

云南安宁酱菜中的细菌多样性和致病菌组成分析

杨振光, 刘秉珍, 曹建新, 李莉蓉*
(昆明理工大学食品科学与工程学院 昆明 650500)

摘要 为了探究云南省安宁市不同酱菜中细菌群落结构和致病菌组成, 采用高通量测序技术和传统分离培养法对 9 种酱菜样品的细菌群落结构和致病菌组成进行分析。结果表明, 9 种酱菜样品中细菌群落结构相似, 而相对丰度差异较大。其中乳酸杆菌属、芽孢杆菌属和葡萄球菌属为主要优势菌属, 对酱菜风味物质的形成有重要作用。此外, 对分离培养得到的酱菜食源性致病菌的 16S rDNA 测序结果表明, 在 9 种酱菜样品中检出部分致病菌, 主要为单增李斯特菌、蜡样芽孢杆菌、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和沙门氏菌。结论: 市场上散装酱菜容易滋生致病菌, 可能存在一定安全风险。

关键词 酱菜; 细菌多样性; 16S rDNA; 食源性致病菌; 食品安全风险

文章编号 1009-7848(2023)01-0335-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.01.032

酱菜历史悠久, 是一种经盐腌、微生物发酵和酱渍而成的特色加工品^[1]。酱菜采用开放式生产, 利用附着在原料表面上的乳酸菌发酵形成了其独特的风味^[2-3]。由于酱菜特殊的制作方式, 使其最终形成了复杂的细菌群落结构^[4]。研究表明, 乳酸菌发酵产生的乳酸、醇和酯等物质是酱菜的主要风味来源^[5-7]。葛菁萍等^[8]在黄豆酱中检测到嗜盐片球菌 (*Pediococcus halophilus*)、酱油片球菌 (*Pediococcus sojae*) 和酱油四联球菌 (*Tetragenococcus sojae*) 等乳酸菌。辛星等^[9]从黑龙江酱菜中分离得到乳酸片球菌 (*Pediococcus acidilactici*) 等 7 株乳酸菌。除乳酸菌外, 在酱菜的制作、运输和销售环节中可能带入食源性致病菌在内的各种污染微生物^[10], 轻则造成酱菜中营养成分的流失和风味发生变化等不良影响, 重则导致食源性疾病的发生, 不仅对食品本身的安全性、营养价值等产生影响, 而且对人体健康造成不同程度的危害^[11-12]。

近年来, 高通量测序技术 (High-throughput sequencing) 飞速发展, 代替了传统微生物分析所采用的分离培养方法, 检测过程可一次性对样品中的几十万到几百万条 DNA 分子进行序列测定, 较传统的分离、纯化、鉴定方法, 可快速确定其中

微生物的种类和丰度, 不仅可以检测到普通的可培养物种, 而且能全面反映样品的菌群结构^[13-14]。目前高通量测序已被广泛应用于分析各种环境中的微生物群落结构。

本研究以云南省安宁市的 9 种酱菜样品为研究对象, 采用高通量测序技术对其细菌多样性进行解析, 并通过传统分离培养方法分析酱菜中的食源性致病菌组成, 探究样品可能存在的食源性致病菌污染情况, 为后续云南特色酱菜的微生物多样性研究和制作方法的改良提供一定的数据参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

细菌基因组 DNA 提取试剂盒 (DP1301), 北京百泰克生物技术有限公司。

食源性致病菌选择培养基: 沙门氏菌显色培养基、李斯特菌显色培养基、O157 显色培养基、蜡样芽孢杆菌显色培养基、坂崎肠杆菌显色培养基、金黄色葡萄球菌显色培养基、弧菌显色培养基、志贺氏菌显色培养基、弯曲菌显色培养基, 上海欣中生物工程有限公司。

1.2 仪器与设备

XR+PCR 仪, 美国 BIO-RAD 公司; 凝胶成像分析系统, 美国 BIO-RAD 公司; 水平电泳仪, 北京市六一仪器厂; LDZX-40AI 型立式电热压力灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; TGL-16aR 高速冷冻离

收稿日期: 2022-01-19

基金项目: 云南省科技厅重点研发计划项目(2018BC006);
云南省科技厅重大专项(202102AE090025)

