

## 不同年份标准仓储广陈皮表面微生物的分布

陈林, 吴蓓, 陈鸿平, 王福, 胡媛, 刘友平\*

(成都中医药大学药学院 中药标准化教育部重点实验室)

西部特色中药资源——省部共建国家重点实验室 成都 611137)

**摘要** 目的:研究不同年份标准仓储广陈皮表面微生物的分布特点。方法:采用高通量测序的方法对贮存年限为 0,1,2,3,4,5,10,15,30 年的广陈皮进行测序,结合 OUT 分析、Alpha 多样性分析与主成分分析方法,分析广陈皮表面真菌与细菌在“属”水平的分布特点。结果:9 个贮存年限的广陈皮样品中真菌的物种类型丰富程度总体为先上升后下降,在贮存年限为 2,3,4,5,10 年时,物种类型数目较多且均一性好。前 10 年的优势菌属主要为青霉菌属与曲霉属,而后是耐干霉菌属。有别于真菌,细菌种类数目的变化波动较大,但每种细菌的丰度变化幅度较小。优势细菌属有鞘氨醇单胞菌属、乳杆菌属、另枝菌属与泛菌属,分别为贮存年限 0,1,2,4 年样品的优势菌属,以及在各年份样品中均占有较高相对丰度的瘤胃球菌属。结论:根据不同年份菌属分布特点,建立了以真菌特征菌属为主,细菌特征菌属为辅的模式,可用于初步判断广陈皮药材的贮存时间。

**关键词** 标准仓储; 广陈皮; 细菌; 真菌; 特征菌属

**文章编号** 1009-7848(2022)03-0281-07 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.03.031

陈皮为芸香科植物橘(*Citrus reticulata* Blanco)及其栽培变种的干燥成熟果皮,具有理气健脾,燥湿化痰之功<sup>[1]</sup>。其入药历史悠久,始载于《神农本草经》<sup>[2]</sup>,原名“橘柚”,为常用的药食两用品。《本草经集注》以其“陈久者良”<sup>[3]</sup>,之后医家以橘皮久藏能温、能行,至《食疗本草》<sup>[4]</sup>始有“陈皮”之名,沿用至今,流通药材分为“陈皮”与“广陈皮”。现代研究,学者多从贮藏条件<sup>[5]</sup>、环境因子<sup>[6]</sup>等各方面探究陈皮陈化机制,并通过对陈皮中真菌的分析进一步探究陈皮的药效物质基础。项目组前期研究了 3,5,10 年广陈皮优势菌落,常见、稀有菌群<sup>[7]</sup>,发现广陈皮表面真菌群落与湿度、水分、温度、总黄酮、多糖含量密切相关。尝试将黑曲霉反接陈皮,结果发现黄酮类成分含量均增加,抗氧化和祛痰作用增强,与仓储 5 年陈皮功效相当。提示广陈皮表面微生物可引起药效物质的改变。研究广陈皮微生物分布,于广陈皮质量控制具有重要意义。

本文以标准仓储 0,1,2,3,4,5,10,15,30 年的广陈皮为研究对象,通过 Illumina HiSeq 测序平台,分析不同贮藏年限广陈皮真菌与细菌群落

的差异,以及微生物群落变化规律,为广陈皮质量控制提供参考。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 试验仪器与试剂

PTC200PCR 仪,美国 BIO-Rad 公司;DYY-8C 电泳仪,北京六一仪器厂;2×Taq PCR Master-Mix (Tiagen Biotech Co., China);QIAquick 胶回收试剂盒,QIAGEN 公司;HiSeq 2500 测序系统,Illumina 公司;建库试剂盒 TruSeq<sup>®</sup> DNA PCR-Free Sample Preparation Kit,Illumina 公司。

#### 1.2 试验材料

不同贮藏年限标准仓储广陈皮均购于江门市新会陈皮村市场股份有限公司,经成都中医药大学鉴定为茶枝柑,见表 1。标准仓储为产地原位仓储,季节性定期管理,并记录仓储温湿度变化,是一种良好的样品可追溯收集办法,可避免环境以及年份不准确对微生物种类的影响,对确保试验结果准确性提供了保障。

