

# 红枣贮藏期果面微生物对碳源的利用及 主成分分析

沙月霞

(宁夏植物病虫害防治重点实验室 宁夏农林科学院植物保护研究所 宁夏 银川 750002)

**摘要:** Biolog 方法就是微生物在利用碳源过程中产生的自由电子, 与四唑盐染料发生还原显色反应, 颜色的深浅可以反映微生物对碳源的利用程度。采用 Biolog 方法, 研究红枣贮藏期果面微生物对 FF 和 ECO 微孔板上碳源的利用情况, 进行主成分分析(Principal component analysis, PCA)。羧酸类、吐温类、碳水化合物、酯类、氨基酸类及胺类碳源是红枣贮藏期果面微生物群落在 FF 和 ECO 微孔板上利用的主要碳源。随着贮藏时间的延长, 红枣果面微生物对碳源的利用情况差异较大, 用保鲜剂处理过的红枣果面微生物对碳源的利用远远低于未处理的红枣果面微生物, 而且贮藏时间越长, 果面微生物对碳源的利用程度越高。利用 ECO 微孔板上 31 种碳源作 PCA, 第一主成分特征值的贡献率为 78.54%, 第二主成分特征值的贡献率为 19.06%。

**关键词:** 红枣, 贮藏期, 果面微生物, 碳源利用, 主成分分析

## Principal component analysis of carbon source utilized by microorganism on the surface of stored jujube fruit

SHA Yue-Xia

(Key Laboratory of Ningxia Plant Disease and Insect Pests Control, Institute of Plant Protection, Ningxia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan, Ningxia 750002, China)

**Abstract:** Biolog is defined as the emitted electrons while the microorganisms utilize carbon source combine with tetrazolium salt dyestuff, then take place color-reduction reaction which show the difference of carbon source utilization. The utilizations were analyzed with principal component analysis (PCA). The main carbon source utilized by microbial on the jujube surface included carboxylic acids, amino acids, phenolic compounds, amine and tween. The utilization of carbon source showed the markedly increase with extend of the time the jujube stored. The utilization of carbon source from the

基金项目: 宁夏自然科学基金资助项目(No. NZ0753); 国家现代农业产业技术体系资助项目(No. nycytx-30-09)

\* 通讯作者: ✉: yuexiasha@126.com

收稿日期: 2010-07-07; 接受日期: 2010-11-10

microbial on the surface of the jujubes stored for 30 days was higher than that of 15 days. The utilization of carbon source of the microorganisms on the jujube surface after treating with fresh agents was low. Principal component analysis for 31 carbon source on the ECO microplate showed. Characteristic value contribution of PC 1 was 78.54% and characteristic value contribution of PC 2 was 19.06%.

**Keywords:** Jujube, Storage period, Fruit surface, Carbon source utilizing, Principal component analysis (PCA)

鼠李科(Rhamnaceae)植物枣(*Zizyphus jujuba* Mill.)是我国的原产果树之一<sup>[1]</sup>,已有数千年的栽培历史。枣树在我国分布面广,适应性强,品种多,风味好,深受广大群众的喜爱,已成为我国果树发展的新热点<sup>[2-3]</sup>。红枣营养成分丰富,富含维生素C,每100g果肉中维生素C含量高达400-600mg,其营养价值与保健、医疗功能正适合新时期人们崇尚营养保健果品的需求<sup>[2]</sup>。但红枣自然保鲜能力很差,在贮藏中果实极易感染微生物而引起腐烂变质失去商品价值,这一现状严重制约了我国红枣产业的健康发展<sup>[4-7]</sup>。枣果的采后病害可分为2种类型:一是生理病害,即由于生理活动受到不适宜的外界条件干扰而造成的;二是病理病害(侵染性病害),即由病原微生物引起的。

贮藏期侵染性病害是影响红枣贮藏效果的主要因素。枣的病原菌种类十分复杂,不同枣果病原菌的差异可能与品种有关,也可能与产地有关<sup>[8-10]</sup>。正常贮藏条件下一般在贮藏后期发病<sup>[11-13]</sup>。由于微生物对不同碳源的利用能力很大程度上取决于微生物的种类和固有性质,因此在一块微平板上测定微生物对不同唯一碳源的利用能力(Sole carbon source utilization, SCSU),就可以比较分析不同的微生物群落多样性。目前国内外利用Biolog方法研究环境微生物的报道很多,但有关红枣贮藏期果面微生物与碳源利用情况的报道极少。红枣的采后研究目前主要集中于采后衰老和品质下降的生理生化机制、贮藏环境条件及技术措施等方面的研究<sup>[14-15]</sup>。要控制枣果的采后病害,除了解决果实采后生理上的软化、褐变和发酵等问题,还需要在生理生化方面进一步明确红枣果面微生物的生理生化特性,从而探索果实采后病害防治技术和方法。本研究揭示了红枣贮藏期果面微生物对碳源的利用情况,希望为红

枣贮藏期病害的有效防控提供技术支撑,同时可以丰富果品贮藏期病害的研究内容。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 供试材料

