

普洱曼歇坝咖啡干法加工初期细菌与真菌群落变化特征

韩 龙, 张天祚, 谢晋奕, 王鑫宇, 阚 欢*

(西南林业大学生命科学学院, 昆明 650224)

摘 要: **目的** 揭示普洱曼歇坝咖啡干法加工初期微生物群落结构变化规律。**方法** 以普洱市曼歇坝干法加工咖啡果为样本, 采用高通量 16S rDNA 和 ITS 扩增子测序技术分析加工初期不同时间点咖啡果细菌与真菌多样性。**结果** 从全部样品共获得 623 个细菌操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)和 898 个真菌 OTUs, 经物种注释分别可归入细菌的 18 个门、209 个属以及真菌的 6 个门、298 个属, 其中只有 98 个细菌 OTUs 以及 103 个真菌 OTUs 始终存在于所有日晒阶段的咖啡果中。随着日晒时间推移, 葡糖酸杆菌属、泛菌属、韦斯氏菌属会成为优势明显的细菌属, 库兹曼酵母属、拉钱斯酵母属、赤霉菌属则会成为优势明显的真菌属。**结论** 咖啡果中细菌与真菌群落会随日晒时间推移而不断发生变化, 其中日晒 72 h 是少数高相对丰度优势细菌属与真菌属形成的关键时期, 也是发酵相关细菌最繁盛的时期, 还同时是病理营养真菌衰落腐生营养真菌开始繁盛的转折点。

关键词: 咖啡; 干法加工; 高通量测序; 细菌群落; 真菌群落

Variation characteristics of bacterial and fungal communities in the early period of dry coffee processing in Manxieba of Pu'er area

HAN Long, ZHANG Tian-Yi, XIE Jin-Yi, WANG Xin-Yu, KAN Huan*

(School of Life Science, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

ABSTRACT: Objective To reveal the change characteristics of microbial community structure in the early stage of coffee fruit dry processing in Manxieba of Pu'er area. **Methods** Taking the coffee fruit processed by dry process in Manxieba of Pu'er area as the sample. 16S rDNA and ITS amplicon by high throughput sequencing were used to analyze the bacterial and fungal diversity of coffee fruit at different time points in the early stage of processing. **Results** A total of 623 bacterial OTUs (operational taxonomic units) and 898 fungal OTUs were found from all samples. After species annotation, OTUs were classified into 18 phyla, 209 genera of bacteria and 6 phyla, 298 genera of fungus. Among them, only 98 bacterial OTUs and 103 fungal OTUs were always present in all stages of sun-baked coffee fruits. With the increase of time in the sun, *Gluconobacter*, *Pantoea* and *Weissella* became obviously dominant bacterial genera, *Kurtzmaniella*, *Lachancea* and *Gibberella* became obviously dominant fungal

基金项目: 国家重点研发计划子课题项目(2019YFD1002404)、生物学质量工程项目(503190106)

Fund: Supported by the Sub-project of National Key Research and Development Program of China (2019YFD1002404), and the Quality Engineering Project of Biology (503190106)

***通信作者:** 阚欢, 硕士, 教授, 主要研究方向为林产品加工。E-mail: 13700650213@163.com

***Corresponding author:** KAN Huan, Master, Professor, School of Life Science, Southwest Forestry University, Bailongsi No. 300, Panlong District, Kunming 650224, China. E-mail: 13700650213@163.com

genera. **Conclusion** The bacterial and fungal communities in coffee fruits constantly change with the increase of time in the sun. Thereinto, 72 hours is the key time point for the formation of obviously dominant bacterial and fungal genera with high relative abundance is also the most prosperous period of fermentative bacteria, and is simultaneously the turning point of decline of pathotroph and rise of saprotroph.

KEY WORDS: coffee; dry processing; high-throughput sequencing; bacterial community; fungal community

0 引言

咖啡是世界 3 大饮料之一,起源于埃塞俄比亚,如今流行于全世界。随着我国对外开放和经济发展,咖啡在短短数十年间从一种小众饮品变为如今大街小巷都可见的大众消费品,消费者对其品质的要求也在不断提高^[1-3]。这对咖啡生产者既是机遇也是挑战,也亟需科学化系统化的咖啡研究为生产者创新、优化工艺提供理论参考。云南多山,相当一部分地区属于亚热带季风气候区,土地肥沃,雨水充沛,阳光充足,早晚温差大,得天独厚的气候特征非常适合咖啡种植。目前,云南咖啡从种植面积、产量、产值以及从业人数均位列全国首位,是名副其实的中国咖啡主产区^[4-5]。但存在精深加工技术不足,如缺乏生产独特地域风味高品质咖啡的加工工艺,创新能力提升缓慢,机械化、规模化、自动化程度低,未能很好形成与世界精品咖啡的核心竞争力等问题^[6-8]。

