赤峰市巴林右旗地区乳及传统发酵乳制品中真菌多样性及其功能预测分析

朱丽[1]，刘玮[1,2]，何宇星[1,3]，于靖和[1]，白高娃[1]，乌云达来[1*]

(1.内蒙古农业大学食品科学与工程学院，内蒙古呼和浩特 010018)(2.内蒙古农业大学职业技术学院食品工程技术系，内蒙古包头 014109)(3.鄂尔多斯市检验检测中心，内蒙古鄂尔多斯 017010)

摘要：该研究以赤峰市巴林右旗地区乳及传统发酵乳制品中真菌为研究对象，采用 Illumina Miseq 技术分析真菌多样性，并通过 FUNGuild 对真菌功能进行预测分析。结果显示：牛乳中的优势真菌属为 *Clavispora*、*Tirchosporon*；乌如木为 *Geotirchum*、*Unclassified_f_Dipodascaceae*；胡乳德为 *Unclassified_f_Metschnikowiaceae*、*Clavispora*、*Issatchenkia*；塔拉格为 *Geotirchum*、*Dekkera*、*Apiotrichum*、*Cutaneotrichosporon*、*Unclassified_o_Saccharomycetales*。与牛乳相比，乌如木、胡乳德、塔拉格中与致病相关的真菌属 *Trichosporon*、*Candida* 相对丰度下降，且有益真菌的占比增加，可见发酵能有效减少病原真菌并富集有益真菌。属水平真菌菌群组成中 *Geotrichum*、*Clavispora*、*Dekkera*、*Apiotrichum* 及 *Unclassified_o_Saccharomycetales* 相对丰度均存在显著差异（$P < 0.05$）。综上所述，发酵会使真菌群落结构发生明显改变，且不同发酵工艺对乳制品真菌菌群组成的影响不同。FUNGuild 基因功能预测结果表明，牛乳的主要营养模式为腐生营养型和病理营养型，包括腐生菌及动物病原菌；乌如木与胡乳德的营养模式均为腐生营养型，包括未定义的腐生菌；塔拉格的主要营养模式和牛乳相同，但包括未定义的腐生菌、土壤腐生菌、动物病原菌。该研究结果对评估巴林右旗地区乳及传统发酵乳制品的产品质量及真菌结构具有重要的参考意义。

关键词：乳；乳制品；传统发酵；真菌；多样性；功能预测

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.9.0825

Analysis of Fungal Diversity and its Functional Prediction in Milk and Traditionally Fermented Dairy Products in the Bahrain-right Banner area of Chifeng City

ZHU Li[1], LIU Wei[1,2], HE Yuxing[1,3], YU Jinghe[1], BAI Gaowa[1], WUYUN Dalai[1*]

(1.College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China) (2.Inner Mongolia Agricultural University Vocational and Technical College, Department of Food Engineering and Technology, Baotou 014109, China) (3.Ordos Inspection and Testing Centre, Ordos 017010, China)

Abstract: In this study, the fungi in milk and traditional fermented dairy products in the area of Bahrain Right Banner, Chifeng City, were used to analyse the fungal diversity by Illumina Miseq technology, and the fungal functions were predicted and analysed by FUNGuild. The results showed that the dominant fungal genera in milk were *Clavispora*; in urum, *Geotirchum*, *Unclassified_f_Dipodascaceae*; and in hurood, *Unclassified_f_Metschnikowiaceae*, *Clavispora* and *Issatchenkia*; and *Geotirchum*, *Dekkera*, *Apiotrichum*, *Cutaneotrichosporon*, and *Unclassified_o_Saccharomycetales* for tarag. Compared to milk, the fungal genera associated with pathogenicity in Urum, Hurood, and Tarag are *Trichosporon*, *Candida* decreased in relative abundance and the percentage of beneficial fungi increased, which shows that fermentation is effective in reducing pathogenic fungi and enriching beneficial fungi. The relative abundance of *Geotrichum*, *Clavispora*, *Dekkera*, *Apiotrichum* and *Unclassified_o_Saccharomycetales* in the composition of the fungal flora at the genus level were significantly different ($P < 0.05$). In