#### 1.3 试验方法

使用无菌棉签擦拭样品表面,剪下棉签部分,采用 CTAB 法提取样品总 DNA,根据保守区设计得到引物,在引物末端加上测序接头,进行 PCR 扩增并对其产物进行纯化、定量和均一化形成测

收稿日期:2021-03-31

基金项目:国家自然科学基金项目(81973436)

作者简介:陈林(1980—),男,博士,副教授

通信作者:刘友平 E-mail: liuyouping@163.com

表1 广陈皮信息表  
Table 1 Sample information

编号	品种名	产地	收集时间	贮藏年限
Y0	茶枝柑( <i>Citrus reticulata</i> cv. Chachiensis)	广东新会	2019.10.22	0
Y1	茶枝柑	广东新会	2019.10.22	1
Y2	茶枝柑	广东新会	2019.10.22	2
Y3	茶枝柑	广东新会	2019.10.22	3
Y4	茶枝柑	广东新会	2019.10.22	4
Y5	茶枝柑	广东新会	2019.10.22	5
Y10	茶枝柑	广东新会	2019.10.22	10
Y15	茶枝柑	广东新会	2019.10.22	15
Y30	茶枝柑	广东新会	2019.10.22	30

序文库,进行文库质检,质检合格的文库用 Illumina HiSeq 2500 测序。

#### 1.4 数据处理

采用 Illumina HiSeq 测序平台得到双端 reads 数 PE Reads, 进行拼接得到原始序列数 Raw Tags, 将原始序列过滤得到优化序列 Clean Tags, 再进行过滤嵌合体, 得到可用于后续分析的有效数据 Effective Tags。使用 UCLUST 对 Tags 在 97% 的相似度水平下进行聚类、获得 OTUs, 并对每个 OUT 进行物种注释。同时对 OTUs 进行丰度、Alpha 多样性以及主成分分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 OUT 分析结果

使用 QIIME<sup>[8]</sup>(version 1.8.0) 软件中的 UCLUST<sup>[9]</sup>对 Tags 在 97% 的相似度水平下进行聚

类、获得 OTU, 并基于 Silva(细菌)和 UNITE(真菌)分类学数据库对 OTU 进行分类学注释。不同年限广陈皮各等级的物种类型数目见表 2, 微生物“属”水平的物种分布见图 1、图 2。

由表 2 可知,随着贮存年限的增加,真菌各等级的物种类型数目整体呈先上升后下降的趋势,在贮存年限为两年时达到最高。由图 1 可知,在“属”水平,不同年限广陈皮样品的真菌种类不尽相同,总体相对丰度水平前 10 的真菌属为有孢汉逊酵母属(*Hanseniaspora*)、节担菌属(*Wallemia*)、轮枝菌属(*Verticillium*)、被孢霉属(*Mortierella*)、假丝酵母属(*Candida*)、枝孢菌属(*Cladosporium*)、镰刀菌属(*Fusarium*)、曲霉属(*Aspergillus*)、青霉菌属(*Penicillium*)与耐干霉菌属(*Xeromyces*)。其中,有孢汉逊酵母属仅在贮存的初期存在,且相对丰度占比约为 9%;假丝酵母菌属、枝孢菌属、曲霉属以

表2 各等级的物种类型数目

Table 2 The number of species in each class

编号	真菌					细菌				
	纲	目	科	属	种	纲	目	科	属	种
Y0	15	28	45	50	40	18	51	93	237	275
Y1	13	27	43	47	44	21	53	102	261	295
Y2	23	42	70	86	69	25	71	123	288	319
Y3	18	35	52	58	48	23	57	93	206	233
Y4	16	35	60	66	50	24	52	93	236	261
Y5	21	35	42	53	46	34	91	150	281	310
Y10	16	35	58	64	52	20	49	91	229	263
Y15	11	16	22	25	20	20	46	90	239	275
Y30	7	9	13	14	11	22	60	111	264	299