咖啡最常见的初加工方法有干法(日晒法)和湿法(水洗法)两种,此外还有半干法(蜜处理法)、体内发酵法、湿刨法等多种初加工方法,不同的加工方法可赋予咖啡豆不同的风味口感^[9]。咖啡豆是咖啡果实的种子,种子之外包有银皮、果肉、果皮等成分,以上加工方法的主要区别之一就是处理这些外层成分方式的不同。微生物普遍存在于咖啡鲜果以及之后加工的不同阶段^[10-11]。这些微生物在咖啡加工过程中发挥着各种各样的功能,例如果肉中果胶以及其他黏性糖类的降解和消耗^[12]。同时这些微生物产生的代谢物对咖啡生豆的感官特性甚至最终的杯测品质都有着正面或负面的影响^[13-14]。但哪些微生物对于生产高品质咖啡豆是必需的,以及特定微生物与特定风味物质或异味物质之间的关系目前都尚不明确。云南作为中国咖啡的主要产区,大多数研究主要集中于工艺优化和工艺创新,针对咖啡微生物的理论研究相对较少。在实地调研中,咖啡生产者反馈他们观察到咖啡在处理过程中有霉斑、咖啡果组织溶解、发酵香气产生等现象,但对其中原理普遍缺乏深刻认识。

本研究以云南咖啡主产区之一的普洱地区为采样区,以日晒法加工初期的咖啡果为研究对象,分别采集鲜果以及不同日晒时间的咖啡果为样本,通过高通量 16S rDNA 和 ITS 扩增子测序分析样品的细菌和真菌多样性,重点关注细菌和真菌群落随日晒时长增加而变化的特征。同时结合细菌 FAPROTAX 以及真菌 FunGuild 功能群体预测软件,

对多样性信息进行功能预测并按功能分组,重点关注主要功能群体随日晒时长增加的变化特征。通过对以上群落和功能群变化特征的解析初步明确咖啡果日晒法加工过程中主要参与的细菌和真菌类群以及咖啡果日晒加工工艺的关键控制时间点。同时,通过该研究丰富人们对咖啡微生物的认识,并为进一步的咖啡日晒加工工艺优化提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

咖啡果采自云南省普洱市曼歇坝某工厂。

NaCl(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

5804R 台式高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司); NovaSeq 6000 高通量测序平台(美国 Illumina 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 咖啡果样品采集

咖啡干法加工大致工艺流程为:将采摘后的咖啡鲜果直接晒至干果,机械脱皮脱壳后,即成咖啡生豆。其加工初期即咖啡鲜果晒至干果状之前的时期,由于水分相对充足,理论上是微生物活动的活跃期。因此,5 份加工初期不同日晒时间咖啡果样品采集自云南省普洱市曼歇坝某大型咖啡加工厂,该加工厂工艺成熟,咖啡品质较高,具有当地代表性。样品分别(命名)为:咖啡鲜果(XG)、干法加工日晒 48 h 咖啡果(G1)、日晒 72 h 咖啡果(G2)、日晒 100 h 咖啡果(G3)和日晒 120 h 咖啡果(至此咖啡果已成干果状)。每一日晒时间样品分别从晒架不同部位采集,混样后使用无菌铁丝匀质袋封装,放入车载冰箱冷冻至约-20℃带回实验室。

1.3.2 咖啡果样品中菌体的回收

日晒时间相同各采样点样品混样,向装有咖啡果样品的无菌袋中加入 0.85% 无菌生理盐水,封紧袋口,用手轻轻揉搓、翻转无菌袋 2 min,然后静置 15 min,之后再重复操作一次。振荡结束,将悬液倒入离心管离心,在 4℃下,12000×g 离心 15 min,去除上清液保留沉淀(沉淀中含有回收的菌体),放入-80℃超低温冰箱保存^[15]。

1.3.3 高通量扩增子测序

回收菌体送至天津诺禾致源科技有限公司(Novogene)进行测序,主要技术指标:菌体基因组 DNA 提取采用十六烷基三甲基溴化铵/十二烷基硫酸钠(cetyl trimethyl

ammonium bromide/sodium dodecyl sulfate, CTAB/SDS) 法; 细菌 16S rDNA V3V4 高变区扩增引物对为 341F (5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3') 和 806R (5'-GGAC TACNNGGTATCTAAT-3'), 真菌 ITS1-1F 区域扩增引物对为 ITS5-1737F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2-2043R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'); 扩增子测序平台为 Illumina NovaSeq 6000。

1.3.4 数据处理

使用软件 QIIME software Version 1.9.1 进行 Observed-species 与 Shannon 2 个 α -多样性指数的计算; β -多样性的分析同样使用 QIIME software version 1.9.1 计算 Unifrac metric matrix 并进行非加权算数平均组对法(unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA)分析及其图形绘制; 细菌群落功能采用 FAPROTAX 进行预测, 该软件数据库对细菌物种功能的注释基于已发表的文献[16]。真菌群落生态功能预测则采用 FunGuild^[17]。

2 结果与分析

2.1 咖啡样品整体细菌与真菌多样性

均一化选取有效序列(细菌 cutoff=57540, 真菌 cutoff=59857), 以 97%一致性阈值进行 α -多样性分析。5 个样品的细菌和真菌 Good's coverage 指数均高于 0.99, 说明在均一化选取的数据量下所显示的各样品物种数已覆盖该样品的绝大多数物种。从全部 5 个样品共获得细菌操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs) 623 个, 经物种注释可归入细菌的 18 个门、209 个属。其中, 许多细菌 OTUs 无明确分类地位说明可能存在细菌潜在新类群。同时, 还获得 898 个真菌 OTUs, 经物种注释可归入真菌的 6 个门、298 个属, 绝大部分 OTUs 归入子囊菌门和担子菌门, 只有极少数 OTUs 归入另外 4 个真菌门。许多真菌 OTUs 同样也无明确分类地位, 说明还可能存在真菌潜在新类群。

