

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.81091

采后龙眼不同货架期真菌多样性及毒素测定分析

高云慨^{1,2} 黄勇平^{1,2} 汤祝华^{1,2} 邓 浩^{3,4} 尹青春^{1,2}

(1. 海南省检验检测研究院食品检验检测中心, 海南 海口 570100; 2. 国家市场监督管理总局重点实验室(热带果蔬质量与安全), 海南 海口 570100; 3. 海南省农业科学院农产品加工设计研究所, 海南 海口 571100; 4. 海南省热带果蔬冷链研究重点实验室, 海南 海口 571100)

摘要: [目的] 探究采后龙眼不同货架期真菌群落结构差异及真菌毒素污染情况。[方法] 采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术对采后龙眼室温(25℃)及冷藏贮藏(4℃)下真菌多样性进行分析。同时利用超高效液相色谱—串联质谱法对龙眼样本进行 44 种真菌毒素的含量分析, 识别毒素风险危害。[结果] 随着货架期的延长, 采后龙眼果实在室温贮藏过程中真菌多样性和丰富度呈先上升后下降的趋势, 而冷藏贮藏过程中则呈先升高后降低再升高的变化趋势。在属水平上, 室温贮藏中(1~2 d)、后期(6~7 d)优势菌属为毛色二孢属(*Lasiodiplodia*), 相对丰度为 77.55%~99.46%。冷藏贮藏中(10~18 d)、后期(21~24 d)优势菌属为假丝酵母属(*Candida*)和有孢圆酵母属(*Torulaspora*), 相对丰度分别为 78.22% 和 12.62%。毒素测定分析结果显示, 在室温及冷藏贮藏过程中均未检测到真菌毒素。[结论] 采后龙眼样品在室温及冷藏贮藏条件下, 果肉部分受真菌毒素的污染风险较低; 龙眼果实货架期腐烂变质主要由毛色二孢属侵染引起, 冷藏贮藏条件下龙眼货架期的延长, 主要原因是毛色二孢属的生长受到抑制。

关键词: 龙眼; 高通量测序; 多样性; 超高效液相色谱—串联质谱法; 真菌毒素

Fungal diversity and mycotoxins at different shelf-life stages of postharvest longan

GAO Yunkai^{1,2} HUANG Yongping^{1,2} TANG Zhuhua^{1,2} DENG Hao^{3,4} YIN Qingchun^{1,2}

(1. Institute of Food Testing, Hainan Academy of Inspection and Testing, Haikou, Hainan 570100, China; 2. Key Laboratory of Tropical Fruits and Vegetables Quality and Safety, State Administration for Market Regulation, Haikou, Hainan 570100, China; 3. Institute of Agro-products Processing and Design, Hainan Academy of Agricultural Science, Haikou, Hainan 571100, China; 4. Hainan Tropical Fruit and Vegetable Cold-Chain Key Laboratory, Haikou, Hainan 571100, China)

Abstract: [Objective] To investigate the differences in fungal community structure and mycotoxin contamination during different shelf-life stages of postharvest longan. [Methods] Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology was used to analyze the fungal diversity of postharvest longan under room temperature storage (25℃) and cold storage (4℃). Meanwhile, ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) was used to analyze the levels of 44 mycotoxins in longan samples to identify potential toxin-related hazards. [Results] With the extension of shelf life, the fungal diversity and richness of postharvest longan fruit under room temperature storage showed a trend of first increasing and then decreasing, while under cold storage, it showed a trend of increasing, then decreasing, and increasing again. At the genus level, *Lasiodiplodia* was the dominant genus during the early (1~2 d) and late (6~7 d)

基金项目: 海南省“南海新星”科技创新人才平台项目(编号:NHXXRCXM202346); 国家市场监督管理总局科技计划项目(编号:2022MK104); 国家自然科学基金(地区科学基金项目)(编号:32460571); 国家市场监督管理总局重点实验室(热带果蔬质量与安全)自主研究课题(编号:ZZ-2023007)

通信作者: 尹青春(1986—), 女, 海南省检验检测研究院食品检验检测中心高级工程师, 硕士。E-mail: yinqingchun@163.com

收稿日期: 2024-10-25 **改回日期:** 2025-06-16

引用格式: 高云慨, 黄勇平, 汤祝华, 等. 采后龙眼不同货架期真菌多样性及毒素测定分析[J]. 食品与机械, 2025, 41(9): 58-66.

Citation: GAO Yunkai, HUANG Yongping, TANG Zhuhua, et al. Fungal diversity and mycotoxins at different shelf-life stages of postharvest longan[J]. Food & Machinery, 2025, 41(9): 58-66.

stages of room temperature storage, with relative abundances ranging from 77.55% to 99.46%. Under cold storage, *Candida* and *Torulaspora* were dominant during the middle (10–18 d) and late (21–24 d) stages, with relative abundances of 78.22% and 12.62%, respectively. Mycotoxin analysis showed that no mycotoxins were detected during either room temperature or cold storage. [Conclusion] The pulp of postharvest longan exhibits a low risk of mycotoxin contamination under both room temperature and cold storage conditions. Spoilage during the shelf life of longan fruit is mainly caused by infection with *Lasiodiplodia*. The extended shelf life under cold storage is primarily due to the inhibited growth of *Lasiodiplodia*.

