

基于全基因组序列的污染事件中椰毒假单胞菌 酵米面亚种溯源分析

陈荣桥, 陈汉金, 冼燕萍*, 侯向昶, 朱文信, 郭燕华, 胡均鹏,
梁明, 刘冬虹, 吴玉銮

(广州质量监督检测研究院, 广州市食品安全风险动态监测与预警研究中心,
广州市食品安全检测技术重点实验室, 广州 511447)

摘要: **目的** 溯源分析湿米粉与淀粉制品(统称为“湿粉”)及其原料米中分离的椰毒假单胞菌酵米面亚种。**方法** 采用 GB/T 4789.29—2003《食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 椰毒假单胞菌酵米面亚种检验》在 14 份湿粉及其原料米中分离出 34 株唐菖蒲伯克霍尔德氏菌并进行菌株全基因组重测序, 以 *Burkholderia gladioli*_Co14 作为参比基因, 基于单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)数据构建进化树, 分析不同菌株的同源关系。**结果** 来源于相同产地标识的样品的菌株呈现较好聚类; 来源于同一生产企业的湿粉和碎米样品的菌株具有高度同源关系。**结论** 提示原料米中椰毒假单胞菌酵米面亚种的基因组序列与产地溯源具有较大相关性, 在湿粉生产加工过程中存在椰毒假单胞菌酵米面亚种污染传递的风险。**关键词:** 椰毒假单胞菌酵米面亚种; 湿粉及其原料米; 全基因组序列; 进化树; 溯源

Traceability analysis of *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farino fermentans* in pollution events based on whole genome sequence

CHEN Rong-Qiao, CHEN Han-Jin, XIAN Yan-Ping*, HOU Xiang-Chang, ZHU Wen-Xin,
GUO Yan-Hua, HU Jun-Peng, LIANG Ming, LIU Dong-Hong, WU Yu-Luan

(Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou City Research Center of Risk Dynamic Detection and Early Warning for Food Safety, Guangzhou City Key Laboratory of Detection Technology for Food Safety, Guangzhou 511447, China)

ABSTRACT: Objective To trace and analyze *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farino fermentans* isolated from wet rice flour, starch products(collectively referred to as "wet rice flour") and raw rice. **Methods** A total of 34 strains of *Burkholderia gladioli* were isolated from 14 portions of wet flour and its raw rice and the whole genome of the strain was re-sequenced using GB/T 4789.29—2003 *National food safety standard-Microbiological examination of food hygiene-Examination of Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farino fermentans*. With *Burkholderia gladioli*_Co14 as the reference gene, an evolutionary tree was constructed based on single nucleotide polymorphism data, and then the homology relationship of different strains were analyzed. **Results** The strains from the samples

基金项目: 国家市场监督管理总局研究项目、广东省科技计划项目(2019B020208008)

Fund: Supported by the Research Project of State Administration for Market Regulation, and Science and Technology Planning Project of Guangdong Province, China (2019B020208008)

*通信作者: 冼燕萍, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全。E-mail: 13642613459@139.com

*Corresponding author: XIAN Yan-Ping, Master, Senior Engineer, Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou 511447, China. E-mail: 13642613459@139.com

with the same origin identification showed better clustering. The strains of wet powder and broken rice samples from the same manufacturer had a high degree of homology. **Conclusion** It is suggested that the genome sequence of *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farino fermentans* in raw rice is closely related to the origin traceability, and there is a risk of pollution transmission of *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farino fermentans* in the production and processing of wet flour.

