

波兰青霉 CK2023-1 食品安全性的系统评价

杜华茂^{1#*}, 代梦娇^{1#}, 郭雨馨¹, 高雅晴^{1,2}, 李星², 秦福生²

1 西南大学 蚕桑纺织与生物质科学学院, 重庆

2 重庆畜牧科学研究院, 重庆

杜华茂, 代梦娇, 郭雨馨, 高雅晴, 李星, 秦福生. 波兰青霉 CK2023-1 食品安全性的系统评价[J]. 微生物学报, 2026, 66(2): 881-898.

DU Huamao, DAI Mengjiao, GUO Yuxin, GAO Yaqing, LI Xing, QIN Fusheng. Systematic assessment of *Penicillium polonicum* CK2023-1 for food safety[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(2): 881-898.

摘要: 【目的】评估城口老腊肉风味形成关键菌株波兰青霉(*Penicillium polonicum*) CK2023-1 的食用安全性, 为开发腊肉的微生物发酵剂提供科学依据。【方法】采用三代联合二代测序技术测定 *P. polonicum* CK2023-1 的基因组 DNA 序列, 并利用 GO、KEGG 和 antiSMASH 等数据库进行注释。在腌肉表面涂抹 CK2023-1 孢子液(1×10^9 spores/kg), 于城口当地熏制 26 d, 采用 LC-MS/MS 分析非挥发性代谢物。用小鼠开展急性经口毒性(7 d)、亚急性经口毒性(28 d)试验以评价菌株的致病性。【结果】CK2023-1 基因组大小为 33.27 Mb, N_{50} 为 5 236 196 bp, G+C 含量为 52.91%, 预测到 10 901 个编码基因, 占基因组全长的 49.02%。基因组中预测到 83 种次级代谢产物合成基因簇(biosynthesis gene clusters, BGCs), 含已知的真菌毒素 verrucosidin 合成基因簇。与产毒株 *P. polonicum* X6 相比, CK2023-1 株的此 BGC 发生倒置。实地发酵腊肉中未检测到真菌毒素, 急性、亚急性致病性试验也未导致小鼠发病、死亡。【结论】多组学分析与致病性试验结果表明, *P. polonicum* CK2023-1 基因组结构清晰, 不产生真菌毒素, 无致病性, 满足食品级微生物菌种的安全要求。

关键词: 波兰青霉; 全基因组; 真菌毒素; 食品安全; 传统发酵肉制品

资助项目: 重庆市财政资金项目(22540C)

This work was supported by the Chongqing Municipal Government-financed Project (22540C).

[#]These authors contributed equally to this work.

*Corresponding author. E-mail: duhmao@swu.edu.cn

Received: 2025-09-08; Accepted: 2025-11-06; Published online: 2025-12-08

Systematic assessment of *Penicillium polonicum* CK2023-1 for food safety

DU Huamao^{1#*}, DAI Mengjiao^{1#}, GUO Yuxin¹, GAO Yaqing^{1,2}, LI Xing², QIN Fusheng²

1 College of Sericulture, Textile and Biomass Sciences, Southwest University, Chongqing, China

2 Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing, China

Abstract: [Objective] To evaluate the edible safety of *Penicillium polonicum* CK2023-1, a key strain responsible for flavor formation of traditional bacon in Chengkou, thus providing a scientific basis for developing microbial starter for bacon fermentation. [Methods] The genomic DNA sequence of *P. polonicum* CK2023-1 was determined via third-generation sequencing combined with second-generation sequencing and annotated via GO, KEGG, and antiSMASH databases. The spore suspension (1×10^9 spores/kg) of CK2023-1 was applied to cured meat surfaces, followed by 26 d local smoking in Chengkou. Non-volatile metabolites were analyzed via LC-MS/MS. Acute oral toxicity (7 d) and subacute oral toxicity (28 d) tests in mice were conducted to assess pathogenicity. [Results] The genome of CK2023-1 was 33.27 Mb, with the N_{50} of 5 236 196 bp and the G+C content of 52.91%, containing 10 901 predicted coding genes (49.02% of the genome). Eighty-three biosynthetic gene clusters (BGCs) for secondary metabolites were identified, including known mycotoxin (verrucosidin) BGC. Compared with that in the toxigenic strain *P. polonicum* X6, the BGC in CK2023-1 exhibited an inversion. No mycotoxins were detected in fermented bacon, and neither acute nor subacute toxicity tests caused morbidity or mortality in mice. [Conclusion] *P. polonicum* CK2023-1 has a well-defined genomic structure, produces no mycotoxins, and is non-pathogenic, meeting the safety criteria for food-grade microbial strains.

Keywords: *Penicillium polonicum*; whole genome; mycotoxin; food safety; traditional fermented meat product

青霉属(*Penicillium*)真菌是一类广泛分布于土壤、空气及腐烂有机质中的丝状子囊菌,部分菌株作为植物内生真菌存在,目前已鉴定约350个种^[1]。青霉属真菌对医药发展作出了重大贡献。除此以外,某些种在食品工业中也具有重要价值,如用萨拉米青霉(*P. salami*)、纳地青霉(*P. nalgiovense*)生产干腌肉和火腿^[2-3];用*P. roqueforti*、*P. camemberti*制作奶酪^[4-5],成品因此具有独特的风味和口感。陈杰等^[6]报道,添加*P. nalgiovense*能够提升金华火腿的品质。前期研究发现,*P. polonicum*是重庆城口老腊肉风味形成的关键微生物^[7]。

青霉的工业应用价值源于其丰富的次级代谢产物(如青霉素),但某些次级代谢产物(真菌毒素)具有致病作用。青霉在粮食、水果、发酵食品等基质上生长后,毒素可通过食物链进入人和动物体内,造成急、慢性中毒,甚至致癌。代表性病原性真菌多疣青霉(*P. verucosum*)、*P. nordirum*等能产生赭曲霉毒素A(具有肾毒性、肝毒性等),扩展青霉(*P. expansum*)、灰黄青霉(*P. griseofulvum*)、*P. carneum*等能产生棒曲霉毒素(具有致癌性、致畸性等)^[8-10],这2种毒素因强致病性在食品与饲料工业中受到严格监管。*P. polonicum*、金灰青霉(*P. aurantiogriseum*)和

P. melanoconidium 能产生 verrucosidin^[10], 其对小鼠的 LD₅₀ 为 4 mg/kg 体重^[11]。据 Núñez 等^[12]统计, 约 91% 的 *P. polonicum* 能产生 verrucosidin。Núñez 等^[12-13]报道, 西班牙火腿的优势真菌 *P. polonicum* 在高水分活度(*aw* 0.99)的肉汁培养基中能高效产生 verrucosidin。Valente 等^[14]用 CRISPR-Cas9 法敲除基因簇中的 *verA* 基因后消除了 *P. polonicum* 产生该毒素的能力。高雅晴等^[7]报道, *P. polonicum* 是城口老腊肉的优势菌之一, 其代表株 CK2023-1 能显著提升城口老腊肉风味物质的丰度, 但目前尚不清楚该菌株是否能产生 verrucosidin。

根据《食品安全国家标准 食品用菌种安全性评价程序》(GB 31615.2—2025)^[15]规定, 需要对食品用菌种的全基因组测序、动物致病性、耐药性、产毒能力等方面进行系统分析, 以保证食品安全。本研究通过对城口老腊肉关键功能菌株 CK2023-1 进行基因组和代谢组分析以及毒理学试验等多维度研究, 为传统发酵肉制品菌种资源开发提供了理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 菌株和试验动物

波兰青霉菌(*P. polonicum*) CK2023-1 由本课题组郭雨馨^[16]从陈年优质城口老腊肉表面分离得到, 经鉴定为与风味相关的关键微生物^[7]。该菌株的全基因组数据存储于国家微生物科学数据中心(NMDC)数据库, 编号为 NMDC60212713。

SPF 级 KM 小鼠, 4 周龄, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司, 许可证号为[SCXK(湘)2019-0004], 在西南大学药学院实验动物中心饲养。本研究所有动物实验均获得西南大学实验动物伦理委员会批准, 编号为 IACUC-20230614-04 和 IACUC-20230614-03。

1.2 主要试剂和仪器

罗丹明, 南京都莱生物技术有限公司; 羧甲基纤维素钠、果胶和淀粉, 山东西亚化学股

份有限公司。

离子镀膜仪, 深圳市速普仪器有限公司; 扫描电镜, 复纳科学仪器(上海)有限公司。

1.3 培养基

马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基按常规方法自制, 耐盐性检测培养基为含 1%–11% NaCl 的 PDA 培养基。胞外脂肪酶活性鉴定参考蒋翠翠等^[17]方法, 去除培养基中的碳源。纤维素酶、果胶酶及淀粉酶活性检测用培养基系在基础培养基(Na₂HPO₄ 1.5 g/L, KH₂PO₄ 0.5 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.5 g/L, FeSO₄·7H₂O 0.01 g/L, NaCl 1.5 g/L)中分别加入 2 g/L 羧甲基纤维素钠、果胶和可溶性淀粉作为唯一碳源。

1.4 菌株 CK2023-1 产胞外酶的鉴定

收集 PDA 培养基上的孢子, 制成悬液(1×10⁸ spores/mL)。取 10 μL 孢子悬液分别点于相应的培养基中, 于 28 °C 培养 7 d, 观察水解圈、荧光圈的大小。

1.5 菌株 CK2023-1 形态学观察

参考崔芳等^[18]的方法制备 CK2023-1 的菌丝样品, 于-20 °C 固化, 经冷冻干燥后, 将样品粘贴于样品台上, 喷金后用扫描电镜进行观察。

1.6 基因组 DNA 测序、组装与注释

CK2023-1 的全基因组测序委托北京诺禾致源科技股份有限公司完成。利用 PacBio RSII 平台获取长读长序列, 并辅以 Illumina NovaSeq PE150 平台的短读长数据以保证准确性。使用 Falcon 软件和 Racon (v1.4.13)分别进行组装和多轮纠错。将预测的编码基因与非冗余蛋白数据库(non redundant protein database)、Swiss-Prot (<http://www.ebi.ac.uk/uniprot/>)、Pfam、GO (gene ontology, <http://geneontology.org/>)和 KEGG 数据库(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, <http://www.genome.jp/kegg/>)进行序列比对, 选取一致性(identity)和覆盖度(coverage)均不低于 40% 的最高得分结果作为最终注释。次级代谢产物合成基因簇使用 antiSMASH (v8.0)在

relaxed 模式下进行预测。使用 Circos v0.66 软件绘制基因组圈图。

1.7 比较基因组学分析

从 NCBI 数据库下载分离自不同生境(包括腊肉、植物根部、土壤、腐烂洋葱等)的波兰青霉全基因组序列, 利用 Mauve v2.3.1 软件进行全基因组比对。用 Pyani 软件计算菌株间的平均核苷酸一致性(average nucleotide identity, ANI), 并评估种内遗传关系。