第一作者: 杨振光, 男, 硕士生

通信作者: 李莉蓉 E-mail: Lilirong-lily@126.com

心机,上海安亭科学仪器厂;YJ-875型医用超净工作台,吴江市生化净化设备厂。

1.3 样品处理

从云南省昆明市安宁市农贸市场的3个摊位采集到9种酱菜样品。从摊位1采集到的样品分别为豆瓣酱1、黄豆酱和辣椒酱,从摊位2采集到的样品为豆瓣酱2、麻辣酱和香辣酱,从摊位3采集到的样品为豆瓣酱C、藟头酱和麦芽酱。将这9种酱菜分别进行编号(表1),置于-80℃冰箱储存。

1.4 细菌基因组DNA提取和PCR扩增

参照DNA提取试剂盒的方法提取样品细菌基因组DNA。之后,利用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的纯度和浓度。根据DNA浓度,用无菌水稀释DNA至1 ng/μL。

以提取的细菌基因组DNA为聚合酶链式反应(PCR)模板,利用特异性引物515F-806R进行16S rDNA扩增。PCR产物使用2%琼脂糖凝胶电泳检测合格后,寄往北京诺禾致源科技股份有限公司,完成高通量测序,测序平台为Illumina NovaSeq6000。PCR反应体系如表2所示。

反应程序:98℃预变性1 min;30个循环包括(98℃,10 s;50℃,30 s;72℃,30 s);72℃,5 min。

1.5 数据处理及分析

通过Illumina NovaSeq测序平台得到原始数据(Raw Data),对其进行拼接、过滤,得到有效数据(Clean Data)。有效数据以97%的一致性进行OTUs(Operational Taxonomic Units)聚类 and 物种分类分析。根据OTUs聚类结果,一方面对每个OTU的代表序列做物种注释,得到对应的物种信息和基于物种的丰度分布情况。同时,对OTUs进行丰度、Alpha多样性计算,Venn图和花瓣图等分析,以得到样本内物种丰富度和均匀度信息,不同样本或分组间的共有和特有OTUs信息等。

1.6 食源性致病菌的分离培养与鉴定

将采集到的酱菜样品进行10倍梯度稀释后,吸取200 μL样品稀释液涂布不同的选择培养基,置于33℃培养箱培养48 h后观察菌落形态。

挑取平板中的代表性菌落由上海捷瑞生物工程公司完成16S rDNA序列扩增、测序,利用NCBI(美国国家生物信息中心)数据库进行比

表1 各种酱菜对应编号

序号	酱菜名称	编号
1	辣椒酱	CJ.1
2	黄豆酱	HJ.1
3	豆瓣酱1	DJ.1
4	香辣酱	XL.2
5	豆瓣酱2	DJ.2
6	麻辣酱	ML.2
7	藟头酱	PC.C
8	豆瓣酱C	DJ.C
9	麦芽酱	MJ.C

表2 PCR反应体系

PCR反应体系(30 μL)	体积/μL
Phusion Master Mix(2×)	15
Primer(2 μmol/μL)	3(6 μmol)
gDNA(1 ng/μL)	10(5~10 ng)
H ₂ O	2

对分析。

2 结果与分析

2.1 酱菜细菌多样性分析

2.1.1 测序数据及稀释曲线分析 9种酱菜样品的稀释曲线如图1所示。随着测序数据量的增加,各组样品稀释曲线逐渐上升并趋于平坦,说明测序数据量增加,OUT数量不再增加,测序数量足够覆盖样品中绝大多数微生物信息。

2.1.2 细菌群落OTU分布 通过R软件(Version 3.0.3,R package = VennDiagram)绘制成花瓣图。酱菜样本中的细菌群落OTU分布结果见图2。9组酱菜样本共注释出OTUs 1018个OUT,共有35个相同的OTU样本,其中CJ.1组产生54个OUT,HJ.1组产生34个OUT,DJ.1组产生63个OUT,XL.2组产生44个OUT,DJ.2组产生139个OUT,ML.2组产生94个OUT,PC.C组产生117个OUT,DJ.C组产生121个OUT,MJ.C组产生107个OUT。DJ.2组所具有的特殊OUT数量最多。