供试品种:宁夏红枣(*Zizyphus jujuba* Mill.)。

样品采集及处理过程:2007年10月上旬按试验设计分别选取宁夏灵武市大泉林场品质一致的红枣进行手工采摘。采摘后的枣果按宁夏农林科学院质量监测中心生产的“枣果专用保鲜剂”的使用说明书,将保鲜剂稀释10倍,浸果1min,设立未处理对照。枣果从保鲜液中捞出后放入已消毒的周转箱中,每个周转箱的装量不超过5kg,最后把周转箱(底部用砖块、木头等垫起来10cm-20cm高)放在阴凉通风处预干燥8-10h。将不同处理的试验红枣按每袋500g的规格装入果品专用保鲜袋,放入冷库贮藏,冷库贮藏温度为-2℃-2℃。枣果入库前,提前1-2d将冷库的温度降到0℃左右,预冷24-48h,并对冷库、纸箱和塑料周转箱等采用臭氧进行杀菌消毒。

样本检测时间:分别在2007年9月下旬、10月下旬和2007年的11月上旬,即红枣采摘期(入库前5d)、入库贮藏15d和30d。

### 1.2 主要试剂和仪器

微孔板的类型:FF丝状真菌鉴定微孔板(MicroPlate for Filamentous Fungi)、ECO生态微孔板(MicroPlate for Microorganism Economic)。

主要试剂:0.9%的生理盐水。

主要仪器:Biolog Microsoft全自动微生物鉴定分型系统, Biolog电动八孔移液器, 无菌操作台。

### 1.3 试验设计

处理I(Treatment I):入库时用保鲜剂处理过的贮藏15d的红枣。对照I(Control I):入库时未

作任何处理的贮藏 15 d 的红枣。处理 II (Treatment II): 入库时用保鲜剂处理过的贮藏 30 d 的红枣。对照 II (Control II): 入库时未作任何处理的贮藏 30 d 的红枣。

#### 1.4 红枣贮藏期果面微生物群落组成

细菌和真菌的数量采用稀释平板法测定, 细菌鉴定按照《常见细菌系统鉴定手册》<sup>[16-17]</sup>, 真菌鉴定按《真菌鉴定手册》<sup>[18-20]</sup>进行初步鉴定。真菌培养用马铃薯蔗糖琼脂培养基(PDA), 细菌培养用牛肉膏蛋白胨培养基。

#### 1.5 红枣贮藏期果面微生物对碳源的利用

分别在红枣贮藏 15 d 和 30 d 时从未处理和用保鲜剂处理过的红枣中, 采用上、中、下 5 点取样的方法随机选取 10 颗健康鲜枣(果梗完好)放入 1 000 mL 已灭菌的生理盐水中, 充分振荡 30 min, 取菌悬液以 1:3 的比例稀释。将制备好的菌悬液倒入无菌移液槽中, 使用八孔移液器将其接种于微孔板的 96 孔中。接种量为 150  $\mu$ L/孔。接种好的微孔板盖紧盒盖后用保鲜膜包裹, 保鲜膜上用注射针头扎若干个小眼, 以保证微生物培养所需要的氧气, 放到铺有无菌纱布的塑料饭盒中, 为防止微孔板鉴定孔中的菌悬液挥发, 纱布保持一定的湿度, 将微孔板避光培养, 塑料饭盒使用前采用紫外灯消毒 2 h, 所有操作都在无菌操作台上进行。然后将 FF 鉴定微孔板放到人工气候箱 25  $^{\circ}$ C 恒温培养; ECO 生态板放到 30  $^{\circ}$ C

恒温培养。FF 和 ECO 微孔板分别在培养 24、48、72、96、120、144 h 时读数。测定波长为 590 nm。每 24 h 读数 1 次, 连续读数 6 d, 利用 EXCEL 和 DPS 软件对 FF 板和 ECO 板结果进行方差分析<sup>[21-28]</sup>, 从而明确红枣贮藏期果面微生物对碳源的利用程度。

#### 1.6 红枣贮藏期果面微生物对碳源利用的主成分分析

按 Garland 等<sup>[29-32]</sup>的方法, 将 ECO 板上的 31 种碳源分成 6 大类, 采用培养 96 h 的 Biolog 检测数据进行主成分分析, 选择对 PC 1 和 PC 2 有较高贡献率的碳源, 在主成分分析的基础上进行因子分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 红枣贮藏期果面微生物群落组成

采用传统微生物研究方法, 通过镜检鉴定初步确定了红枣贮藏期果面微生物的多样性。红枣贮藏期果面微生物种群中, 细菌是优势类群, 占微生物总数 80% 以上, 真菌较少(表 1); 采摘期红枣果面上就携带微生物(表 2), 真菌优势菌株属于链格孢属 (*Alternaria*), 其次为镰刀菌属 (*Fusarium*) 和木霉属 (*Trichoderma*), 贮藏期优势菌株属于链格孢属 (*Alternaria*)、青霉属 (*Penicillium*)、木霉属 (*Trichoderma*) 和镰刀菌属 (*Fusarium*), 曲霉属 (*Aspergillus*)、毛霉属 (*Mucor*) 和根霉属 (*Rhizopus*) 次之。

表 1 不同处理的红枣贮藏期果面微生物群落数量与组成 ( $\times 10^3$  个/颗)

Table 1 Quantity and composition of different fruit surface microorganism on jujube storage ( $\times 10^3$ )

