

# 不同地区发酵浆水中微生物群落结构比较及优势菌群的鉴定

向书娅, 翟茹, 张海燕, 禹石磊, 潘琳\*

(宁夏大学食品与葡萄酒学院, 宁夏食品微生物制造与安全控制重点实验室, 宁夏银川 750021)

**摘要:** 浆水作为我国特色发酵食品, 具有丰富的营养价值和独特的口感风味。本试验基于高通量测序技术, 对甘肃天水、宁夏固原、陕西安康三个不同地区所采集的浆水中微生物群落结构展开研究, 并对其中优势菌群进行鉴定, 欲探究浆水中微生物群落结构是否具有地域性差异。结果表明, 各地区浆水样品中细菌群落结构比较稳定, 差异性较小, 真菌群落结构稳定性低, 各地区、样本之间差异较大。三个地区优势细菌属均为乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*), 在各地区样品中相对丰度在 72.69%~99.95% 之间, 宁夏固原地区样品中醋酸杆菌属 (*Acetobacter*, 25.24%)、葡糖醋杆菌属 (*Gluconacetobacter*, 1.39%) 也占有较高丰度。浆水中主要优势真菌属为双足囊菌属 (*Dipodascus*) 其相对丰度在 40% 以上, 但不同样品中突出优势菌属差异较大。该研究揭示了陕西安康、甘肃天水、宁夏固原三个地区浆水中微生物群落结构及多样性的异同, 表明三地浆水中微生物群落结构存在一定的地域性差异, 为稳定浆水产品质量、口感风味及挖掘不同地区浆水中特色微生物资源提供了一定的理论依据。

**关键词:** 浆水; 高通量测序; 微生物群落结构

文章编号: 1673-9078(2023)03-121-128

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.3.0344

## Comparison of Microbial Community Structure and Identification of Dominant Microflora in Fermented Broth “Jiangshui” from Different Regions

XIANG Shuya, ZHAI Ru, ZHANG Haiyan, YU Shilei, PAN Lin\*

(College of Food and Wine, Ningxia Key Laboratory of Food Microbiological Manufacturing and Safety Control, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

**Abstract:** As a characteristic fermented food in China, “Jiangshui” has a high nutritional value and unique mouthfeel and flavor. In order to investigate whether the microbial community structures in the fermented broth “Jiangshui” show regional differences, the microbial community structures of the Jiangshui samples collected from Tianshui City of Gansu Province, Guyuan City of Ningxia Province and Ankang City of Shaanxi Province were examined based on high-throughput sequencing technology, and the dominant floras were identified. The results showed that the bacterial community structure of Jiangshui from each region was relatively stable and showed relatively small differences, whilst the fungal community structure had low stability and showed large differences among different regions and samples. *Lactobacillus* was the dominant bacterial genus for the three regions, with its relative abundance in the range of 72.69%~99.95%. The samples from Guyuan City of Ningxia Province had relatively high abundance of *Acetobacter* (25.24%) and *Gluconacetobacter* (1.39%). *Dipodascus* was the dominant

引文格式:

向书娅, 翟茹, 张海燕, 等. 不同地区发酵浆水中微生物群落结构比较及优势菌群的鉴定[J]. 现代食品科技, 2023, 39(3): 121-128.

XIANG Shuya, ZHAI Ru, ZHANG Haiyan, et al. Comparison of microbial community structure and identification of dominant microflora in fermented broth “Jiangshui” from different regions [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(3): 121-128.

收稿日期: 2022-03-25

基金项目: 宁夏回族自治区重点研发计划项目 (2020BBF02023); 宁夏回族自治区重点研发计划 (引才专项) (2020BEB04014); 宁夏自然科学基金项目 (2021AAC03023); 宁夏回族自治区青年科技人才托举工程

作者简介: 向书娅 (1999-), 女, 本科在读, E-mail: xsyya5527@163.com

通讯作者: 潘琳 (1988-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 乳品生物技术与应用, E-mail: panlin@nxu.edu.cn

fungi in Jiangshui, with its relative abundance over 40%, though the dominant fungi in different samples varied greatly. This study revealed the similarities and differences in microbial community structure and diversity in the Jiangshui samples from Tianshui City of Gansu Province, Guyuan City of Ningxia Province and Ankang City of Shanxi Province. This study shows that there are certain regional differences in the microbial community structure of Jiangshui, which provides a theoretical basis for stabilizing the quality, mouthfeel and flavor of Jiangshui products, and discovering the characteristic microbial resources in Jiangshui from different regions.

**Key words:** Jiangshui; high-throughput sequencing; microbial community structure

浆水作为我国一种传统的蔬菜发酵类制品,是以芹菜、包菜、萝卜等蔬菜及面粉为原料经过微生物发酵而成<sup>[1,2]</sup>,在西北地区流传甚广。浆水中营养成分丰富,主要含有氨基酸、维生素、醇类、有机酸等<sup>[3-5]</sup>,这些物质不仅使浆水具有较高的营养价值,而且赋予了浆水独特的口感风味。同时,浆水还具有调节肠道微生物环境、净化胃肠、清热解暑、降血压以及调理腑脏等食疗养生功效<sup>[6,7]</sup>,因此浆水越来越受大众关注。随着浆水走进大众视野,许多研究人员也对其展开了广泛的研究,主要集中在工艺优化和微生物的分离鉴定两方面。王丽萍等<sup>[8]</sup>、侯志勇等<sup>[9]</sup>、吕嘉彬等<sup>[10]</sup>等优化了浆水工艺参数,为规范浆水制作工艺及提高浆水风味品质提供了一定的理论依据;李雪萍等<sup>[11]</sup>从浆水分离筛选出降胆固醇乳酸菌并对其功能特性展开了研究;黄朝等<sup>[12]</sup>从浆水中分离筛选出发酵乳酸杆菌,并用其研制出一款具有保健作用的蕨麻鹰嘴豆乳酸菌饮品。此外,浆水的功效<sup>[13]</sup>、浆水中的营养成分<sup>[14]</sup>及风味物质<sup>[15,16]</sup>等方面的研究也不少。一系列研究进一步明确了其食用价值和在优势菌种发掘方面的意义。