KEY WORDS: *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farino fermentans*; wet powder and raw material rice; whole genome sequence; evolutionary tree; traceability

0 引言

椰毒假单胞菌酵米面亚种(*Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farino fermentans*)是唐菖蒲伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia gladioli*)的一种致病型,在适宜的条件下会产生米酵菌酸和毒黄素。米酵菌酸具有强烈毒性,小鼠经口半数致死量(LD_{50})为0.68~6.84 mg/kg,大鼠口服 LD_{50} 为1~50 mg/kg,美国《食品毒理学手册》中记录人体致死剂量为1~1.5 mg,其中毒致死率高达40%~100%。近年来,国内外时有米酵菌酸中毒事件发生,截至2018年,我国米酵菌酸中毒人数高达2370人,死亡人数911人,起因多为自制食物受到椰毒假单胞菌酵米面亚种污染,如黑龙江中毒事件中自制的酸汤子^[1]、家庭长时间泡发木耳^[2-3]、非洲自酿酒^[4]等。广东近3年发生了多起因食用食品加工企业生产的湿粉(湿米粉和湿淀粉制品)而引发米酵菌酸中毒致死事件^[5-7],引起了社会高度关注,亟需研究查明污染风险,科学防控。

本研究团队在前期研究中,首次在多份湿粉企业生产原料碎米样品中分离出椰毒假单胞菌酵米面亚种,发现了主要污染源^[8],并在广东湿粉污染事件中获取的部分原料米和湿粉样品中分离出椰毒假单胞菌酵米面亚种,积累了丰富的菌株资源。由于基因携带着物种的遗传信息,目前细菌基因溯源技术已被广泛应用于细菌进化及亲缘关系的研究^[9-13],根据湿粉的生产加工工艺[米浸泡→清洗→磨浆→调浆(添加或不添加食用淀粉浆)→熟制→冷却成型→切粉→包装],如果湿粉中椰毒假单胞菌酵米面亚种来源于原料米的污染,则湿粉和米中的椰毒假单胞菌酵米面亚种的典型基因序列理论上会有较好的聚类关系,从而实现污染溯源。因此本研究拟基于这些菌株及基因技术开展溯源分析,探究湿粉中椰毒假单胞菌酵米面亚种的污染来源。

目前,对于椰毒假单胞菌酵米面亚种的基因研究主要集中在对其种属的确认研究^[14],少量关于应用基因溯源的研究报道^[15-17]。黄庭轩等^[15]通过 *recA* 序列构建进化树,分析了云南2012年和2014年食物中毒分离的唐菖蒲伯克霍尔德氏椰毒致病变种(即椰毒假单胞菌酵米面亚种)与其他疑似菌株的同源性,在种水平上良好区分了唐菖蒲伯克霍尔德氏菌的椰毒致病变种、唐菖蒲致病变种和洋葱致病

变种,但是单纯使用 *recA* 序列无法区分不同来源的椰毒假单胞菌酵米面亚种。王岗^[16]、郭云昌等^[17]采用脉冲场凝胶电泳对76株国内分离的椰毒假单胞菌酵米面亚种和4株参考株进行了比较,结果显示分离自吉林、广西中毒样品的2株菌株具有完全一致的指纹图谱,但两地区的菌株不具有流行病学相关关系,因此需要结合菌株的流行病学资料进行溯源分析,而流行病学资料一般较难获得。这些研究方法中主要在种水平上对菌株进行区分,或需要结合其他资料和方法才能进行溯源分析。本研究的34株菌株是经过GB/T 4789.29—2003《食品安全国家标准 食品卫生微生物学检验 椰毒假单胞菌酵米面种检验》中生化鉴定和毒性试验等系列试验,确证都属于唐菖蒲伯克霍尔德氏菌,都处于同一种水平,菌株内基因相似度已经非常高,对基因溯源分析技术要求更高,需要从菌株全基因组序列中寻找遗传稳定性高的差异点来进行区分和溯源。细菌基因组重测序是指对基因组序列已知的细菌个体进行基因组测序,通过与已知的参考基因组比对,获得该细菌个体或者群体的差异的测序方法,这些差异主要包括单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)、插入或缺失(insertion/deletion, InDel)和基因组结构性变异(structural variation, SV)^[18-19]。目前细菌基因组重测序被广泛应用于致病菌的检测及鉴定、演变及起源、种群结构及其进化等众多方面^[14]。SNP是基因组水平的单个核苷酸变异引起的基因序列多态性,其密度高和遗传稳定性高,且SNP有可能位于基因组内部直接影响蛋白质结构或表达水平,更具有代表性^[20]。李黎^[21]通过SNP系统发育树深入探讨了外源基因转化沙漠寡营养细菌的进化与变异,结果表明进化速度越快SNP数量最多。

