的基因组 DNA 质量浓度检测灵敏度为 0.01 ng/ μ L。



注: 1. 100.00 ng/ μ L; 2. 10.00 ng/ μ L; 3. 1.00 ng/ μ L; 4. 0.10 ng/ μ L; 5. 0.01 ng/ μ L; 6. 空白对照 ddH₂O。

图 4 不同基因组 DNA 质量浓度灵敏度检测结果

Fig.4 Sensitivity detection results of different genomic DNA mass concentrations

2.5 重复性和稳定性试验结果

选取质量浓度为 100.00、10.00 和 1.00 ng/ μ L 的松茸基因组 DNA 溶液, 以此为模板进行 TaqMan 实时荧光 PCR 反应, 研究设立每个浓度进行 3 次平行试验, 每次平行进行 3 次重复试验, 通过检测结果 Ct 值分析方法的重复性和稳定性。统计分析表明, 批内变异系数介于 0.40%~0.61% 之间, 批间变异系数介于 1.07%~1.49% 之间, 批内和批间变异系数均小于 2%(表 3)。研究表明本试验建立的松茸成分 TaqMan 实时荧光 PCR 检测方法重复性好且稳定性强。

表 3 松茸成分 TaqMan 实时荧光 PCR 方法重复性和稳定性试验结果($n=3$)

Table 3 Repeatability and stability results of TaqMan real-time fluorescence PCR for *Tricholoma matsutake* detection ($n=3$)

项目	DNA 质量浓度 /(ng/ μ L)	Ct 值	变异系数/%
批内重复	100.00	22.58±0.10	0.46
	10.00	25.23±0.15	0.61
	1.00	28.64±0.11	0.40
批间重复	100.00	22.94±0.31	1.35
	10.00	25.48±0.38	1.49
	1.00	29.00±0.31	1.07

2.6 市售样品松茸成分 TaqMan 实时荧光 PCR 检测结果

市售松茸鲜品、冷冻品、干品、松茸酱、松茸调味粉、

松茸饼干(米粉)、杂菌包以及杂菌碎样品的松茸成分检测结果如表 4 所示。其中松茸鲜品和松茸冻品均出现典型性扩增曲线, 检测结果均为阳性; 松茸干品中存在假冒现象, 检测结果与标签不符比例为 36.70%, 进一步采用 DNA 条形码技术对假冒松茸进行物种鉴定, 基因序列比对显示假冒松茸物种属性为皱环球盖菇(*Stropharia rugosoannulata*)、巨大口蘑(*Tricholoma giganteum*)和栎松口蘑(*Tricholoma bakamatsutake*); 松茸制品包括松茸酱、松茸调味粉、松茸饼干(米粉)检测结果中与标签不符的比例分别为 35.00%、55.00%和 23.70%; 标签含松茸成分的杂菌包干货、杂菌碎干货样品检测结果中与标签不符的比例分别为 40.00%和 60.00%; 标签不含松茸成分的杂菌包干货、杂菌碎干货样品均未出现典型性扩增曲线, 检测结果为阴性。检测结果表明, 本研究建立的松茸成分检测方法可准确有效地鉴别市售商品中是否含有松茸成分, 具有较强的应用性及广泛的适用性。

表 4 市售松茸商品标签符合性检测结果

Table 4 Label compliance test results of commercial *Tricholoma matsutake*

样品名称	样品数量 /份	松茸成分阳性 样品数量 /份	松茸成分阳性 比例 /%	检测结果与标 签不符比例 /%
松茸鲜品	15	15	100.00	-
松茸冻品	15	15	100.00	-
松茸干品	30	19	63.30	36.70
松茸酱	20	13	65.00	35.00
松茸调味粉	20	9	45.00	55.00
松茸饼干 (米粉)	15	10	66.60	23.70
杂菌包干货 (标签含松茸)	15	9	60.00	40.00
杂菌碎干货 (标签含松茸)	10	4	40.00	60.00
杂菌包干货 (标签不含松茸)	10	0	-	-
杂菌碎干货(标 签不含松茸)	10	0	-	-