传统发酵食品主要借助微生物的多种代谢作用,将食品中的大分子物质分解成小分子物质,从而改变食品原有的口感质地、功能特性,同时又赋予发酵食品独特的风味,因此微生物可谓发酵食品的“灵魂”<sup>[17]</sup>。但微生物的群落结构和代谢途径极易受环境的影响,不同地区的微生物群落结构由于地理环境和气候的不同而有较大的差异。正所谓一方水土养一方人,一方微生物群落结构的不同,也造就了其发酵制品的特异性。浆水作为传统的蔬菜发酵制品,也包含着复杂的微生物群系,主要优势菌群为乳酸菌和酵母菌,还包含枯草芽孢杆菌、醋酸菌、霉菌等<sup>[18-20]</sup>,但由于制作工艺、地域环境、原料等条件的不同,导致浆水体系中的微生物群落千差万别。目前,浆水广泛流传于我国西北地区,且不同地区浆水产品都有自己独特的风味,这与其微生物群落结构有着密不可分的联系。但目前对基于地域性差异分析浆水中微生物群落结构异同的研究鲜见。本文以各地区浆水间微生物群落结构的异同为出发点,采用高通量测序的方法,对陕西安康、甘肃天水、宁夏固原三地浆水样品中微生物群

落结构及多样性进行比对,分析浆水中微生物群落是否具有地域性差异,并鉴定各地发酵浆水样品中的优势菌群,为生产安全、健康、有特色的浆水提供一定的理论依据,同时也可以为挖掘不同地区浆水中特色微生物资源提供一定的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

原料:18份样品分别采集自甘肃天水、宁夏固原、陕西安康(编号分别为GS、NX、SX)三个地区各六个家庭(各地六个家庭分别编号1、2、3、4、5、6)的自制新鲜浆水,所采集样品的具体信息如表1所示。

试剂:CTAB基因组DNA提取试剂盒,赛默飞世尔科技公司;PCR扩增所用试剂,宝生物工程(大连)有限公司;AxyPrepDNA凝胶回收试剂盒,AXYGEN公司;其他试剂均为分析纯。

### 1.2 主要仪器设备

CJ-1680超净工作台,江苏太仓市实验设备厂;5810R型台式高速冷冻离心机,德国Eppendorf公司;DYY-12型水平电泳仪,北京六一仪器厂;GeneAmp®9700型PCR仪,美国ABI公司;QuantiFluor™-ST蓝色荧光定量系统,Promega公司。

### 1.3 实验方法

实验方法见图1的流程图。

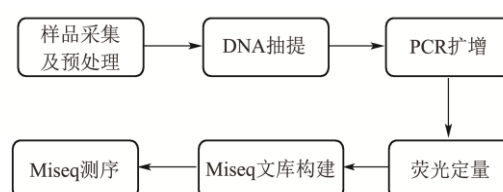


图1 流程图

Fig.1 Flow chart

#### 1.3.1 样品采集及预处理

从不同地区采集新鲜浆水,每个样品三个平行,收集于无菌采样瓶中进行编号,并置于含有冰袋的采样箱中低温运送回实验室进行后续操作。

表 1 样品相关信息

Table 1 The information of samples

样品编号	采样地点	采样时间	使用蔬菜原料	发酵时间
GS1	甘肃天水天水	2020年6月	芹菜、包菜	3月
GS2	甘肃天水天水	2020年6月	芹菜、包菜	2月
GS3	甘肃天水天水	2020年6月	芹菜	2月
GS4	甘肃天水天水	2020年6月	芹菜	2月
GS5	甘肃天水天水	2020年6月	芹菜	2月
GS6	甘肃天水天水	2020年6月	芹菜、包菜	2月
NX1	宁夏固原固原	2020年6月	芹菜	2月
NX2	宁夏固原固原	2020年6月	芹菜	3月
NX3	宁夏固原固原	2020年6月	芹菜	2月
NX4	宁夏固原固原	2020年6月	芹菜	2月
NX5	宁夏固原固原	2020年6月	芹菜	2月
NX6	宁夏固原固原	2020年6月	芹菜	3月
SX1	陕西安康安康	2020年6月	芹菜	2月
SX2	陕西安康安康	2020年6月	芹菜、包菜	3月
SX3	陕西安康安康	2020年6月	芹菜、包菜	3月
SX4	陕西安康安康	2020年6月	芹菜	2月
SX5	陕西安康安康	2020年6月	芹菜	2月
SX6	陕西安康安康	2020年6月	芹菜、包菜	2月

取 50 mL 样品于离心管中, 400 r/min 低温离心 10 min 去除固形物, 取上清液于离心管中, 10 000 r/min 继续低温离心 10 min 后, 收集离心管底部的菌泥<sup>[21]</sup>。

### 1.3.2 样品 DNA 的提取

根据 CTAB 基因组 DNA 提取试剂盒内的使用说明进行具体操作, 对得到的菌泥进行微生物总 DNA 的提取, 并将提取产物用  $m=1\%$  琼脂糖凝胶电泳检测其浓度和纯度。