因此,本研究采用全基因组重测序技术对试验菌株进行检测,基于SNP差异构建进化树,完成了不同来源的椰毒假单胞菌酵米面亚种菌株溯源分析,为广东省2020年发生湿粉污染事件^[6-7]的原因调查提供了科学依据,同时为监管部门加强湿粉生产加工监管和防控风险提供了方向。

1 材料与方法

1.1 菌株

本试验菌株34株,其中椰毒假单胞菌酵米面亚种32

株, 来源于前期研究中^[6]的 14 份米、米浆和湿粉样品, 具体信息见表 1。34 株菌株均根据国标 GB 4789.29—2003 进行了生化鉴定和毒性试验确证。

1.2 仪器与试剂

Thermo ND2000 核酸蛋白分析系统、琼脂糖凝胶电泳仪(美国赛默飞世尔科技有限公司); Agilent 5400 片段分析仪系统(美国安捷伦科技有限公司); IlluminaHiseq 测序平台(美国因美纳科学器材有限公司); HiPure Bacterial DNA Kit 试剂盒(广州美基生物科技有限公司)。

1.3 DNA 提取与质控

挑取菌株于肉汤培养基中, 放置于震荡培养箱中, 36 °C培养 24 h。使用 HiPure Bacterial DNA Kit 试剂盒提取 DNA, 提出的 DNA 样本采用 Thermo ND2000 核酸蛋白分析系统检测浓度, 再分别用琼脂糖凝胶电泳和 Agilent 5400 片段分析仪系统检测 DNA 样本的质量。

1.4 细菌基因组重测序

委托上海生工生物工程股份有限公司对通过质量控制的 DNA 样本进行基因组重测序。将所有 DNA 样本的 SNP 提取出来构建 MSA 矩阵, 并将其转换为 phylip 格式; 使用 iqtree 计算最优核苷酸替换模型, 并基于此模型使用

邻接法计算样本间的进化距离, 迭代 1000 次后, 给出 bootstrap 值。

2 结果与分析

2.1 椰毒假单胞菌酵米面亚种的分离与鉴定

前期研究中, 考虑到米和湿粉样品中微生物体系具有复杂性和多样性, 因此在部分样品中挑选多株形态特征一样的菌株, 采用 GB/T 4789.29—2003 进行了检测和确证, 在 14 份样品(9 份原料米、4 份湿粉、1 份混合浆)中共分离出 34 株唐菖蒲伯克霍尔德氏菌, 其中 32 株为产毒素米酵菌酸的椰毒假单胞菌酵米面亚种, 2 株不产米酵菌酸。污染事件 S1 的样品来源于同一生产企业, 其中, 在 1 份 C 国大米 C2 中分离出 4 株产米酵菌酸的菌株, 在 1 份 B 国碎白米 B1 中分离出 2 株产米酵菌酸菌株(A20 和 A21)和 1 株不产米酵菌酸菌株(A19), 在生产日期相邻的 2 份湿粉(X1 和 X2)中各分离出 3 株产米酵菌酸的菌株。湿粉 X3 和 X4 是来源于污染事件 S2 的同一生产企业同一生产日期的不同品种湿粉样品, 各分离出 3 株产米酵菌酸的菌株。T 国碎白米 T3 是来源于污染事件 H 的原料样品, 分离出 1 株产米酵菌酸的菌株。具体的样品信息和菌株信息见表 1。