试验设计 Experimental design	贮藏期 Storing time (d)	总数 Total number	真菌数量 Fungal quantity	细菌数量 Bacterial quantity
Control	采摘期	96.49 $\pm$ 5.72 dD	9.69 $\pm$ 0.44 eE	86.81 $\pm$ 2.46 eD
Control	15	106.32 $\pm$ 0.91 cC	11.20 $\pm$ 0.66 dD	95.12 $\pm$ 1.44 cC
	30	149.17 $\pm$ 2.61 bB	17.57 $\pm$ 1.89 cC	131.6 $\pm$ 1.02 bB
	45	308.19 $\pm$ 0.79 aA	27.91 $\pm$ 0.10 aA	280.29 $\pm$ 1.64 aA
Treatment	15	47.19 $\pm$ 0.93 fF	6.25 $\pm$ 0.27 fE	40.94 $\pm$ 0.34 gF
	30	69.36 $\pm$ 0.29 eE	11.14 $\pm$ 0.30 dD	58.22 $\pm$ 0.60 fE
	45	110.48 $\pm$ 1.69 cC	21.66 $\pm$ 1.03 bB	88.82 $\pm$ 0.19 dE

注: Control 是红枣在入库前未作任何处理; Treatment 是红枣入库前采用保鲜剂处理过; 表中数据为 3 次重复的平均值 $\pm$ 标准差; 同一列进行方差分析,  $P=0.01$  或  $\alpha=0.01$ 。

Note: Control: The jujubes were not used by fruit preservatives; Treatment: The jujubes were used by fruit preservatives; Numbers of table were average of 3 times experiments; The numbers of same column were variance analysis.  $P=0.01$  or  $\alpha=0.01$ .

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

表 2 宁夏红枣贮藏期果面真菌区系  
Table 2 The floristic composition of Fungi in Ningxia jujube surface on storage

处理 Treatment	贮藏期 Storing time (d)	真菌菌落检出频率 Rate of Fungial colony detection (%)					
		链格孢属 <i>Alternaria</i>	毛霉属 <i>Mucor</i>	青霉属 <i>Penicillium</i>	曲霉属 <i>Aspergillus</i>	木霉属 <i>Trichoderma</i>	镰刀菌属 <i>Fusarium</i>
Control	采摘期	54.59	1.66	8.68	2.30	6.47	17.42
Control	15	40.48	0.50	2.66	0.50	40.00	1.00
	30	14.83	0.00	44.51	14.29	0.30	7.69
	45	31.22	1.70	19.35	10.03	16.74	4.24
Treatment	15	26.35	6.45	12.91	0.00	0.00	0.00
	30	10.05	0.00	31.37	8.34	27.21	0.00
	45	31.22	1.70	19.35	10.03	16.74	4.24

注: 同表 1.

Note: The same as table 1.

## 2.2 红枣贮藏期果面微生物对碳源的利用

**2.2.1 红枣贮藏期果面微生物利用的碳源种类:** 采用 Biolog 方法分析红枣果面微生物对碳源的利用种类, 根据检测结果将所利用的碳源分成 6 类: 碳水化合物、羧酸类、氨基酸类、酯类、胺类和吐温类。FF 上共有 96 种碳源, 其中碳水化合物类有 46 种, 羧酸类 20 种, 氨基酸类 16 种, 酯类 2 种, 胺类 8 种, 吐温类 4 种。ECO 微孔板上共有 31 种碳源, 其中碳水化合物类 9 种, 羧酸类 8 种, 氨基酸类 5 种, 酯类 2 种, 胺类 4 种, 吐温 3 种。

**2.2.2 红枣贮藏期果面真菌区系对碳源的利用:** 试验结果表明: 羧酸类(表 7)、吐温类(表 8)、碳水化合物(表 3)、酯类(表 4)、氨基酸类(表 5)及胺类(表 6)碳源是红枣果面真菌区系的主要碳源; 而且随着贮藏时间的延长, 红枣贮藏期果面真菌区系对碳源的利用程度差异较大, 用保鲜剂处理过的红枣果面真菌区系对碳源的利用远远低于未处理的红枣果面真菌区系; 红枣贮藏时间越长, 果面真菌区系对碳源的利用程度越高。

4 个处理对碳水化合物的利用差异比较显著, 在整个培养时间内向上增长。处理 I 的增长较为缓慢, 对碳水化合物的利用程度也是最低的; 处理 II 与对照 II 的动态趋势一致。

不同处理的红枣果面真菌区系对酯类利用程度差异较大: 处理 I 对酯类碳源基本上没有利用; 对照 I 在 48 h 之前没有利用, 之后利用加快; 对照 II 利用酯类碳源 24 h 时的峰值接近 0.2, 之后呈一条直

线; 处理 II 对酯类 48 h 之前利用较快, 96 h 之后缓慢变化, 接近直线。

FF 板上处理 I 与对照 I 对氨基酸类的利用动态一致, 144 h 时达到峰值, 对照 I 的峰值高于处理 I 的峰值。处理 II 与对照 II 96 h 时对氨基酸的利用程度最高, 以后随培养时间的延长对碳源的利用降低。

不同处理的红枣果面真菌区系对胺类的利用程度差异较大: 对照 II 的胺类在培养 96 h 以后开始下降; 处理 II 在整个培养时间内呈上升趋势, 但 24-48 h 之间有一个短时间的下降; 处理 I 在整个培养时间内对胺类没有利用; 对照 I 48 h 后上升较快。