注: -表示不涉及。

3 讨论与结论

随着分子生物检测技术的飞速发展, 为食品鉴伪技术的发展提供了新的思路和方法, 确保高值食品市场的稳定及安全, 维护正常的进出口贸易及国内市场秩序, 保护消费者的合法权益。本研究采用真菌通用 DNA 条形码 ITS 分子标记对收集的 28 种食用菌进行物种属性鉴定, 经 BLAST 同源性比对后样品属性均与商品标识一致。这与郑

梦迪等^[30]验证 ITS2 标记的 DNA 条形码技术可有效区分可食用真菌和有毒菌类结果相一致。进一步说明 DNA 条形码技术在高值真菌类产品物种鉴定中的适用性。本研究建立了基于 TaqMan 实时荧光 PCR 技术的松茸及其制品鉴别方法,并从特异性、灵敏度、重复性方面分析本方法的可行性。研究表明,该方法检测灵敏度可达到 0.01 ng/μL 松茸基因组 DNA,高于朱建宇等^[31]建立的 PCR 扩增结合可视化核酸试纸条检测方法中模板 DNA 最低检出量 0.1 ng/μL。TaqMan 实时荧光 PCR 法的检测灵敏度高于普通 PCR,并且 TaqMan 实时荧光 PCR 还具有特异性高、全封闭检测模式、安全无污染等优势,更适用于实验室和检测机构对松茸及其制品进行精准快速检测。

通过对 160 份市售松茸及其制品进行松茸成分检测,发现市售松茸鲜品和冻品因产品形态完整度高,物种属性鉴定也是 *Tricholoma matsutake*; 但松茸干品存在假冒现象,检测结果与标签不符比例达 36.70%,经 DNA 条形码序列分析显示假冒松茸物种的属性为皱环球盖菇、巨大口蘑和栎松口蘑,伪品价值均远远低于松茸成本;其他收集松茸制品检测结果中与标签不符的比例达 23.70%~60.00%,验证酱类、粉末等市售深加工松茸制品掺伪现象更是较为普遍。TaqMan 实时荧光 PCR 技术检测松茸及其制品真伪方法的建立,可规范松茸及其相关产品的市场,为减少或避免口岸贸易和市场流通中松茸虚假贸易的发生提供了有力的技术支持,以促进我国松茸产业的健康稳定发展。