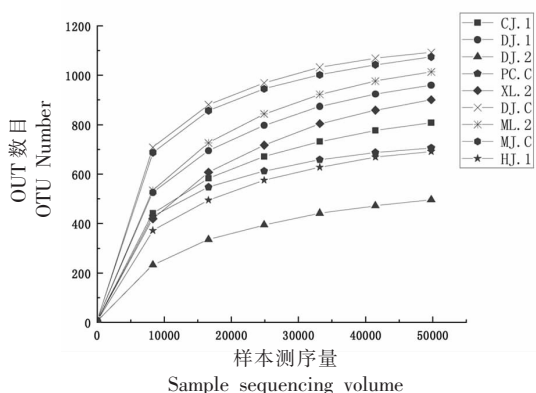


图 1 细菌 16S rDNA 克隆文库稀释曲线

Fig.1 Rarefaction analysis of bacteria 16S rDNA clone library

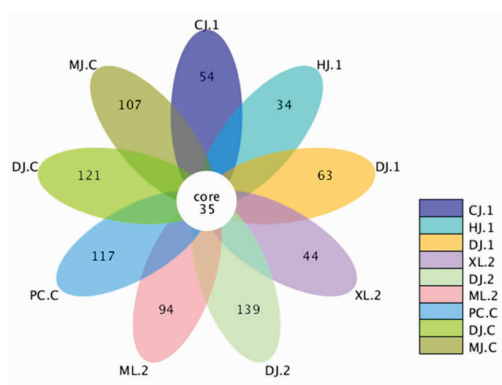


图 2 样本 OTU 分布花瓣图

Fig.2 Flower diagram of sample OTUs distribution

2.1.3 多样性指数和菌落丰富度分析 α -多样性分析能够评价微生物群落的丰度和多样性。通过 6 个指数,包括 Observed-species, Chao1, Shannon, Simpson, ACE, Good-coverage 等,对样本的物种多样性进行分析^[16]。酱菜样本的 α -多样性分析结果见表 3。Good-coverage 表示测序的深度,样品中 coverage 覆盖率均达到 99.5%~99.8%,这表明多样性测序结果既真实又准确。根据多样性检测结果,Chao1 指数和 Ace 指数代表菌群丰富度。Chao1 指数越大,代表样品中菌群丰富度越高^[15]。其中,MJ.C 的 Chao1 指数最高,达 1 259.244,其次是 DJ.C 和 ML.2,分别为 1 158.106 和 1 080.657。HJ.1 的 Chao1 指数最低,仅 742.136。这表明 MJ.C 样品中的细菌菌群较多、丰富度较高,而相比较之

下 HJ.1 样品中的细菌菌落较少、丰富度较低。Ace 指数代表估计群落中 OTU 数目,DJ.1、ML.2 和 DJ.C 的 Ace 指数较高,分别为 1 085.260,1 123.712 和 1 165.155,MJ.C 的 Ace 指数最高,其指数为 1 179.523,而 DJ.2 的 Ace 指数最低,为 577.161。Shannon 指数和 Simpson 指数表征群落内物种分布的多样性和均匀度^[15]。Shannon 指数代表样品中的分数总数及其占比,Shannon 指数越大,群落多样性越高,物种分布越均匀。MJ.C 的 Shannon 指数最高,为 6.720,其次为 DJ.C(6.212)、DJ.1(5.833)和 ML.2(5.236)。同时,Simpson 指数最高的 4 个酱菜样本分别是: MJ.C(0.952)、DJ.1(0.937)、ML.2(0.903)和 CJ.1(0.903)。从细菌多样性指标可以得出结论:9 种酱菜样品中,MJ.C 样品具有最高的菌