**2.2.3 红枣贮藏期果面细菌对碳源的利用:** 红枣在贮藏 15 d 时, 没有采用保鲜剂处理的红枣果面细菌在 ECO 板上对 6 类碳源有不同程度的利用, 尤其对羧酸类碳源的利用最高, 其次是吐温类碳源。羧酸类碳源在整个检测时间内从 0 h 培育开始直至 144 h 呈现直线上升趋势; 吐温类碳源在 24 h 时利用最高, 但随着培养时间的延长反而下降, 在 96 h 时较低, 从 96 h 到 144 h 利用又加强; 其他 4 种碳源动态变化趋势与吐温类相似。采用保鲜剂处理过的红枣果面微生物在 ECO 板上对碳水化合物的利用最高, 其次是羧酸类, 对其他类碳源的利用程度不高。碳水化合物与羧酸类碳源的动态趋势一致, 96 h 时数值最高, 从 96 h 开始微生物对碳水化合物和羧酸类碳源不再利用。

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

表 3 红枣果面真菌区系对碳水化合物类碳源的利用代谢  
Table 3 Metabolizing figure of carbohydrate compounds utilized by fungal on the jujube surface in storage

试验处理 Test treatment	测试时间 Time (h)					
	24	48	72	96	120	144
Control I	0.01±0.00 cC	0.05±0.00 cC	0.09±0.00 cC	0.16±0.04 cC	0.29±0.03 bBC	0.32±0.03 dBC
Treatment I	0.02±0.00 cC	0.02±0.00 cC	0.04±0.00 dC	0.05±0.02 dC	0.06±0.01 cC	0.07±0.01 cC
Control II	0.34±0.00 aA	0.38±0.00 aA	0.48±0.00 aA	0.60±0.08 aA	0.77±0.19 aA	0.92±0.02 aA
Treatment II	0.22±0.02 bB	0.28±0.04 bB	0.32±0.00 bB	0.34±0.04 bB	0.44±0.04 bB	0.53±0.18 bB

注: Treatment I: 入库时用保鲜剂处理过的贮藏 15 d 的红枣; Control I: 入库时未作任何处理的贮藏 15 d 的红枣; Treatment II: 入库时用保鲜剂处理过的贮藏 30 d 的红枣; Control II: 入库时未作任何处理的贮藏 30 d 的红枣. 表中数据为 3 次重复的平均值±标准差. 同一列进行方差分析,  $P=0.01$  或  $\alpha=0.01$ .

Note: Treatment I: The jujubes had been used by preservatives before storing and at stored 15 d; Control I: The jujubes had not been used by preservative before storing and at stored 15 d; Treatment II: The jujubes had been used by fruit preservatives, before storing and at stored 30 d; Control II: The jujubes had not been used by preservatives before storing and at stored 30 d. Numbers of table were average of 3 times experiments. The numbers of same column were variance analysis.  $P=0.01$  or  $\alpha=0.01$ .

表 4 红枣果面真菌区系对酯类碳源的利用代谢  
Table 4 Metabolizing figure of esters utilized by fungal on the jujube surface in storage

试验处理 Test treatment	测试时间 Time (h)					
	24	48	72	96	120	144
Control I	0.01±0.00 cC	0.01±0.01 cC	0.03±0.01 cC	0.12±0.02 cC	0.14±0.02 cB	0.14±0.02 cB
Treatment I	0.01±0.00 cC	0.01±0.00 cC	0.01±0.00 dD	0.00±0.00 dD	0.01±0.00 dC	0.01±0.00 dC
Control II	0.16±0.04 aA	0.16±0.01 aA	0.17±0.01 aA	0.18±0.00 aA	0.18±0.01 aA	0.18±0.01 aA
Treatment II	0.30±0.00 bB	0.73±0.01 bB	0.80±0.01 bB	0.83±0.02 bB	0.83±0.02 bB	0.83±0.03 bB

注: 同表 3.

Note: The same as table 3.

表 5 红枣果面真菌区系对氨基酸类碳源的利用代谢  
Table 5 Metabolizing figure of amino acids utilized by fungal on the jujube surface in storage

试验处理 Test treatment	测试时间 Time (h)					
	24	48	72	96	120	144
Control I	0.01±0.00 cC	0.02±0.00 cC	0.20±0.01 cC	0.31±0.04 cB	0.46±0.02 cC	0.49±0.06 cC
Treatment I	0.01±0.00 cC	0.01±0.00 dD	0.01±0.00 dC	0.01±0.01 bB	0.09±0.02 bB	0.10±0.02 bB
Control II	0.41±0.02 aA	0.89±0.01 aA	1.06±0.04 aA	1.19±0.19 aA	1.06±0.04 aA	0.86±0.07 aA
Treatment II	0.33±0.02 bB	0.64±0.00 bB	0.91±0.01 bB	1.03±0.03 aA	1.01±0.02 aA	0.58±0.12 aA

注: 同表 3.

Note: The same as table 3.

红枣在贮藏 30 d 时, 两个处理对碳源的利用程度明显比贮藏 15 d 复杂. 采用保鲜剂处理的红枣果面细菌对 6 类碳源都有不同程度的利用, 对羧酸类碳水化合物和吐温类利用较高. 没有采用保鲜剂处理过的红枣果面细菌对碳水化合物的利用最高, 其次是氨基酸类和羧酸类, 这 3 类碳源的变化趋势大约一致.

表 7 结果显示: 是否采用保鲜剂处理对红枣贮藏期果面细菌对羧酸类碳源的利用影响不是很大, 贮藏期时间的长短是影响细菌对羧酸类碳源利用的主要因素. 但从测定数据来看, 采用保鲜剂处理之后, 红枣贮藏期果面细菌对羧酸类碳源的利用低于对照数据, 说明采用保鲜剂处理之后在一定程度上可以抑制细菌对羧酸类化学物质的利用.