Keywords: longan; high-throughput sequencing; diversity; UPLC-MS/MS; mycotoxins

龙眼(*Dimocarpus longan* Lour.)又称桂圆,主要分布在中国广东、广西、福建、台湾、海南等地区^[1]。其果肉含有丰富的糖类、多酚类、氨基酸类、核苷类、萜类等活性物质,具有免疫调节、抗炎、抗肿瘤、抗氧化、抗疲劳等功能^[2–4]。龙眼果实成熟和采收集中于高温高湿的8—9月份,采后果实生理活动旺盛,易受到病原菌的侵染而导致果实腐烂^[5]。研究^[6]表明,影响采后龙眼果实货架期的主要因素是真菌病害。张居念等^[7]采用果肉分离法从健康果实中分离得到潜伏性病原菌——可可毛色二孢和拟茎点霉,并认为二者是引起龙眼果实贮藏期腐烂的主要病原真菌。刘爱媛等^[8]研究发现,龙眼从幼果期开始就存在炭疽病菌的潜伏侵染,侵染率高的龙眼果实采后货架期较短。

真菌毒素是由产毒真菌在特定条件下产生的有毒次生代谢产物,广泛存在于采后水果及其制品中^[9–10]。其种类繁多、稳定性强,会随受污染的水果直接被人畜摄入或进入加工环节,最终对消费者产生潜在的健康风险^[11]。目前,中国《食品安全国家标准 食品中真菌毒素限量》(GB 2761—2017)在水果及其制品仅规定了展青霉素限量,其他真菌毒素的限量目前未作要求^[12]。但水果表面可能存在青霉菌、炭疽菌、地霉菌、曲霉菌、交链孢、拟盘多毛孢、枝孢霉、镰刀菌、根霉菌、粉红聚端孢、假链格孢、霜疫霉、酵母菌等多种真菌的污染^[13]。长期以来,人们常采用去除水果腐烂部分的方式来降低真菌污染导致的风险,但腐烂部位周围健康组织也可能存在真菌毒素^[14]。

龙眼采后常采用常温或低温贮藏,其中低温贮藏能抑制微生物的生长繁殖、降低水果的呼吸相关酶的活性,从而保持采后龙眼品质及延长其货架期,是目前应用较为广泛的保鲜方法之一^[15]。目前有关采后龙眼病原真菌的研究大多采用传统分离培养的方式,该方式难于对货架期间真菌群落及毒素污染进行全面分析评估。研究拟采用Illumina MiSeq高通量测序技术对采后龙眼不同贮藏方式下货架期进行真菌多样性及群落结构分析,同时通过UHPLC-MS/MS技术进行真菌毒素测定,以期探究影响采后龙眼货架期病害的发生规律及毒素污染情况,为采后龙眼的保鲜及毒素风险评估提供技术参考及理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

龙眼果实:采收于海南乐东果园,采用五点取样法,

随机挑选无病虫害、长势一致果实,采集后于当天运回实验室后用超纯水冲洗,自然晾干后备用。

1.2 仪器与试剂

质谱仪:Triple Quad™ 4500型,美国AB SCIEX公司;
电子分析天平:XS204型,瑞士Mettler Toledo公司;
冷冻离心机:5804R型,德国Eppendorf公司;
超声波器:SK7200型,上海科导超声仪器有限公司;
超净工作台:BCM-1000型,苏州净化设备有限公司;
乙腈、甲醇:色谱纯,美国Merck公司;
固相萃取柱:Waters PRiME HLB(200 mg, 6 mL)型,美国Waters公司;

44种真菌毒素标准品(见表1):天津阿尔塔科技有限公司、青岛普瑞邦生物工程有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品制备 将清洗晾干后的龙眼果实放置于干净的筐中翻转混匀后随机分为室温组和冷藏组,各组别果实数量均满足后续取样要求。室温组样品放置于25℃环境中贮藏,冷藏组放置于4℃冰箱贮藏。室温组样品每间隔1d进行一次取样处理,分别记为RT1~RT7;冷藏组样品前15d每间隔5d进行一次取样处理,后续每3d进行一次取样处理,分别记为LT1~LT24。每个处理3个平行,每个平行6个果实。

1.3.2 样品采集 在超净工作台将各待处理样品用无菌镊子去除果核及果皮后将果肉置于无菌均质器进行均匀。均质后样品分为三部分,一部分保存在-80℃冰箱中,用于真菌多样性测序分析;一部分用于真菌毒素测定;另一部分放置于-80℃冰箱留样备用。

1.3.3 样品前处理 参照尹青春等^[16]的方法稍加改进,称取2g试样于50mL离心管中,旋涡混匀后静置5min,加入10mL体积分数80%的乙腈水溶液(含体积分数1%的乙酸),涡旋混匀后超声提取15min,分别加入0.5g氯化钠和2.0g无水硫酸镁,快速涡旋混合1min,以10000r/min离心5min,吸取5mL上清液至分散固相萃取管中(85mg C₁₈+20mg PSA),涡旋混匀1min,10000r/min离心5min,上清液于40℃下氮吹近干,用1.0mL体积分数25%乙腈水溶液充分溶解,经有机滤膜(0.22μm)过滤后采用UPLC-MS/MS进行分析。