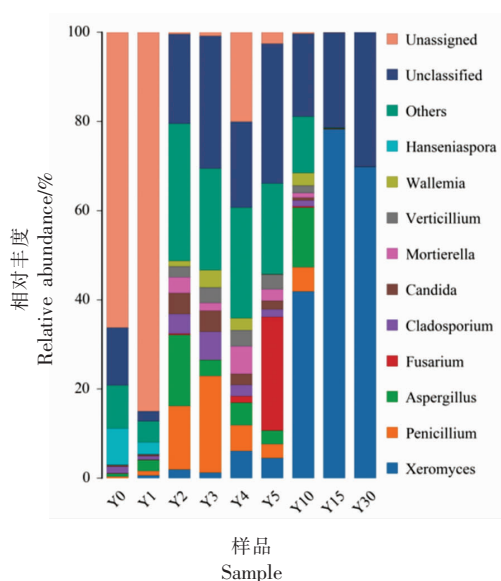


图 1 真菌“属”水平物种分布图

Fig.1 Distribution of genus level species of fungi

及青霉菌属为常驻菌种,曲霉属与青霉菌属在广陈皮产出贮存 2 年后其生长活性最强。随着贮存的年限增长,耐干霉菌属相对丰度逐年增加,第 10 年时其相对丰度占比超过 40%,第 15 年成为仅存的注释物种。

由表 2 可知,广陈皮的细菌各等级物种类型数目,随年限增加整体呈先增加,后减少,再增加,最终逐渐缓慢减少并趋于稳定。由图 2 可知相对丰度水平前 10 的细菌属为布劳特氏菌属(*Blautia*)、霍氏真杆菌属(*[Eubacterium] hallii group*)、1174-901-12、泛菌属(*Pantoea*)、鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、另枝菌属(*Alistipes*)、毛螺菌属(*Uncultured bacterium f Lachnospiraceae*)、瘤胃球菌属(*[Ruminococcus] torques group*)。其中 1174-901-12 仅存在于当年刚产的广陈皮中,泛菌属在贮存 4 年的广陈皮中相对丰度占比达 20% 以上,其它年份却极少存在,其它菌属在不同年限的样品中均存在,但在贮存的前 4 年,每年各有 1 至 2 个显著的优势菌属。而在贮存年限为 5 年、10 年、15 年以及 30 年的样品中各菌属相对丰度占比渐趋均衡,与前 4 年的样品相比优势菌属并未显示出突出的优势。

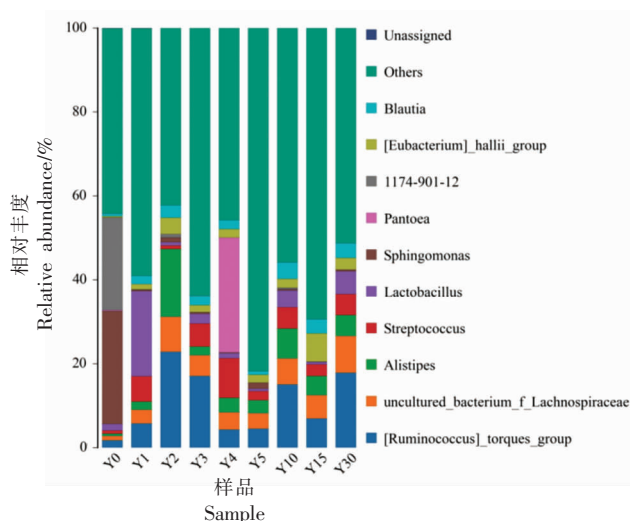


图 2 细菌“属”水平物种分布图

Fig.2 Distribution of bacteria at the genus level

注:1.一种颜色代表一个物种,色块长度表示物种所占相对丰度比例;2.为使视图效果最佳,只显示丰度水平前 10 的物种,并将其它物种合并为 Others 在图中显示,Unclassified 代表未得到分类学注释的物种。

## 2.2 Alpha 多样性分析结果

Alpha 多样性(Alpha diversity)反映的是单个样品物种丰度(richness)及物种多样性(diversity)。Chao1 和 Ace 指数衡量物种丰度即物种数量的多少。Shannon 和 Simpson 指数用于衡量物种多样性,受样品群落中物种丰度和物种均匀度(Community evenness)的影响。相同物种丰度的情况下,群落中各物种均匀度越大,则群落多样性越大,Shannon 指数值越大,Simpson 指数值越小,说明样品的物种多样性越高<sup>[10]</sup>。另外还统计了 OTU 覆盖率 Coverage,其数值越高,则样本中物种被测出的概率越高,而没有被测出的概率越低。该指数反映本次测序结果是否代表了样本中微生物的真实情况。