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

表 8 结果表明: 几个处理的红枣贮藏期果面细菌在贮藏 15 d 时对吐温类碳源不利用, 当贮藏 30 d 时, 对照 II 的果面细菌对吐温类碳源利用程度明显, 但与处理 II 差异不显著。

表 9 结果表明: 采用保鲜剂处理后有效地抑制了细菌的活动, 当红枣贮藏 15 d, 处理 I 对碳水化合物基本不利用, 但对照 I 在培养 144 h 时有一定程度的利用; 贮藏到 30 d 时, 对照 II 和处理 II 的数值差异很明显。

表 10 结果表明: 几个不同处理的红枣贮藏期果

面细菌对酚类化合物的利用没有差异; 但测定数据显示, 当贮藏到 30 d, 果面细菌对酚类化合物产生一定程度的利用, 但利用程度不高。

表 11 结果表明: 几个不同处理的红枣贮藏期果面细菌对胺类碳源的利用差异不明显; 但随着贮藏时间的延长, 果面细菌对胺类碳源的利用加强。

表 12 结果表明: 几个不同处理的红枣贮藏期果面细菌对氨基酸类碳源的利用差异显著, 而且从数据来看, 随着贮藏时间的延长, 果面细菌对氨基酸类碳源的利用程度很高。

表 6 红枣果面真菌区系对胺类碳源的利用代谢  
Table 6 Metabolizing figure of amine utilized by fungal on the jujube surface in storage

试验处理 Test treatment	测试时间 Time (h)					
	24	48	72	96	120	144
Control I	0.04±0.01 cC	0.06±0.01 cC	0.17±0.03 cC	0.24±0.03 cC	0.28±0.01 bB	0.27±0.02 cC
Treatment I	0.01±0.00 cC	0.01±0.00 cC	0.01±0.01 dD	0.01±0.01 dD	0.01±0.01 cC	0.02±0.00 cC
Control II	0.48±0.00 aA	0.74±0.01 aA	0.74±0.02 aA	0.74±0.02 aA	0.60±0.08 aA	0.47±0.03 aA
Treatment II	0.16±0.02 bB	0.14±0.01 bB	0.25±0.03 bB	0.32±0.02 bB	0.33±0.07 bB	0.39±0.02 bB

注: 同表 3.

Note: The same as table 3.

表 7 红枣果面细菌区系对羧酸类碳源的利用代谢  
Table 7 Metabolizing figure of carboxylic acids utilized by bacteria on the jujube surface in storage

试验处理 Test treatment	测试时间 Time (h)					
	24	48	72	96	120	144
Control I	0.01±0.01 bB	0.08±0.07 bB	0.22±0.12 cC	0.20±0.14 cB	0.21±0.14 bB	0.22±0.14 bB
Treatment I	0.02±0.01 bB	0.03±0.04 bB	0.04±0.07 cC	0.06±0.10 cB	0.06±0.09 bB	0.06±0.09 bB
Control II	0.60±0.25 aA	0.86±0.24 aA	1.32±0.11 aA	1.33±0.02 aA	1.36±0.09 aA	1.37±0.09 aA
Treatment II	0.44±0.19 aA	0.62±0.26 aA	0.77±0.30 bB	1.00±0.25 aA	1.08±0.31 aA	1.12±0.60 aA

注: 同表 3.

Note: The same as table 3.

表 8 红枣果面细菌区系对吐温类碳源的利用代谢  
Table 8 Metabolizing figure of the Tween utilized by bacteria on the jujube surface in storage

试验处理 Test treatment	测试时间 Time (h)					
	24	48	72	96	120	144
Control I	0.01±0.01 bA	0.01±0.01 cC	0.02±0.01 cB	0.03±0.01 cC	0.04±0.01 bB	0.04±0.01 bB
Treatment I	0.02±0.02 bA	0.02±0.01 cC	0.01±0.01 cB	0.01±0.01 cC	0.02±0.01 bB	0.02±0.01 bB
Control II	0.37±0.11 aA	0.64±0.11 aA	1.22±0.39 aA	1.07±0.28 aA	1.20±0.38 aA	1.04±0.30 aA
Treatment II	0.16±0.26 abA	0.39±0.12 bA	0.58±0.13 bAB	0.59±0.07 bB	1.11±0.20 aA	1.43±0.63 aA

注: 同表 3.

Note: The same as table 3.

<http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>

表 9 红枣果面细菌区系对碳水化合物类碳源的利用代谢  
Table 9 Metabolizing figure of carbohydrate compounds utilized by bacteria on the jujube surface in storage

试验处理 Test treatment	测试时间 Time (h)					
	24	48	72	96	120	144
Control I	0.17±0.02 abA	0.46±0.07 abA	0.53±0.10 bcB	0.53±0.09 bBC	0.54±0.09 cC	0.55±0.09 cBC
Treatment I	0.01±0.01 bA	0.01±0.01 bA	0.01±0.01 cB	0.01±0.01 cC	0.01±0.01 dD	0.01±0.01 dC
Control II	0.68±0.51 bA	0.95±0.51 aA	1.76±0.11 aA	1.74±0.08 aA	1.84±0.08 aA	1.80±0.10 aA
Treatment II	0.55±0.42 abA	0.70±0.51 abA	0.82±0.56 bB	0.83±0.40 bB	1.02±0.5 bB	1.05±0.30 bB

注: 同表 3.