1.3.4 基质混合标准溶液的配制 分别称取或吸取44种

表 1 44 种真菌毒素标准溶液配制信息
Table 1 Information on the preparation of standard solutions for 44 mycotoxins

真菌毒素	缩写	质量浓度/质量	储备液质量浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	取样量(定容 10 mL)/mL	最终质量浓度/ ($\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)
伏马菌素 B ₁	FB ₁	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.0	0.200	400
伏马菌素 B ₂	FB ₂	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.0	0.200	400
伏马菌素 B ₃	FB ₃	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.0	0.200	400
黄曲霉毒素 B ₁	AFB ₁	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	10.0	0.050	50
黄曲霉毒素 B ₂	AFB ₂	3 mg/L	0.6	0.833	50
黄曲霉毒素 G ₁	AFG ₁	3 mg/L	0.6	0.833	50
黄曲霉毒素 G ₂	AFG ₂	3 mg/L	0.6	0.833	50
黄曲霉毒素 M ₁	AFM ₁	0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	10.0	0.050	50
黄曲霉毒素 M ₂	AFM ₂	10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1.0	0.500	50
赈曲霉素 A	OTA	1.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$	10.0	0.100	100
赈曲霉素 B	OTB	10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	2.0	0.500	100
赈曲霉素 C	OTC	0.5 mg	100.0	0.010	100
赈曲霉素 α	OT α	10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	2.0	0.500	100
脱氧雪腐镰刀菌烯醇	DON	200 mg/L	40.0	0.100	400
去环氧-脱氧雪腐镰刀菌烯醇	DOM	50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	10.0	0.400	400
15-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	15-ADON	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.0	0.200	400
3-乙酰脱氧雪腐镰刀菌烯醇	3-ADON	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.0	0.200	400
脱氧雪腐镰刀菌烯醇-3-葡萄糖苷	D3G	50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	10.0	0.400	400
镰刀菌酮 x	FuS-X	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.0	0.200	400
T-2 毒素	T-2	5 mg	100.0	0.020	200
HT-2 毒素	HT-2	100 mg/L	10.0	0.200	200
展青霉素	PAT	100 mg/L	8.065	0.496	400
杂色曲霉素	SMC	1 mg	200.0	0.010	200
桔青霉素	CIT	1 mg	100.0	0.010	200
青霉酸	PCA	1 mg	100.0	0.020	200
维吉尼亚霉素 M ₁	VGM M ₁	1 mg	100.0	0.020	200
腾毒素	TEN	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.0	0.100	200
细交链孢菌酮酸	TEA	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.0	0.100	200
交链孢酚	ALTL	99.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.0	0.100	200
交链孢霉烯	ALTE	10 $\mu\text{g}/\text{mL}$	2.0	1.000	200
交链孢酚单甲醚	AME	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	20.0	0.100	200
α -玉米赤霉醇	α -ZAL	1 mg	100.0	0.020	200
β -玉米赤霉醇	β -ZAL	1 mg	100.0	0.020	200
α -玉米赤霉烯醇	α -ZOL	1 mg	100.0	0.020	200
β -玉米赤霉烯醇	β -ZOL	1 mg	200.0	0.010	200
玉米赤霉烯酮	ZAN	1 mg	100.0	0.020	200
玉米烯酮	ZEN	50.29 mg/L	4.975	0.402	200
蛇形菌素	DAS	1 mg	200.0	0.010	200
新茄病镰刀菌烯醇	NEO	1 mg	200.0	0.010	200
胶霉毒素	GLI	5 mg	100.0	0.020	200
环匹阿尼酸	CPA	5 mg	100.0	0.020	200
疣孢青霉原	VER	1 mg	200.0	0.010	200
绿僵菌素 A	DA	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	10.0	0.200	200
绿僵菌素 B	DB	100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	10.0	0.200	200

真菌毒素标准品适量,用1.3.2方法处理得到的空白基质提取液配制不同质量浓度的混合标准溶液,现配现用。具体配置信息见表1。

1.3.5 仪器条件

(1)液相条件:色谱柱为Waters ACQuITY uPLC BEH C₁₈(1.7 μm, 2.1 mm×100 mm);柱温35℃。进样量5 μL;流动相A为0.2%甲酸水溶液,B为乙腈;流速

0.3 mL/min。梯度洗脱条件为0~1.0 min, 25% B; 1.0~4.5 min, 25%~90% B; 4.5~9.0 min, 90% B; 9.0~10.0 min, 90%~25% B; 10.0~12.0 min, 25% B。

(2)质谱条件:电喷雾ESI离子源,离子源温度550℃;电喷雾电压4.5 kV(ESI⁺、ESI⁻);雾化气和加热气压275 800 Pa,气帘气压241 316 Pa;碰撞室电压10 V;多反应监测(SRM)模式,毒素及质谱参数见表2。