1.8 CK2023-1 的产毒能力测定

参考高雅晴等^[7]的方法, 给腌肉接种 CK2023-1 进行实地发酵, 每组 6 刀肉(1 kg/刀肉)。用 LC-MS/MS 检测腊肉中的非挥发性代谢物, 主要步骤如下: 称取 50.00 mg 腊肉, 加入 400 μ L 90% 甲醇溶液(含 0.02 mg/mL L-2-氯苯丙氨酸), 置于冷冻组织研磨仪中研磨(-10 $^{\circ}$ C, 50 Hz, 6 min), 随后进行低温超声提取(5 $^{\circ}$ C, 40 kHz, 30 min); 提取液在-20 $^{\circ}$ C 静置 30 min, 解冻后于 4 $^{\circ}$ C、13 000 r/min 离心 15 min, 上清液即为待检样品。LC-MS/MS 分析参数如下: 柱温 45 $^{\circ}$ C, 流动相 A 为水:乙腈(95:5), 流动相 B 为乙腈:异丙醇:水(47.5:47.5:5), 两者均含 0.1% 甲酸。分别在正、负离子模式下采集数据。为监控仪器稳定性, 取各样本上清液 20 μ L 混合制备质控(QC)样本。

1.9 动物致病性试验

波兰青霉 CK2023-1 的动物致病性参照食品安全国家标准《食品安全性毒理学评价程序》(GB15193.1—2014)和《急性经口毒性实验》(GB15193.3—2014)等^[19-22]进行。

1.9.1 急性经口毒性试验

将小鼠随机分为 2 组(每组雌雄各 5 只, 雌雄鼠分笼饲养), 实验组一次性经口灌胃 10.0 g/kg 菌丝体悬液(约 400 μ L), 对照组给予等量生理盐水。连续观察 7 d, 记录小鼠的临床表现、体重及采食量。实验结束后解剖, 计算主要脏器指数并观察大体病变。

1.9.2 亚急性经口毒性试验

将小鼠随机分为 4 组(每组雌雄各 5 只, 雌雄鼠分笼饲养), 低、中、高剂量组分别按 2 500、5 000、10 000 mg/kg 灌胃菌丝体悬液(约 400 μ L), 以灌胃等体积生理盐水作为对照组, 每日灌胃, 持续 28 d。实验期间监测体重与采食量, 结束时检测小鼠的血常规、血生化指标, 并对高剂量组小鼠的心、肝、脾、肺和肾等脏器进行组织病理学检查。

1.10 数据处理与分析

实验数据以平均值 \pm 标准差表示, 使用 SPSS 21.0 软件对数据进行显著性统计, 若 $P < 0.05$ 则认为存在显著性差异。组间比较采用单因素方差分析(ANOVA): 先用 Leven's 检验方差齐性, 若方差齐, 对数据进行两两比较采用 LSD 检验; 若方差不齐, 则改用 Dunnett's T3 检验。使用 Adobe Illustrator 2021 整理图片。

2 结果与分析

2.1 *P. polonicum* CK2023-1 的生物学特征

在脱脂牛奶平板上培养 3 d 后, 菌落周围形成明显的蛋白水解透明圈, 表明其能高效分泌蛋白酶类。脂肪酶活性检测显示, 在三丁酸甘油酯平板上培养 12 d 后才产生清晰的水解圈; 在紫外照射下, 于橄榄油/罗丹明 B 平板上呈现典型的橙色荧光(图 1A), 表明其分泌了脂肪酶, 且脂肪酶的产生时间显著晚于蛋白酶。在以果胶、羧甲基纤维素和可溶性淀粉为唯一碳源的培养基上均可见明显的水解圈(图 1A), 提示 CK2023-1 能分泌多种水解酶、具有广谱的碳源利用特性。

CK2023-1 在含 1%–11% NaCl 的 PDA 培养基上均能生长, 表现出较强的耐盐性, 但当盐浓度超过 7% 时菌丝生长速率显著降低, 菌落直径明显缩小, 菌落颜色由典型的青灰色变为浅灰白色(图 1B), 提示盐胁迫可能影响孢子壁色

素的生物合成, 其生理代谢在 7% NaCl 浓度附近存在关键调控转折点。

将 PDA 培养基上新生长的菌体经固定、脱水、喷金处理后, 在扫描电子显微镜下可见菌丝重重叠叠、纵横交错(图 1C), 分生孢子梗有双轮生(图 1D)和三轮生(图 1E) 2 种类型。

2.2 基因组的结构与功能

2.2.1 菌株 CK2023-1 的基因组序列组装及基本信息

全基因组测序共获得 601 675 条 reads, 平均

序列读长为 13 345 bp, 总碱基数为 8 028 793 107, 经从头组装得到 15 个 contigs, 最长的 contig 为 7 849 284 bp, N_{50} 为 5 236 196 bp, 结果显示 *P. polonicum* CK2023-1 基因组大小为 33 273 879 bp (33.27 Mb), G+C 含量为 52.91% (图 2)。预测到 10 901 个蛋白质编码基因, 309 个非编码 RNA, 其中 197 个转运 RNA, 57 个核糖体 RNA, 其他 RNA 共 55 个。基因组含 1 526 个转录因子, 11 406 个串联重复序列, 2 144 个散在重复序列。

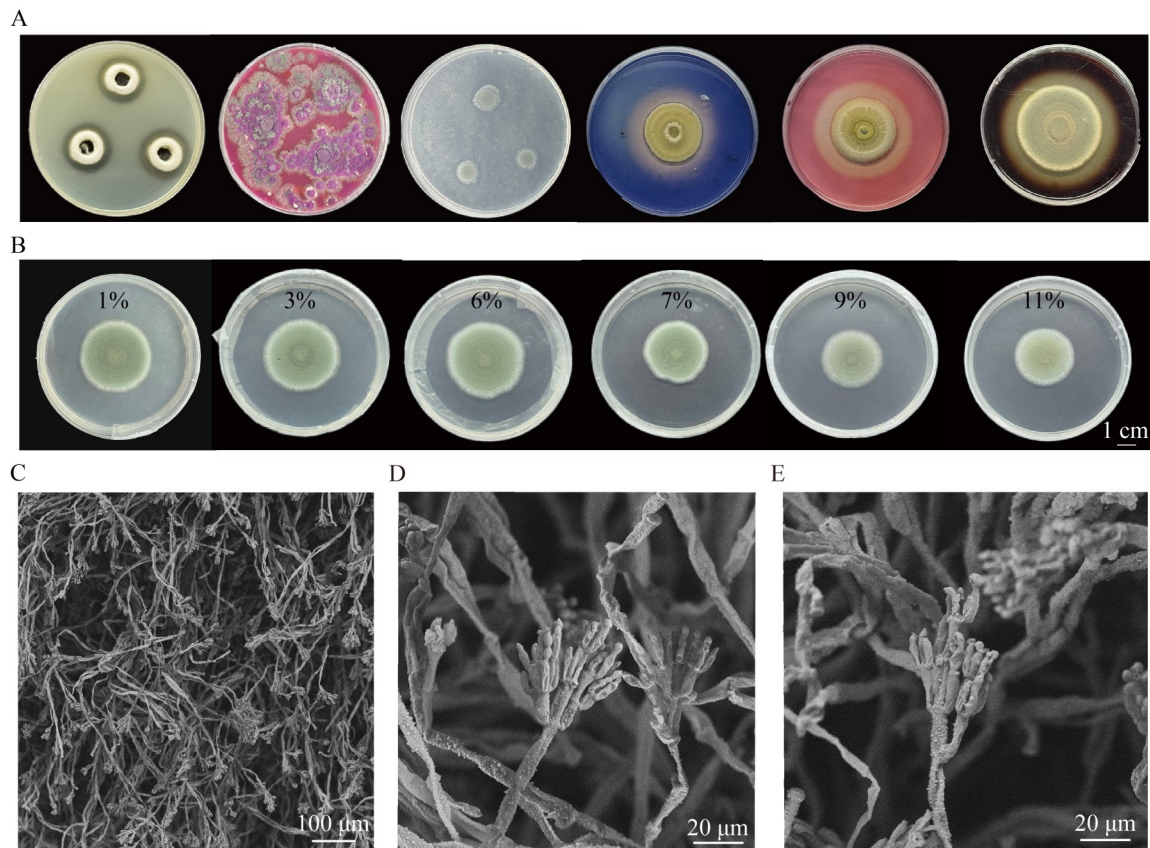


图1 波兰青霉 CK2023-1 菌株的生物学特性表征。A: CK2023-1 菌株胞外水解酶活性检测(从左至右依次为脱脂奶粉、橄榄油/罗丹明B、三丁酸甘油酯、果胶、纤维素和淀粉平板); B: CK2023-1 菌株的耐盐性鉴定(从左至右的盐浓度为1%–11%); C–E: 扫描电镜检测CK2023-1的超微结构。

Figure 1 Biological characterization of *Penicillium polonicum* CK2023-1. A: Detection of extracellular hydrolase activity [The plates contain (from left to right): skimmed milk, olive oil/Rhodamine B, tributyrin esterase, pectin, cellulose, and starch]; B: Detection of salt tolerance [The concentration of NaCl were 1%, 3% through to 11% (from left to right)]; C–E: Morphology of CK2023-1 under scan electron microscopy (SEM).