### 1.3.3 PCR 扩增

向提取的样本 DNA 加入超纯水将浓度稀释到 1 ng/ $\mu$ L, 并以此为模板进行 PCR 扩增。细菌以 16S rDNA 的 V3-V4 区为目标 DNA 序列进行扩增, 真菌以 18S rDNA 与 5.8S rDNA 之间内源转录间隔 ITS1 区为目标 DNA 序列进行扩增<sup>[22]</sup>。

扩增体系<sup>[23]</sup>: 5 $\times$ Fast Pfu 缓冲液 4  $\mu$ L; 2.5 mmol/L dNTPs 2  $\mu$ L; 正向、反向引物 (5  $\mu$ mol/L) 各 0.8  $\mu$ L; DNA 聚合酶 0.4  $\mu$ L; DNA 模板 10 ng, 补 ddH<sub>2</sub>O 至 20  $\mu$ L。

反应程序<sup>[23]</sup>: 95  $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 95  $^{\circ}$ C 30 s (加热变性), 55  $^{\circ}$ C 30 s (退火复性), 72  $^{\circ}$ C 45 s (引物延伸), 循环 28 次; 最后在 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 10  $^{\circ}$ C 保持至停止。

扩增完成后, 将 PCR 产物用  $m=2\%$  琼脂糖凝胶电泳检测其纯度和浓度, 并使用 AxyPrepDNA 凝胶回收

试剂盒切胶回收 PCR 产物。

### 1.3.4 Miseq 文库构建及测序

PCR 扩增产物经检测合格后, 寄送至上 海美吉生物医药科技有限公司, 文库构建及 Illumina MiSeq 高通量测序由该公司协助完成, 所获得的原始序列数据都已上传到 NCBI 的序列读取档案库中 (SRA), 登录号为 PRJNA844900。

### 1.3.5 数据分析

使用 Uparse 软件 (version 7.0.1090) 对优化的序列提取非重复序列, 去除没有重复的单序列, 按照 97% 相似性对非重复序列 (不含单序列) 进行 OTU 聚类, 将所有优化序列 map 至 OTU 代表序列, 选出与代表序列相似性在 97% 以上的序列, 生成 OTU 表格, 分成不同的操作分类单元 (Operational Taxonomic Units, OTUs), 一个分类单元为一个 OTU。随后统计每个样本中, 每个 OTU 所含的序列数, 将 OTUs 按丰度由大到小等级排序, 再以 OTU 排序等级为横坐标, 以每个 OTU 中所含的序列数为纵坐标, 作图利用 R 语言工具制作等级聚类曲线图 (Rank-Abundance), 来解释多样性的物种丰富度和群落均匀度, 并评估本次测序样本量足够。细菌和真菌的序列比对基于 Silva、Greengenes、Unite 的参考数据库, 筛选得到每个 OTU 对应的门和属水平下物种分类信息, 并对共有 OTU 进行分类分析。利用 LEfSe 分析对样本间的差异物种

进行甄别,并做出 LDA 得分图。利用 R 语言 (version 3.3.1) 作图,使用 FastTree<sup>[24]</sup> (version 2.1.3) 根据最大似然法构建进化树,然后利用 FastUniFrac 分析得到样本间 UniFrac 距离矩阵在此基础上利用 R 语言 (version 3.3.1) PCoA 统计分析和作图,再利用 R 语言工具绘制成样品各分类水平下的群落结构图。

## 2 结果与分析

### 2.1 样品 OTU 分析

对采集的不同地区的浆水样品进行高通量测序分析,甘肃天水、宁夏固原、陕西安康三个地区浆水样品中细菌群落得到的有效序列分别为 75 908 条、62 704 条、83 439 条,并对所得到的序列在 97% 相似水平下进行 OTU 聚类分析,共得到 55 个 OTU,三个地区分别为甘肃天水 55 个、宁夏固原 53 个、陕西安康 48 个,所有 OTU 在不同分类学水平上划分分别得到 3 门、4 纲、5 目、5 科、6 属的结果。甘肃天水、宁夏固原、陕西安康三个地区的浆水样品中真菌群落得到的有效序列分别为 112 081 条、76 443 条、85 099 条,所有序列经过聚类共得到 347 个 OTU,三个地区分别为甘肃天水 169 个、宁夏固原 204 个、陕西安康 314 个,在不同分类学水平上划分分别得到 4 门、14 纲、32 目、68 科、100 属的结果。

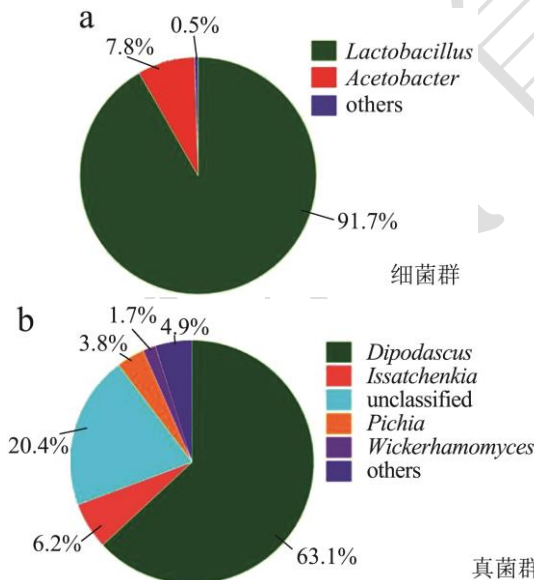


图 2 三个地区共有 OTU 在属分类水平下各物种占比饼图  
Fig.2 The proportion of different species of OTU in the three regions at the Genus level