表 1 34 株唐菖蒲伯克霍尔德氏菌鉴定结果
Table 1 Results of 34 strains of *Burkholderia gladioli*

菌株编号	菌株来源, 样品编号	菌株鉴定情况	
A1	M 国碎白米, M1	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A2	M 国碎白米, M2	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A3、A4、A5、A6	M 国碎白米, M3	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A7	T 国碎白米(污染事件 H), T3	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A8、A9、A10、A11	T 国碎白米, T1	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A12	C 国大米, C1	唐菖蒲伯克霍尔德氏菌	不产米酵菌酸
A13、A14	T 国碎白米, T2	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A15、A16、A17、A18	C 国大米(污染事件 S1), C2	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A20、A21	B 国碎白米(污染事件 S1), B1	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A19		唐菖蒲伯克霍尔德氏菌	不产米酵菌酸
A22、A23、A24	湿粉(污染事件 S1), X1	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A25、A26、A27	湿粉(污染事件 S1), X2	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A28	混合浆(米浆和淀粉浆混合物), H1	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A29、A30、A34	湿粉(污染事件 S2), X3	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸
A31、A32、A33	湿粉(污染事件 S2), X4	椰毒假单胞菌酵米面亚种	产米酵菌酸

2.2 DNA 质控

34 份 DNA 样本经过 Thermo ND2000 核酸蛋白分析系统测量, DNA 浓度范围在 199.1~730.3 ng/ μ L, 满足测序需求。34 份 DNA 样本和参考标记 DNA 分子经凝胶电泳检测, 结果显示每份 DNA 样本在凝胶板上聚集成一个条带, 而参考标记 DNA 分子按分子大小形成多个条带, 表明 34 份 DNA 样本均较为完整, 质量较好。同时, Agilent 5400 峰图检测显示 34 份 DNA 样品全部满足基因测序建库需求。

2.3 菌株进化树

基于 34 株菌株的 SNP 构建进化树, 如图 1 所示。可见, 来源于同一样品的菌株的同源性都基本达到了 100%, 如来源于碎白米 M3 的菌株 A3~A6、来源于碎白米 T2 的菌株 A13 和 A14、来源于大米 C2(污染事件 S1)的菌株 A15~A18, 以及来源于碎白米 B1(污染事件 S1)的菌株 A19~A21, 其中产米酵菌酸的菌株 A20 和 A21 的同源性达到了 100%, 不产米酵菌酸的菌株 A19 也与 A20 和 A21 高度相似, 呈现较好的聚类; 来源于碎白米 T1 的菌株 A8~A11 的同源性虽未达到 100%, 但也非常接近, 且菌株 A8 和 A9、菌株 A10 和 A11 的同源性分别达到了 100%; 菌株 A22、A23 和 A27 与 A24~A26 分别来源于同一生产企业生产日期相邻的 2 个湿粉样品, 但这 6 株菌株的同源性达到了 100%; 菌株 A29、A30 和 A34 与 A31~A33 分别来源于同一生产企业同一生产日期的 2 个不同品种的湿粉样品, 这 6 株菌株的同源性也达到了 100%; 菌株 A28 是从采自湿粉生产企业的 1 份混合浆(米浆和淀粉浆的混合物)样品中分离得到的, 提示原料中的菌株可以在生产工艺链中传递。菌株 SNP 进化树的聚类情况说明本试验来源于同一米样品或同一生产企业湿粉样品的菌株具有非常高的同源性, 且不同样品间的菌株呈现一定的差异, 相比基于 *recA* 序列构建进化树等研究^[15]适用于区分唐菖蒲伯克霍尔德氏菌层面的不同致病变种, SNP 进化树更有利于在椰毒假单胞菌酵米面亚种层面开展准确的污染溯源分析。