表2 44种真菌毒素的质谱参数[†]
Table 2 Mass spectrum parameters of 44 mycotoxins

真菌毒素	保留时间/min	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量/eV	扫描模式	真菌毒素	保留时间/min	母离子(m/z)	子离子(m/z)	碰撞能量/eV	扫描模式
FB ₁	6.45	722.0	334.0 [*] /352.0	50/50	正	SMC	7.44	325.1	310.0 [*] /281.1	32/50	正
FB ₂	7.25	706.3	336.2 [*] /354.2	45/44	正	CIT	5.68	249.0	205.0 [*] /176.9	22/31	负
FB ₃	6.93	706.4	336.2 [*] /318.4	48/47	正	PCA	1.96	171.0	125.1 [*] /153.1	17/12	正
AFB ₁	5.35	313.0	241.0 [*] /269.0	47/40	正	VGM M ₁	6.65	526.1	508.0 [*] /355.3	14/26	正
AFB ₂	5.06	315.0	287.0 [*] /259.0	35/40	正	TEN	6.53	415.1	312.2 [*] /256.1	23/45	正
AFG ₁	4.73	329.0	243.1 [*] /311.0	35/30	正	TEA	5.43	196.0	112.0 [*] /139.0	28/25	负
AFG ₂	4.73	331.1	313.0 [*] /245.0	32/40	正	ALTL	6.31	256.9	214.8 [*] /146.9	35/42	负
AFM ₁	4.48	329.0	273.1 [*] /259.1	35/30	正	ALTE	5.07	291.2	202.9 [*] /248.0	43/34	负
AFM ₂	4.08	331.0	313.1 [*] /285.0	23/33	正	AME	7.49	270.8	255.9 [*] /228.0	30/38	负
OTA	7.34	404.0	358.0 [*] /239.0	20/33	正	α-ZAL	6.96	321.1	277.2 [*] /303.2	30/28	负
OTB	6.67	370.0	205.0 [*] /187.0	28/48	正	β-ZAL	6.96	321.1	277.2 [*] /303.2	30/28	负
OTC	8.18	432.0	358.0 [*] /239.0	25/36	正	α-ZOL	7.13	319.1	275.1 [*] /301.1	27/27	负
OTα	5.04	255.0	167.0 [*] /211.0	33/20	负	β-ZOL	7.12	319.1	275.1 [*] /301.1	27/27	负
DON	1.35	297.0	249.2 [*] /231.0	13/18	正	ZAN	7.12	319.1	275.1 [*] /301.1	27/27	负
DOM	0.98	279.1	249.1 [*] /231.1	14/22	负	ZEN	7.24	317.1	174.9 [*] /273.1	30/27	负
15-ADON	3.47	339.0	137.0 [*] /321.0	14/13	正	DAS	5.46	384.2	307.0 [*] /107.0	14/25	正
3-ADON	3.45	339.0	231.0 [*] /203.0	15/17	正	NEO	2.09	400.2	305.0 [*] /185.1	16/23	正
D3G	1.22	503.1	427.1 [*] /457.1	29/19	负	GLI	5.33	327.0	245.0 [*] /215.0	23/30	正
FuS-X	1.88	354.9	136.9 [*] /174.9	31/19	正	CPA	7.84	335.0	154.0 [*] /180.0	—39/—35	负
T-2	6.88	489.2	327.2 [*] /387.1	29/29	正	VER	7.79	534.3	392.1 [*] /360.0	18/33	正
HT-2	6.30	447.1	345.1 [*] /285.1	27/28	正	DA	7.07	578.4	465.3 [*] /437.2	28/39	正
PAT	1.08	152.8	108.9 [*] /53.0	11/25	负	DB	7.71	594.4	481.3 [*] /453.2	27/39	正

† *表示定量离子。

1.3.6 高通量测序及数据分析 将制备好的样品送至上海美吉生物医药科技有限公司,委托其开展基于Illumina MiSeq技术测序平台进行高通量测序,测序结果在美吉生物云平台进行数据分析。其他数据采用SPSS 22.0软件进行处理,结合Origin 8.0软件绘图。

2 结果与分析

2.1 真菌毒素测定分析

真菌毒素采用基质匹配法进行测定。44种真菌毒素在正负两种离子扫描组合模式下,均得到较好的分离度和峰形,总提取离子流色谱图见图1。检测结果显示,室温及

冷藏贮藏过程中,整个货架期样品均未检测到真菌毒素。

2.2 高通量测序分析

2.2.1 OTU分析 通过Illumina MiSeq高通量测序,室温组21份样品共获得1 397 712条优化序列,平均长度181.1~247.7 bp;冷藏组21份样品共获得1 976 759条优化序列,平均长度243.9~339.1 bp。经真菌ITS数据库进行blast比对后OTU分析如下:室温组序列归属于1个界、4个门、20个纲、48个目、110个科、177个属、269个种、426个OTU;冷藏组序列归属于1个界、4个门、19个纲、50个目、114个科、175个属、274个种、453个OTU。