表 3 细菌生物多样性指标

Table 3 Indicators of bacterial biodiversity

样品名称	细菌 α -多样性				
	Goods-coverage	Chao1	Ace	Shannon	Simpson
CJ.1	0.997	904.643	922.971	4.932	0.903
HJ.1	0.997	742.136	774.136	4.746	0.874
DJ.1	0.996	1 035.014	1 085.260	5.833	0.937
XL.2	0.996	1 012.396	1 056.385	3.307	0.723
DJ.2	0.998	545.168	577.161	4.125	0.890
ML.2	0.996	1 080.657	1 123.712	5.236	0.903
PC.C	0.998	755.138	765.550	4.541	0.789
DJ.C	0.997	1 158.106	1 165.155	6.212	0.874
MJ.C	0.996	1 259.244	1 179.523	6.720	0.952

注: Observed_species: 直观观测到的物种数目(即是 OTUs 数目)。Shannon: 样品中的分类总数及其占比。Simpson: 表征群落内物种分布的多样性和均匀度。Chao1: 估计群落样品中包含的物种总数。ACE: 估计群落中 OTU 数目。Goods-coverage: 测序深度指数。

落丰富度且分布均匀。

2.1.4 不同酱菜样本的微生物群落结构的差异比较 通过菌群丰度柱状图表示分组在门水平(图3)和属水平(图4)的菌落丰度。

由图3可知,在门分类水平上,以相对丰度 $\geq 0.01\%$ 为阈值,将 $<0.01\%$ 的菌门归为 others,按照相对丰度从高到低的排序依次为厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、蓝藻菌门(Cyanobacteria)、类杆菌门(Bacteroidota)、放线菌门(Actinobacteria)、放线杆菌门(Actinobacteriota)、疣菌门(verrucomicrobiota)、脱硫菌(Desulfobacterota)和弯曲杆菌(Campilobacterota)。其中优势菌门(平均丰富大于1.00%)分别为厚壁菌门、变形菌门、蓝藻菌门。虽然关于云南酱菜细菌多样性的研究相对较少,既往研究表明中国其它传统发酵食品,如扎辣椒^[6]和泡菜^[7]中的细菌菌门组成与本研究结果相似。对比不同酱菜样本的细菌门水平相对丰度,可以发现不同类型的酱菜产品,其菌门种类相似而相对丰度具有较大的差异。其中弯曲杆菌门在DJ.C中丰度较高,脱铁杆菌门在MJ.C中丰度较高。而在ML.2和XL.2中细菌菌种较少,微生物种类多样性相对较低,这说明不同的酱菜样本中细菌群落结构存在差异,且同一菌门在不同样本中的相对丰度差异较大。

如图4所示,在属水平上,丰度 $\geq 0.1\%$ 的细菌属分别是乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、色盐杆菌属(*Chromohalobacter*)、泛菌属(*Pantoea*)、克雷伯菌属(*Klebsiella*)、柠檬酸杆菌属(*Citrobacter*)、

四链球菌属(*Tetragenococcus*)和伊格氏菌(*Ignatzschineria*)。在不同的酱菜样本中,主要菌属的组成相似,优势细菌丰度差异较大。其中,乳酸杆菌属和芽孢杆菌属在9种酱菜样本中均有检出,高吉祥等^[2]研究表明,酱菜发酵过程中乳酸菌能够产生乳酸等有机酸。同时,研究表明乳酸菌能够酶解蛋白质产生多种氨基酸,这一发酵过程中生成的有机酸和氨基酸是酱菜的主要风味来源之一^[18]。此外,乳酸菌在发酵过程中能促进风味组分(醛类、醇类、酯类等)的形成。乳酸菌在酱菜发酵中提供了良好的风味和丰富的营养价值,是酱菜发酵中不可缺少的菌种^[19]。除乳酸杆菌属外,芽孢杆菌属微生物在9种样本中也均有检出,其中在DJ.C中芽孢杆菌的丰度占40.57%,是DJ.C中的绝对优势菌种,这一点与成晓苑^[20]的研究结果相吻合。芽孢杆菌属可以产生各种水解酶,如蛋白酶、纤维素酶和淀粉酶,从而促进碳水化合物的液化和糖化。此外,在DJ.1、XL.2、DJ.2和ML.2中,均有葡萄球菌属微生物检出。田媛等^[20]和Iacumin等^[21]的研究结果表明,葡萄球菌在发酵过程中能够降解脂肪和蛋白质,还可还原硝酸盐,促进风味形成,在发酵过程中属于有益菌。除此之外,在摊位一采集到的CJ.1、HJ.1和DJ.1中都检出柠檬酸杆菌(*Citrobacteri*)和克雷伯菌(*Klebsiella*),在摊位二采集到的XL.2、DJ.2和ML.2中均检出柠檬酸杆菌(*Citrobacteri*),在DJ.2和ML.2中检出克雷伯菌(*Klebsiella*)。柠檬酸杆菌(*Citrobacteri*)和克雷伯菌(*Klebsiella*)都属于致病菌群^[22-23],这一检测结果说明摊位一和摊位二酱菜在制作、运输和销售