收稿日期：2024-06-11；修回日期：2024-08-19；接受日期：2024-08-21

基金项目：国家自然科学基金地区科学基金项目（32360570）；2023 年自治区重点研发和成果转化计划（科技支撑东北振兴）项目（2023YFDZ0046）；2023 年度呼伦贝尔市“科技兴市”行动重点项目（2023HZZX011）；2023 年度呼伦贝尔市应用技术研究与开发资金项目（NC2023020）

作者简介：朱丽（2000-），女，硕士研究生，研究方向：食品科学与工程，E-mail：2905862456@qq.com

通讯作者：乌云达来（1975-），男，博士，教授，研究方向：食品微生物及其生物技术，E-mail：wydl@imau.edu.cn

summary, fermentation causes significant changes in fungal community structure and different fermentation processes have different effects on the composition of fungal flora in dairy products. The results of FUNGuild gene function prediction showed that the main nutritional modes of milk were saprotrophic and pathotrophic, including saprotrophic fungi and animal pathogenic fungi; the nutritional modes of both Urum and Hurood were saprotrophic and included unclassified saprotrophic fungi; the main nutritional modes of Tarag were saprotrophic and pathotrophic. Ger had the same main trophic pattern as milk, but included undefined saprophytic bacteria, soil saprophytes, and animal pathogenic bacteria. The results of this study are important for assessing the product quality and fungal structure of milk and traditional fermented dairy products in the Bahraini Right Banner region.

Key words: milk; dairy products; traditional fermentation; fungi; diversity; functional prediction

巴林右旗位于内蒙古自治区东部、赤峰市北部，是内蒙古的一处天然牧场。当地人用传统方法发酵制作成的乌如木、胡乳德、塔拉格等乳制品保留了大量当地珍贵的益生菌资源[1]，乳制品中的益生菌可改善肠道健康，促进营养吸收[2,3]。乳及乳制品富含多种脂肪酸、优质蛋白质、微量元素和乳糖形式的碳水化合物，对健康十分有益，例如促进骨骼健康、降低糖尿病及心血管疾病等风险[4]。它们是巴林右旗人民不可缺少的食物，深受当地人与国内外人民的喜爱。

将鲜奶装入洗净的容器中，夏季置于阴凉处，冬季置于暖坑上，经过一段时间的自然发酵形成“凝结乳”，凝结乳有两层，上层淡黄色，脂肪丰富，叫做乌如木，下层白色块状，蛋白质丰富，叫做疙瘩奶子。胡乳德又叫奶豆腐，将疙瘩奶子在锅内缓慢加热，并逐渐将乳清排除至挤尽，加大火力并不断搅拌成胶状物质，将其放入模具中成型半日，取出即为胡乳德。塔拉格的传统制作方法是将新鲜的牛乳全部装入一个皮袋中，并用同样由皮革制成的绳子扎紧后在 15~20 ℃下自然发酵 2~8 天，发酵完成的塔拉格口味酸，并伴有酒精味，经常被用作食物佐料。当地传统发酵乳制品均通过自然发酵而成，不添加任何商业发酵剂，具有独特而稳定的微生物群落，因此具有重要的研究价值。据 Bao 等[5]研究，自然发酵驼乳、酸马奶、乌如木等中的细菌主要有德氏乳杆菌、瑞士乳杆菌和嗜热链球菌[6-9]，真菌主要有克鲁维酵母等[10,11]，然而目前还没有关于巴林右旗地区乳及传统乳制品中真菌多样性的研究。乳及传统发酵乳制品的质量受多种因素的影响，如微生物、酸度等[12]，其中微生物是影响乳及传统发酵乳制品感官和质地的重要因素[13,14]，真菌在乳制品发酵过程中扮演着重要的角色，其能够通过多种代谢途径影响发酵乳制品的感官、营养和功能特性，与风味的形成紧密相关，一些酵母和霉菌在某些奶酪的生产以及产品风味和香气方面发挥重要作用，但部分酵母菌和霉菌也会导致乳制品变质[15]。

过去研究微生物群落组成及多样性主要使用分离培养方法,并结合形态学、生理生化和 DNA 序列分析进行物种鉴定，耗时耗力还易受环境微生物的影响，很难确定样品中的微生物组成[16]。Illumina Miseq 技术不仅提高测序速度，还能全面覆盖样品中复杂、丰度较低的微生物群落，并能在属水平分析微生物群落的多样性。因此，该研究利用 Illumina Miseq 技术对赤峰市巴林右旗地区乳及传统发酵乳制品中真菌多样性进行分析，并通过 FUNGuild 功能预测对样品中真菌功能组成进行分析。这对评估巴林右旗地区乳及传统发酵乳制品的产品质量及真菌结构具有重要的参考意义。