表3 真菌群落 Alpha 多样性分析

Table 3 Alpha diversity analysis of fungal communities

样品	Shannon 指数	Simpson 指数	ACE 指数	Chaos1 指数	覆盖 率/%	样品	Shannon 指数	Simpson 指数	ACE 指数	Chaos1 指数	覆盖 率/%
RT1	2.36	0.23	100.54	101.40	99.98	LT1	2.15	0.26	107.24	111.50	99.98
RT2	2.42	0.24	113.67	121.06	99.98	LT5	1.84	0.39	129.64	132.76	99.96
RT3	1.01	0.64	141.79	136.38	99.94	LT10	2.12	0.29	78.01	76.99	99.98
RT4	0.61	0.78	96.51	93.66	99.95	LT15	2.04	0.26	54.45	54.25	99.99
RT5	0.49	0.82	48.72	51.04	99.98	LT18	2.19	0.21	119.08	119.27	99.97
RT6	0.36	0.85	43.07	42.67	99.98	LT21	1.60	0.40	85.54	74.78	99.97
RT7	0.18	0.92	41.12	24.57	99.99	LT24	1.06	0.57	109.62	112.67	99.95

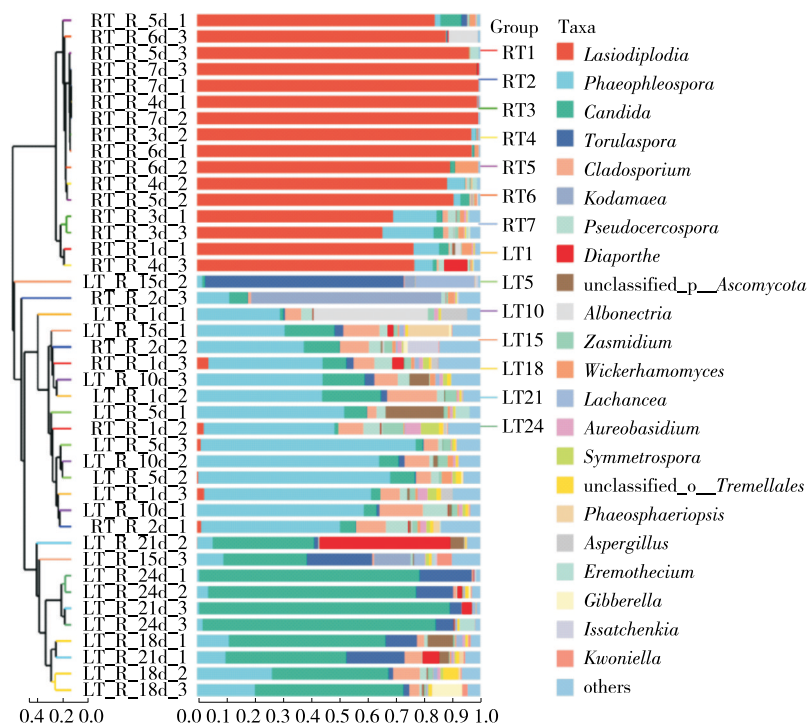


图3 样本真菌群落层级聚类分析

Figure 3 Hierarchical analysis of sample fungal communities

组第3~7天样品聚为一类,室温组第1~2天样品及冷藏组第1~15天样品聚为一类,冷藏组第18~24天样品聚为一类。结果表明,室温组前期和冷藏组前中期真菌群落组成结构相似,后期差异较大。

如图4所示,42个不同货架期样本呈现出明显的聚类趋势,其累计方差贡献率为74.83%,其中PC1的贡献率为52.13%,PC2的贡献率为22.71%。真菌群落聚集分布在3个象限,其中室温组第3~7天样品分布于第四象限,室温组第1~2天样品及冷藏组第1~15天样品分布于第一象限,冷藏组第18~24天样品分布于第二象限。该结果与UPGMA聚类分析结果基本一致。

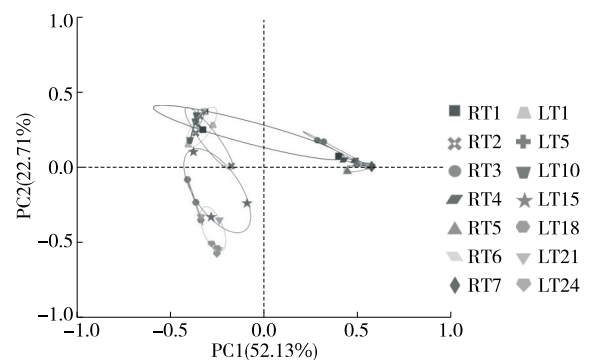


图4 样本真菌群落PCoA分析

Figure 4 PCoA analysis of sample fungal communities

2.2.4 真菌群落结构组成分析 由图 5 可知,在属分类水平上,室温贮藏前期,褐腐孢菌属(*Phaeophleospora*)占有主要优势,相对丰度为 31.96%~32.76%,其次相对丰度较高的还有假丝酵母属(*Candida*)、柯达酵母属(*Kodamaea*)、枝孢菌属(*Cladosporium*)。随着贮藏时间的延长,褐腐孢菌属 *Phaeophleospora* 相对丰度逐渐减少,第 6 天仅为 0.12%。室温贮藏中、后期毛色二孢属(*Lasiodiplodia*)呈现快速生长繁殖的态势,相对丰度占据绝对优势,从第 3 天的 77.55% 上升到 99.46%。在冷藏贮藏前期,*Phaeophleospora* 同样是主要优势菌属,相对丰度