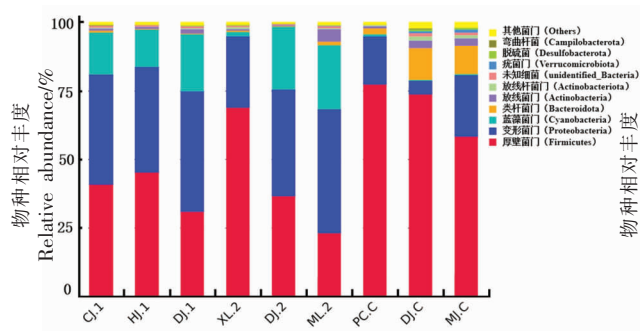


图3 酱菜样品中细菌门水平分布图

Fig.3 Horizontal distribution of bacterial in phylum level in pickles

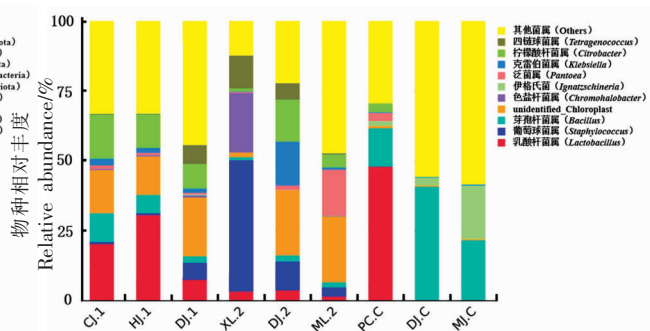


图4 酱菜样品中细菌属水平分布图

Fig.4 Horizontal distribution of bacteria in genus level in pickles

过程中可能存在微生物污染,也进一步说明这 2 个摊位其生产制造的环境卫生条件较差。

2.2 酱菜致病菌组成分析

根据 1.3 节样品分类分离筛选酱菜样品中微

生物,从 9 种显色培养基中获得具有显著特征的菌株。从显色培养基中分离筛选得到的活性菌株的菌落形态如表 4 所示。其中坂崎肠杆菌显色培养基没有菌落。

表 4 选择培养基菌株生长情况

Table 4 The growth of strains in selective medium

致病菌	CJ.1	HJ.1	DJ.1	XL.2	DJ.2	ML.2	PC.C.	DJ.C	MJ.C
蜡样芽胞杆菌显色培养基	√	√	√	√	√	-	√	√	√
沙门氏菌显色培养基	-	√	-	√	√	-	√	√	√
金黄色葡萄球菌显色培养基	-	-	-	-	√	√	√	√	-
副溶血性弧菌显色培养基	√	√	√	-	√	√	√	√	√
志贺氏菌显色培养基	-	√	√	-	-	-	-	√	√
李斯特菌显色培养基	√	√	√	√	√	√	√	√	√
弯曲菌显色培养基	-	√	√	√	-	√	-	-	√
大肠杆菌 O157 显色培养基	√	√	√	√	√	√	-	√	√