1 材料与方法

1.1 样品的收集

在内蒙古赤峰市巴林右旗地区的牧民家庭采集牛乳及自然发酵制作而成的乌如木、胡乳德、塔拉格样品各 3 份，采集的样品在 4 ℃冷藏储存，运输到实验室保存到-80 ℃冰箱用于真菌多样性分析。

1.2 DNA 提取

使用 E.Z.N.A.®土壤 DNA 试剂盒（Omega Bio-tek，Norcross，GA，U.S.）从牛奶样品和自然发酵乳制品样品中提取微生物总基因组 DNA。使用 Thermo NanoDrop 2000（美国 Thermo Science）超微量分光光度计测定总基因组 DNA 浓度和纯度。根据制造商的说明，使用 1%琼脂糖凝胶电泳对总基因组 DNA 提取质量进行检测，并将总基因组 DNA 置于-20 ℃保存备用。

1.3 ITS 基因扩增及测序

用上游引物 ITS 1F（5’-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3’）和下游引物 ITS 2R（5’-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3’）扩增内部转录间隔区（ITS），PCR 扩增条件如下：预变性：95 ℃ 3 min，变性：95 ℃，30 s，退火：58 ℃，30 s，延伸：72 ℃，45 s，30 个循环，单次延伸 10 min，4 ℃结束。PCR 产物利用 1%琼脂糖凝胶电泳验证，并使用天根通用型 DNA 纯化回收试剂盒（天根生化科技北京有限公司）纯化，使用 Thermo NanoDrop 2000（美国 Thermo Science）超微量分光光度计测定基因浓度和纯度。

1.4 序列分析及分类学分析

根据马约生物制药技术有限公司的标准协议，纯化的扩增子在 Illumina MiSeq PE300 平台（中国上海）上进行等摩尔和配对测序。使用 Fastp（版本 0.20.0）软件对原始 ITS 基因测序序列进行质控，并通过 FLASH（版本 1.2.11）进行拼接。使用 UPARSE（版本 7.1）聚类软件工具根据序列相似性 97%将序列划分为操作分类单元（OTUs），并去除嵌合体。通过 RDP 分类器（https://sourceforge.net/projects/rdp-classifier/）（版本 2.11）对每条序列进行物种分类注释，在门和属水平上建立每个样品的真菌群落组成和科学分类。

1.5 生物信息学与统计分析

采用 Mothur 软件（V.1.30.2）计算样本序列，提取最小样本序列数后在 OTU 水平计算 Shannon、Simpson、Ace、Chao、覆盖率等 α 多样性指标，并绘制样本的稀释性曲线和 Shannon 指数曲线。采用 R 语言（版本 3.3.1）绘制样本分层聚类图。使用 RStudio（版本 3.3.1）对 PCoA 进行统计分析和绘图，比较样本之间的相似性。基于真菌 ITS 基因序列，通过 FUNGuild 预测并分析所有样品中真菌功能。在 Majorbio I-Sanger 云平台上进行生物信息学分析，多组间比较采用 ANOVA 分析。$P<0.05$ 被认为是显著差异，而 $P<0.01$ 被认为是极显著差异。使用 RStudio（版本 3.3.1）及 Origin 2020b 进行相关绘图。

2 结果与讨论

2.1 真菌 ITS 基因序列测定

通过测定内蒙古巴林右旗地区牛乳、乌如木、胡乳德、塔拉格样品中真菌基因序列，共得 817 307 个真菌 ITS 序列，每个样本平均产生 68 109 条（SD=7 359），平均长度为 158 bp。所有高质量的真菌 ITS 序列按 97%的相似度进行 OTU 分类，共鉴定出 242 个真菌 OTUs，每个样本中真菌 OTU 的数量分布为 21 至 117（表 1）。由真菌稀释性曲线与香农指数曲线结合 Good's coverage 值可知，随着 OTU 数量的增加，曲线趋于平缓，说明测序数据量足够，可反映样本中大部分真菌多样性信息（图 1a 和 1b）。