为 44.23%~65.44%,其他真菌组成与室温贮藏前期尤其相似。进入冷藏贮藏中、后期,褐腐孢菌属 *Phaeophleospora* 呈现明显降低趋势,在第 24 天后仅为 2.26%。冷藏贮藏 15 d 后,*Candida* 相对丰度急速上升,在整个中、后期均为优势菌属,最高达 78.22%,其次为有孢圆酵母属(*Torulaspora*),后期相对丰度为 12.62%。

为进一步直观地分析属分类水平上真菌群落组成结构相似性及差异性,对样品进行聚类热图分析。如图 6 所示,在属分类水平上样品共聚为 3 类,其中,室温贮藏 RT1、RT2 和冷藏贮藏 LT1、LT5、LT10 聚为第一类,室温贮藏

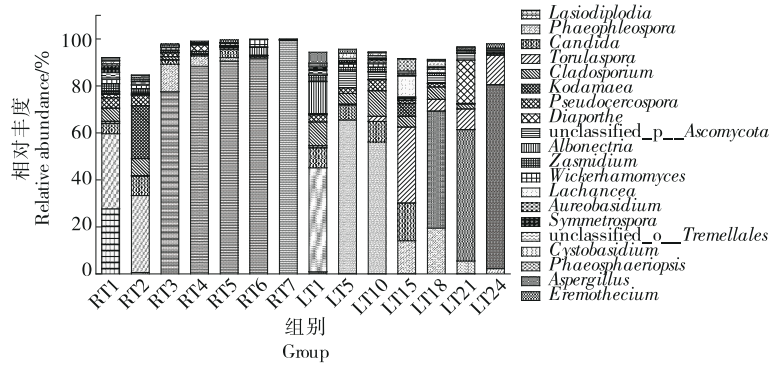


图 5 基于属水平的真菌组成
Figure 5 Fungal community composition at the genus level

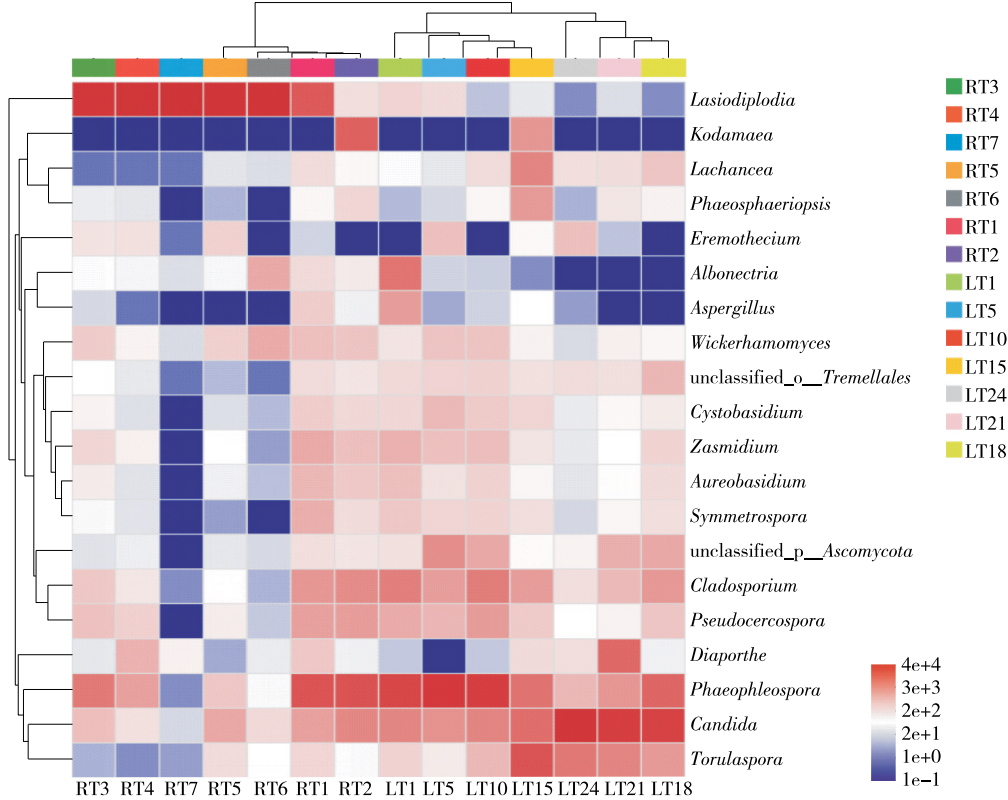


图 6 样本真菌属水平物种丰度聚类热图
Figure 6 Clustering heat map of fungi species abundance at the genus level in samples

藏 RT3、RT4、RT5 聚为第二类,冷藏贮藏 LT15、LT18、LT21、LT24 聚为第三类。室温贮藏中、后期 *Lasiodiplodia* 相对丰度最高,为绝对优势菌属。室温贮藏前期和冷藏贮藏前、中期, *Phaeophleospora*、*Candida*、*Cladosporium*、假散囊菌属 (*Pseudocercospora*) 相对丰度较高,其中, *Phaeophleospora* 为优势菌属。冷藏贮藏后期, *Candida*、*Torulaspora*、*Phaeophleospora* 相对丰度较高,其中, *Candida* 为优势菌属。以上结果表明,室温贮藏环境下可能有利于毛色二孢属的生长,与其他菌属的竞争中占据绝对优势,而在冷藏贮藏环境下可能受到其他菌群的竞争,生长受到抑制。表明低温条件对抑制采后龙眼毛色二孢属的生长具有一定的作用。研究^[20-22]发现,可可毛色二孢 (*Lasiodiplodia theobromae*) 可导致果实采后贮藏期间发生腐烂而缩短货架期。另外,假丝酵母属能够抑制采后果蔬多种致病病原菌生长表现出较好的生防效果^[23-25]。基于此,抑制作用是由于低温直接影响还是假丝酵母属的拮抗作用或是两者的协同效应,还需要进一步研究。