三个地区浆水样品中细菌群落共有 OTU 共 48 个,在属分类水平下各物种占比情况如图 2a 所示,所有共有 OTU 在属分类学水平上主要隶属于乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*, 91.69%) 和醋酸杆菌属 (*Acetobacter*,

7.79%) 两类,其它占比小于 1% 的菌属 (Others) 占比总和仅为 0.52%,由此可以分析出乳酸杆菌属和醋酸杆菌属是浆水发酵过程中细菌群落的核心菌群,在浆水发酵过程中对其酸爽口感的形成上有着重要作用。

三个地区真菌群落共有 OTU 共 137 个,在属分类水平下各物种占比情况如图 2b 所示,主要隶属于双足囊菌属 (*Dipodascus*)、伊萨酵母属 (*Issatchenkia*)、毕赤酵母属 (*Pichia*) 和威克汉姆酵母属 (*Wickerhamomyces*) 等,从图 2 可以看出,双足囊菌属是三个地区发酵浆水中共有真菌群落中最主要的,其占比高达 63.08%,值得注意的是,共有真菌群落中还存在 20.38% 在属分类水平上未被鉴定的菌属,且其它相对丰度较低的菌属的占比总和也达到了 4.89%,可见发酵浆水中真菌群落相较于细菌群落更加复杂,这对浆水品质也有着重要的影响。

### 2.2 等级聚类曲线分析结果

等级聚类曲线反映了物种丰富度和群落均匀度两个方面,不同地区发酵浆水样品的等级聚类曲线如图 3,各组样品的等级聚类曲线最终都趋于平缓,说明各组样本量足够,测序深度已经基本覆盖到样品中所有物种。

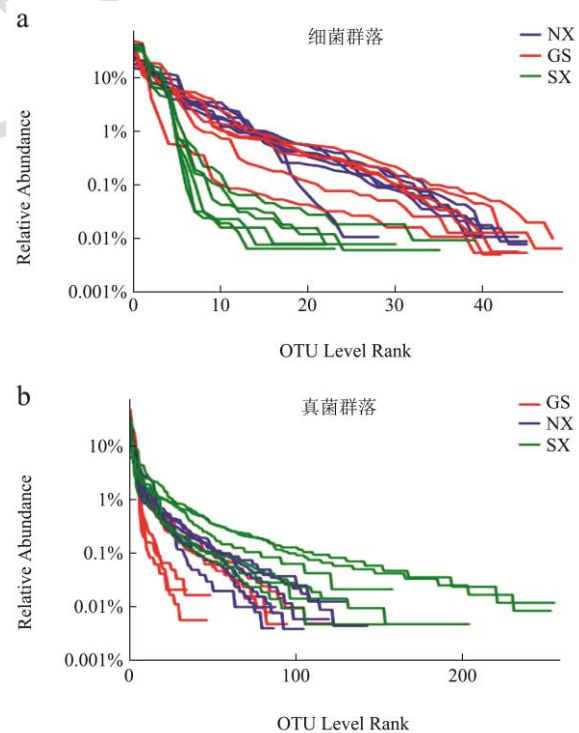


图 3 不同地区浆水中微生物群落的等级聚类曲线图

Fig.3 Rank-abundance curves of microbial communities in jiangshui samples from different regions

如图 3a 所示,甘肃天水地区浆水样品的曲线在横轴上分布范围最大,则甘肃天水地区发酵浆水样品中

细菌物种丰富度最高；其次是宁夏固原地区，分布范围最小，细菌丰度最低的是陕西安康地区。且甘肃天水和宁夏固原两个地区的浆水样品曲线下降较为平缓，则这两个地区发酵浆水样品中细菌群落均匀度较高，而陕西安康地区浆水样品曲线陡然下降，该地区浆水样品中细菌群落均匀度较低，优势菌种突出。

三个地区发酵浆水中真菌群落的变化如图 3b。甘肃天水、宁夏固原、陕西安康地区发酵浆水样品等级聚类曲线依次在横轴上范围越来越大，这三个地区发酵浆水样品中真菌物种丰富度逐渐增加。图中可以看出，陕西安康地区浆水样品等级聚类曲线下降最平缓，该地区发酵浆水样品中真菌物种群落均匀度较高，其他两个地区的曲线下趋势较快，甘肃天水、宁夏固原两个地区的发酵浆水样品中真菌群落优势菌种突出。

### 2.3 微生物群落的 Beta 多样性分析

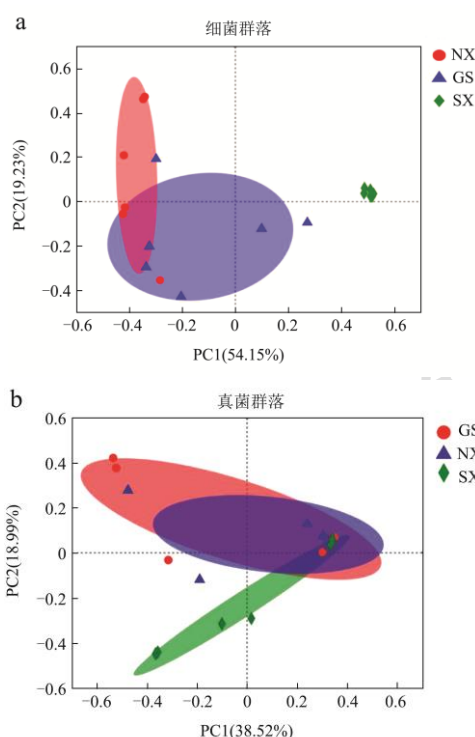


图 4 不同地区浆水中微生物群落 PCoA 图

Fig.4 PCoA diagram of microbial communities in jiangshui from different regions

对甘肃天水、宁夏固原、陕西安康三个地区的浆水样品进行 Beta 多样性分析，进一步分析不同地区发酵浆水中微生物之间的相似性，结果如图 4 所示。细菌群落主成分 PC1 和 PC2 的贡献率分别为总变量的 54.15% 和 19.23%，三个地区的浆水样品中，甘肃天水和宁夏固原地区发酵浆水样品有交汇，陕西安康地区单独聚类且各样本代表点聚集一起。真菌群落主成分 PC1 和 PC2 的贡献率分别为总变量的 38.52% 和