2.4 溯源分析

本研究涉及的原料碎米样品的包装标识产地主要为 M 国、T 国和 B 国, 其中菌株 A1~A6 来源于 3 份 M 国碎白米, 在进化树中呈现较好的聚类(见图 1 的 1 组); 菌株 A7、A8~A11、A13 和 A14 来源于 3 份 T 国碎白米, 菌株 A12、A15~A17 来源于 2 份 C 国大米, 在进化树中呈现较好的聚类(见图 1 的 2 组); 菌株 A19~A27 和 A29~A34 来源于 2 起污染事件涉事企业的原料碎米(B 国碎白米)和湿粉样品, 在进化树中呈现较好的聚类(见图 1 的 3 组)。可见, 菌株与其来源样品标识的产地具有较好的相关性, 即 M 国碎米可以归属于 1 组, T 国碎米可以归属于 2 组, B

国碎米可以归属于 3 组; 且从地理位置上看, T 国和 M 国是邻国, 所以两国的试验菌株同源关系较接近, 而 B 国在地理位置上与这两个国家相距较远, 试验菌株同源关系有较明显的距离。分析表明, 基于椰毒假单胞菌全基因组序列的 SNP 进化树可以实现对源自 B 国碎米和 M 国碎米的椰毒假单胞菌的溯源, 进而可以对 B 国碎米和 M 国碎米进行产地溯源。

污染事件 S1 的湿粉样品(X1 和 X2)及其原料碎米样品(B 国碎白米 B1)的菌株具有高度同源性, 呈现出较好的聚类, 都归属在 3 组; 而污染事件 S1 的原料大米样品(C 国大米 C2)的菌株归属在 2 组, 与湿粉及 B 国碎白米样品的同源关系较远。表明污染事件 S1 湿粉样品的椰毒假单胞菌酵米面亚种污染很有可能来源于原料 B 国碎米的污染, 而来源于原料 C 国大米污染的可能性较小。

污染事件 S2 和污染事件 S1 发生在同一城市, 污染事件 S2 的湿粉样品(X3 和 X4)菌株归属在 3 组, 与污染事件 S1 的湿粉样品(X1 和 X2)及其原料碎米样品(B1)的菌株同源关系非常近, 提示这 2 次污染事件中污染湿粉的椰毒假单胞菌酵米面亚种可能具有相同的地域来源。

污染事件 H 发生在不同城市, 图 1 显示其原料碎米中的椰毒假单胞菌酵米面亚种归属在 2 组, 与污染事件 S1 和污染事件 S2 的椰毒假单胞菌酵米面亚种同源关系较远, 提示污染事件 H 的椰毒假单胞菌酵米面亚种可能具有不同的地域来源。

从 2 个包装标识为 C 国大米样品中分离得到的菌株与源自 T 国碎米的菌株都归属在 2 组, 可能是由于 C 国与 T 国地理位置接近, 故菌株有可能聚类。

现有同类研究中, 以 *recA* 基因序列构建的进化树主要用于区分唐菖蒲伯克霍尔德氏菌属下不同的致病变种, 脉冲场凝胶电泳技术需结合流行病学研究进行溯源, 而利用菌株全基因组 SNP 差异构建进化树, 不仅发现从不同米样品中分离出的椰毒假单胞菌酵米面亚种基因序列与样品标识产地具有较好的相关性, 还发现 1 起污染事件中湿粉样品和 1 个碎米样品的椰毒假单胞菌酵米面亚种基因序列具有较好的聚类, 可以以此反推污染来源, 从而实现溯源分析。

3 结论与讨论

本研究采用全基因组重测序技术对来源于湿粉、米浆和原料米样品的 34 株唐菖蒲伯克霍尔德氏菌菌株进行检测。基于 SNP 差异构建进化树。结果显示, 虽然 34 株试验菌株都处于同一种水平, 但也呈现出较明显的聚类和特征差异性, 主要体现为: (1)菌株与原料米标识的产地具有较高的相关性, M 国与 T 国菌株聚类较集中, 同源关系接近, B 国菌株与 M 国和 T 国菌株同源关系较远, 利用菌株