注:出现菌落生长的显色培养基以“√”标注,培养 48 h 后依然无菌落出现的显色培养基以“-”标记。

根据 1.6 节的序列测定方法,挑取不同的目标菌株进行 16S rDNA 测序比对,共检出食源性致病菌 5 种。样品中食源性致病菌检测结果如图 5 所示。CJ.1 中检出蜡样芽胞杆菌、金黄色葡萄球菌和李斯特菌;HJ.1 中检出大肠杆菌 O157 和李斯特菌;DJ.1 中检出副溶血性弧菌、大肠杆菌 O157 和李斯特菌;DJ.2 和 PC.C 中检出大肠杆菌 O157;DJ.C 中检出副溶血性弧菌;MJ.C 中检出蜡样芽胞杆菌、沙门氏菌和李斯特菌。上述结果表明,蜡样芽胞杆菌和李斯特菌在样品中检出率较高。分析其原因在于芽孢杆菌属微生物独特的,对外界有害因子抵抗力极强的芽孢杆菌,具有耐高温、快速复活等特点,在有氧和无氧的条件下都能存活^[1],并且研究表明蜡样芽孢杆菌具有较强的耐盐性^[24]。单增李斯特菌是李斯特菌属中唯一能够引起人类疾病的菌种,对盐和碱的抵抗力都较强,并且在 4℃ 的环境中也能存活^[25]。

3 结论

对 9 种云南安宁酱菜的致病菌组成和细菌多样性进行研究。通过对 9 组酱菜样品进行稀释曲线、OTU 分布、相似性、多样性指数和菌落丰富度等方面的分析,得出结论:从 OTU 分布以及相似性分析来看,9 酱菜样品中,DJ.2 组所具有的特有

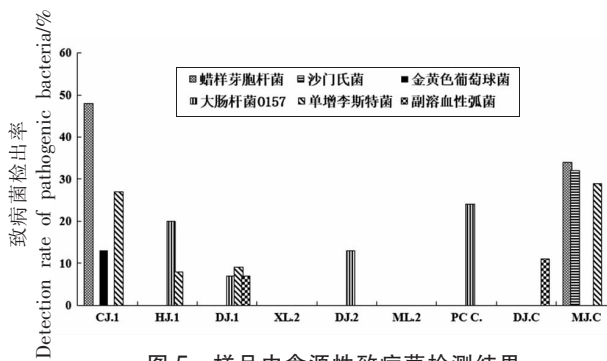


图 5 样品中食源性致病菌检测结果

Fig.5 Detection results of foodborne pathogens in samples

OUT 数量最多,说明 DJ.2 样品细菌群落结构多样,细菌群落组成特异性最强,同时这 9 组酱菜样品具有相似的细菌群落丰度;从多样性指数和菌落丰富度分析来看,MJ.C 样品具有最高的菌落丰富度;从样本细菌群落结构的差异来看,不同的酱菜样本中细菌群落结构存在显著差异。本次测序,在门水平上,厚壁菌门、变形菌门、蓝藻菌门为优势菌门。在属水平上,各种酱菜样本菌落组成差异较大,乳酸杆菌属、葡萄球菌属和芽孢杆菌属都是酱菜中常见的微生物属。

为探究云南安宁酱菜中的致病菌组成,采用传统分离培养的方法和 16S rDNA 测序技术,从这 9 种安宁酱菜中分离得到蜡样芽孢杆菌、大肠

杆菌、金黄色葡萄球菌等常见食源性致病菌。值得一提的是,蜡样芽孢杆菌在大部分酱菜样本中都有检出,属于绝对优势菌种。芽孢杆菌属广泛存在于自然界中,而其特性是在不利条件下能够产生具有特殊抵抗力的芽孢,难以除去。