18.99%，宁夏固原和甘肃天水地区交汇一起，陕西安康地区与其他两地有交汇但在主成分 PC2 影响下与两地分开聚类。

从细菌群落的 PCoA 图可以分析出，陕西安康地区浆水样品中的细菌群落与其他两地差异较大，但组内样品之间差异较小，说明该地区浆水样品中细菌群落结构随着 PC1 和 PC2 变化所受的影响较小；甘肃天水、宁夏固原两地细菌群落组成相似，且两地的浆水样品中细菌群落在主成分 PC1 的影响下体现出较大差异。真菌群落的 PCoA 图体现出甘肃天水、宁夏固原两地区的浆水样品中真菌群落结构差异性较小，两个地区组内浆水样品均在主成分 PC1 的影响下体现出较大差异，但宁夏固原地区组内差异更小，甘肃天水地区组内差异更大；陕西安康地区与其他两地具有一定的相似性，组内样品之间也在主成分 PC1 的影响跨度较大，但在主成分 PC2 上与两地区分开来。

### 2.4 LEfSe 多级物种差异判别分析

通过 Beta 多样性分析可以看出不同地区浆水样品中微生物群落具有一定的差异，进一步采用 LEfSe (LDA 阈值为 4) 检测不同地区之间丰度差异特征，并甄别出造成显著差异的微生物类群，从而鉴定出不同地区浆水中的标志性微生物。图 5 是浆水中细菌群落 LDA 判别结果图，图中显示，造成宁夏固原地区与其他两个地区差异较大的菌群是变形杆菌门 (Proteobacteria)、 $\alpha$ -变形杆菌纲 (Alphaproteobacteria)、醋酸杆菌目 (Acetobacterales)、醋酸杆菌科 (Acetobacteraceae)、醋酸杆菌属 (Acetobacter) 等，而造成陕西安康地区与其他两个地区差异较大的菌群是厚壁菌门 (Firmicutes)、杆菌纲 (Bacilli)、乳酸杆菌目 (Lactobacillales)、乳酸杆菌科 (Lactobacillaceae)、乳酸杆菌属 (Lactobacillus)，结果显示，甘肃天水地区没有对差异影响效果较大的标志性微生物。

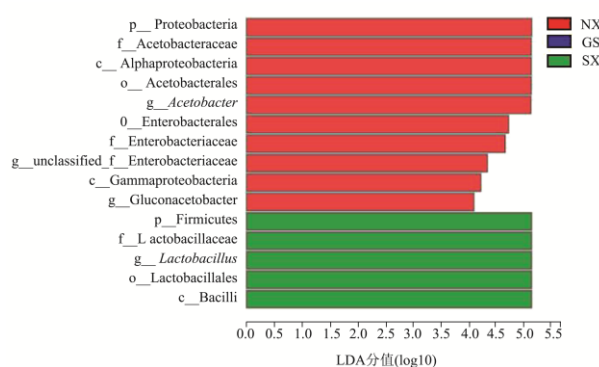


图 5 细菌群落 LDA 判别柱形图

Fig.5 LDA histogram of bacterial communities

真菌群落 LDA 判别结果图如图 6 所示, 宁夏固原地区与其他两地区相比没有标志性真菌群落, 甘肃天水地区对组间差异影响较大的菌群有子囊菌门 (Ascomycot)、酵母纲 (Saccharomycetes)、酵母目 (Saccharomycetales), 陕西安康地区对组间差异影响较大的菌群较多, 主要有担子菌门 (Basidiomycot)、银耳纲 (Tremellomycetes)、银耳目 (Tremellales)、Bulleribasidiaceae 科、平脐蠕孢属 (*Bipolaris*)、盐单胞菌属 (*Hannaella*) 等。

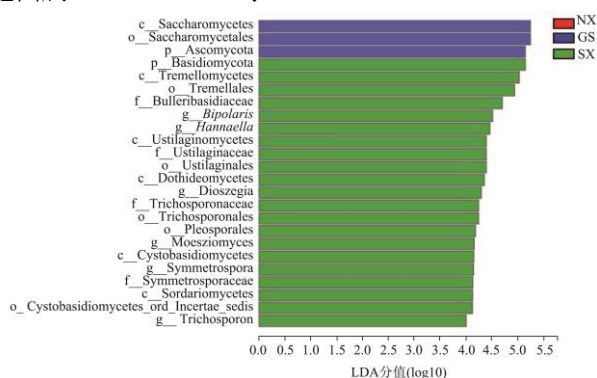


图 6 真菌群落 LDA 判别柱形图

Fig.6 LDA histogram of fungal communities

## 2.5 优势菌群鉴定

### 2.5.1 基于门、属分类学地位的细菌菌群结构分析

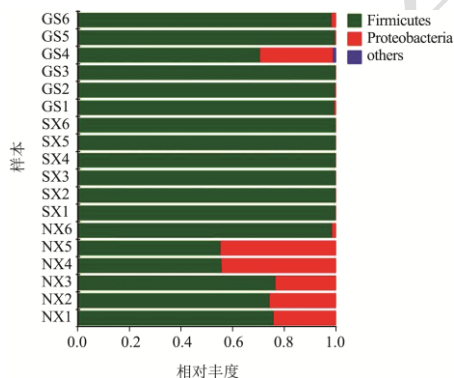


图 7 门分类水平上不同地区浆水中细菌群落柱形图

Fig.7 Histogram of bacterial communities in jiangshui from different regions at phylum level