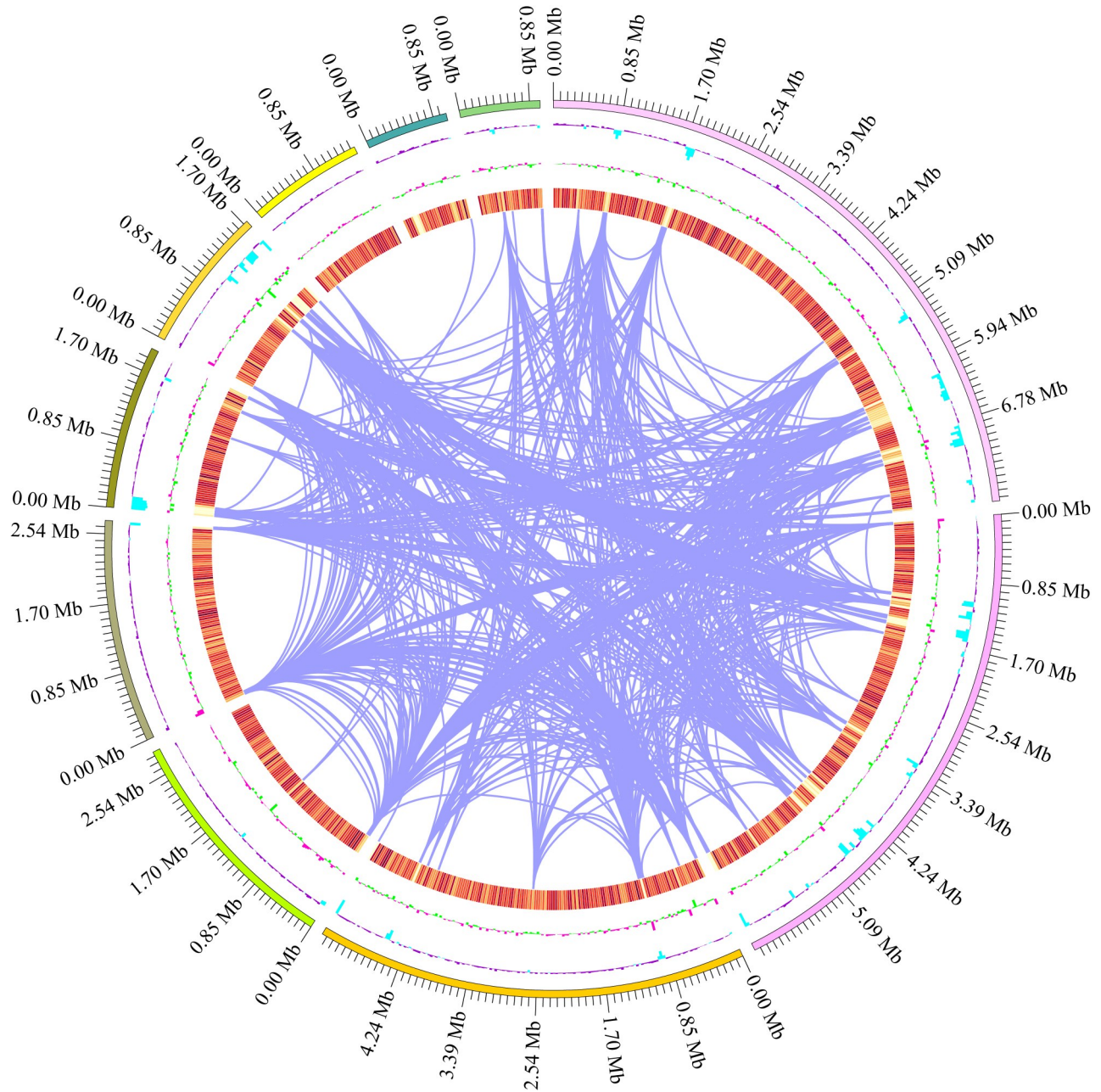


图2 波兰青霉CK2023-1株的全基因组注释圈图

Figure 2 Genomic circle map of *Penicillium polonicum* CK2023-1. From outside to inside are G+C content, G+C skew, gene density (coding genes, rRNA, snRNA, tRNA), and gene duplication. Genomic G+C content: Calculated in 1-kb-equivalent, non-overlapping sliding windows (window size=chromosome length/1 000; step size>window size). Regions colored sky-blue (inward) have G+C content below the genome-wide average, whereas deep-purple (outward) regions are above average; Higher peaks indicate larger deviations. G+C skew: calculated as $(G - C)/(G + C)$. Light-green (inward) indicates $G < C$, while pink (outward) indicates $G > C$. Gene density: proportion of genes within each window. Gene duplication: each arc connects two different regions in the genome, indicating that these regions have homologous sequences.

2.2.2 CK2023-1 蛋白质编码基因的功能注释

在 KEGG、GO 和 Swiss-Prot 数据库中分别注释到 9 837、6 918 和 3 934 个功能基因。经 GO 注释的 6 918 个基因分别归类于 23 个生物学过程(biological process)、17 个分子功能(cellular component)和 11 个细胞组分(molecular function) (图 3A)。在生物学过程中, 参与代谢相关的基因数量最多, 有 3 065 个; 在分子功能中, 与结合和催化活性相关的基因占主导地位。经 KEGG 数据库分析, CK2023-1 的 9 837 个基因分属于 6 大功能、46 条通路(图 3B)。代谢途径上有 1 861 个基因, 占比 18.9%, 其中涉及氨基酸代谢和脂肪代谢的基因分别有 353 个和 192 个, 有 403 个基因涉及碳水化合物代谢。

2.3 比较基因组分析

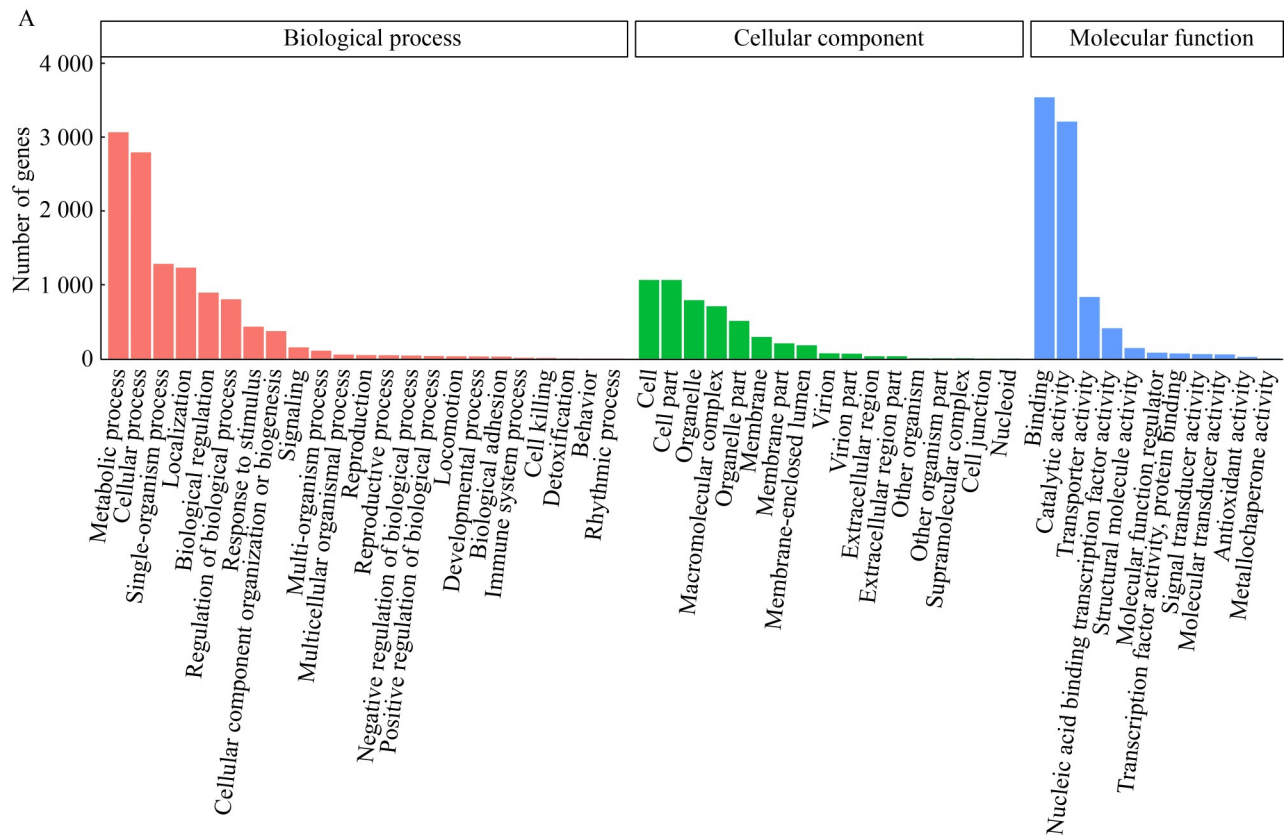
为探究菌株 CK2023-1 的系统发育地位, 首先比较了 CK2023-1 株与 *P. polonicum* KACC_

93368、*P. polonicum* IBT 4502、*P. polonicum* F7、*P. polonicum* CGMCC 3.15272、*P. polonicum* hy4 和 *P. polonicum* NRRL 995 的 ANI 值, 结果均大于 95.0%。与分离自洋葱、大豆酱和甘草根的 F7、KACC_93368 和 CGMCC 3.15272 菌株的 ANI 值>99.0%, 而与作为植物内生真菌的 hy4 的 ANI 值最低, 为 96.8% (图 4A)。共线性分析显示, 7 株 *P. polonicum* 的基因组整体保持一致, 但菌株间 DNA 序列的组织结构出现了局部波动, 表现为易位、移位和倒置现象(图 4B), 推测这是不同菌株在各自特定生境下发生的适应性进化所致。

2.4 产生真菌毒素的能力分析

2.4.1 毒素合成基因簇的比较

用 antiSMASH 分析发现, CK2023-1 的基因组中有 83 个次级代谢物的 BGCs, 其中 verrucosidin 是已知的真菌毒素。其生物合成基因簇(*ver*ABCFGHU)最初在 *P. polonicum* X6 株中