参考文献

- [1] 葛麒,朱春燕,陈湖南,等. 松茸蛋白抗氧化肽制备及构效关系研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(9): 9–17.
GE Q, ZHU CY, CHEN HN, *et al.* Research on preparation and structure-activity relationship of *Tricholoma matsutake* protein antioxidant peptide [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(9): 9–17.
- [2] 郭璟焯,刘学,刘春环,等. 松茸的发酵条件优化及其对酪氨酸酶的抑制机理研究[J]. 食品与发酵工业, 2024, 50(13): 64–71.
GUO JX, LIU X, LIU CH, *et al.* Optimization of fermentation conditions of *Tricholoma matsutake* and mechanism of tyrosinase inhibition [J]. Food and Fermentation Industries, 2024, 50(13): 64–71.
- [3] YAMANAKA T, YAMADA A, FURUKAWA H. Advances in the cultivation of the highly-prized ectomycorrhizal mushroom *Tricholoma matsutake* [J]. Mycoscience, 2020, 61: 49–57.
- [4] 王欣宇,林花,金龙哲,等. 延边地区松茸中重金属及有害元素含量分析及健康风险评估[J]. 中国林副特产, 2022(6): 8–11.
WANG XY, LIN H, JIN LZ, *et al.* Content analysis and health risk assessment of heavy metals and toxic elements in *Tricholoma matsutake* in Yanbian [J]. Forest by Product and Speciality in China, 2022(6): 8–11.
- [5] 黄婷. 水解型松茸黄酒酿制及其品质特性研究[D]. 宜宾: 四川轻化工大学, 2022.
HUANG T. Research on the preparation of hydrolyzed *Tricholoma matsutake* Huangjiu and its quality characteristics [D]. Yibin: Sichuan University of Science & Engineering, 2022.
- [6] 陈艳,蒋星月,刘秋妍,等. 松茸的食药价值及产品开发现状研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(16): 314–322.
CHEN Y, JIANG XY, LIU QY, *et al.* Research on nutritional and medical value and development status of *Tricholoma matsutake* [J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(16): 314–322.
- [7] XU JP, SHA T, LI YC, *et al.* Recombination and genetic differentiation among natural populations of the ectomycorrhizal mushroom *Tricholoma matsutake* from southwestern China [J]. Molecular Ecology, 2008, 17(5): 1238–1247.
- [8] VAARIO LM, PENNANEN T, LU JR, *et al.* *Tricholoma matsutake* can absorb and accumulate trace elements directly from rock fragments in the shiro [J]. Mycorrhiza, 2015, 25(5): 325–334.
- [9] KIM SS, LEE JS, CHO JY, *et al.* Effects of C/N ratio and trace elements on mycelial growth and exo-polysaccharide production of *Tricholoma matsutake* [J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2010, 15: 293–298.
- [10] SHAN LY, WANG DZ, LI YJ, *et al.* Identification of the pol gene as a species-specific diagnostic marker for qualitative and quantitative PCR detection of *Tricholoma matsutake* [J]. Molecules, 2019, 24(3): 455.
- [11] 上海农业科学院食用菌研究所主编. 中国食用菌志[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991.
Editor-in-chief of the Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences. Edible mushrooms of China [M]. Beijing: China Forestry Press, 1991.
- [12] ZHU Y, ZHANG H, ZHU Y, *et al.* An appraisal of past and present methods for identifying poisonous mushrooms [J]. Journal of Gansu Sciences, 2008, 20: 44–48.
- [13] DING X, HOU YL. Identification of genetic characterization and volatile compounds of *Tricholoma matsutake* from different geographical origins [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2012, 44:233–239.
- [14] LIU Y, LIU N, ZHANG Y. Research progress of food authentication technology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37: 374–383.
- [15] LI Q, ZHANG L, LI WH, *et al.* Chemical compositions and volatile compounds of *Tricholoma matsutake* from different geographical areas at different stages of maturity [J]. Food science and Biotechnology, 2016, 25(1): 71–77.
- [16] TICHY HV, BRUHS A, PALISCH A. Development of real-time polymerase chain reaction systems for the detection of so-called “Superfoods” Chia and Quinoa in commercial food products [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68: 14334–14342.
- [17] SHRESTHA A, DOREVITCH S. Slow adoption of rapid testing: Beach monitoring and notification using qPCR [J]. Journal of Microbiological Methods, 2020, 174: 105947.
- [18] LO YT, SHAW PC. DNA-based techniques for authentication of processed food and food supplements [J]. Food Chemistry, 2018, 240: 767–774.