基因可以实现 B 国菌株溯源, 进而可以对 B 国碎米进行产地溯源。(2)污染事件 S1 湿粉样品的椰毒假单胞菌酵米面亚种污染很有可能来源于原料 B 国碎米的污染, 而来源于

原料 C 国大米污染的可能性较小。利用 SNP 进化树的聚类特性, 可作为椰毒假单胞菌酵米面亚种污染事件调查和溯源分析的技术手段。

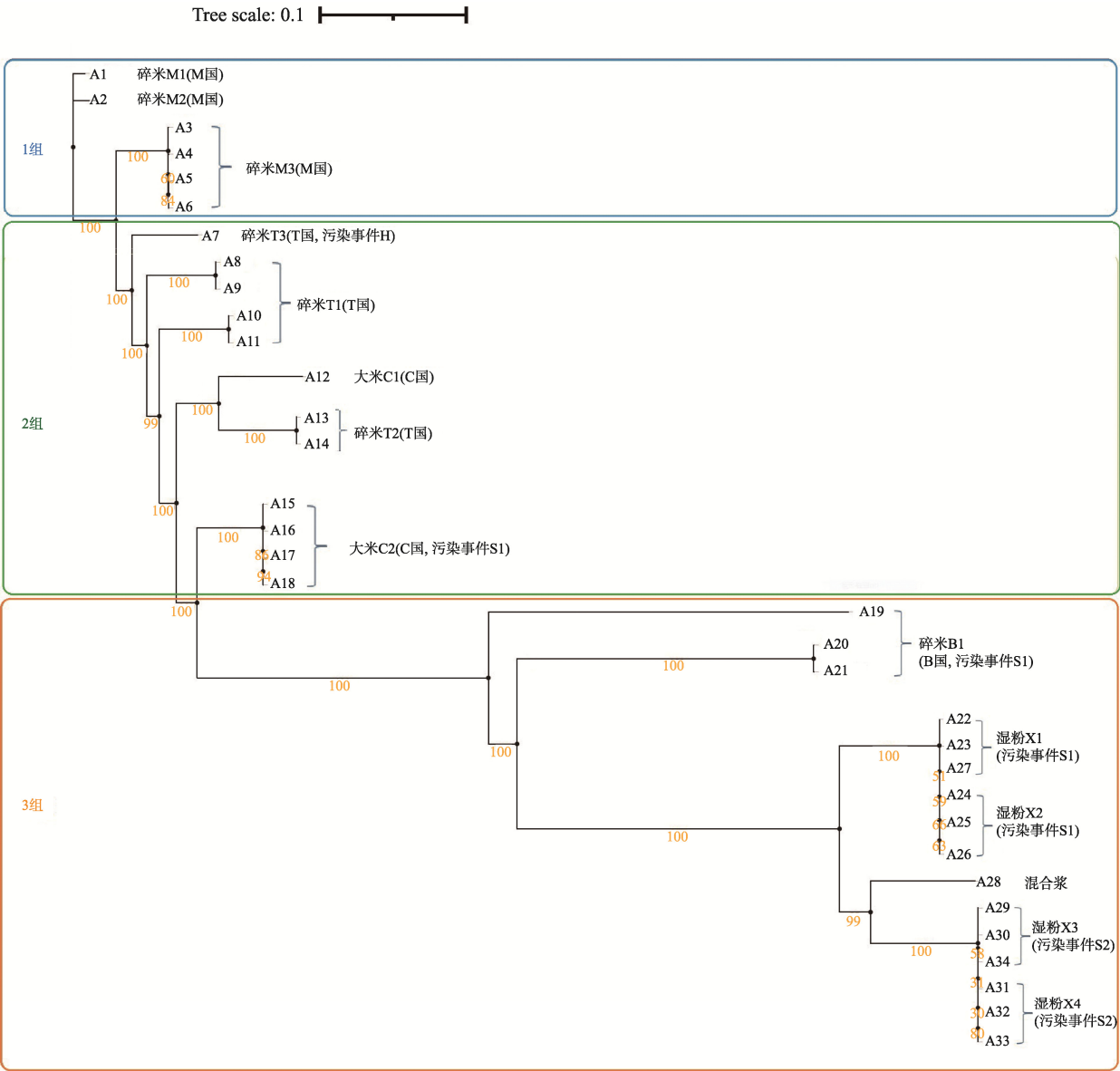


图 1 34 株试验菌株的 SNP 进化树
Fig.1 SNP phylogenetic tree of 34 experiment strains

参考文献

[1] 阮光锋. 科学解读“酸汤子”为什么会引发米酵菌酸中毒[J]. 中国食品, 2020, (20): 128–129.
RUAN GF. Scientific interpretation of why "sour soup" can cause poisoning of bongkreic acid [J]. China Food, 2020, (20): 128–129.

[2] 温海滨. 高效液相色谱-串联质谱法测定黑木耳中的米酵菌酸[J]. 现代食品, 2020, (12): 166–169.
WEN HB. Determination of bongkreic acid in *Auricularia auricula* by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Mod Food, 2020, (12): 166–169.

[3] 刘志涛, 万蓉, 胡太芬, 等. 一起椰毒假单胞菌酵米面亚种引起的食物中毒调查分析[J]. 职业与健康, 2013, 29(5): 582–583.
LIU ZT, WANG R, HU TF, et al. Investigation on a food poisoning incident induced by *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farinofarmentans* [J]. Occup Health, 2013, 29(5): 582–583.

[4] TRAVIS MF, SARA EK, JENNIFER LB, et al. Identification of the potent toxin bongkreic acid in a traditional African beverage linked to a fatal outbreak [J]. Forensic Sci Int, 2017, 270: 5–11.