Note: The same as table 3.

表 10 红枣果面细菌区系对酚类化合物类碳源的利用代谢  
Table 10 Metabolizing figure of phenolic compounds utilized by bacteria on the jujube surface in storage

试验处理 Test treatment	测试时间 Time (h)					
	24	48	72	96	120	144
Control I	0.01±0.01 aA	0.02±0.01 aA	0.02±0.01 aA	0.01±0.01 aA	0.01±0.01 aA	0.01±0.01 aA
Treatment I	0.01±0.01 aA	0.01±0.01 aA	0.01±0.01 aA	0.03±0.03 aA	0.01±0.01 aA	0.01±0.0 aA
Control II	0.24±0.34 aA	0.50±0.35 aA	0.58±0.11 aA	0.47±0.01 abA	0.58±0.03 abA	0.30±0.03 abA
Treatment II	0.16±0.26 aA	0.26±0.34 aA	0.36±0.40 aA	0.76±0.48 aA	0.79±0.61 aA	0.76±0.63 aA

注: 同表 3.

Note: The same as table 3.

表 11 红枣果面细菌区系对胺类化合物类碳源的利用代谢  
Table 11 Metabolizing figure of amine utilized by bacteria on the jujube surface in storage

试验处理 Test treatment	测试时间 Time (h)					
	24	48	72	96	120	144
Control I	0.01±0.01 bA	0.02±0.01 bA	0.01±0.01 aA	0.04±0.01 aA	0.05±0.01 aA	0.05±0.01 aA
Treatment I	0.01±0.01 bA	0.02±0.02 bA	0.01±0.01 aA	0.01±0.01 aA	0.04±0.04 aA	0.04±0.44 aA
Control II	0.37±0.25 aA	0.49±0.38 aA	0.30±0.11 aA	0.36±0.13 aA	0.41±0.07 aA	0.40±0.07 aA
Treatment II	0.19±0.30 abA	0.24±0.39 abA	0.27±0.38 aA	0.26±0.37 aA	0.25±0.34 aA	0.24±0.34 aA

注: 同表 3.

Note: The same as table 3.

表 12 红枣果面细菌区系对氨基酸类化合物类碳源的利用代谢  
Table 12 Metabolizing figure of amino acids utilized by bacteria on the jujube surface in storage

试验处理 Test treatment	测试时间 Time (h)					
	24	48	72	96	120	144
Control I	0.01±0.01 aA	0.02±0.01 aA	0.03±0.01 cB	0.06±0.01 cB	0.03±0.03 bB	0.04±0.03 bB
Treatment I	0.01±0.01 aA	0.01±0.01 aA	0.01±0.01 cB	0.01±0.01 cB	0.01±0.01 bB	0.02±0.01 bB
Control II	0.44±0.57 aA	0.70±0.57 aA	1.45±0.12 aA	1.54±0.03 aA	1.57±0.03 aA	1.54±0.08 aA
Treatment II	0.39±0.36 aA	0.46±0.58 aA	0.72±0.53 bAB	0.94±0.45 bA	1.20±0.37 aA	1.12±0.88 aAB

注: 同表 3.

Note: The same as table 3.

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

### 2.3 红枣贮藏期果面微生物多样性的主成分分析

主成分分析(PCA)是把多个指标化为少数几个综合指标的一种统计分析,可以将不同处理的红枣果面微生物对 31 种碳源利用的多元向量变换为互不相关的 6 类碳源主元向量空间中,用点的位置直观地反映出不同处理红枣果面微生物群落功能多样性变化,可用于解释微生物对碳源利用的多样性。由图 1 可知,不同处理的红枣贮藏期果面微生物利用碳源的情况存在显著差异。4 种处理样品在主成分坐标中处于不同象限,呈现明显的空间分布,说明对碳源的利用种类、程度出现了差异,群落结构和功能多样性发生了较大变化。

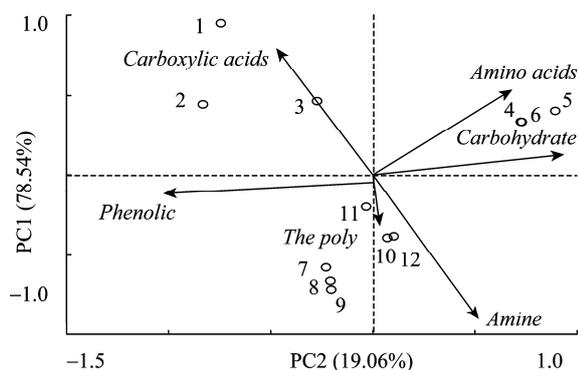


图 1 红枣贮藏期果面微生物多样性的主成分分析

Fig. 1 Principal component analysis (PCA) for stored jujube surface microbial communities

Note: 1-3: Treatment II; 4-5: Control II; 7-9: Control I; 10-12: Treatment I.