样品细菌和真菌 α -多样性指数见表 1, Observed species 指数显示了样品中细菌物种的数目, Shannon 指数表征了群落内物种分布的均匀度, 所有样品都携带有多样性丰富的细菌物种, 但物种数在不同日晒时长样品中波动明显。各样品中真菌的 Observed species 指数值普遍高于细菌, 日晒 100 h (G3)例外, 但整体呈不断减小的趋势。Venn 图中每一椭圆代表编号对应的样品, 其中数字代表其所包含的 OTUs 数, 椭圆重叠部分的数字代表样品间共有的 OTUs 数, 外围未重叠部分的数字代表独有 OTUs 数。通过图 1 可看出, 有 98 个细菌 OTUs 始终存在于所有样品中, 但各样品中同时还存在相当数量的独有细菌 OTUs, 尤其鲜果和日晒 100 h (G3)咖啡果中居多。同时, 真菌有 103 个 OTUs 始终存在, 也同样有相当数量的独有真菌 OTUs 存在, 尤其在鲜果中。

总之, 咖啡果中细菌与真菌物种会随着日晒过程持续发生变化, 表现为部分物种始终存在, 而相当一部分物

种会不断消亡又同时不断引入大量新的物种。所有样品 Good's coverage 指数均高于 0.99, 表明本研究测序深度充分, 因此推测可能原因是咖啡干法加工通常是通过露天阳光照射, 此过程咖啡果会接触地面、晒架、空气以及翻动时人的手或工具, 这些都可能带入一些咖啡果原先自身没有的细菌和真菌物种。

表 1 咖啡果样品细菌和真菌 α -多样性指数
Table 1 α -diversity index of bacteria and fungi in coffee cherry samples

样品	Observed species 指数		Shannon 指数	
	细菌	真菌	细菌	真菌
XG	285	629	3.055	4.984
G1	160	376	1.931	3.734
G2	271	396	4.097	3.075
G3	416	254	3.587	2.371
G4	250	251	2.149	2.030

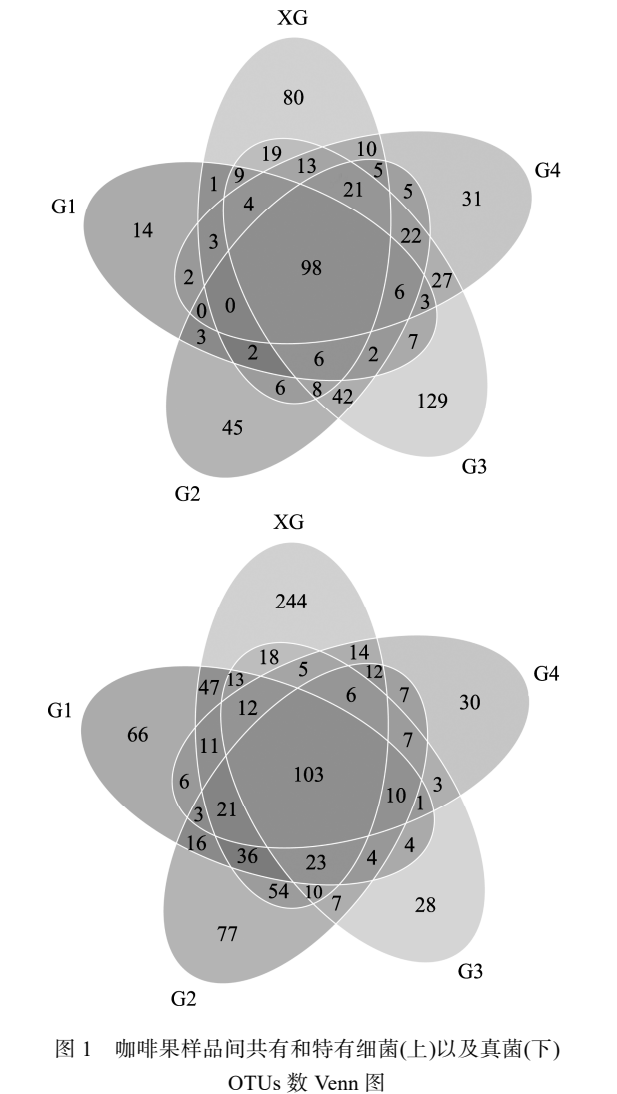


图 1 咖啡果样品间共有和特有细菌(上)以及真菌(下) OTUs 数 Venn 图
Fig.1 Venn diagram of common and unique bacterial (upper) and fungal (under) OTUs among coffee cherry samples

2.2 不同日晒时长咖啡果中优势细菌与优势真菌属比较

如图 2 所示,整体上咖啡样品中相对丰度排名前 9 的细菌属为:葡糖酸杆菌属(*Gluconobacter*)、泛菌属(*Pantoea*)、韦斯氏菌属(*Weissella*)、醋酸杆菌属(*Acetobacter*)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、塔特姆氏菌属(*Tatumella*)、罗森伯格氏菌属(*Rosenbergiella*)和乳球菌属(*Lactococcus*)(这些细菌属在相应样品中的占比按上述顺序在图 2 中从左到右排列以柱形高低表示)。这 9 个细菌属在不同样品中的占比各不相同,它们相对丰度相加之和在各样品中占比介于约 86%~95%,是明显的优势菌属。其中葡糖酸杆菌属、泛菌属、韦斯氏菌属 3 个细菌属变化尤为突出。葡糖酸杆菌属在鲜果中相对丰度并不高,但在之后日晒过程中相对丰度增加明显并始终是优势菌属;韦斯氏菌属在鲜果以及日晒 48 h (G1)中相对丰度都不高,但日晒至 72 h (G2)时,相对丰度突然增加但随后在日晒至 100 h (G3)时又明显减少;泛菌属(*Pantoea*)在鲜果(XG)中相对丰度极高,但随日晒时长增加而逐渐降低。