表 1 真菌基因序列信息

Table 1 Gene sequence information of fungal

样品种类	样品代号	序列数	OTUs	Good's coverage
牛乳	M-1	58023	68	0.999 5
	M-2	70721	42	0.999 8
	M-3	69625	38	0.999 9
乌如木	U-1	71994	28	0.999 6
	U-2	55030	21	0.999 8
	U-3	73834	45	0.999 9
胡乳德	H-1	71561	40	0.999 7
	H-2	72303	117	0.999 1
	H-3	73552	34	0.999 6
塔拉格	T-1	53812	48	0.999 8
	T-2	73265	58	0.999 7

T-3	73587	86	0.999 3

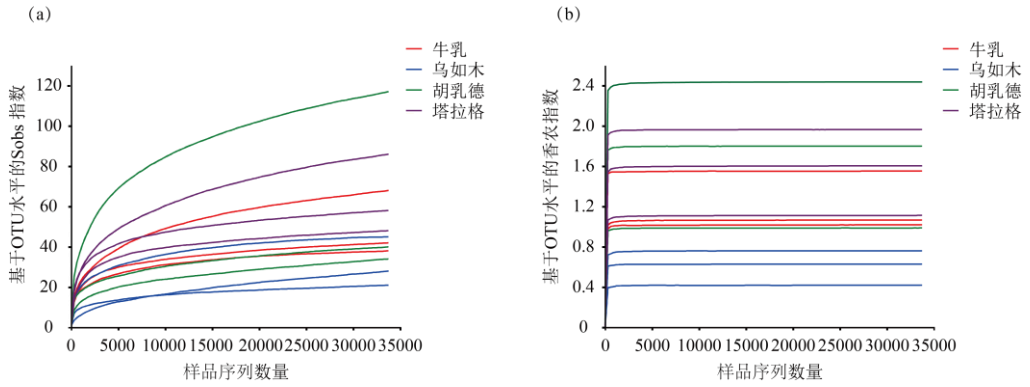

图 1 基于 OTU 水平的真菌稀释性曲线及 Shannon 曲线

Fig.1 Rarefaction curve and Shannon index curve of fungi based on OTU level

注:（a）稀释性曲线;（b）Shannon 指数曲线。

2.2 真菌 Alpha 多样性分析

基于 ANOVA 进行多组间比较分析（如图 2）可知，乳及传统发酵乳制品样品之间 Shannon 指数无显著差异（$P>0.05$），而 Simpson 指数在胡乳德与乌如木中存在显著差异（$P<0.05$）（图 2a 和 2b）。而且，Ace 指数与 Chao 指数（图 2c 和 2d）也无显著差异（$P>0.05$）。但在图中可直观看出，塔拉格和胡乳德的真菌多样性及丰富度明显高于牛乳和乌如木，Gao 等[1]发现，传统发酵乳制品比牛乳具有更高的真菌多样性。胡乳德的真菌群落多样性和物种总数最高，乌如木的真菌群落多样性和物种总数最低。因此，乳及传统发酵乳制品中真菌的多样性和丰富度均存在差异。