利用 ECO 微孔板上 31 种碳源作 PCA 主成分分析,第一主成份特征值的贡献率为 78.54%,第二主成份特征值的贡献率为 19.06%,因而能很好地区分红枣贮藏期果面微生物的种群多样性。图中各处理点的分布差异很大,明显分离:处理 II 分布于 PC1 的负轴,对照 II 分布于 PC1 的正轴,对照 I 分布在 PC2 负轴方向,处理 I 也分布在 PC2 负轴接近原点附近。由此可见,采用保鲜剂处理与否对红枣贮藏期果面微生物群落多样性产生了很大的影响,而贮藏时间的长短也决定了红枣贮藏期果面微生物能否在主成分上实现分离。

### 2.4 红枣贮藏期果面微生物多样性的因子分析

因子分析与主成分分析有很大的区别,主成分

分析不能作为一个模型来描述,它只能作通常的变量变换,而因子分析需要构造因子模型;主成分分析将主分量表示为原观测变量的线性组合,而因子分析将原观测变量表示为新因子的线性组合,即为新因子的综合指标<sup>[7]</sup>。所以,因子分析是主成分分析的发展和延伸。以 31 种碳源做主成分因子分析,分析结果显示前 5 个主分量所构成的信息量为总信息量的 92.51%,几乎反映了全部信息。Biolog 数据的因子分析通常反映了微生物群落的生理轮廓,是其群落结构和功能多样化的具体体现。

## 3 结论

从试验的结果来看,红枣贮藏期果面微生物种群中,细菌是优势类群,占微生物总数 80%以上,真菌主要区系是链格孢属(*Alternaria*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、木霉属(*Trichoderma*)、青霉属(*Penicillium*)、木霉属(*Trichoderma*)、曲霉属(*Aspergillus*)、毛霉属(*Mucor*)和根霉属(*Rhizopus*)。红枣在不同贮藏时间内果面微生物群落的多样性差异很大,贮藏时间越长微生物对不同碳源的利用程度越高;采用保鲜剂处理后红枣果面微生物群落对碳源的利用也较低,说明采用保鲜剂对果面微生物有明显的抑制作用。4 种不同处理的红枣果面微生物的特征碳源主要有 6 类:碳水化合物类、羧酸类、吐温类、酚类化合物、氨基酸类、胺类。利用 ECO 微孔板上 31 种碳源作 PCA 主成份分析,第一主成份特征值的贡献率为 78.54%,第二主成份特征值的贡献率为 19.06%。

Biolog 方法用于环境微生物群落研究,灵敏度高,分辨力强,测定简便。对多种 SCSU 的测定可以得到被测微生物群落的代谢特征指纹(Metabolic finger-print),分辨微生物群落的微小变化。无需分离培养纯种微生物,可最大限度地保留微生物群落原有的代谢特征。微生物对不同碳源代谢能力的测定在一块微平板上一次完成,效率大大提高。主成分分析也称主分量分析,旨在利用降维的思想,把多指标转化为少数几个综合指标。在统计学中,主成分分析(Principal components analysis, PCA)是一

种简化数据集的技术。它是一个线性变换。这个变换把数据变换到一个新的坐标系统中,使得任何数据投影的第一大方差在第一个坐标(称为第一主成分)上,第二大方差在第二个坐标(第二主成分)上,依次类推。

我国是水果种植大国,贮藏保鲜占有很大的市场份额,贮藏病害已经是影响果品商品价值的重要因素,尤其病原菌的种类复杂,既有真菌也有细菌,而且往往是多种病原菌复合侵染所致,因而贮藏期果品果面微生物的群落结构变化很大,多样性信息难以捕捉。本研究采用 Biolog 方法对红枣贮藏期果面微生物多样性分析研究,了解了红枣贮藏期果面微生物的区系,明确了红枣果面微生物对 FF 板和 ECO 板碳源的利用程度,为红枣贮藏期贮藏病害的防控提供技术支撑,同时也可以丰富环境微生物多样性的研究内容。