基于门分类学地位浆水中细菌群落组成柱形图如图 7 所示, 从中可以看出, 陕西安康、甘肃天水、宁夏固原三地浆水样品中细菌群落优势菌门以厚壁菌门为主, 变形杆菌门次之。虽然三地优势菌门相同但丰度上存在较大差异, 其中变形杆菌门在宁夏固原地区样品中比较突出, 其平均相对丰度为 27.31%, 在甘肃天水地区各样品中相对丰度在 0.52%~28.38%, 在陕西安康地区平均丰度不足 0.05%, 说明三个地区中宁夏固原地区浆水样品中两种优势菌门组成更均匀, 群落

结构更稳定; 甘肃天水地区不同样品中差异性较大; 陕西安康地区优势菌群突出, 细菌群落组成单一。从属分类水平下的群落柱形图可以看出 (如图 8 所示), 各地区浆水样品中细菌群落优势菌属情况: 宁夏固原地区的优势菌属种类较多, 丰度较高的有有乳酸杆菌属 (72.69%)、醋酸杆菌属 (25.24%)、葡糖醋杆菌属 (*Gluconacetobacter*, 1.39%) 三类, 诺维赫巴螺菌属 (*Noviherbashirillum*) 仅在 NX5 中检测出; 甘肃天水地区主要为乳酸杆菌属 (94.62%) 和醋酸杆菌属 (5.16%) 两类, 陕西安康地区几乎仅存在乳酸杆菌属 (99.95%) 一类。

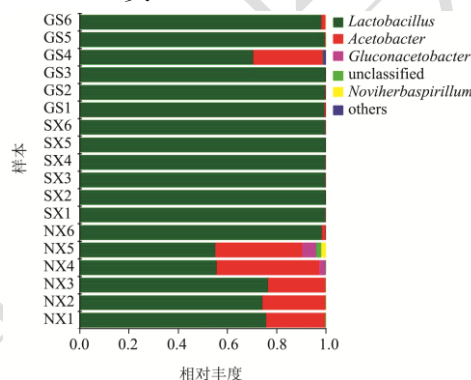


图 8 属分类水平上不同地区浆水中细菌群落柱形图

Fig.8 Histogram of bacterial communities in jiangshui from different regions at the genus level

结合门、属分类学水平上细菌群落柱形图可以分析出, 三个地区细菌群落结构上具有一定的相似性。三个地区浆水样品中细菌群落均以厚壁菌门下的乳酸杆菌属为主要优势菌群, 刘长根<sup>[25]</sup>对陕西安康、甘肃天水、山西三个地区共 25 个浆水样本进行分析发现, 厚壁菌门和变形杆菌门是浆水中主要优势菌门, 相对丰度之和大于 96.00%; 周书楠等<sup>[21]</sup>在对湖北琚湾地区浆水的研究中发现细菌群落中乳酸杆菌属相对丰度达 99.72%; 蔡宏宇等<sup>[26]</sup>对从琚湾酸浆水中分离得到的菌株进行鉴定发现大多数细菌为乳酸菌; 这些研究结果表明乳酸杆菌属在浆水占据绝对优势, 对浆水发酵起主导作用。虽然各地区发酵浆水样品中细菌群落的主要优势菌门、菌属上具有一致性, 但是不同地区的浆水样品仍呈现出较为丰富的物种多样性。魏本良等<sup>[27]</sup>在西北地区浆水中检测出变形杆菌门 (2.96%)、放线细菌门 (*Actinobacteria*, 0.87%)、蓝藻门 (*Cyanobacteria*, 0.71%) 等 6 门相对丰度大于 0.10% 的优势菌门, 属水平上共包括乳酸杆菌属 (82.59%)、片球菌属 (*Pediococcus*, 10.46%)、醋酸杆菌属 (1.63%)、明串珠菌属 (*Leuconostoc*, 0.82%) 等优势菌属。Chen 等<sup>[28]</sup>对甘肃天水不同地区 12 个浆水样品中的细菌群落结构和多样性进行分析, 发现浆水样

品中主导发酵的细菌群落在门水平上为厚壁菌门(87.79%),在属水平上以乳酸杆菌属(74.64%)为主,其次是片球菌属(5.92%),还存在醋酸杆菌属(2.43%)和芽孢杆菌属(*Bacillus*, 0.34%)。在本研究中,三个地区浆水中细菌群落也具有差异性,其中宁夏固原地区物种多样性最高,群落结构最复杂,该地区的样品中醋酸杆菌属普遍较高,此外还存在葡糖醋杆菌属、诺维赫巴螺菌属(两类,值得注意的是,在此前有关浆水微生物群落的研究中,鲜见检测出葡糖醋杆菌属,该菌属在高酸度醋的发酵中有重要作用,还可以生产细菌纤维素、苯乳酸、葡糖酸<sup>[29]</sup>)。高丰度的醋酸杆菌属和多种优势菌属共存的体系或是造就宁夏固原地区浆水风味口感独特的重要因素,后续可对宁夏固原地区浆水中微生物分离鉴定及该地浆水口感风味做进一步研究。