如图 3 所示,样品中相对丰度排名前 10 的真菌属为:库兹曼酵母属(*Kurtzmaniella*)、拉钱斯酵母属(*Lachancea*)、赤霉属(*Gibberella*)、蝶孢耳属(*Papiliotrema*)、枝孢属(*Cladosporium*)、汉纳酵母属(*Hannaella*)、煤炱属(*Capnodium*)、隐球菌属(*Cryptococcus*)、囊状丝担菌属(*Cystofilobasidium*)和威克汉姆酵母属(*Wickerhamomyces*)(这些真菌属在相应样品中的占比按上述顺序在图 3 中从左到右排列以柱形高低表示)。其中,隐球菌属、煤炱属、囊状丝担菌属、枝孢属、蝶孢耳属这 5 个真菌属在鲜果中虽是优势菌属,但在经过日晒 48 h (G1)时相对丰度增加亦或减少之后,咖啡果日晒至 72 h (G2)时它们的相对丰度都降至很低并在随后的日晒过程中始终保持低位;与此同时,库兹

曼酵母属、拉钱斯酵母属、赤霉属这 3 个属在咖啡果日晒至同样的 72 h (G2)时则成为最优势的 3 个真菌属并在随后的日晒过程中始终保持优势。

总之,鲜果及日晒咖啡果中存在优势细菌与真菌属,相对丰度排名前 10 菌属相对丰度总和皆高于 75%。这些优势菌属在日晒过程中始终存在但相对丰度会发生较大变化,然而在日晒 72 h 后会出现少数菌属始终稳居相对丰度排名前列的现象。

2.3 不同日晒时长咖啡果中细菌群落和真菌群落结构比较

在基于 Weighted Unifrac 距离矩阵的 UPGMA 聚类树中,样品间含有的微生物种类以及各物种相对丰度越相似在聚类树中就越倾向于聚在一个分支上,反之亦然,样品间距离表明了它们彼此间的差异程度。细菌 UPGMA 聚类树图 4(左)显示鲜果(XG)及不同日晒时间的咖啡果细菌群落都未能明显聚成一簇,彼此间细菌群落组成差异较大,说明咖啡果日晒加工初期其内部发生着不断进行的细菌群落演替。结合图 3 可推断这可能与前 9 优势细菌属,尤其是葡糖酸杆菌属、韦斯氏菌属以及泛菌属相对丰度的明显变化有关。

真菌的 UPGMA 聚类树图 4(右)显示,鲜果(XG)和日晒 48 h 咖啡果(G1)倾向聚成一簇但群落差异依然显著,而日晒 72 h (G2)、100 h (G3)和 120 h (G4)咖啡果 3 者则聚成另一簇,其中 G2 和 G3 又形成一个小分支,说明日晒的前 72 h 咖啡果中发生着快速的真菌群落演替,直至 72 h 之后才趋于稳定。结合图 4 可推断这同样可能与前 10 个优势真菌属的变化有关,尤其 G2、G3 和 G4 聚成一簇可能与库兹曼酵母属、拉钱斯酵母属和赤霉属在日晒 72 h (G2)后成为稳定的占比绝对优势的真菌属有关。

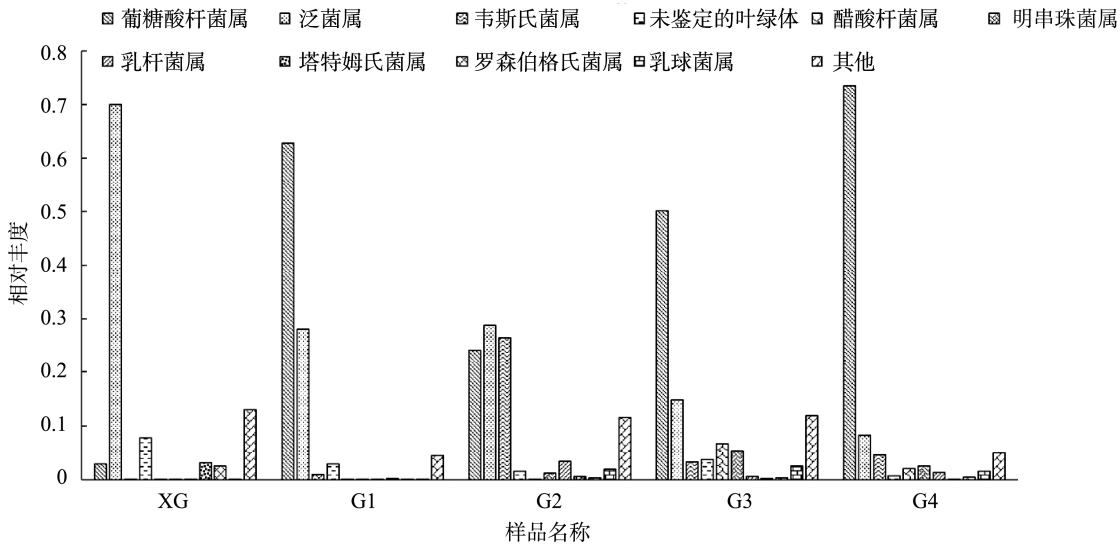


图 2 相对丰度排名前 10 的细菌属及其在咖啡果样品中的占比
Fig.2 Relative abundances of top 10 bacteria genera in coffee cherry samples