## 参 考 文 献

- [1] 曲泽洲,王永蕙. 中国果树志[M]. 北京: 中国林业出版社,1993: 229.
- [2] 刘孟军. 枣属植物分类学研究进展——文献综述[J]. 园艺学报,1999,26(5): 302-308.
- [3] 王亚萍,王贵禧,李艳菊. 鲜枣贮藏期病害研究进展[J]. 果树学报,2005,22(4): 376-380.
- [4] 吴兴梅,孙蕾,刘元铅,等. 冬枣贮藏期主要病害的研究[J]. 经济林研究,2003,21(2): 19-22.
- [5] 魏天军,魏象廷. 中国枣果实病害研究进展[J]. 西北农业学报,2006,15(1): 88-94.
- [6] 沙月霞,王国珍,陈慧娟. 宁夏主要优特农产品贮藏病害发生种类的初步研究[J]. 宁夏农林科技,2007(1): 12-14.
- [7] 张玮,饶景萍,李孔文,等. 低温冷藏下的冬枣某些生理指标变化和保鲜效应[J]. 植物生理学通讯,2006,42(2): 221-224.
- [8] 刘艳,叶建仁. 植物病害潜伏侵染研究进展[J]. 南京林业大学学报,2000,24(5): 69-72.
- [9] 辛玉成,王贵禧,崔卫东,等. 沾化冬枣果实病害的发生与生态相关性研究初报[J]. 莱阳农学院学报,2003,20(4): 255-257.
- [10] Prusky D, Falik E. Hot water brush: a new method for the control of post harvest disease caused by *ahemaria* rot in mango fruits[J]. *Postharvest Biol Tec*, 2002, 24: 780-785.
- [11] Prusky D, Dani E, Liana K. Postharvest chlorine treatments for the control of the persimmon black spot disease caused by *Alternaria alternaria*[J]. *Postharvest Biol Tec*, 2001, 22(3): 271-277.
- [12] 吴兴梅,孙蕾,刘元铅,等. 冬枣贮藏期主要病害的研究[J]. 经济林研究,2003,21(2): 19-22.
- [13] 张立震,康绍兰,刘春琴,等. 金丝小枣果实病害病原菌研究[J]. 林业科学,2004,40(6): 190-193.
- [14] 王连平,王汉荣,孙华,等. 果桑果实真菌区系及贮藏病害研究[J]. 浙江农业学报,2004,16(5): 329-331.
- [15] 郝林,王如福,郝利平. 鲜枣低温贮藏主要致腐真菌的研究[J]. 中国果树,2000(2): 31-32.
- [16] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社,2001: 370-410.
- [17] 郑华,陈法霖,欧阳志云,等. 不同森林土壤微生物群落对 Biolog-GN 板碳源的利用[J]. 环境科学,2007,28(5): 1126-1130.
- [18] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社,1979: 129-136.
- [19] 李岩,焦惠,徐丽娟,等. AM 真菌群落结构与功能研究进展[J]. 生态学报,2010,30(4): 1089-1096.
- [20] 李春格,李晓鸣,王敬国. 大豆连作对土体和根际微生物群落功能的影响[J]. 生态学报,2006,26(4): 1144-1150.
- [21] Preston Mafham J, Boddy L, Randerson PF. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilization profiles—a critique[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, 42: 1-14.
- [22] 席劲瑛,胡洪营,姜健,等. 生物过滤塔中微生物群落的代谢特性[J]. 环境科学,2005,26(4): 165-170.
- [23] Gyllenberg M, Koski T, Dawyndt P, et al. New methods for the analysis of binarized BIOLOG GN data of *Vibrio* species: minimization of stochastic complexity and cumulative classification[J]. *Syst Appl Microbiol*, 2002, 25(3): 403-415.
- [24] 刘开朗,王加启,卜登攀,等. 环境微生物群落结构与功能多样性研究方法[J]. 生态学报,2010,30(4): 1074-1080.
- [25] Grove JA. Assessment of the potential functional diversity of the bacterial community in a biofilter[D]. A thesis pre-

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

- sented to the University of Waterloo in fulfillment of the thesis requirement for the degree of Doctor of Philosophy in Chemical Engineering, Canada, 2006.
- [26] 徐华勤, 肖润林, 邹冬生, 等. 长期施肥对茶园土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(8): 3355-3361.
- [27] Garland JL, Mills AL, Young JS. Relative effectiveness of kinetic analysis vs single point readings for classifying environmental samples based on community-level physiological profiles (CLPP)[J]. Soil Biolog Biochem, 2001, 33(7/8): 1059-1066.
- [28] 刘岳燕, 姚槐应, 黄昌勇. 水分条件对水稻土微生物群落多样性及活性的影响[J]. 土壤学报, 2006, 43(5): 828-834.
- [29] 滕应, 骆永明, 李振高. 污染土壤的微生物多样性研究[J]. 土壤学报, 2006, 43(6): 1010-1026.
- [30] 焦晓丹, 吴凤芝. 土壤微生物多样性研究方法的进展[J]. 土壤通报, 2004, 35(6): 789-792.
- [31] 章家恩, 蔡燕飞, 高爱霞, 等. 土壤微生物多样性实验研究方法概述[J]. 土壤, 2004, 36(4): 346-350.
- [32] 王雪梅, 曲建升, 李延梅, 等. 生物多样性国际研究态势分析[J]. 生态学报, 2010, 30(4): 1066-1073.

### 2011年中国微生物学会及各专业委员会学术活动计划表(2-1)

序号	会议名称	主办单位	时间	人数	地点	联系人
1	传染病防控研讨会暨伍连德举办“万国鼠疫研究会”100周年纪念大会	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	4月 2-3日	200	黑龙江 哈尔滨	杨瑞馥 ruifuyang@gmail.com
2	International Symposium on <i>Salmonella</i> and Other Enteric Bacteria: Genomics and Biology	中国微生物学会分析微生物学专业委员会	5月 8-11日	200	黑龙江 哈尔滨	刘树林 slliu@ucalgary.ca
3	Inaugural conference of Bergey's International Society for Microbial Systematics	中国微生物学会	5月 19-23日	300	北京	刘梅 010-62538564
4	农业污染物的微生物转化与修复学术研讨会	中国微生物学会农业微生物学专业委员会	5-6月	80	湖北 武汉	黄巧云 qyhuang@mail.hzau.edu.cn
5	第十二届微生物学教学和科研及成果产业化研讨会	中国微生物学会基础、农业微生物学专业委员会	7月 12-15日	150	广西 南宁	冯家勋 0771-323270736
6	全国第三届海洋微生物研讨会	中国微生物学会海洋微生物学专业委员会	8月	100	山东 济南	张玉忠 13969185852
7	第十届中国全国生物毒素学术研讨会	中国微生物学会微生物毒素专业委员会	8月 17-19日	200	吉林 长春	王景林 010-66948531
8	生物制品质量控制国际研讨会	中国微生物学会生物制品专业委员会	9月	200	四川 成都	徐苗 010-67095438
9	第二届中国临床微生物学大会暨微生物学与免疫学论坛	中国微生物学会临床微生物学专业委员会	9月	400	四川 成都	刘辉 0852-8608272

<http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>