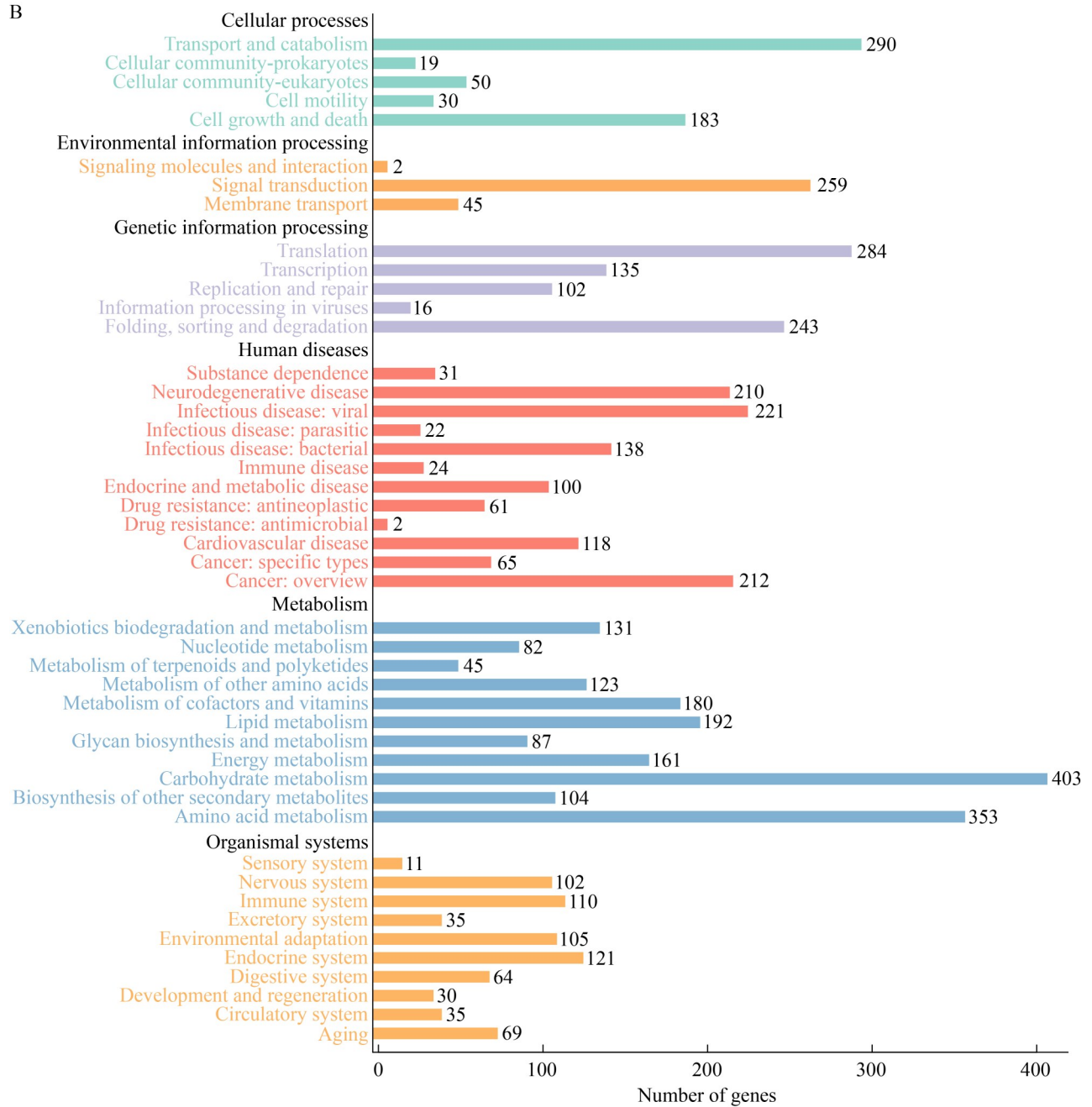
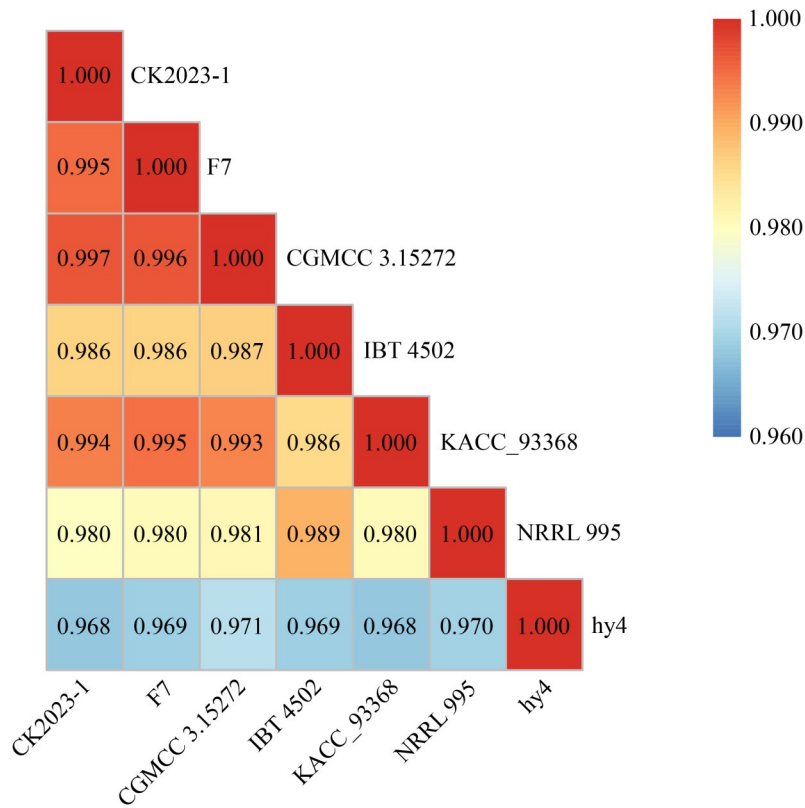


图3 波兰青霉CK2023-1的GO功能注释和KEGG注释分类图。利用Diamond将预测蛋白质序列与GO和KEGG数据库分别进行比对。A：将GO条目分为生物过程、细胞组分和分子功能，统计各level-2词条对应的基因数；B：根据KO编号映射至对应代谢通路，以通路名称为纵轴、基因数量为横轴。

Figure 3 Functional classification of *Penicillium polonicum* CK2023-1 based on GO and KEGG annotations. Predicted protein sequences were aligned against the gene ontology and KEGG databases with Diamond. A: GO terms were assigned to three main categories: biological process, cellular component, and molecular function, and the number of genes corresponding to level-2 term was tallied; B: Genes were mapped to different metabolic pathways with KO number, the number of genes involved in a common pathway was labeled behind the column.

A



B

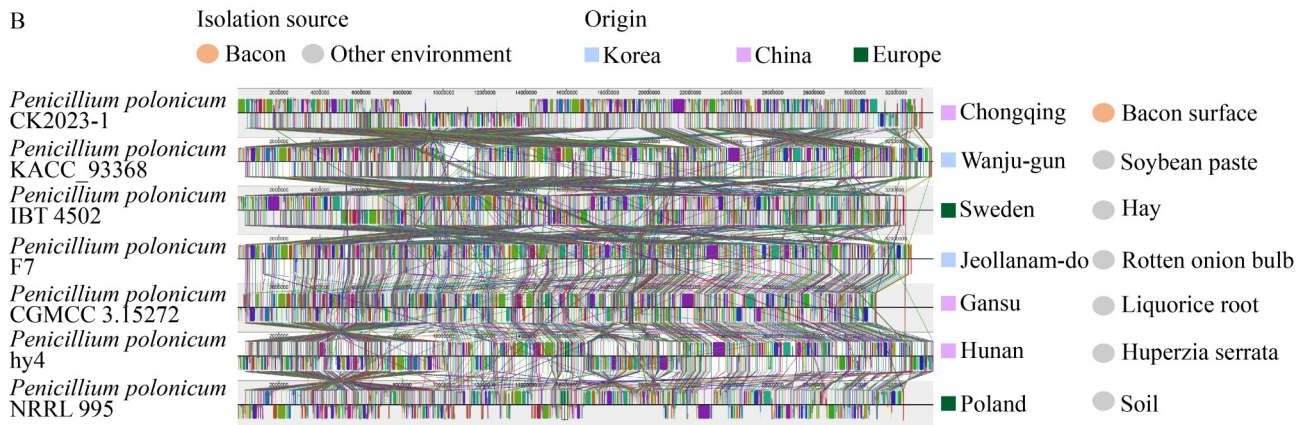


图4 七株波兰青霉基因组的平均核苷酸一致性(A)与共线性分析(B)

Figure 4 Comparison of whole genomic sequence of *Penicillium polonicum*. A: The average nucleotide identity (ANI) values of each pair of strains were calculated with Pyani (v0.2.11); B: Genomic collinearity analysis were carried out with Mauve v2.3.1 (The information of seven *P. polonicum* strains listed on the right side of the graph).