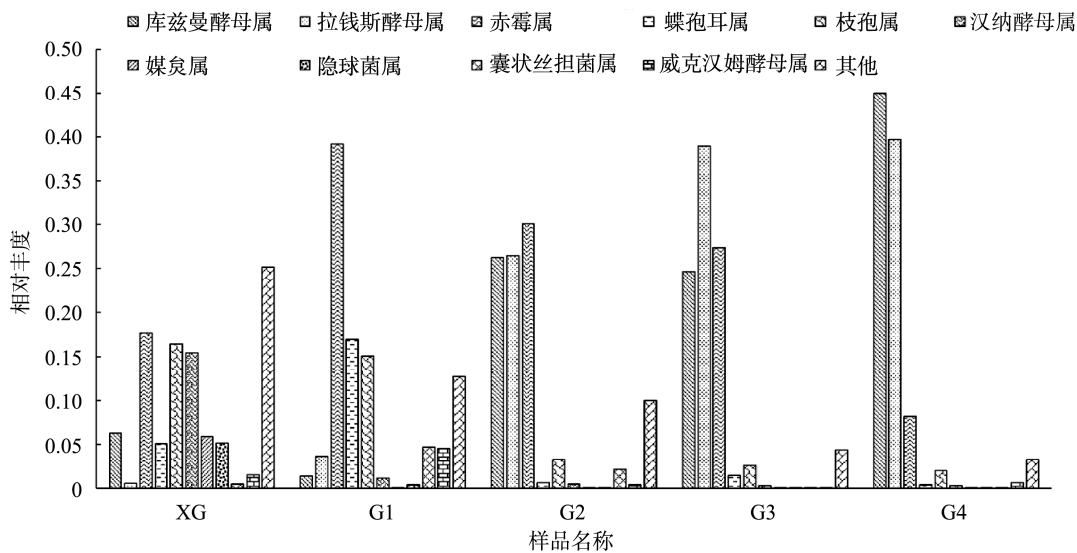


图 3 相对丰度排名前 10 的真菌属及其在咖啡果样品中的占比
Fig.3 Relative abundances of top 10 fungal genera and their proportion in coffee cherry samples

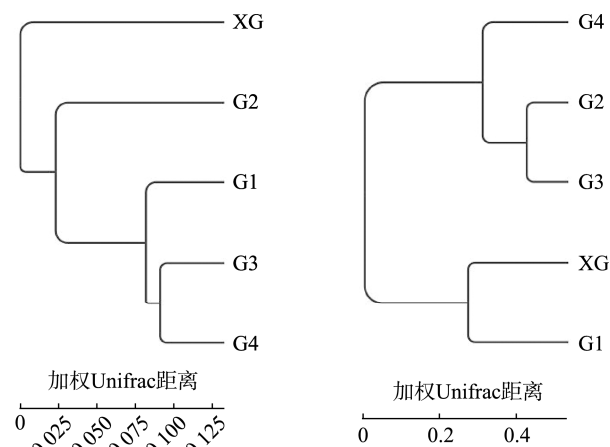


图 4 基于加权 Unifrac 距离的咖啡果样品细菌(左)与真菌(右)群落 UPGMA 聚类树
Fig.4 UPGMA clustering of bacterial samples (left) and fungal (right) communities among coffee cherry samples based on weighted Unifrac distance

总之, 咖啡果中细菌与真菌群落结构会随着日晒过程不断发生变化, 尤其细菌群落变化持续且明显, 但真菌群落结构在日晒 48 h 至 72 h 期间发生一次明显变化之后则开始趋于平缓。优势菌属相对丰度的变化是导致群落结构发生变化的可能因素之一。

2.4 不同日晒时长咖啡果中细菌以及真菌功能群体比较

经 FAPROTAX 对细菌 OUT 进行功能预测并按功能类型分组后, 相对丰度排前 10 的功能群如图 5 所示, 鲜果中存在相对丰度较高的硝酸盐还原菌, 此外还存在大量人类和哺乳动物肠道细菌以及潜在的致病菌, 但这些细菌在日

晒 48 h (G1)后相对丰度明显减少并在后续日晒过程中始终保持较低相对丰度且整体呈不断下降趋势。而发酵细菌在鲜果以及日晒 48 h (G1)咖啡果中相对丰度都较低, 但在日晒至 72 h (G2)时则明显上升至较高相对丰度, 不过在随后日晒至 100 h (G3)时又明显减少并呈不断下降趋势。化能异养菌相对丰度则在鲜果中最低之后随着日晒时长增加而不断增高。