3 结论

利用 Illumina MiSeq 高通量测序技术对采后龙眼不同货架期样品真菌多样性进行分析,同时结合 UHPLC-MS/MS 毒素的测定结果进行相关性分析。OTU 分析结果表明,室温组 OTU 数量在货架期后期逐渐减少,冷藏组 OTU 数量在货架期前期及后期大于中期。通过 α 多样性分析表明,室温组前期和冷藏组中后期真菌群落组成结构相似,室温组后期和冷藏组后期真菌群落组成差异较大。采后龙眼样品在室温及冷藏贮藏条件下,果肉部分受真菌毒素的污染风险较低。

基于属水平分析结果发现,室温贮藏条件下 *Lasiodiplodia* 在中期相对丰度逐渐升高,后期成为绝对优势属。冷藏贮藏中、后期 *Candida*、*Torulaspora* 逐渐成为优势属,而原来的优势属 *Phaeophleospora* 在中、后期相对丰度逐渐减少,其中 *Lasiodiplodia* 在整个货架期间始终被抑制。结合分析结果及采后果实货架期形态特征,推断出毛色二孢属是可潜伏性侵染龙眼果实而导致货架期腐烂变质的腐败菌属,冷藏贮藏条件下龙眼货架期的延长,主要是由于毛色二孢属的生长受到抑制。

采后龙眼果实真菌多样性可能受地域、季节、品种等因素的影响,后续将进一步探索不同地区、不同季节、不同品种龙眼货架期真菌菌群组成及毒素污染的情况,为采后龙眼的保鲜及毒素风险评估积累更多数据支持。

参考文献

[1] 冯婷,王宁香,陈雅萍,等.长期冰冻贮藏对龙眼肉多酚含量及抗氧化活性的影响[J].食品研究与开发,2024,45(17):29-34.

FENG T, WANG N X, CEHN Y P, et al. Effects of long term frozen storage on polyphenol content and antioxidant activity of longan pulp[J]. Food Research and Development, 2024, 45(17): 29-34.

[2] ZHANG X F, GUO S, HO C T, et al. Phytochemical constituents and biological activities of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) fruit: a review[J]. Food Science and Human Wellness, 2020, 9(2): 95-102.

[3] 沈玉彬,郝二伟,杜正彩,等.龙眼多糖化学结构、构效关系与药理活性研究进展[J].中草药,2022,53(23):7624-7632.

SHEN Y B, HAO E W, DU Z C, et al. Research progress on chemical structure, structure-activity relationship and pharmacological activity of *Dimocarpus longan* polysaccharides [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2022, 53(23): 7624-7632.

[4] AL-KHAYRI J M, SAHANA G R, NAGELLA P, et al. Flavonoids as potential anti-inflammatory molecules: a review [J]. Molecules, 2022, 27(9): 2901.

[5] LI B Q, CHEN Y, ZHANG Z Q, et al. Molecular basis and regulation of pathogenicity and patulin biosynthesis in *Penicillium expansum* [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2020, 19(6): 3416-3438.

[6] 赵芮,黄晴雯,余智颖,等. QuEChERS-超高效液相色谱—串联质谱法同时测定水果中36种真菌毒素[J].色谱,2023,41(9):760-770,823-830.

ZHAO R, HUANG Q W, YU Z Y, et al. Simultaneous determination of 36 mycotoxins in fruits by QuEChERS coupled with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2023, 41(9): 760-770, 823-830.

[7] 张居念,林河通,谢联辉,等.龙眼果实潜伏性病原真菌的初步研究[J].热带作物学报,2006,27(4):78-82.

ZHANG J N, LIN H T, XIE L H, et al. Preliminary studies on latent fungal pathogens in longan fruits[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2006, 27(4): 78-82.

[8] 刘爱媛,陈维信,程海慧.龙眼采后炭疽病及对贮藏效果的影响[J].果树学报,2006,23(1):77-80.

LIU A Y, CHEN W X, CHENG H H. Development of postharvest anthracnose of longan and the effects of the disease on storage life of the fruit[J]. Journal of Fruit Science, 2006, 23(1): 77-80.

[9] ZHANG Z Q, NIE D X, FAN K, et al. A systematic review of plant-conjugated masked mycotoxins: occurrence, toxicology, and metabolism[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(9): 1523-1537.

[10] MARIN S, RAMOS A J, CANO-SANCHO G, et al. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment [J]. Food Chem Toxicol, 2013, 60: 218-237.

[11] 张国卿,朱雨辰,罗颖华,等.水果制品中真菌毒素污染及控制研究进展[J].食品安全质量检测学报,2022,13(18):5992-5999.