被鉴定, 分别为高还原性聚酮合酶基因(*verA*)、甲基转移酶基因(*verB*)、FAD 依赖的单加氧酶基因(*verC1* 和 *verC2*)、酰基转移酶基因(*verG*)、细

胞色素 P450 基因(*verH*)和转录因子(*verF*)^[14]。通过比较基因组分析发现: *hy4* 完全缺失 *verrucosidin* 基因簇, 部分菌株的 *ver* 基因簇发生了倒置, 具

体而言, X6、IBT4502 和 CGMCC 3.15272 的 *ver* 基因簇保持一致, 而 CK2023-1、F7、KACC_93368 和 NRRL 995 发生了整体性倒置(图 5)。

2.4.2 质谱检测发酵产品中的毒素分子

为进一步确定 CK2023-1 株不产生 *verrucosidin* 及其他真菌毒素, 对接种 CK2023-1 实地发酵腊肉制品的非挥发性代谢物进行组分分析。样品的总离子色谱图峰形良好, 在正离子模式下呈现 4 897 个有效峰, 在负离子模式下呈现 3 887 个有效峰(图 6A、6B)。使用 HMDB 数据库注释, 共匹配到 775 种代谢物, 分为

15 个类别, 其中有 339 种脂质分子及类脂分子、134 种有机酸及其衍生物、77 种有机杂环化合物和 65 种有机氧化物, 此外还有苯类化合物、有机氮化物、核苷、核苷酸及类似物(图 7)。在注释结果中未见赭曲霉毒素 A、棒曲霉素、橘青霉素和 *verrucosidin* 等高致病性真菌毒素, 以及《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》(GB 2761—2017)^[23] 中要求限量的黄曲霉毒素 B1、黄曲霉毒素 M1、脱氧雪腐镰孢菌烯醇、展青霉素、玉米赤霉烯酮等毒素。

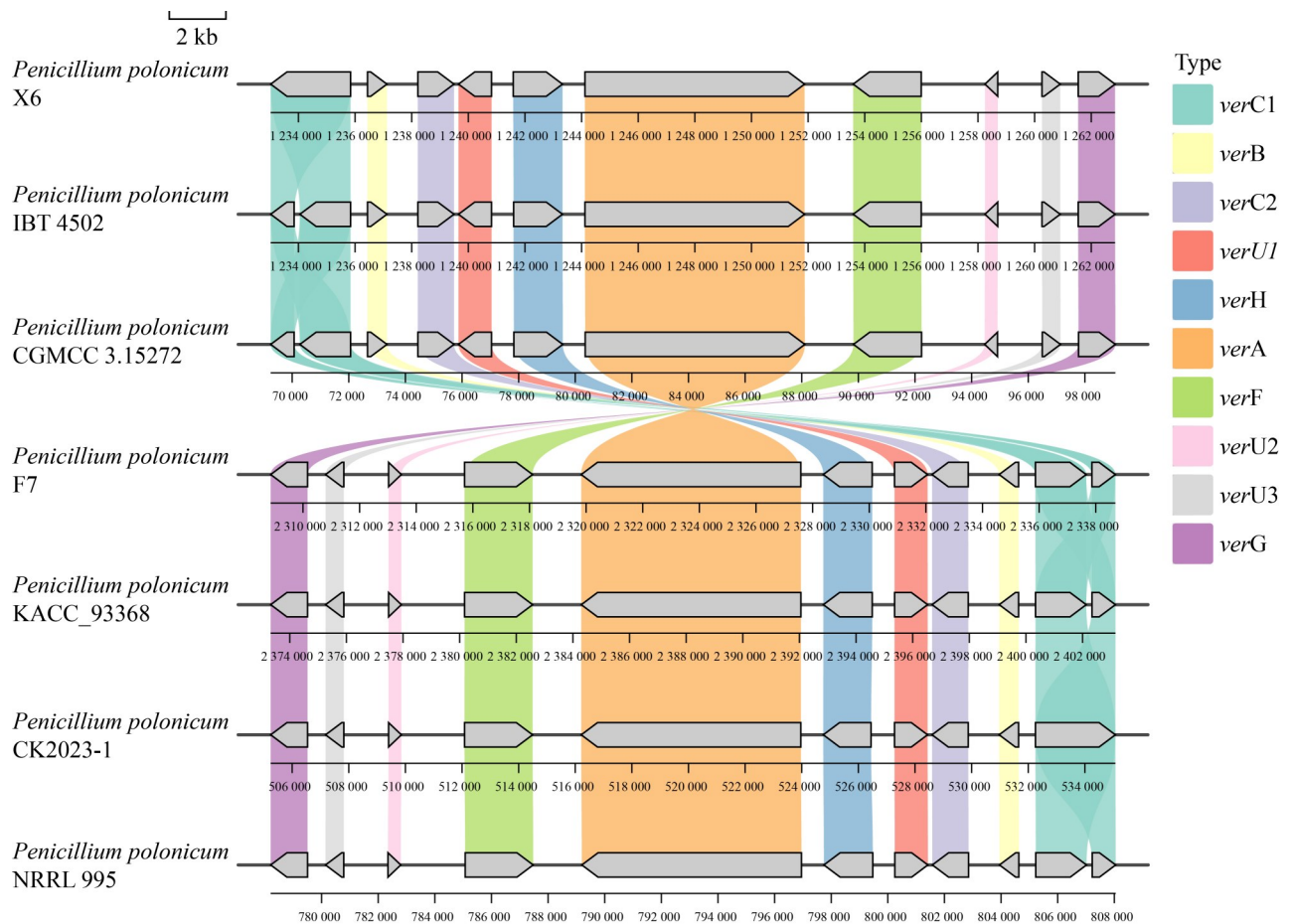


图5 比较波兰青霉 *verrucosidin* 合成基因簇的结构

Figure 5 The comparison of biosynthetic gene cluster of *verrucosidin* in *Penicillium polonicum*. The prototype of *ver* BGC was determined in *P. polonicum* X6 strain, which is composed of *ver*ABCFGHU, *ver*F codes a putative transcription factor, and the function of *ver*U is unknown^[14]. Syntenic analysis was conducted using the ChiPlot (<https://www.chiplot.online>).

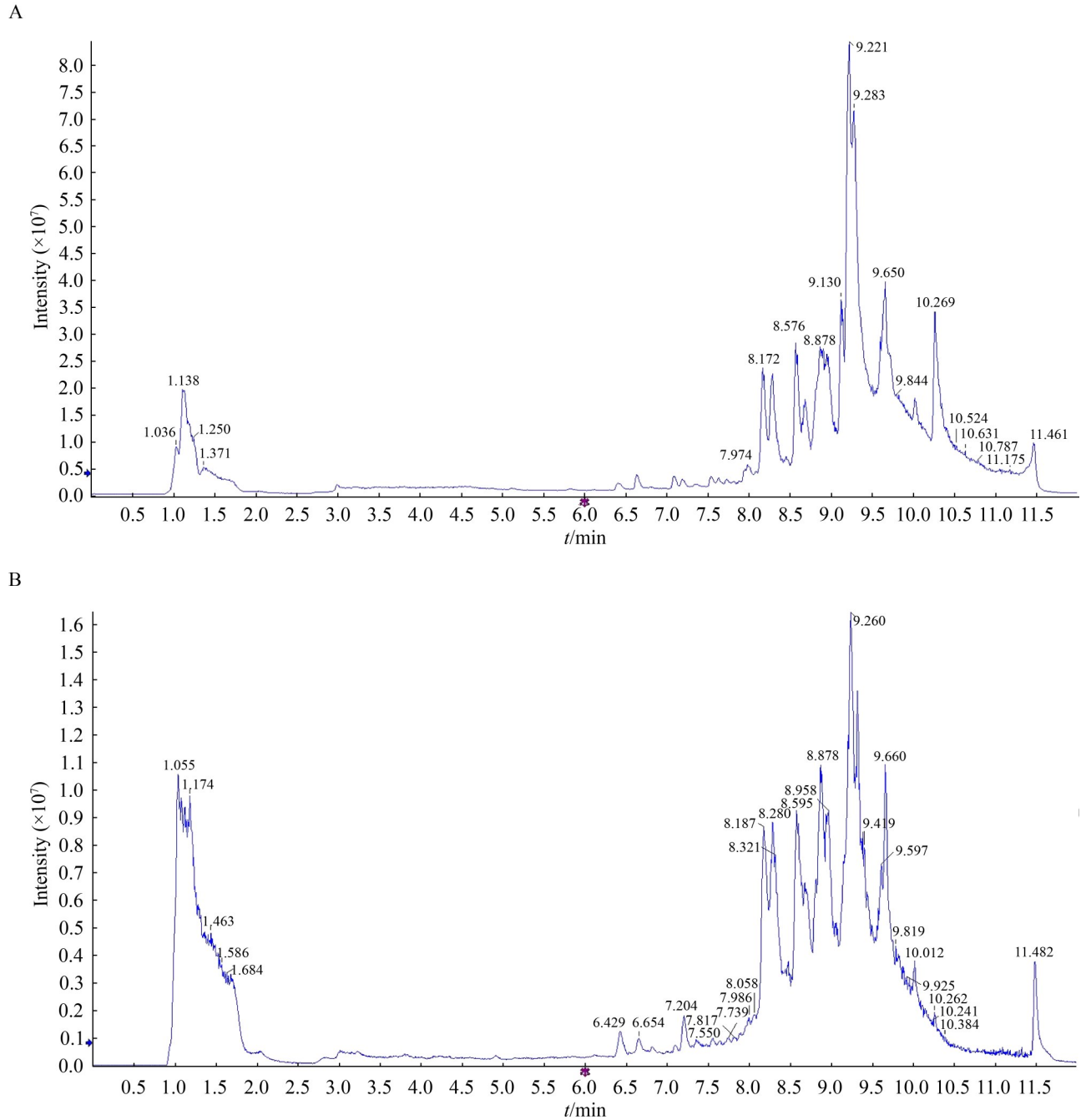


图6 质控样本的正(A)、负(B)离子模式总离子流图

Figure 6 Total ion current chromatograms of quality control samples in positive (A) and negative (B) ion modes with electrospray ionization. Six pieces of bacon were processed with the additive of *P. polonicum* CK2023-1^[7]. The quality control sample contained non-volatile metabolites from six pieces of bacon. LC-MS was performed with an ACQUITY UPLC HSS T3 chromatographic column (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm). The mobile phase A was composed of water:acetonitrile=95:5, and the other was acetonitrile:isopropanol:water=47.5:47.5:5, both containing 0.1% acetic acid.