### 2.5.2 基于门、属分类学地位的真菌菌群结构分析

基于门分类学水平上真菌群落结构柱形图如图 9 所示,从中可以看出,三个地区浆水样品中真菌群落优势菌门为子囊菌门和担子菌门两类。甘肃天水地区样品中几乎全为子囊菌门,其相对丰度在 99.69%~100.00%之间,可见该地区真菌群落结构单一,真菌多样性较低;宁夏固原地区样品中子囊菌门平均相对丰度也在 95.00%以上,担子菌门的丰度在 0.33%~5.64%之间,该地区真菌群落多样性较甘肃天水地区更高;陕西安康地区浆水样品中仍以子囊菌门为主,但担子菌门的平均相对丰度达 34.77%,在三个地区中是最高的。基于属分类学水平上真菌群落结构柱形图如图 10 所示,三个地区浆水样品中真菌群落在属分类水平上共检测出 100 属,不同地区优势菌属在种类和丰度上呈现出较大差异。各地区浆水样品中丰度最高的优势菌属为双足囊菌属(*Dipodascus*),三地的平均相对丰度分别为宁夏固原 48.45%、甘肃天水 41.41%、陕西安康 41.25%,这体现了三个地区的浆水样品中真菌群落组成具有一定的相似性。但并非所有样品均以双足囊菌属为优势菌属,GS1、GS2、NX6 中丰度最高的为伊萨酵母属,其相对丰度分别为 51.89%、92.91%、53.71%,GS3 和 NX4 中以毕赤酵母属为主要优势菌属,其相对丰度分别为 8.07%、65.30%,陕西安康地区优势菌属较多,除双足囊菌属外,盐单胞菌属(*Hannaella*)、*Dioszegia*、*Saitozyma*、隐球酵母属(*Cryptococcus*)、莫氏黑粉菌属(*Moesziomyces*)等 11 类相对丰度达到 1.00%的优势菌属,但不同菌属在各样品中丰度差异较大。从图中还可以看出,在属水平上三个地区未被鉴定的物种相对丰度较高,这或

是造成差异的重要因素,也为为挖掘新的微生物资源提供了一定方向。总体而言,三个地区浆水中真菌群落在优势菌群组成上和丰度上都表现出较大差异。

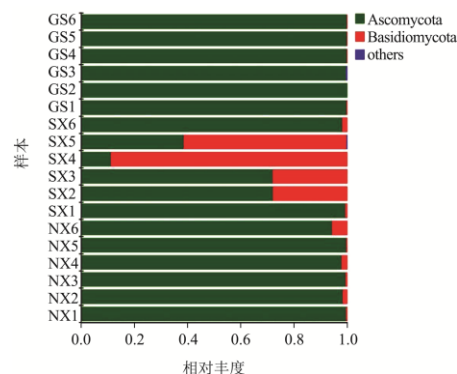


图 9 门分类水平上不同地区浆水中真菌群落柱形图

Fig.9 Histogram of fungal communities in jiangshui from different regions at the phylum level

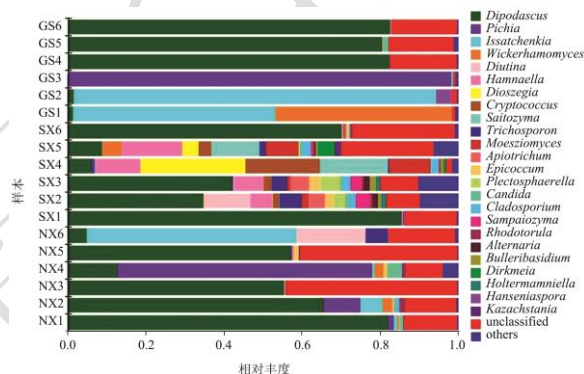


图 10 属分类水平上不同地区浆水中真菌群落柱形图

Fig.10 Histogram of fungal communities in jiangshui from different regions at the genera level

尚雪娇等<sup>[24]</sup>在湖北涪湾酸浆面浆水中真菌多样性评价的研究中发现该地区浆水中真菌群落主要由子囊菌门的假丝酵母(*Candida*)和毕赤酵母两个属构成;张铁等<sup>[30]</sup>通过传统纯培养的方法得到 3 株酵母菌,鉴定为酒香型酵母属(*Brettanomyces*)、隐球酵母属及裂殖酵母属(*Schizosaccharomyces*)。在本研究中;李倩倩<sup>[31]</sup>对小西芹浆水菜发酵过程中微生物变化进行解析,发现最初阶段浆水中德巴利酵母(*Debaryomyces*, 69.97%~99.76%)处于主导地位,其次是酵母属(*Saccharomyces*, 0.02%~20.42%),但随着发酵进行酵母属的丰度不断增大,然后下降。本次对于不同地区浆水中真菌群落优势菌群鉴定研究结果,结合此前相关研究报道可以发现,不同地区、不同浆水样品中真菌群落结构呈现出较大差异,并且不同研究中浆水的优势菌属不尽相同,其原因可能与样本原料、取样及保存方式、取样时间地点等多种因素相关,由此可以分析出,浆水中真菌群落结构稳定性较差,在其发酵过程中极易受外界条件的影响,导致不同地区、不

同样品中真菌群落结构差异较大,因此控制浆水发酵过程中真菌群落对浆水产品质量有着重要的作用。

### 3 结论

本文采用高通量测序技术,对陕西安康、甘肃天水、宁夏固原三个地区的浆水样品中微生物群落结构及多样性进行了研究,结果表明,三个地区浆水样品中微生物群落结构及多样性上具有一定的地域性差异,其中,细菌群落差异性较小,而真菌群落表现出较大差异。群落组成上,浆水样品中细菌群落结构较为稳定,三地均以乳酸杆菌属(*Lactobacillus*)为主要优势菌属,在陕甘宁三地样品中平均相对丰度分别为99.95%、94.62%、72.69%;宁夏固原地区的浆水中细菌群落多样性最高,并在该地样品中检测出较高丰度的葡糖醋杆菌属(*Gluconacetobacter*, 1.39%);甘肃天水地区样品中细菌丰富度最高;陕西安康地区样品中优势菌种突出,群落结构相对单一。浆水中真菌群落结构复杂多变,三地共检测出100属,虽然三地优势菌属丰度最高的均为双足囊菌属(*Dipodascus*),平均相对丰度分别为宁夏固原48.45%、甘肃天水41.41%、陕西安康41.25%,但不同地区浆水样品的优势菌属在类别和相对丰度上呈现出较大差异。