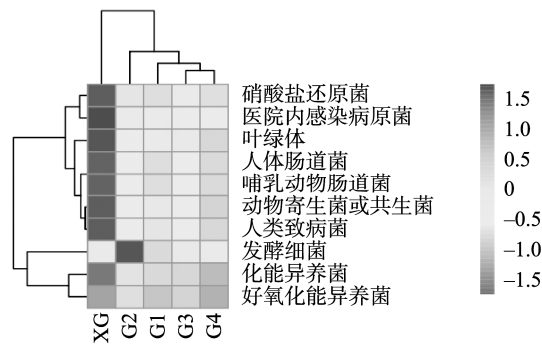


图 5 相对丰度前 10 细菌功能群聚类热图
Fig.5 Heatmap of top 10 bacterial functional groups by relative abundance

经 FunGuild 对真菌 OUT 进行生态功能预测并按功能类型分组, 相对丰度排前 10 的功能群如图 6 所示, 功能群主要执行两大类功能: 腐生营养(saprotroph)和病理营养(pathotroph)。在 FunGuild 中, 前者被定义为通过分解死亡宿主细胞获取营养, 后者被定义为通过损害(包括吞噬)宿主细胞获取营养^[17]。其中, 带有病理营养的功能群基本都呈现在鲜果(XG)中相对丰度较高或在日晒 48 h (G1)时达到丰度高位, 之后都会随着日晒时长增加而整体呈现不断

下降趋势。但其中一组无法与数据库匹配称为未定义腐生真菌,只执行腐生营养的功能群则呈现相对丰度不断增高的趋势。推测带有病理营养的功能群可能对活细胞有较高依赖性,随着日晒时间增加,咖啡果细胞逐渐死亡,因此可能影响了这些功能群真菌营养的获取。但咖啡果细胞的死亡对于单一腐生营养的功能群则可能是有利的。经过对 FunGuild 源文件比对可知它们当中许多是酵母菌,其中相对丰度较高且同时从鲜果(XG)至日晒 120 h (G4)相对丰度倍数增加明显的是库兹曼酵母属和拉钱斯酵母属这两个属的酵母菌。

总之,咖啡果中不同功能细菌群与真菌群在日晒过程中相对丰度会不断变化。其中,动物与人类肠道细菌以及潜在人类致病细菌在鲜果中相对丰度最高但随着日晒开始就很快降低。发酵相关细菌最繁盛的日晒时间点是 72 h。化能异养菌呈现随着日晒过程相对丰度不断增加的趋势。

3 讨论与结论

本研究利用高通量扩增子测序技术,从采自普洱市曼歇坝的咖啡鲜果及其干法加工初期不同日晒时间的样品中检测到多样性丰富的细菌和真菌物种。它们组成的细菌和真菌群落会随着咖啡果日晒时长的增加而变化,不仅体现在物种数上,还体现在物种的相对丰度上,尤其优势物种相对丰度的变化是形成不同日晒时间咖啡果间细菌与真菌群落结构差异的重要因素之一。

相对丰度前 9 的细菌与相对丰度前 10 的真菌优势属始终存在于鲜果以及不同日晒时长的咖啡果中,其中某些菌属会在咖啡果日晒一段时间后成为占比绝对优势的菌属。例如细菌的葡糖酸杆菌属和泛菌属。葡糖酸杆菌属细菌是一类乙酸菌,能够不完全氧化多种多样的糖类和醇类并产生相应的醛类、酮类以及有机酸释放到胞外环境中。该属的细菌能够生活在高糖、酸性的环境中,并有着

高氧化速率但低生物量积累的特征使其工业应用价值备受瞩目^[18]。泛菌属细菌正如其属名含义,广泛分布于植物表面、种子、土壤、水体,甚至从人体和动物身上都能分离出该菌^[19]。此外还有真菌的库兹曼酵母属、拉钱斯酵母属和赤霉菌属。库兹曼酵母属在发酵香肠、奶酪以及腐烂木头中都有被发现且某些种如郭公虫库兹曼酵母(*Kurtzmaniella cleridarum*)还被鉴定为具有产油能力^[20-23]。拉钱斯氏酵母属(*Lachancea*)一大特征是能够进行活跃的葡萄糖发酵。由于该生理特性使该属有些种常与果汁的腐败相联系,如苹果酒拉钱斯氏酵母(*Lachancea cidri*)、发酵拉钱斯氏酵母(*Lachancea fermentati*),有些种则常参与到红酒酿造及其他发酵食品的加工工艺中,如耐热拉钱斯氏酵母(*Lachancea thermotolerans*)和兰萨罗特拉钱斯氏酵母(*Lachancea lanzarotensis*)^[24]。兰萨罗特拉钱斯氏酵母是拉钱斯氏酵母属在本研究中的优势种,并在日晒 72、100 以及 120 h 的咖啡果中都处于很高的相对丰度(26%~40%)。赤霉菌则是植物常见的内生菌和致病菌^[25]。总之,本研究中许多优势属(种)与有机物分解以及食品发酵相关,且诸如细菌的葡糖酸杆菌属、泛菌属、韦斯氏菌属属以及真菌的赤霉菌属、蝶孢耳属、汉纳酵母属属等在其他地区、其他加工方式的咖啡微生物研究中也常被报道^[26-30],因此推测它们与日晒法咖啡豆风味的形成可能有着密切的关系,但具体相关性还需进一步研究。