2.5 动物致病性

2.5.1 CK2023-1 无急性毒性

经灌胃后，实验组小鼠采食、活动正常，精神状态良好，无兴奋、迟缓、竖毛等异常情况。雌鼠的体温在 35.8–36.2 °C，雄鼠为 35.8–36.3 °C，小鼠生长正常，雌鼠与雄鼠的料重比与对照组间无显著差异；除雌鼠的心脏外，其他器官的脏器指数与对照组均无显著差异(表 1)。

2.5.2 CK2023-1 无亚急性毒性

三个剂量组小鼠在 28 d 内的精神状态和采食均正常，无不良反应，无一例死亡，雌鼠与雄鼠的料重比与对照组间无显著差异(表 2)。

血常规仅有一项异常：雄鼠中剂量组 (5 g/kg) 的血小板压积范围在 0.095%–0.511%，对照组的血小板压积范围在 0.22%–0.67% 之间 ($P=0.046$) (表 3)。血液生化指标出现异常的有：

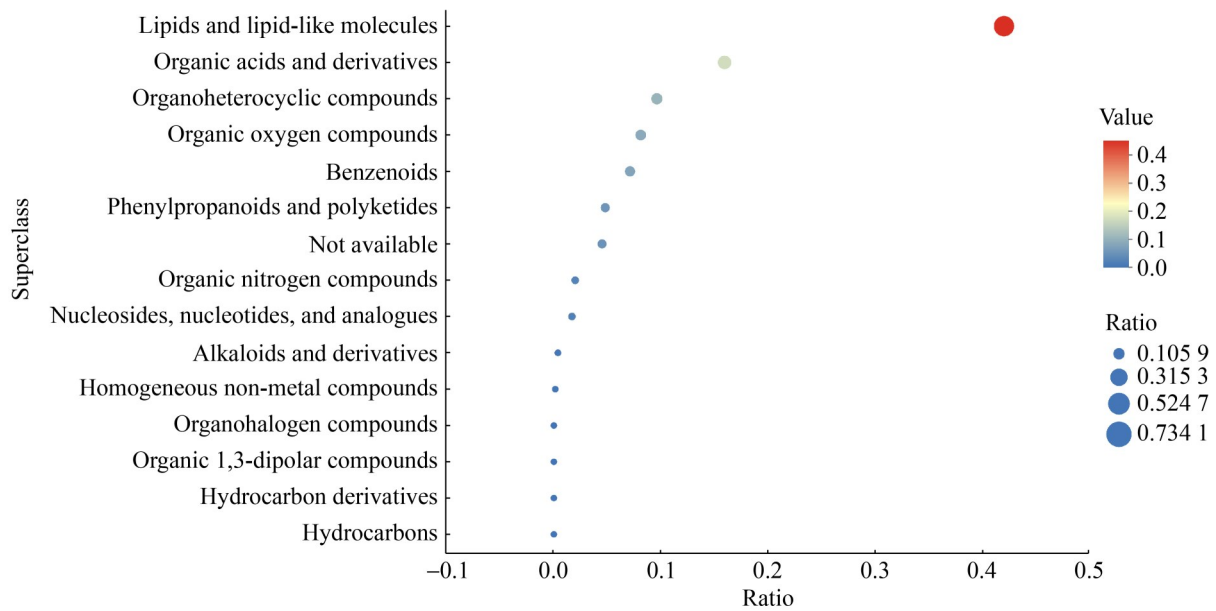


图7 腊肉中非挥发性代谢物的分类统计图

Figure 7 Classification of non-volatile metabolites of bacon. Non-volatile metabolites of the bacon inoculated with CK2023-1 ($n=109$) were aligned in HMDB database. The statistical result at the superclass level was visualized with R 4.0.3 ggplot2.

表1 波兰青霉 CK2023-1 对小鼠采食量和脏器指数的影响($n=5$)

Table 1 The effects of *Penicillium polonicum* CK2023-1 on the food intake and organ index of mice ($n=5$)

Sex	Classification	Feed conversion ratio	Visceral index				
			Heart	Liver	Spleen	Lung	Kidney
Female	Control	9.49	0.60±0.04b	4.89±0.15	0.12±0.01	0.22±0.01	1.16±0.06
	<i>Penicillium polonicum</i>	18.22	0.65±0.07ab	4.80±0.15	0.10±0.01	0.21±0.01	1.20±0.03
Male	Control	27.19	0.59±0.06	5.06±0.24	0.13±0.01	0.29±0.02	1.37±0.07
	<i>Penicillium polonicum</i>	25.62	0.69±0.06	4.80±0.05	0.11±0.00	0.24±0.01	1.58±0.04

同一列内数据后的小写字母表示差异显著, $P<0.05$; 相同或无字母表示差异不显著, $P>0.05$ 。

Different lowercase letters of data in the same column indicate significant difference, $P<0.05$; Data with the same character or without character indicate no significant difference, $P>0.05$.

表2 波兰青霉CK2023-1对小鼠采食量和脏器指数的影响($n=5$)Table 2 The impacts of *Penicillium polonicum* CK2023-1 on the food intake and organ index of mice ($n=5$)

Sex	Classification	Feed conversion ratio	Visceral index					
			Heart	Liver	Spleen	Lung	Kidney	
Female	Control	4.36	0.57±0.06	4.07±0.33	0.31±0.03	0.59±0.03	1.03±0.03	
	<i>Penicillium polonicum</i>	High	4.98	0.52±0.02	4.01±0.17	0.29±0.02	0.62±0.04	1.04±0.04
		Middle	3.85	0.52±0.04	4.17±0.22	0.32±0.07	0.56±0.01	1.00±0.01
		Low	4.02	0.56±0.04	4.25±0.22	0.37±0.06	0.60±0.04	1.12±0.04
Male	Control	5.59	0.61±0.05	4.12±0.13	0.26±0.02	0.55±0.03	1.37±0.08	
	<i>Penicillium polonicum</i>	High	5.38	0.55±0.07	4.01±0.10	0.25±0.01	0.55±0.02	1.33±0.04
		Middle	5.28	0.52±0.06	3.97±0.21	0.26±0.01	0.55±0.04	1.28±0.08
		Low	5.47	0.54±0.02	4.09±0.18	0.28±0.02	0.58±0.02	1.38±0.05

同一列内数据无字母表示差异不显著, $P>0.05$ 。

Data without character indicate no significant difference, $P>0.05$.

表3 波兰青霉CK2023-1对小鼠血常规的影响($n=5$)Table 3 The change of blood routine index by intake of *Penicillium polonicum* CK2023-1 ($n=5$)

Sex	Index	Control	High	Middle	Low
Female	Mon ¹	3.78±0.28	3.20±0.41	3.14±0.36	3.50±0.19
	RDW ²	13.94±0.35	14.54±0.34	14.30±0.18	14.80±0.34
	RBC ³	10.49±0.41	10.41±0.35	10.60±0.21	10.25±0.34
	Lymph ⁴	77.92±1.58	79.60±2.09	80.94±1.24	80.24±1.14
	MCV ⁵	47.24±0.57	46.98±0.35	46.94±0.91	47.32±0.86
	PCT ⁶	0.51±0.06	0.55±0.04	0.42±0.05	0.36±0.10
	Gran ⁷	18.30±1.34	17.20±1.80	15.92±0.92	16.26±1.03
Male	Mon	4.60±0.33	4.56±0.45	4.48±0.21	4.10±0.44
	RDW	14.18±0.40	14.20±0.09	13.72±0.38	13.72±0.22
	RBC	9.93±0.46	10.12±0.35	9.56±1.01	9.11±0.54
	Lymph	70.66±3.08	72.98±1.67	75.26±1.54	75.20±3.11
	MCV	46.20±0.99	47.00±0.46	46.24±0.85	46.70±0.85
	PCT	0.52±0.09a	0.44±0.12ab	0.22±0.11b	0.28±0.09ab
	Gran	24.74±2.77	22.46±1.25	20.26±1.44	20.70±2.74

¹: 单核细胞百分比, %; ²: 红细胞分布宽度, %; ³: 红细胞数目, $10^{-12}/L$; ⁴: 淋巴细胞百分比, %; ⁵: 平均红细胞体积, fL; ⁶: 血小板压积, fL; ⁷: 中性粒细胞百分比, %。High: 高剂量10 000 mg/kg; Middle: 中剂量组5 000 mg/kg; Low: 低剂量2 500 mg/kg。同一列内数据后的小写字母表示差异显著, $P<0.05$; 相同或无字母表示差异不显著, $P>0.05$ 。

¹: Monocyte percentage, %; ²: Red blood cell distribution width, %; ³: Red blood cell count, $10^{-12}/L$; ⁴: Percentage of lymphocytes, %; ⁵: Mean corpuscular volume, fL; ⁶: Platelet hematocrit, fL; ⁷: Percentage of neutrophils, %。High: High-dose 10 000 mg/kg; Middle: Medium-dose group 5 000 mg/kg; Low: Low-dose 2 500 mg/kg。Different lowercase letters of data in the same column indicate significant difference, $P<0.05$; Data with the same character or without character indicate no significant difference, $P>0.05$ 。

雌鼠高、低剂量组的 ALT 显著低于对照组，低剂量组的 AST 显著低于对照组；低剂量组的 BUN 显著低于高、中剂量组，中剂量组的 GLU 显著高于对照组；雄鼠中、低剂量组的 BUN 显著高于对照组(表 4)，但这些指标的异常变化均未表现出剂量依赖性，不具备生物学意义。

表4 波兰青霉CK2023-1对小鼠血液生化指标的影响(n=5)

Table 4 The change of blood biochemical index by intake of *Penicillium polonicum* CK2023-1 (n=5)

Sex	Index	Control	High	Middle	Low
Female	ALT ¹	58.27±5.31a	44.09±1.42b	51.91±4.60ab	41.79±3.85b
	AST ²	201.17±12.25a	167.29±6.12ab	164.17±17.35ab	153.94±16.41b
	TP ³	66.37±1.56	67.78±0.72	64.36±2.13	64.57±3.33
	ALB ⁴	41.05±0.56	42.43±0.43	40.66±0.87	41.19±1.09
	CR ⁵	27.04±1.02	28.29±1.78	32.84±4.31	27.89±1.84
	TC ⁶	2.95±0.29	2.78±0.22	3.01±0.28	2.90±0.38
	BUN ⁷	19.31±0.57ab	21.14±0.81a	21.40±1.28a	17.64±0.80b
	GLU ⁸	4.20±0.62b	4.58±0.33b	6.24±0.54a	5.17±0.45ab
Male	ALT	57.53±4.84	68.59±11.37	45.97±3.93	53.47±8.53
	AST	176.54±11.19	175.10±45.23	206.61±18.66	195.35±17.74
	TP	66.49±3.60	67.08±1.26	68.47±1.54	62.48±1.91
	ALB	40.03±1.04ab	41.31±0.66a	40.74±0.75ab	38.45±0.90b
	CR	28.14±1.75	27.60±1.82	27.71±1.74	29.91±3.34
	TC	3.70±0.31	3.08±0.17	3.37±0.23	2.97±0.08
	BUN	18.77±0.73b	20.60±0.69ab	21.28±0.81a	22.03±0.95a
	GLU	5.08±0.81	4.44±0.73	4.34±0.37	5.38±0.65

¹: 丙氨酸氨基转移酶, U/L; ²: 天门冬氨酸氨基转移酶, U/L; ³: 总蛋白, g/L; ⁴: 白蛋白, g/L; ⁵: 肌酐, μmol/L; ⁶: 胆固醇, mmol/L; ⁷: 尿素氮, mg/dL; ⁸: 血糖, GLU。同一列内数据后的小写字母表示差异显著, $P<0.05$; 相同或无字母表示差异不显著, $P>0.05$ 。

¹: Alanine aminotransferase, U/L; ²: Aspartate aminotransferase, U/L; ³: Total protein, g/L; ⁴: Albumin, g/L; ⁵: Creatinine, μmol/L; ⁶: Cholesterol, mmol/L; ⁷: Urea nitrogen, mg/dL; ⁸: Blood glucose, GLU. Different lowercase letters of data in the same column indicate significant difference, $P<0.05$; Data with the same character or without character indicate no significant difference, $P>0.05$.