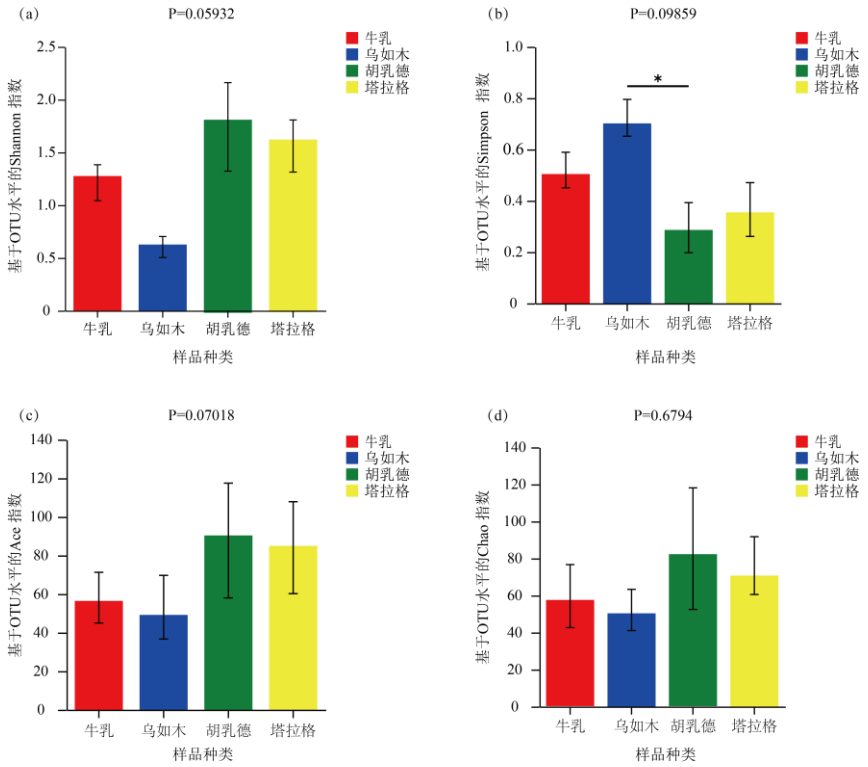

图 2 真菌 Alpha 多样性

Fig.2 Alpha diversity of fungal

注:（a）Shannon 指数;（b）Simpson 指数;（c）Ace 指数;（d）Chao 指数; *$P<0.05$。

2.3 真菌 Beta 多样性分析

基于 bray-crutis 距离算法绘制样本层级聚类图、PcoA 图与 NMDS 图，比较牛乳与 3 种传统发酵乳制品中真菌菌群组成的异同，由样本层级聚类图可知，乳及传统发酵乳制品中真菌菌群组成区分明显，聚为四大类（图 3a），说明各组样品组内真菌菌群组成高度相似，但样品间真菌菌群组成不同。其中，塔拉格与乌如木真菌菌群组成相似，牛乳与胡乳德真菌菌群组成相似。因此牛乳与乌如木、塔拉格的真菌菌群组成存在差异。这可能是牛乳通过自然发酵制作为乳制品的过程中，为适应因不同加工工艺导致的酸度、黏度等条件的变化而使真菌菌群组成发生变化，所以分布于不同的区域。

该研究中真菌 PcoA 图和 NMDS 图分析结果与 UPGMA 聚类分析结果相似（图 3b 和 3c），样品各自聚类为四个明显分开的区域，进一步证明牛乳，塔拉格，胡乳德，乌如木四种样品在组间真菌菌群组成存在差异，牛乳通过发酵制作成不同发酵乳制品后，各传统发酵乳制品均离乳样品较远，表明发酵过程可改变乳制品中真菌多样性。而且不同的发酵过程会对真菌多样性产生不同的影响。另外，从 PcoA 图的大小可看出，乌如木的聚集度明显高于其他两种乳制品，说明乌如木的真菌菌群组成相似度更高。