本研究首次使用二代高通量测序技术对云南普洱咖啡发酵微生物开展研究,相较采用纯培养技术展示了更为丰富的咖啡细菌与真菌多样性,并初步揭示了咖啡干法加工初期细菌与真菌群落结构变化的特征。总之,日晒 72 h 是干法加工咖啡果中少数高相对丰度优势细菌与真菌属形成的关键时间点。同时, FAPROTAX 功能群预测表明该时间点还是发酵相关细菌相较其他时间点最为繁盛的时期。在该时间点及之后,细菌的葡糖酸杆菌属、韦斯氏菌属以及泛菌属以及真菌的库兹曼酵母属、拉钱斯酵母属和赤霉

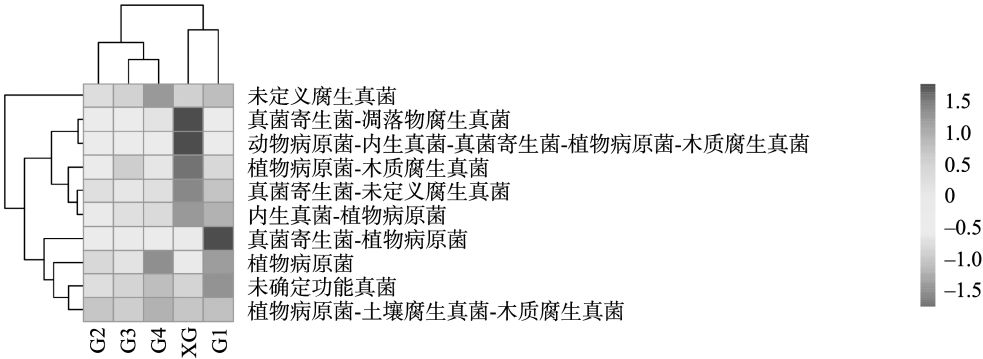


图 6 相对丰度前 10 真菌功能群聚类热图
Fig.6 Heatmap of top 10 fungal functional groups by relative abundance

属会成为占比稳居前列的优势属。此外, FAPROTAX 功能群预测还表明, 在咖啡鲜果中存在动物与人类肠道细菌以及潜在人类致病菌, 可能与人工徒手采摘有关, 但在日晒过程中这些菌群的相对丰度很快降至极低。而化能异养细菌则在鲜果中相对丰度最低却随着日晒过程呈现不断增高的趋势。而 FunGuild 生态功能预测则表明 72 h 同样是真菌病理营养功能群衰落以及单一腐生营养功能群开始繁盛的关键转折点。

参考文献

- [1] 李旂秋, 沈梅. 云南小粒咖啡发展现状及对策研究[J]. 南方农机, 2021, 52(15): 42–46.
- LI YQ, SHEN M. Study on the development status and countermeasures of *Coffea arabica* in Yunnan [J]. China South Agric Mach, 2021, 52(15): 42–46.
- [2] 黄家雄, 吕玉兰, 李贵平, 等. 2020 年我国咖啡生产、贸易及消费形势分析[J]. 中国热带农业, 2021, (5): 40–53.
- HUANG JX, LV YL, LI GP, *et al.* Analysis of China's coffee production, trade and consumption in 2020 [J]. Trop Agric China, 2021, (5): 40–53.
- [3] 肖雯. 消费升级、内需扩大与咖啡进口因应措施[J]. 中国物价, 2021, (8): 38–41.
- XIAO W. Consumption upgrade, domestic demand expansion and countermeasures of coffee imports [J]. China Price, 2021, (8): 38–41.
- [4] 云世界. 探寻云南咖啡种植现状及发展[EB/OL]. [2019-06-15]. <https://www.toutiao.com/i6702734125654082059/> [2022-06-05].
- Yun World. Explore the planting status and development of coffee in Yunnan [EB/OL]. [2019-06-15]. <https://www.toutiao.com/i6702734125654082059/> [2022-06-05].
- [5] 刘艺卓, 焦点. 自由贸易区建设对中国云南咖啡产业的影响[J]. 世界农业, 2017, (3): 181–184.
- LIU YZ, JIAO D. The influence of the construction of free trade zone on the coffee industry in Yunnan, China [J]. World Agric, 2017, (3): 181–184.
- [6] 黄家雄, 李维锐, 夏兵, 等. 云南咖啡产业高质量发展对策初探[J]. 热带农业科技, 2022, 45(3): 21–29.
- HUANG JX, LI WR, XIA B, *et al.* Strategies on how to promote the development of coffee industry with high quality in Yunnan Province [J]. Trop Agric Sci Technol, 2022, 45(3): 21–29.
- [7] 吴建, 蒋快乐, 时玲, 等. 云南小粒种咖啡初加工工艺发展现状及趋势[J]. 中国农机化学报, 2021, 42(11): 205–213.
- WU J, JIANG KL, SHI L, *et al.* Development status and trend of Yunnan *Arabica coffee* primary processing [J]. J Chin Agric Mech, 2021, 42(11): 205–213.
- [8] 张捷华, 张毅. 云南省咖啡产业竞争力现状分析及提升对策探究[J]. 农村经济与科技, 2020, 31(3): 186–188.
- ZHANG JH, ZHANG Y. Study on the current situation and promotion countermeasures of the competitiveness of coffee industry in Yunnan Province [J]. Rural Econ Sci Technol, 2020, 31(3): 186–188.
- [9] 胡发广, 毕晓菲, 黄家雄, 等. 小粒咖啡初加工方法概述[J]. 农产品加工, 2017, (3): 66–70.
- HU FG, BI XF, HUANG JX, *et al.* Summary of initial processing methods of *Arabica coffee* L. [J]. Process Agric Prod, 2017, (3): 66–70.
- [10] PEREIRA PV, BRAVIM DG, GRILLO RP, *et al.* Microbial diversity and chemical characteristics of *Coffea canephora* grown indifferent environments and processed by dry method [J]. World J Microb Biot, 2021, 37(3): 1–12.
- [11] WATERSDM, ARENDEK, MORONIAV. Overview on the mechanisms of coffee germination and fermentation and their significance for coffee and coffee beverage quality [J]. Crit Rev Food Sci, 2017, 57(2): 259–274.
- [12] AVALLONE S, BRILLOUET JM, GUYOT B, *et al.* Involvement of pectolytic micro-organisms in coffee fermentation [J]. Int J Food Sci Technol, 2002, 37: 191–198.
- [13] HAILE M, KANG WH. The role of microbes in coffee fermentation and their impact on coffee quality [J]. J Food Qual, 2019, 2019: 1–6.
- [14] HAMEED A, HUSSAIN SA, IJAZ MU, *et al.* Farm to consumer: Factors affecting the organoleptic characteristics of coffee. II: Postharvest processing factors [J]. Compr Rev Food Sci F, 2018, 17(5): 1184–1237.
- [15] BRUYN F, ZHANG SJ, POTHAKOS V, *et al.* Exploring the impacts of postharvest processing on the microbiota and metabolite profiles during green coffee bean production [J]. Appl Environ Microb, 2017, 83(1): 1–16.
- [16] LOUCA S, PARFREY LW, DOEBELI M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome [J]. Science, 2016, 353: 1272–1277.
- [17] NGUYEN NH, SONG Z, BATES ST, *et al.* Fun guild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild [J]. Fungal Ecol, 2016, 20(1): 241–248.
- [18] DEPPENMEIER U, HOFFMEISTER M, PRUST C. Biochemistry and biotechnological applications of *Gluconobacter strains* [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2002, 60(3): 233–242.
- [19] BRADY C, CLEENWERCK I, VENTER S, *et al.* Phylogeny and identification of *Pantoea species* associated with plants, humans and the natural environment based on multilocus sequence analysis (MLSA) [J]. Syst Appl Microbiol, 2008, 31(2008): 447–460.
- [20] SITEPU IR, GARAY LA, SESTRIC R, *et al.* Oleaginous yeasts for biodiesel: Current and future trends in biology and production [J]. Biotechnol Adv, 2014, 32(7): 1336–1360.
- [21] LOPES MR, LARA CA, MOURA MEF, *et al.* Characterisation of the diversity and physiology of cellobiose-fermenting yeasts isolated from rotting wood in Brazilian ecosystems [J]. Fungal Biol, 2018, 122(7): 1–12.