酱菜的制作、发酵是一个复杂的发酵体系,发酵过程中涉及微生物种类繁多,不同的外部因素如气候、地域、原辅料、发酵方法等均影响发酵酱菜微生物群落结构,因此研究酱菜中的细菌多样性,对开发利用酱菜中的微生物资源奠定了基础。如今食品安全越来越受到人们的重视,食源性致病菌成为食品质量与安全的首要影响因素,对酱菜中食源性致病菌进行分析,对确保酱菜食用安全具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] PENG X, LI X, SHI X, et al. Evaluation of the aroma quality of Chinese traditional soy paste during storage based on principal component analysis [J]. *Food Chemistry*, 2014, 151: 532-538.
- [2] 高吉祥, 燕平梅. 酱菜发酵中微生物的研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(12): 189-193.
GAO J X, YAN P M, et al. Study on microorganisms in the fermentation of pickles[J]. *China Condiment*, 2020, 45(12): 189-193.
- [3] 赵凯. 酱菜的营养价值以及包装技术研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(11): 192-194.
ZHAO K. Study on nutritional value and packaging technology of pickles[J]. *China Condiment*, 2020, 45(11): 192-194.
- [4] RAO Y, QIAN Y, TAO Y, et al. Characterization of the microbial communities and their correlations with chemical profiles in assorted vegetable Sichuan pickles[J]. *Food Control*, 2020, 113: 10714.
- [5] 周民生, 袁超, 路志芳, 等. 酱类食品研究进展[J]. *中国调味品*, 2017, 42(1): 167-172.
ZHOU M S, YUAN C, LU Z F, et al. Research progress of sauce food[J]. *China Condiment*, 2017, 42(1): 167-172.
- [6] 安飞宇, 武俊瑞, 解梦汐, 等. 酱块发酵过程中真菌和细菌群落的演替[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(7): 61-67.
AN F Y, WU J R, XIE M X, et al. Succession of fungal and bacterial communities during meju fermentation[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34(7): 61-67.
- [7] LIANG H, ZHANG A, WU Z, et al. Characterization of microbial community during the fermentation of Chinese homemade Paocai, a traditional fermented vegetable food[J]. *Japanese Society for Food Science and Technology*, 2016, 22(4): 467-475.
- [8] 葛菁萍, 柴洋洋, 陈丽, 等. 传统豆酱发酵过程中细菌多样性动态[J]. *生态学报*, 2012, 32(8): 2532-2538.
GE J P, CHAI Y Y, CHEN L, et al. The dynamics of bacteria community diversity during the fermentation process of traditional soybean paste [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(8): 2532-2538.
- [9] 辛星, 宋刚, 周晓杭, 等. 传统发酵豆酱中乳酸菌的分离、筛选及鉴定[J]. *中国食品学报*, 2014, 14(9): 202-207.
XIN X, SONG G, ZHOU X H, et al. Isolation, screening and identification of lactic acid bacteria from the traditional fermented soybean paste[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2014, 14(9): 202-207.
- [10] 卞玲娟, 程刚, 欧阳潇, 等. 散装酱菜中微生物污染情况的检测与分析[J]. *生物化工*, 2015, 1(1): 38-39, 50.
BIAN L J, CHENG G, OUYANG X, et al. Pickles in bulk detection and analysis of microbial contamination[J]. *Biological Chemical Engineering*, 2015, 1(1): 38-39, 50.
- [11] 闫鸣霄, 吴正云, 全江龙, 等. 基于高通量测序研究文献和预测微生物学软件的泡菜中常见食源性致病菌风险分析[J]. *中国调味品*, 2019, 44(6): 56-59, 69.
YAN M X, WU Z Y, QUAN J L, et al. Risk analysis of common food-borne pathogens in pickles based on high-throughput sequencing literature and predictive microbiology software[J]. *China Condiment*, 2019, 44(6): 56-59, 69.
- [12] BAMIKOLE O A, EZEKIEL G, ADEYINKA A J, et al. Metabolomic approaches for the determination of metabolites from pathogenic microorganisms: A review[J]. *Food Research International*, 2021, 140(2): 110042.1-110042.11.
- [13] LIU X, QIAN M, SHEN Y, et al. An high-throughput sequencing approach to the preliminary