使用 Mothur(version v.1.30)软件,对样品 Alpha 多样性指数进行评估。各样品 Alpha 多样性指数统计如表 3 所示。

由表 3 可知,不同年限样品的真菌与细菌的 OUT 覆盖率均在 0.999 以上,表明本次测序结果能较准确地反映样本中微生物的真实情况。

物种丰富度以 ACE 指数为评价指标,各样品的丰富度大小顺序为 Y10>Y1>Y4>Y2>Y3>Y0>Y5>Y15>Y30 (真菌);Y2>Y4>Y5>Y15 (Y30)>

表3 Alpha多样性指数值统计表

Table 3 Statistical table of Alpha diversity index

	OTU	ACE	Chao1	Simpson	Shannon	Coverage	OTU	ACE	Chao1	Simpson	Shannon	Coverage
Y0	129	292	153	0.438	1.649	1.0	472	486	500	0.047	3.866	0.9999
Y1	110	529	163	0.696	1.033	0.9999	532	574	569	0.054	4.393	0.9999
Y2	230	469	330	0.039	4.275	0.9999	648	797	790	0.063	4.074	0.9998
Y3	176	329	210	0.052	4.070	0.9999	402	514	528	0.037	4.612	0.9998
Y4	192	478	336	0.049	4.065	0.9997	493	723	649	0.087	4.204	0.9998
Y5	175	197	188	0.068	4.042	0.9999	550	618	575	0.031	5.070	0.9999
Y10	170	664	215	0.111	3.360	0.9999	541	585	573	0.028	4.967	0.9999
Y15	53	169	108	0.489	0.918	1.0	591	601	603	0.019	4.748	0.9999
Y30	38	52	50	0.451	0.915	1.0	594	601	599	0.037	4.735	1.0

Y10>Y1>Y3>Y0(细菌)。以 Chao1 指数评价物种丰富度,各样品的丰富度大小顺序为 Y4>Y2>Y10>Y3>Y5>Y1>Y0>Y15>Y30(真菌);Y2>Y4>Y15>Y30>Y5>Y10>Y1>Y3>Y0(细菌)。综合 ACE 指数与 Chao1 指数两个指标,真菌的物种类型在贮存年限为 2 至 4 年时丰富度较高,随着贮存年限的增加物种丰富度下降,当贮存年限为 30 年时丰富度指数仅为指数得分较高样品的 1/6 至 1/10;细菌的物种类型在贮存年限为 2 年、4 年时丰富度较高,当样品贮存 10 年以上丰富度指数变化差异小,物种类型数目趋于稳定。

物种多样性以 Simpson 指数为评价指标,各样品的多样性顺序为 Y2>Y4>Y3>Y5>Y10>Y0>Y30>Y15>Y1(真菌);Y15>Y10>Y5>Y3(Y30)>Y0>Y1>Y2>Y4(细菌)。以 Shannon 指数为评价指标,各样品的多样性顺序为 Y2>Y3>Y4>Y5>Y10>Y0>Y1>Y15>Y30(真菌);Y5>Y10>Y15>Y30>Y3>Y1>Y4>Y2>Y0(细菌)。综合 Simpson 指数与 Shannon 指数两个指标,在广陈皮的产出初期与贮存年限超过 10 年时真菌物种多样性较差,即物种均一性差,表明广陈皮在产出初期与贮存较长年限后真菌的优势菌群更为突出。而广陈皮中的细菌在贮存年限长的样品中物种多样性较大,即均一性较好,表明随着贮存时间的延长,广陈皮中各类细菌在长期生存竞争之下,逐渐达到一种相互制约平衡的状态,这与真菌形成显著优势菌群的情况存在差异。

### 2.3 主成分分析结果

通过主成分分析(Principal Component Analysis,PCA)方法对不同样品 OUT 组成进行分析,并使用 R 语言工具绘制 PCA 分析图,结果见图 3、图 4。