连续 28 d 灌胃波兰青霉后，高剂量组随机取 3 只鼠进行组织病理学检查，结果显示 CK2023-1 对鼠的实质脏器未造成实质性损伤，心脏、肺、脾脏和肾脏未观察到病变，仅肝出现轻微等级的病变：2 只雄鼠有炎性浸润和点状坏死，1 只雌鼠有空泡变性(表 5，图 8A–8C)。

3 讨论与结论

《中国传统发酵食品用微生物菌种名单研究(第 2 版)》共收录了 56 属 124 种微生物菌种，所含真菌有酵母和小型丝状真菌(毛霉科的部分

表5 小鼠原始评分记录表(n=3)

Table 5 Original score record of mice (n=3)

Organs	Pathological changes	Female	Male
Heart		N (3/3)	N (3/3)
Lung		N (3/3)	N (3/3)
Spleen		N (3/3)	N (3/3)
Kidney		N (3/3)	N (3/3)
Liver	Vacuolar degeneration	0 (3/3)	1 (1/3)
	Necrosis	1 (2/3)	0 (3/3)
	Inflammatory infiltration	1 (2/3)	0 (3/3)

N: 正常; 0: 不存在; 1: 轻微。

N: Normal; 0: Non-existent; 1: Mild.

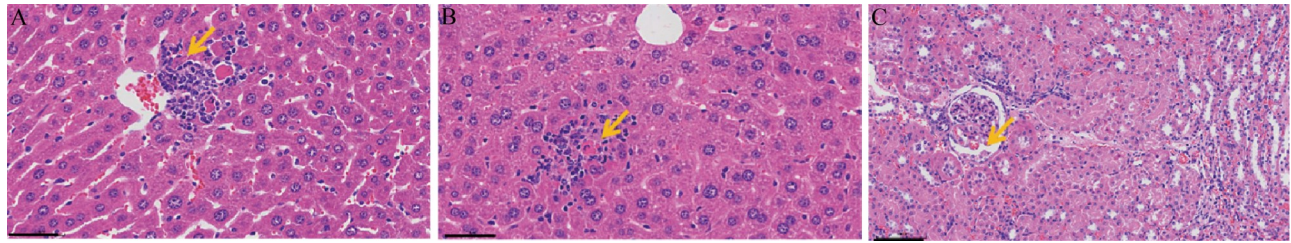


图8 肝脏的病理变化(H.E.)。A: 坏死灶, 炎性细胞浸润(400×, bar=50 μm); B: 点状坏死(400×, bar=50 μm); C: 坏死灶(200×, bar=100 μm, 箭头处为病理描述部位)。

Figure 8 Pathological changes in the liver (H.E.). A: Necrotic focus with inflammatory-cell infiltration (400×, bar=50 μm); B: Punctate necrosis (400×, bar=50 μm); C: Necrotic focus (200×, bar=100 μm).

种), 适于肉制品加工的仅有 3 种细菌: 清酒乳杆菌、肉葡萄球菌和木糖葡萄球菌^[24]。欧美等国使用 *P. salami*、*P. nalgiovense* 和 *P. roqueforti* 等商业化青霉制作干腌肉、香肠。虽然许多研究团队报道青霉在我国的某些传统肉制品中发挥重要作用, 但均未能实现商业化应用。2025 年, 国家针对食品用菌种安全性评价(GB 31615.2—2025)^[15]实施了新标准, 强调要从基因组、代谢组和毒理学三方面进行评估。我们前期系统分析了城口老腊肉(2017 年被评为国家地理标志食品)表面与炕房的微生物组成, 结合人工添加发酵试验证实波兰青霉是陈年老腊肉风味形成的关键微生物, 并确定了代表株 CK2023-1^[7]。本研究完成了该菌的全基因组测序和功能注释; 对人工添加 CK2023-1 发酵肉制品的非挥发性代谢物进行质谱分析, 未检测到任何真菌毒素(包括黄曲霉毒素、赭曲霉毒素和棒曲霉毒素等对脊椎动物致病的真菌毒素); 经口的急性、亚急性毒性试验未检测到对小鼠的实质性损伤, 研究初步证实 *P. polonicum* CK2023-1 具有食品安全性。

CK2023-1 基因组全长 33.3 Mb, G+C 含量为 52.91%, 有 10 901 个 CDS, 这与 Petersen 等^[25]对 93 株青霉菌的全基因组序列分析结果一致(25.4–46.5 Mb, 平均长度为 33.3 Mb), 说明此次测序与组装结果良好。CK2023-1 与不同生

境分离的 *P. polonicum* 菌株的基因组 ANI 值均高于 95%, 最高达 99.7%, 共线性分析未见大片段缺失, 但存在易位、移位和倒置现象, 说明 *P. polonicum* 的生物多样性源于基因组结构上的变化。就肉制品发酵的功能基因而言, Lo 等^[2]研究发现, *P. salami* 和 *P. nalgiovense* 存在 8 个相同的水平转移基因片段(horizontally transfer region, HTR), 而其他生境的同种菌株以及 *P. polonicum* hy4 和 *P. polonicum* IBT 4502 则缺少这些基因片段, 作者认为某些真菌长期在相同的生境下(比如高盐、高脂等)驯化后产生了平行适应性进化, 最终导致表型趋同。虽然目前尚不清楚 *P. polonicum* CK2023-1 是否发生过类似于 *P. salami* 和 *P. nalgiovense* 所经历的平行适应事件, 但是这些 HTRs 的分布和功能将成为今后研究的重点。

由于用 PCR 扩增到了 CK2023-1 的 *verA* 基因, 推测 CK2023-1 株也能产生真菌毒素。基因注释发现 CK2023-1 含有 *verABCDEFGHU* 基因簇, 但与 X6 株相比较, 该基因簇发生倒置。在添加菌株 CK2023-1 实地发酵 26 d 的腊肉样品中也未检测到 *verrucosidin*, 提示该基因簇可能因倒置事件而不能正常转录, 其详细机制有待进一步研究。在经口的急性、亚急性毒性试验中小鼠全部存活, 除少数几项生理指标有细微波动外, 绝大多数生理指标与健康对照无显著

性差异(表 1-表 3), 组织病理学检测中仅肝脏出现轻微的坏死灶、空泡变性和炎性浸润, 心脏、脾脏、肾脏和肺未观察到病变(图 8), 这与德巴利酵母和柯达酵母引起小鼠的病理程度相近^[16]。由此我们认为, *P. polonicum* CK2023-1 是一株无毒菌株, 达到食品安全性评估要求。

Bradshaw 等^[26]发现 *P. polonicum* 可以引起苹果腐烂, Valente 等^[14]将 *P. polonicum* X6 的 *verA* 基因敲除, 突变株导致苹果腐烂面积并未显著减少, CK2023-1 株能分泌果胶酶、纤维素酶(图 1A), 说明波兰青霉是一种潜在的植物病原菌。此外, 波兰青霉还有其他生物学功能, 如具有生态修复能力^[27], 能产生抗菌、抗炎、抗肿瘤活性物质、抗病毒活性物质和神经细胞保护活性物质^[28-32]。

综上所述, 波兰青霉分布广泛, 生物学功能多样, 某些独特的功能仅体现在菌株水平, 因此对 *P. polonicum* CK2023-1 的研究将丰富我国发酵肉制品微生物资源。