[5] 王海燕, 宋曼丹, 王建, 等. 广东省首起米粉米酵菌酸中毒病原菌鉴定

- 研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2019, 31(4): 394–398.
- WANG HY, SONG MD, WANG J, *et al.* Identification of the pathogen in rice noodles in relation to food poisoning caused by bongkrekic acid in Guangdong province [J]. Chin J Food Hyg, 2019, 31(4): 394–398.
- [6] 小心! 隐藏的米酵菌毒素[J]. 发明与创新(大科技), 2020, (9): 58.
- Be careful! Hidden mycotoxin in rice yeast [J]. Invent Innov, 2020, (9): 58.
- [7] 陈秋霞. 广东省首起米粉米酵菌酸中毒的病原菌鉴定研究[A]. 广东省预防医学会、广东省预防医学会医学病毒学专业委员会、中华医学会医学病毒学分会. 新发与再发传染病研究论坛论文集[C]. 广东省预防医学会、广东省预防医学会医学病毒学专业委员会、中华医学会医学病毒学分会: 广东省预防医学会医学病毒学专业委员会, 2019: 1.
- CHEN QX. Identification of the first pathogenic bacteria of rice flour and rice yeast acidosis in Guangdong province [A]. Guangdong Preventive Medical Association, Medical Virology Professional Committee of Guangdong Preventive Medical Association, Medical Virology Branch of Chinese Medical Association. Proceedings of the Forum on Emerging and Re-emerging Infectious Diseases Research [C]. Guangdong Preventive Medical Association, Medical Virology Committee of Guangdong Preventive Medical Association, Medical Virology Branch of Chinese Medical Association: Medical Virology Committee of Guangdong Preventive Medical Association, 2019: 1.
- [8] 陈荣桥, 陈汉金, 胡均鹏, 等. 米和食用淀粉中椰毒假单胞菌酵米面亚种污染调查与风险分析[J]. 现代食品科技, 2021, 37(1): 260–267.
- CHEN RQ, CHEN HJ, HU JP, *et al.* Investigation and risk analysis of *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farinofermentans* from rice and edible starch [J]. Mod Food Sci Technol, 2021, 37(1): 260–267.
- [9] OWEN W, JONATHAN AE, JOHN FH, *et al.* Genome sequence of the radioresistant bacterium *Deinococcus radiodurans* R1 [J]. Science, 1999, 286(5444): 1571–1577.
- [10] HARRIS K. From a database of genomes to a forest of evolutionary trees [J]. Nat Genet, 2019, 51(9): 1306–1307.
- [11] BENTKOWSKI P, RADWAN J. Evolution of major histocompatibility complex gene copy number [J]. PLoS Comput Bio, 2019, 15(5): e1007015.
- [12] PEREZ-LOSADA M, ARENAS M, GALAN JC, *et al.* High-throughput sequencing(HTS)for the analysis of viral populations [J]. Infect Genet Evol, 2020, 80: 104208.
- [13] LU Y, YANG L, MENG J, *et al.* Microevolution of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from clinical, acute hepatopancreatic necrosis disease infecting shrimps, and aquatic production in China [J]. Microbes Environ, 2020, 35(2): ME19095.