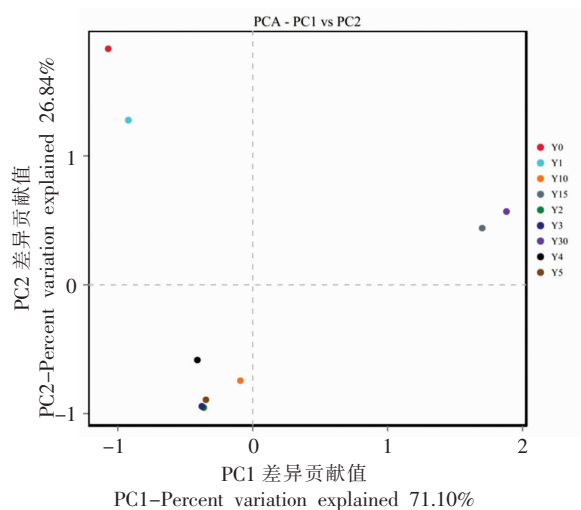
由真菌的主成分分析图可知,两主成分之和大于 90%,表明两个成分能很好地代表样品中真菌群落的信息,其中 PC1 和 PC2 分别解释了不同真菌群落 71.10%和 26.84%的信息。根据主成分分析结果可将不同贮存时间的广陈皮样品划分为 3 组,贮存 0 年、1 年为一组,贮存 2 年、3 年、4 年、5 年、10 年为一组,贮存 15 年、30 年为一组。

由细菌的主成分分析图可知,两主成分之和大于 60%,其中 PC1 和 PC2 分别解释了不同细菌群落 32.01%和 28.63%的信息,两个成分所占比重相似。综合两大主成分的分析结果,不同年限的广陈皮样品可归为 4 类,贮存 1 年、3 年、5 年、10 年、15 年、30 年为一类,贮存 0 年、2 年、4 年各为一类。

### 2.4 真菌群落分布特征

基于 ITS 区高通量测序的序列数据,并结合 OUT 分析、Alpha 多样性分析与主成分分析的结果表明,9 个不同贮存年限的广陈皮样品,其真菌的物种类型丰富程度总体为先上升后下降,在贮存年限为 2 年、3 年、4 年、5 年、10 年时物种类型数目较多且均一性好,说明该期间广陈皮各真菌群落生长活力差异较小,不同菌落之间竞争生存

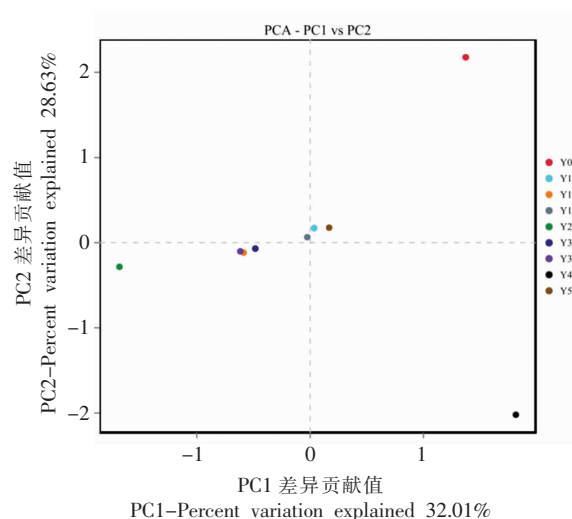




注:点分别表示各样品;不同颜色代表不同分组;横坐标表示第一主成分,百分比则表示第一主成分对样品差异的贡献值;纵坐标表示第二主成分,百分比表示第二主成分对样品差异的贡献值。

图 3 真菌 PCA 分析图

Fig.3 PCA analysis of fungi



注:点分别表示各样品;不同颜色代表不同分组;横坐标表示第一主成分,百分比则表示第一主成分对样品差异的贡献值;纵坐标表示第二主成分,百分比表示第二主成分对样品差异的贡献值。

图 4 细菌 PCA 分析图

Fig.4 PCA analysis of bacteria

以维持一个相对稳定的微生物环境。在此期间青霉菌属与曲霉属为主要菌群。据相关研究报道<sup>[7,11-12]</sup>,青霉菌具有一定的酶活性,可降解纤维素等以提高总黄酮的提取率。曲霉作为发酵工业的常用菌种,可促使化学活性物质合成转化。贮存 3 年的广陈皮中青霉菌属和曲霉属活力较强与传统要求的“存期 3 年或以上的才称之为陈皮”的说法相对应,从各分析结果还可知,在贮存初期与超过 10 年的样品中真菌群落中优势菌属显著,但这两种时期的优势菌属种类却大不相同。陈皮在产出当年有孢汉逊酵母属相对丰度优势明显,但经过 1 年之后相对丰度占比减少至初始的三分之一,其相对丰度与曲霉属相当,约占总体的 3%,贮存 2 年的样品中已不存在有孢汉逊酵母属,而耐干霉菌属则表现出相反的丰度变化趋势。有孢汉逊酵母属为一类拮抗酵母菌常喷洒于柑橘上以抑制柑橘采后病害的发生<sup>[10]</sup>,故此推断在产出当年有孢汉逊酵母属相对丰度占比高可能是由人为导致,后主导地位被更适宜生存的青霉菌等所取代。但随着年限的延长,真菌所需的营养物质不断消耗,生存条件逐渐恶化,大部分菌种难以存活,而耐干霉菌属这种极端环境微生物相对丰度不断地增加,由第 10 年的 40%在第 15 年上升至 80%,成为