### 参考文献

- [1] 柳艳云,杨亚强,段学辉.西北传统美食浆水的研究进展[J].食品与发酵工业,2017,43(11):262-267.
- [2] 李慧玲,王彦儒,刘亚平.浆水菜制作及深加工研究进展[J].农产品加工,2020,22:82-86.
- [3] 史巧,刘毕琴,汤回花,等.发酵蔬菜菌种应用及菌群调控研究进展[J].食品与发酵工业,2021,47(5):273-281.
- [4] 张晓辉,杨靖鹏,王少军,等.浆水中细菌多样性分析及乳酸菌的分离鉴定[J].食品科学,2017,38(4):70-76.
- [5] 吴燕.特色自然发酵浆水中乳酸菌的筛选、表征及应用[D].无锡:江南大学,2019.
- [6] 张培.浆水制备工艺和营养成分分析方法的研究[D].兰州:兰州大学,2014.
- [7] 温宗茂,陈葆,李杰玉,等.发展浆水(酸菜)产业大有可为-天水市浆水(酸菜)产业发展情况调研报告[J].发展,2021(12):65-71.
- [8] 王丽萍,李珊妮,柴春蓉,等.传统发酵食品浆水工艺对其品质影响研究进展[J].湖北农业科学,2019,58(S1):7-9.
- [9] 侯智勇,杨静.川北地区浆水菜发酵工艺优化研究[J].中国调味品,2016,41(5):68-71.
- [10] 吕嘉彬,李良凤.传统浆水菜发酵工艺条件的研究[J].陕西科技大学学报(自然科学版),2013,31(3):89-92.
- [11] 李雪萍,李建宏,李敏权,等.浆水中降胆固醇乳酸菌的筛选及其功能特性[J].微生物学报,2015,55(8):1001-1009.
- [12] 黄朝,柯远,张娜瑶,等.陕西浆水菜中分离的发酵乳杆菌及其发酵饮品工艺初探[J].中国食品,2022,2:128-130.
- [13] 何玲.浆水芹菜营养功能成分与亚硝酸盐变化规律及加工机理研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2007.
- [14] 贾雄飞.不同蔬菜浆水营养成分分析与芹菜浆水饮料研制[D].杨凌:西北农林科技大学,2018.
- [15] 代安娜,丁波,张晓蒙,等.不同工艺条件对浆水品质的影响及风味物质分析[J].中国食品卫生杂志,2021,33(4):497-502.
- [16] 李宏珍,贾建民,贾亚莉,等.浆水传统酿制过程中挥发性物质的动态变化[J].食品与机械,2016,32(6):29-33.
- [17] 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.
- [18] 张斌,王晓闻.基于高通量测序技术鉴定酸浆水中的微生物[J].中国调味品,2020,45(4):77-80.
- [19] 赵利花.浆水中益生功能乳酸菌的筛选[D].西安:西北大学,2020.
- [20] 胡莹莹,赵丽,史力学,等.浆水发酵中的优势乳酸菌分离鉴定[J].甘肃农业科技,2021,52(4):43-48.
- [21] 周书楠,席修璞,董蕴,等.珞湾酸浆面浆水细菌多样性评价[J].中国酿造,2018,37(1):49-53.
- [22] 刘筱雪,袁文娟,丁涛,等.基于高通量测序对四川怀远特色发酵食品微生物群落结构分析[J].四川大学学报(自然科学版),2019,56(3):537-543.
- [23] 陈蒙恩,赵聪,韩素娜,等.基于高通量测序的陶融型大曲微生物群落结构分析[J].食品科学,2021,42(8):106-113.
- [24] 尚雪娇,马磊,余海忠,等.基于 Miseq 测序技术的珞湾酸浆面浆水真菌多样性评价[J].食品研究与开发,2018,39(16):158-163.
- [25] 刘长根.我国传统发酵蔬菜微生物多样性比较[D].南昌:南昌大学,2019.
- [26] 蔡宏宇,葛东颖,马磊,等.基于 PCR-DGGE 研究珞湾酸浆水中细菌多样性及乳酸菌的分离鉴定[J].食品研究与开发,2018,39(15):149-153.
- [27] 魏本良,刘长根,肖阳生,等.基于 Illumina HiSeq 技术分析浆水中细菌多样性及理化性质[J].食品科学,2019,40(6):62-68.
- [28] CHEN Peng, WU Zhengrong, ZHAO Yang, et al. Cultivation-independent comprehensive investigations on bacterial communities in serofluid dish, a traditional Chinese fermented food [J]. Genomics Data, 2016, 7: 127-128.
- [29] 冯静,施庆珊,欧阳友生,等.葡糖醋杆菌的研究进展[J].化学与生物工程,2009,26(5):10-13.
- [30] 张轶,王玉丽,陈晓前,等.传统发酵食品-浆水中微生物的分离与初步鉴定[J].食品科学,2007,28(1):219-222.
- [31] 李倩倩.小西芹浆水发酵中的微生物与代谢物分析及其对小鼠肠道菌群的体外调节作用[D].西安:陕西师范大学,2018.