- 668–676.
- [22] BELLEGGIA L, FERROCINO I, REALE A, *et al.* Portuguese *cacholeira* blood sausage: A first taste of its microbiota and volatile organic compounds [J]. *Food Res Int*, 2020, 136: 109567.
- [23] CARDINALI F, FERROCINO I, MILANOVIĆ V, *et al.* Microbial communities and volatile profile of *Queijo de Azeitão* PDO cheese, a traditional Mediterranean thistle-curdled cheese from Portugal [J]. *Food Res Int*, 2021, 147: 110537.
- [24] KURTZMAN CP, FELL JW, BOEKHOUT T. The yeasts, a taxonomic study, fifth edition [M]. Amsterdam: Elsevier, 2011.
- [25] BEZERRA JDP, NASCIMENTO CCF, BARBOSA RN, *et al.* Endophytic fungi from medicinal plant *Bauhinia forficata*: Diversity and biotechnological potential [J]. *Braz J Microbiol*, 2015, 46(1): 49–57.
- [26] MARTINEZ SJ, BRESSANI APP, SIMÃO JBP, *et al.* Dominant microbial communities and biochemical profile of pulped natural fermented coffees growing in different altitudes [J]. *Food Res Int*, 2022, 159: 111605.
- [27] CRUZ-O'BYRNE R, PIRANEQUE-GAMBASICA N, AGUIRRE-FORERO S. Microbial diversity associated with spontaneous coffee bean fermentation process and specialty coffee production in Northern Colombia [J]. *Int J Food Microbiol*, 2021, 354: 109282.
- [28] ELHALIS H, COX J, FRANK D, *et al.* The crucial role of yeasts in the wet fermentation of coffee beans and quality [J]. *Int J Food Microbiol*, 2020, 333: 108796.
- [29] ELHALIS H, COX J, ZHAO J. Ecological diversity, evolution and metabolism of microbial communities in the wet fermentation of Australian coffee beans [J]. *Int J Food Microbiol*, 2020, 321: 108544.
- [30] POTHAKOS V, VUYST LD, ZHANG SJ, *et al.* Temporal shotgun metagenomics of an Ecuadorian coffee fermentation process highlights the predominance of lactic acid bacteria [J]. *Curr Res Biotechnol*, 2020, 2: 1–15.

(责任编辑: 黄周梅 于梦娇)

作者简介



韩 龙, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为微生物生态。

E-mail: longhan24@vip.qq.com



阚 欢, 硕士, 教授, 主要研究方向为林产品加工。

E-mail: 13700650213@163.com