作者贡献声明

杜华茂: 实验设计、结果分析以及对文章作深度修改; 代梦娇: 基因组结构与功能分析, 文章撰写和修改; 郭雨馨: 完成波兰青霉的动物致病性试验并对结果进行统计分析; 高雅晴: 人工添加波兰青霉制作腊肉、分析腊肉非挥发性代谢物成分; 李星: 联系农户制作腊肉及采样; 秦福生: 全面负责城口老腊肉项目、协调研究资源, 并监督各项研究的进度。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] NIELSEN JC, GRIJSEELS S, PRIGENT S, JI BY, DAINAT J, NIELSEN KF, FRISVAD JC, WORKMAN M, NIELSEN J. Global analysis of biosynthetic gene clusters reveals vast potential of secondary metabolite production in *Penicillium* species[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 17044.
- [2] LO YC, BRUXAUX J, RODRÍGUEZ deLa VEGA RC, O'DONNELL S, SNIRC A, COTON M, Le PIVER M, Le PRIEUR S, ROUEYRE D, DUPONT J, HOUBRAKEN J, DEBUCHY R, ROPARS J, GIRAUD T, BRANCA A. Domestication in dry-cured meat *Penicillium* fungi: convergent specific phenotypes and horizontal gene transfers without strong genetic subdivision[J]. *Evolutionary Applications*, 2023, 16(9): 1637-1660.
- [3] MAGISTÀ D, FERRARA M, del NOBILE MA, GAMMARIELLO D, CONTE A, PERRONE G. *Penicillium salami* strain ITEM 15302: a new promising fungal starter for salami production[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2016, 231: 33-41.
- [4] ROPARS J, DIDOT E, RODRÍGUEZ deLa VEGA RC, BENNETOT B, COTON M, POIRIER E, COTON E, SNIRC A, Le PRIEUR S, GIRAUD T. Domestication of the emblematic white cheese-making fungus *Penicillium camemberti* and its diversification into two varieties[J]. *Current Biology*, 2020, 30(22): 4441-4453.e4.
- [5] DUMAS E, FEURTEY A, RODRÍGUEZ deLa VEGA RC, Le PRIEUR S, SNIRC A, COTON M, THIERRY A, COTON E, Le PIVER M, ROUEYRE D, ROPARS J, BRANCA A, GIRAUD T. Independent domestication events in the blue-cheese fungus *Penicillium roqueforti*[J]. *Molecular Ecology*, 2020, 29(14): 2639-2660.
- [6] 陈杰, 孟岳成. 金华火腿成熟过程中霉菌生长与其品质关系[J]. *食品与发酵工业*, 2009, 35(8): 138-142. CHEN J, MENG YC. Studies on the relationship between moulds and quality of Jinhua ham during ripening[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2009, 35(8): 138-142 (in Chinese).
- [7] 高雅晴, 郭雨馨, 李星, 梅学华, 秦福生, 杜华茂. 城口老腊肉风味形成的关键微生物研究[J]. *食品与发酵工业*, 2025, 51(16): 190-196. GAO YQ, GUO YX, LI X, MEI XH, QIN FS, DU HM. Study on functional microorganisms impacting unique flavour development of Chengkou bacon[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2025, 51(16): 190-196 (in Chinese).
- [8] RADOUANE N, ADADI H, EZRARI S, KENFAOUI J, BELABESS Z, MOKRINI F, BARKA EA, LAHLALI R. Exploring the bioprotective potential of halophilic bacteria against major postharvest fungal pathogens of *Citrus* fruit *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum*[J]. *Horticulturae*, 2023, 9(8): 922.
- [9] GAL TE, ALEXA EC, ŞUMĂLAN RM, DASCĂLU I, IORDĂNESCU OA. Factors affecting patulin production by *Penicillium expansum* in apples[J]. *Foods*, 2025, 14(13): 2310.
- [10] PERRONE G, SUSCA A. *Penicillium* species and their associated mycotoxins[M]//*Mycotoxigenic Fungi*. New York, NY: Springer New York, 2016: 107-119.
- [11] HODGE RP, HARRIS CM, HARRIS TM.

- Verrucofortine, a major metabolite of *Penicillium verrucosum* var. cyclopium, the fungus that produces the mycotoxin verrucosidin[J]. *Journal of Natural Products*, 1988, 51(1): 66-73.
- [12] NÚÑEZ F, DÍAZ MC, RODRÍGUEZ M, ARANDA E, MARTÍN A, ASENSIO MA. Effects of substrate, water activity, and temperature on growth and verrucosidin production by *Penicillium polonicum* isolated from dry-cured ham[J]. *Journal of Food Protection*, 2000, 63(2): 231-236.
- [13] NÚÑEZ F, RODRÍGUEZ MM, BERMÚDEZ ME, CÓRDOBA JJ, ASENSIO MA. Composition and toxigenic potential of the mould population on dry-cured Iberian ham[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 1996, 32(1/2): 185-197.
- [14] VALENTE S, PIOMBO E, SCHROECKH V, MELONI GR, HEINEKAMP T, BRAKHAGE AA, SPADARO D. CRISPR-Cas9-based discovery of the verrucosidin biosynthesis gene cluster in *Penicillium polonicum*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 660871.
- [15] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品用菌种安全性评价程序: GB 31615.2—2025[S]. 北京: 中国标准出版社, 2025.
National Health Commission of the People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. National food safety standard-safety evaluation procedures for food microbes: GB 31615.2—2025[S]. Beijing: Standards Press of China, 2025 (in Chinese).
- [16] 郭雨馨. 城口老腊肉表面菌群结构分析及三株优势菌的安全性评估[D]. 重庆: 西南大学, 2023.
GUO YX. Analysis of the surface microflora structure of Chengkou bacon and safety evaluation of three dominant fungus[D]. Chongqing: Southwest University, 2023 (in Chinese).
- [17] 蒋翠翠, 尚昊, 张素芳, 梁会朋, 纪超凡, 陈映羲, 林心萍. 产脂肪酶菌株的筛选、酶学特性及其接种对酸肉风味物质的影响[J]. *食品科学*, 2023, 44(10): 106-113.
JIANG CC, SHANG H, ZHANG SF, LIANG HP, JI CF, CHEN YX, LIN XP. Screening and enzymatic properties of lipase-producing strains and effects of their inoculation on flavor compounds of fermented sour meat[J]. *Food Science*, 2023, 44(10): 106-113 (in Chinese).
- [18] 崔芳, 胡丹丹, 黄攀登, 王丽, 林元珠. 趾甲镰刀菌病真菌的扫描电镜观察和特殊制样方法[J]. *电子显微学报*, 2013, 32(6): 496-500.
CUI F, HU DD, HUANG PD, WANG L, LIN YZ. Observation of fungi of toenail fusariosis by scanning electron microscopy and special sample preparation method[J]. *Journal of Chinese Electron Microscopy Society*, 2013, 32(6): 496-500 (in Chinese).
- [19] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品安全性毒理学评价程序: GB 15193.1—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
National Health Commission of the People's Republic of China. State Administration for Market Regulation. National Food Safety Standard-Procedure for Toxicological Safety Assessment of Food: GB 15193.1—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014 (in Chinese).
- [20] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准急性经口毒性实验: GB 15193.3—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
National Health Commission of the People's Republic of China. State Administration for Market Regulation. National food safety standard-Acute Oral Toxicity Test: GB 15193.3—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014 (in Chinese).
- [21] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准: 食品安全性毒理学评价中病理学检查技术要求: GB 15193.24—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
National Health Commission of the People's Republic of China. State Administration for Market Regulation. National food safety standard-Pathological Examination Technical Requirements for Toxicological Assessment of Food Safety: GB 15193.24—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2014 (in Chinese).
- [22] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 化学品毒理学评价程序和试验方法 第15部分: 亚急性经口毒性实验: GB Z/T240.15—2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
National Health Commission of the People's Republic of China. State Administration for Market Regulation. Toxicological Evaluation Procedures and Test Methods for Chemicals-Part 15: Sub-acute Oral Toxicity Test: GB Z/T 240.15—2011[S]. Beijing: Standards Press of China, 2011 (in Chinese).
- [23] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准: 食品中真菌毒素限量: GB 2761—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, China Food and Drug Administration. National Food Safety Standard-Maximum Levels of Mycotoxins in Food. GB 2761—2017[S]. Beijing: China Standards Press, 2017 (in Chinese).
- [24] 姚粟, 王鹏辉, 白飞荣, 于学健, 曹艳花, 程坤, 葛媛媛, 辛迪, 张天赐, 刘艺茹, 蔡程山, 程池. 中国传统发酵食品用微生物菌种名单研究[J]. 2版. *食品与发酵工业*, 2022, 48(1): 272-307.
YAO S, WANG PH, BAI FR, YU XJ, CAO YH, CHENG K, GE YY, XIN D, ZHANG TC, LIU YR, CAI CS, CHENG C. Research on the inventory of microbial food cultures in Chinese traditional fermented foods[J]. 2nd edition. *Food and Fermentation Industries*, 2022, 48(1): 272-307 (in Chinese).
- [25] PETERSEN C, SØRENSEN T, NIELSEN MR, SONDERGAARD TE, SØRENSEN JL, FITZPATRICK DA, FRISVAD JC, NIELSEN KL. Comparative genomic

- study of the *Penicillium* genus elucidates a diverse pangenome and 15 lateral gene transfer events[J]. *IMA Fungus*, 2023, 14(1): 3.
- [26] BRADSHAW MJ, BARTHOLOMEW HP, LICHTNER F, GASKINS VL, JURICK WM II. First report of blue mold caused by *Penicillium polonicum* on apple in the United States[J]. *Plant Disease*, 2022, 106(2): 762.
- [27] XU XY, HAO RX, XU H, LU AH. Removal mechanism of Pb(II) by *Penicillium polonicum*: immobilization, adsorption, and bioaccumulation[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 9079.
- [28] 刘碧丽, 丘鹰昆, 颜志文, 吴小枫, 邱彦, 杨嘉永. 海洋来源青霉菌 *Penicillium polonicum* H92 次级代谢产物的研究[J]. *中国海洋药物*, 2021, 40(4): 27-32.
LIU BL, QIU YK, YAN ZW, WU XF, QIU Y, YANG JY. Studies on marine secondary metabolites of fungus *Penicillium polonicum* H92[J]. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 2021, 40(4): 27-32 (in Chinese).
- [29] 张雪珂. 波兰青霉与聚多曲霉的次生代谢产物及其活性研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2023.
- ZHANG XK. Studies on secondary metabolites and bioactivities of *Penicillium polonicum* and *Aspergillus sydowii*[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2023 (in Chinese).
- [30] 赖春玲. 波兰青霉菌发酵赣南脐橙果皮中活性物质研究[D]. 赣州: 赣南师范大学, 2023.
LAI CL. Study on the bioactive compounds in Gannan navel orange peel fermented by *Penicillium polonicum*[D]. Ganzhou: Gannan Normal University, 2023 (in Chinese).
- [31] MA YR, WEN YZ, CHENG HT, DENG JT, PENG Y, BAHETEJIANG Y, HUANG HQ, WU CQ, YANG XZ, PANG KJ. Penpolonin A-E, cytotoxic α -pyrone derivatives from *Penicillium polonicum*[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2021, 40: 127921.
- [32] BAI J, ZHANG P, BAO GH, GU JG, HAN LD, ZHANG LW, XU YQ. Imaging mass spectrometry-guided fast identification of antifungal secondary metabolites from *Penicillium polonicum*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(19): 8493-8500.