绝对的优势菌属。

## 2.5 细菌群落分布特征

通过 16S 区高通量测序得到序列数据,运用 OUT 分析、Alpha 多样性分析与主成分分析可知细菌在不同年限样品中的变化规律。区别于真菌,细菌种类数目的变化趋势波动较大,但变化幅度较小。细菌中的优势菌属有鞘氨醇单胞菌、乳杆菌属、另枝菌属与泛菌属,分别为贮存年限 0 年、1 年、2 年与 4 年样品的优势菌属,以及在各年份样品中均占有较高相对丰度的瘤胃球菌属。因优势菌属的制约,0 年、1 年、2 年和 4 年的样品虽菌群种类丰富度略高,但均一性较差。加之不同年限优势菌属存在差异,贮存年限 0 年、2 年、4 年的样品与其它年限的样品被划归为不同类别。其中鞘氨醇单胞菌作为贮存 0 年样品的优势菌属具有降解芳香化合物的特性,解释了研究报道<sup>[13]</sup>中所述的广陈皮在陈化初期,阿魏酸、绿原酸呈下降趋势而香豆酸呈上升趋势的现象。作为早期优势菌的乳杆菌属与泛菌属主要分解消耗鼠李糖、果糖、蔗糖等营养物质。而在各年份均有着较高相对丰度的瘤胃球菌属可降解细胞壁中的纤维素,这有利于植物细胞中物质的溶出,提高药效物质的提取率。通过以上不同细菌属的生物特性与分布特点

可以从微生物的角度更好地理解广陈皮的陈化机制。

### 3 结论

通过本研究可知,不同年份广陈皮表面微生物的分布特点与自身的生物习性和所处的外在环境息息相关,寄生于广陈皮的微生物在消耗广陈皮营养物质的同时亦代谢产生各种活性酶而作用于寄主,以此改变寄主的内在物质基础。因此在广陈皮的陈化过程中,不同年份优势菌属的改变,也可从一定程度上反映广陈皮所处的年份,如同药材的成分特征图谱,不同的菌属亦可用于表达广陈皮的年份信息。相较于真菌,细菌在不同年份间的种类差异不是那么显著,故基于本次研究结果,可建立以真菌特征菌属为主,细菌特征菌属为辅的模式来初步判断陈皮药材的贮存时间。其中贮存年限0年的广陈皮应检出真菌孢汉逊酵母属或细菌1174-901-12,且不能检出耐干霉菌属;贮存年限1至5年应检出青霉菌属与曲霉属,可检出真菌镰刀菌属或细菌泛菌属;贮存年限5年以上至10年的广陈皮应检出青霉菌属、曲霉属与耐干霉菌属;贮存年限10年以上的广陈皮应检出耐干霉菌属,青霉菌属与曲霉属不得检出或少量检出。

本研究利用高通量测序方法分析了0,1,2,3,4,5,10,15,30年的广陈皮药材表面微生物分布特点,从环境因子以外的另一个方面来更深入的认识广陈皮的陈化机制,加之本次研究所用广陈皮药材的贮存年限跨幅大,可较之前类似的报道更为全面地反映了微生物与广陈皮年份之间的关系,有助于更好地分析微生物对广陈皮陈化过程的影响,揭示广陈皮药效物质的形成机理。另外,本文对广陈皮特征菌属这一概念的首次提出可为陈皮质量研究提供新的思路。