- [19] RAMOS-GÓMEZ S, BUSTO MD, ORTEGA N. Detection of hazelnut and Almond adulteration in olive oil: An approach by qPCR [J]. *Molecules*, 2023, 28(10): 4248.
- [20] 韩建勋, 陈颖, 吴亚君, 等. 实时荧光 PCR 法鉴定食用淀粉植物来源[J]. *中国食品学报*, 2019, 19(2): 291-300.
HAN JX, CHEN Y, WU YJ, *et al.* Identification of botanical origin of edible starch by Real-time PCR [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2019, 19(2): 291-300.
- [21] MISAWA H, TATEISHI Y, HORIMAI Y, *et al.* A useful PCR primer set for the ectomycorrhizal fungus *Tricholoma matsutake* in wild pine rhizosphere based on the nuclear ribosomal DNA IGS2 sequence [J]. *Mycoscience*, 2024: MYC637. DOI: 10.47371/mycosci.2024.05.001
- [22] 李雪莲, 于洪娟, 朱小琼, 等. 基于 TaqMan MGB 探针的大豆北方茎溃疡病菌快速检测[J]. *大豆科学*, 2024, 43(3): 317-325.
LI XL, YU HJ, ZHU XQ, *et al.* TaqMan MGB-based real-time fluorescent PCR method for the rapid detection of *Diaporthe caulivora* [J]. *Soybean Science*, 2024, 43(3): 317-325.
- [23] 虞惠贞, 赵相鹏, 裘慧, 等. 应用 DNA 条形码技术对口岸截获鱼翅物种进行鉴定与分析[J]. *质量安全与检验检测*, 2023, 33(6): 1-8.
YU HZ, ZHAO XP, QIU H, *et al.* Identification and analysis of shark fin species intercepted at ports by DNA barcoding technology [J]. *Quality Safety Inspection and Testing*, 2023, 33(6): 1-8.
- [24] 王哲贤, 张颖, 亢春雨, 等. 荞麦源性成分实时荧光 PCR 检测方法的建立[J]. *粮食与油脂*, 2024, 37(2): 155-158, 162.
WANG ZX, ZHANG Y, KANG CY, *et al.* Establishment of realtime fluorescence PCR detection method for buckwheat derived components [J]. *Cereals & Oils*, 2024, 37(2): 155-158, 162.
- [25] 白景莲, 赵娜, 顾晗潇, 等. 豌豆成分的 Taq Man 实时荧光 PCR 检测方法的建立[J]. *中国口岸科学技术*, 2023, 5(9): 70-75.
BAI JL, ZHAO N, GU HX, *et al.* Establishment of TaqMan real-time PCR method for detection of *Pisum sativum* derived ingredients [J]. *China Port Science and Technology*, 2023, 5(9): 70-75.
- [26] AOKI W, BERGIUS N, KOZLAN S, *et al.* New findings on the fungal species *Tricholoma matsutake* from Ukraine, and revision of its taxonomy and biogeography based on multilocus phylogenetic analyses [J]. *Mycoscience*, 2022, 63(5): 197-214.
- [27] MURATA H, OTA Y, YAMAGUCHI M, *et al.* Mobile DNA distributions refine the phylogeny of “matsutake” mushrooms, *Tricholoma* sect. *Caligata*[J]. *Mycorrhiza*, 2013, 23(6): 447-461.
- [28] 周亭亭, 李嘉宜, 张佳睿, 等. 松茸 DNA 检测试剂及基因可视化试纸条的研究[J/OL]. *特产研究*, 1-10. [2025-03-05]. <https://doi.org/10.16720/j.cnki.tcyj.2024.035>
ZHOU TT, LI JY, ZHANG JR, *et al.* Research on *Tricholoma matsutake* DNA detection kit and gene visualization strip [J/OL]. *Special Wild Economic Animal and Plant Research*, 1-10. [2025-03-05]. <https://doi.org/10.16720/j.cnki.tcyj.2024.035>
- [29] 曾东方. 腐生与共生食用菌菌丝体分离、培养及其 DNA 鉴定研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2000.
ZENG DF. Studies on the isolation, culture and DNA identification of mycelia of Saprophytic and symbiotic edible fungi [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2000.
- [30] 郑梦迪, 于佳琦, 王明珞. 基于 DNA 条形码的食用菌与其易混有毒真菌的鉴定[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(1): 102-109.
ZHENG MD, YU JQ, WANG ML. Identification of edible fungi and their easily mixed wild toxic fungi based on DNA barcodes [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(1): 102-109.
- [31] 朱建宇, 尹荣, 王艳双, 等. 快速鉴定松茸及其制品的可视化核酸试纸条方法建立[J]. *食品科技*, 2024, 49(5): 342-348.
ZHU JY, YIN R, WANG YS, *et al.* Establishment of visual nucleic acid test strip for rapid identification of *Tricholoma Matsutake* and its products [J]. *Food Science and Technology*, 2024, 49(5): 342-348.

(责任编辑: 韩晓红 安香玉)