- analysis of bacterial communities associated with changes in amino acid nitrogen, organic acid and reducing sugar contents during soy sauce fermentation [J]. *Food Chemistry*, 2021, 349(7): 129131.
- [14] ANTONIA B, ANNA S, ANDREA G, et al. One step forwards for the routine use of high-throughput DNA sequencing in environmental monitoring. An efficient and standardizable method to maximize the detection of environmental bacteria [J]. *Microbiology Open*, 2017, 6(1): e00421.
- [15] 杜瑞, 王柏辉, 罗玉龙, 等. 应用 Illumina MiSeq 测序技术比较传统发酵乳、肉食品中细菌多样性[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(2): 269-277.
- DU R, WANG B H, LUO Y L, et al. Comparison of bacterial diversity in traditional fermented dairy and meat products by Illumina MiSeq Sequencing [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(2): 269-277.
- [16] CAI W, TANG F, WANG Y, et al. Bacterial diversity and flavor profile of Zha-Chili, a traditional fermented food in China[J]. *Food Research International*, 2021, 141(3): 110112.
- [17] 朱琳, 高凤, 曾椿淋, 等. 萝卜泡菜细菌多样性的高通量测序分析[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(2): 225-231.
- ZHU L, GAO F, ZENG C L, et al. The analysis of microbial diversity in the fermentation broth of pickled radish based on the high-throughput DNA sequencing[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34(2): 225-231.
- [18] 陈倩, 李永杰, 扈莹莹, 等. 传统发酵食品中微生物多样性与风味形成之间关系及机制的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(9): 412-419.
- CHEN Q, LI Y J, HU Y Y, et al. Research progress on relationship and mechanism between microbial diversity and flavor development in traditional fermented foods[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(9): 412-419.
- [19] 成晓苑. 乳酸菌在发酵食品中的应用研究[J]. *粮食科技与经济*, 2020, 45(11): 126-127.
- CHENG X Y. Study on the application of lactic acid bacteria in fermented food[J]. *Grain Science and Technology and Economy*, 2020, 45(11): 126-127.
- [20] 田媛, 吕重阳, 张玲玲, 等. 发酵肉制品中葡萄球菌的分离、鉴定及其对肉蛋白的降解能力[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(7): 300-306.
- TIAN Y, LU C Y, ZHANG L L, et al. Isolation and identification of *Staphylococcus* in fermented meat products and their degradation ability to meat protein[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(7): 300-306.
- [21] IACUMIN L, VENDRAME M, COMI G. Microbial spoilage of traditional dry sausages produced in small-scale facilities in Friuli, a north-eastern region of Italy [J]. *Akadémiai Kiadó*, 2013, 42(3): 390-399.
- [22] FENG Z, HUANG S, AI Z W, et al. Evaluation of autochthonous microcococcus strains as starter cultures for the production of Kedong sufu[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2016, 120(3): 671-683.
- [23] 万红芳. 自然发酵腐乳微生物群落分析及发酵菌株的筛选应用[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
- WAN H F. Microbial community analyses of naturally fermented sufu and the application and screening of fermentation strains [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [24] 金河坡. 分离于酱油渣蜡样芽胞杆菌的耐盐机制研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2016.
- SOTEYOME T. Isolation and salt tolerance mechanism of *Bacillus cereus* from soy bean sauce residue [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016.
- [25] 王蓓, 李淑英, 张翠萍, 等. PCR-DGGE 分析玉溪地区水果泡菜中细菌多样性[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2017, 32(4): 740-746.
- WANG B, LI S Y, ZHANG C P, et al. PCR-DGGE analysis for bacterial diversity of fruit pickles in Yuxi region[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2017, 32(4): 740-746.

Analysis of Bacterial Diversity and Pathogenic Bacteria Composition in Pickles from Anning City, Yunnan Province

Yang Zhenguang, Liu Bingzhen, Cao Jianxin, Li Lirong*

(*Kunming University of Science and Technology, Faculty of Food Science and Engineering, Kunming 650500*)

Abstract In order to explore the bacterial community structure and pathogenic bacteria composition in different pickles in AnNin County, Yunnan Province. High-throughput sequencing technology and traditional separation and culture methods were used to analyze the bacterial community structure and pathogenic bacteria composition of nine pickles samples. The experimental results showed that the bacterial community structure in the nine pickles samples was similar, but the relative abundance was quite different. Among them, *Lactobacillus*, *Bacillus* and *Staphylococcus* are the main genera of dominant bacteria, which play an important role in the formation of pickles flavor substances. In addition, 16S rDNA sequencing results of the isolated and cultured food-borne pathogens in pickles showed that some of the pathogens were detected in the nine pickles samples, mainly *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, and *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella*. In conclusion, pickles in the market are prone to pathogenic bacteria, which may pose a certain safety risk.

Keywords pickles; bacterial diversity; 16S rDNA; food-borne pathogenic bacteria; food safety risks