### 参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 191.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of People's Republic of China[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 191.
- [2] 顾观光. 神农本草经[M]. 哈尔滨: 哈尔滨出版社, 2007: 71-72.  
GU G G. Shennong's herbal[M]. Harbin: Harbin Publishing House, 2007: 71-72.
- [3] 孟洗. 食疗本草[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 32.  
MENG X. Dietetic materia medica[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1984: 32.
- [4] 陶弘景. 本草经集注[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 52.  
TAO H J. Collective notes to the canon of materia medica [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1994: 52.
- [5] 魏莹, 李文东, 杨武亮. 不同包装贮藏方式对广陈皮质量的影响[J]. 中医药信息, 2016, 33(4): 67-71.  
WEI Y, LI W D, YANG W L. Effect of different packaging and storage methods on the quality of citrus reticulata "Chachi" [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2016, 33(4): 67-71.
- [6] 刘素娟. 陈皮陈化过程“环境因子-真菌-药效物质基础”相关性研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2018.  
LIU S J. Correlation research of environmental factors, fungi and effective substance in the aging process of Citri Reticulatae Pericarpium [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2018.
- [7] 张鑫. 基于真菌与陈皮药效物质相关性研究陈皮陈化机制[D]. 成都: 成都中医药大学, 2017.  
ZHANG X. Study on the aging mechanism of citri reticulatae pericarpium based on the correlation between fungal and effective substance [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2017.
- [8] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nature Methods, 2010, 7(5): 335-336.
- [9] EDGAR R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST [J]. Bioinformatics, 2010, 26(19): 2460-2461.
- [10] 李万海. 葡萄汁有孢汉逊酵母结合卵磷脂对柑橘采后绿霉病的生物防治及其机制研究[D]. 镇江: 江苏大学, 2016.

- LI W H. Biocontrol of postharvest green mold decay of citrus by *Hanseniaspora uvarum* in combination with phosphatidylcholine and the possible mechanisms involved[D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2016.
- [11] 许云峰, 周建芹, 陈晶磊, 等. 内生青霉菌纤维素酶辅助提取槐米总黄酮[J]. 生物加工过程, 2009, 7(2): 18-22.
- XU Y F, ZHOU J Q, CHEN J L, et al. Application of cellulase from endophytic *Penicillium* sp.B-4 on total flavonoid extraction from flower buds of *Sophora japonica*[J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2009, 7(2): 18-22.
- [12] 王福. 陈皮真菌与药效物质基础变化的相关性研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2016.
- WANG F. Study on the scientific connotation of "the longer storage time the better" of Guang Chen Pi[D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2016.
- [13] 陈聪聪. 广陈皮陈化过程中微生物群落多样性解析及代谢物成分变化分析[D]. 广州: 华南理工大学, 2017.
- CHEN C C. Characterization of microbial community diversity and metabolites changes of *Peri carpium Citri Reticulatae*[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017.

### Microbe Distribution on the Surface of *Pericarpium Citri Reticulatae* in Different Years

Chen Lin, Wu Bei, Chen Hongping, Wang Fu, Hu Yuan, Liu Youping\*

(Pharmacy College, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Key Laboratory of Systematic Research of Distinctive Chinese Medicine in Southwest China, Chengdu 611137)

**Abstract** Objective: To study the distribution characteristics of microorganisms on the surface of pericarpium citri reticulatae (PCR) stored in standard warehouses in different years. Method: High-throughput sequencing method was used to sequence the sequence data of the PCR with the storage time of 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 and 30 years. The distribution characteristics of fungi and bacteria on the surface of PCR were analyzed by OUT analysis, alpha diversity analysis and principal component analysis. Conclusion: The species richness of the nine samples with different storage time increased first and then decreased. When the storage time was 2, 3, 4, 5 and 10 years, the number of species was more and the homogeneity was better. The dominant bacteria in the first 10 years were mainly *Penicillium* and *Aspergillus*. Different from fungi, the change trend of the number of bacteria species fluctuates greatly, but the change range is small. The dominant bacteria were *Sphingomonas*, *Lactobacillus*, *Cladosporium* and *Pantheria*. They are the dominant bacteria with 0, 1, 2 and 4 years storage time respectively, and *Rumen cocci* with high relative abundance in each year. Discussion: A model was established to judge the storage time of PCR according to the distribution characteristics of fungi in different years.

**Keywords** standard warehouses; pericarpium citri reticulatae; bacteria; fungal; characteristics specie