- [14] 迟文静, 刘宜昕, 王粟, 等. 进化树在细菌亲缘关系分析中的应用研究[J]. 检验医学, 2020, 35(12): 1310–1314.
- CHI WJ, LIU YX, WANG S, *et al.* Evolutionary tree and its application in the analysis of bacterial kinship [J]. Lab Med, 2020, 35(12): 1310–1314.
- [15] 黄庭轩, 赵梦馨, 周帼萍, 等. 利用 *recA* 基因序列分析鉴定云南酵米面中伯克霍尔德菌属分离株[J]. 中国食品卫生杂志, 2017, 29(5): 526–533.
- HUANG TX, ZHAO MX, ZHOU GP, *et al.* Identification of isolates in fermented corn flour food poisoning case in China by *recA* sequence analysis [J]. Chin J Food Hyg, 2017, 29(5): 526–533.
- [16] 王岗. 椰毒假单胞菌酵米面亚种的鉴定、分型和溯源数据库的建立[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2012.
- WANG G. Study on the identification, typing and establishment of the tracing database of *pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farinofermentans*. [D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2012.
- [17] 郭云昌, 王岗, 杜春明, 等. 椰毒假单胞菌酵米面亚种脉冲场凝胶电泳分型的研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2010, 22(3): 236–239.
- GUO YC, WANG G, DU CM, *et al.* Molecular typing of *Pseudomonas cocovenenans* subsp. *Farinofermentans* with pulsed-field gel electrophoresis [J]. Chin J Food Hyg, 2010, 22(3): 236–239.
- [18] MUNOZ-RAMIREZ ZY, MENDEZ-TENORIO A, KATO I, *et al.* Whole genome sequence and phylogenetic analysis show *Helicobacter pylori* strains from Latin America have followed a unique evolution pathway [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2017, 7: 50.
- [19] 鞠笑, 张明哲, 赵恒, 等. 基因组 SNP 揭示少根根霉种群结构[J]. 菌物学报, 2020, 39(12): 2285–2303.
- JU X, ZHANG MZ, ZHAO H, *et al.* Genomic SNPs reveal population structure of *Rhizopus arrhizus* [J]. Mycosystema, 2020, 39(12): 2285–2303.
- [20] 李勇. 不同 SNP 分型技术在猪基因组选择中效果评估及全基因组关联研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.
- LI Y. Evaluation of various SNP genotyping methods in pig genomic selection and genome-wide association study [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020.
- [21] 李黎. N⁺注入介导的沙漠寡营养细菌的比较基因组学研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2017.
- LI L. Study on the comparative genomics of the *Desert Oligotrophic Bacteria* by low-energy N⁺ implantation [D]. Urumchi: Xinjiang University, 2017.

(责任编辑: 张晓寒)

作者简介



陈荣桥, 硕士, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: 844247943@qq.com



冼燕萍, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: 13642613459@139.com