- ZHANG G Q, ZHU Y C, LUO Y H, et al. Research progress on mycotoxins contamination and control in fruit products[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(18): 5 992-5 999.
- [12] 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 food safety standard-Residue limits for fungal toxins in foods: GB 2761—2017[S]. Beijing: China Standard Publishing House, 2017.
- [13] 丁晶晶. 龙眼储藏过程中生理变化研究[J]. 中国果菜, 2015, 35(8): 4-9.
- DING J J. Research on physiological changes of longan during the storage process[J]. China Fruit & Vegetable, 2015, 35(8): 4-9.
- [14] SILVA E, RAJAPAKSE N, KORTENKAMP A. Something from nothing eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects[J]. Environmental Science & Technology, 2002, 36(8): 1 751-1 756.
- [15] 陈锦, 林毅雄, 林育钊, 等. 低温贮藏对‘松风本’龙眼果实品质和耐贮性的影响[J]. 热带作物学报, 2020, 41(11): 2 314-2 321.
- CHEN J, LIN Y X, LIN Y Z, et al. Effects of low temperature storage on quality and storability of 'Songfengben' longan fruit [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2020, 41(11): 2 314-2 321.
- [16] 尹青春, 陈小妹, 周凌聿, 等. 龙眼及其制品中 44 种真菌毒素高通量检测方法的建立及其膳食暴露风险评估[J]. 现代食品科技, 2024, 40(7): 1-13.
- YIN Q C, CHEN X M, ZHOU L Y, et al. Development of a high-throughput detection assay and dietary exposure risk assessment for 44 mycotoxins in longan and its products[J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(7): 1-13.
- [17] 车丽娜, 赵良忠, 周晓洁. 基于高通量测序分析湘派卤牛肉冷藏过程中真菌多样性[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(4): 127-136.
- CHE L N, ZHAO L Z, ZHOU X J, et al. High-throughput sequencing analysis of fungal diversity in Xiangpai dried beef during cold storage[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(4): 127-136.
- [18] 李成, 孔晓雪, 余炬波, 等. 基于高通量测序分析蟹糊微生物菌群多样性[J]. 食品科学, 2020, 41(4): 134-139.
- LI C, KONG X X, YU J B, et al. Analysis of microbial community diversity of crab paste by high-throughput sequencing[J]. Food Science, 2020, 41(4): 134-139.
- [19] 刘敬斌. 牛肉冰温气调保鲜效果的研究[D]. 天津: 天津商业大学, 2014: 174-178.
- LIU J B. Effect of ice temperature and controlled atmosphere packaging on quality of beef during storage[D]. Tianjin: Tianjin University of Commerce, 2014: 174-178.
- [20] 林育钊, 陈蕾伊, 陈佳怡, 等. ϵ -聚赖氨酸对西番莲果实采后病害与抗病物质代谢的影响[J]. 食品科学, 2024, 45(3): 142-149.
- LIN Y Z, CHEN L Y, CHEN J Y, et al. Effect of ϵ -Poly-L-lysine on postharvest diseases and disease-resistant substance metabolism in passion fruits[J]. Food Science, 2024, 45(3): 142-149.
- [21] 黄艳花, 黄远光, 崔忠吉, 等. 百香果茎基腐病防治药剂筛选及田间盆栽防治效果试验[J]. 广西农学报, 2023, 38(3): 28-34.
- HUANG Y H, HUANG Y G, CUI Z J, et al. Screening of fungicides for controlling stem base rot of passion fruit and experiment on efficacy of pot control in field[J]. Journal of Guangxi Agriculture, 2023, 38(3): 28-34.
- [22] 罗海澜, 马翠云, 罗海淑, 等. 可可毛色二孢菌 F6 胞外多糖在草莓保鲜中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(2): 91-98.
- LUO H L, MA C Y, LUO H S, et al. Application of exopolysaccharides from *Lasiodiplodia theobromae* F6 in strawberry preservation[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(2): 91-98.
- [23] 蔡孟轩, 邓丽莉, 姚世响, 等. CaCl_2 增强橄榄假丝酵母对苹果果实采后青霉病的生防效力[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 220-226.
- CAI M X, DENG L L, YAO S X, et al. CaCl_2 enhances the biocontrol efficacy of *Candida oleophila* against inoculated *Penicillium expansum* on postharvest apples[J]. Food Science, 2019, 40(11): 220-226.
- [24] 李青云, 刘文玉, 魏长庆, 等. 拮抗酵母对北疆冬枣采后病害生防效果的研究[J]. 食品工业, 2015, 36(12): 72-75.
- LI Q Y, LIU W Y, WEI C Q, et al. Antagonistic yeast against disease and effect on quality of postharvest northern winter jujube[J]. The Food Industry, 2015, 36(12): 72-75.
- [25] 周秋阳, 杨慧慧, 王玲, 等. 一株桃褐腐病生防酵母菌活性冻干粉的制备及保鲜应用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(21): 96-103.
- ZHOU Q Y, YANG H H, WANG L, et al. Preparation and preservation application of a yeast active freeze dried powder for biocontrol of peach brown rot[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(21): 96-103.