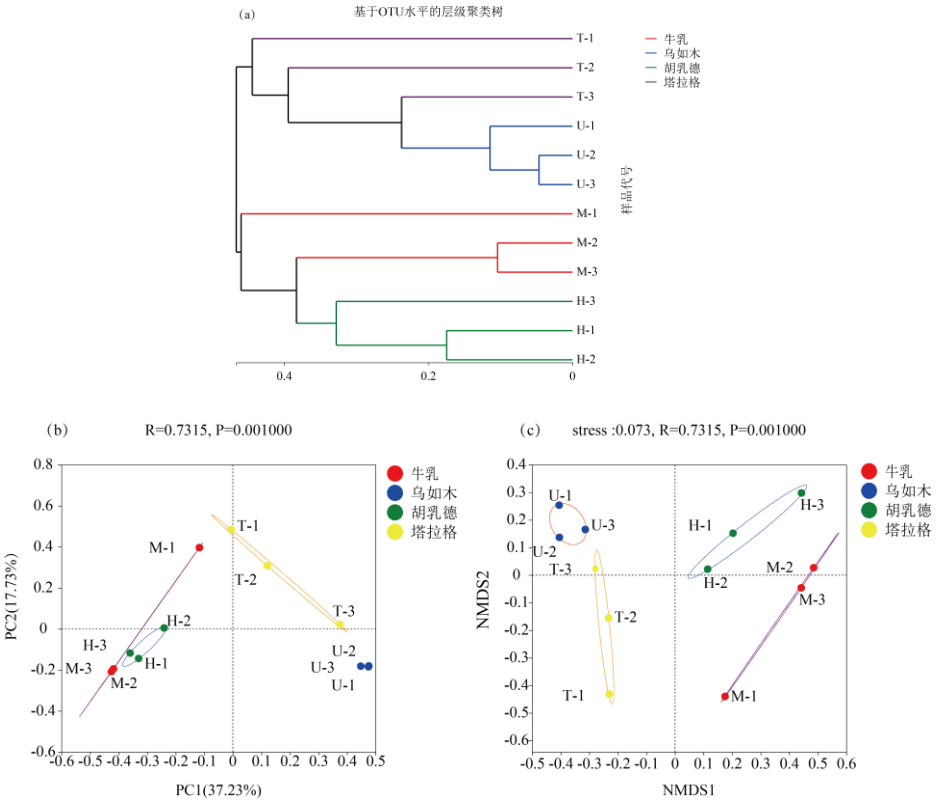

图 3 基于 bray-crutis 距离算法绘制真菌 Beta 多样性

Fig.3 Mapping of fungal Beta diversity based on the brary_curtis distance algorithm

注：（a）真菌样本层级聚类图；（b）真菌 PCoA 图；（c）真菌 NMDS 图。

2.4 真菌物种组成与比较分析

2.4.1 Venn 图分析

在 OTU 水平上使用 Venn 图分析乳及传统发酵乳制品中的真菌共有物种和独有物种，由图 4 可知，几种样品的真菌菌群组成有相似性和差异性，牛乳、乌如木、胡乳德、塔拉格中真菌物种数量分别有 96、64、136、124 种，说明胡乳德的真菌物种组成最丰富，其次是塔拉格。而且，牛乳与乌如木、胡乳德、塔拉格有 31 种真菌共有物种，共有的 OTU 主要由 *Geotrichum*、*Clavispora*、*unclassified_f__Metschnikowiaceae*、*Trichosporon*、*Apiotrichum*、*unclassified_f__Dipodascaceae*、*Cutaneotrichosporon*、*Issatchenkia* 组成。共有 OTU 在牛乳中占比为 32%，乌如木中占比为 48%，胡乳德中占比为 22%，塔拉格中占比为 25%。它们各自特有物种数量分别为 24、16、64、51 种，其中胡乳德特有物种最多，其次分别为塔拉格、牛乳及乌如木（图 4）。可见，不同加工工艺会导致乳制品真菌菌群组成的差异。

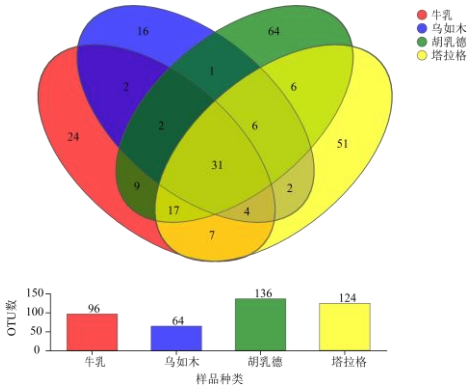

图 4 基于 OTU 水平真菌物种 Venn 图

Fig.4 Venn diagram of fungal species based on OTU level

2.4.2 真菌菌群组成与差异分析

通过真菌 ITS 基因测序获得的 242 个 OTUs，共鉴定出 7 个真菌门、21 纲、39 目、73 科、111 属。由真菌门水平物种组成图可知，其中相对丰度大于 1.0%的真菌门为 Ascomycota 和 Basidiomycota，牛乳和塔拉格的优势真菌门均为 Ascomycota（70%）与 Basidiomycota（30%）；而胡乳德和乌如木的优势真菌门只为 Ascomycota，相对丰度分别为 96.9%和 99.3%，小于 1.0%的真菌门归为 Others（图 5a）。因此，牛乳与塔拉格的优势真菌门一致，但与胡乳德、乌如木之间的优势真菌门存在差异，Guo 等[17]发现中国锡林郭勒盟传统乳制品中可以鉴定出三个真菌门：Ascomycota（99.73%）、Zygomycota（17.24%）和 Basidiomycota（0.01%），与巴林右旗地区乳制品真菌门种类相似，但占比不同。而且，随着牛乳经传统发酵工艺制作成乌如木和胡乳德以后，Ascomycota 相对丰度随之提高，而 Basidiomycota 相对丰度随之降低，但牛乳经传统发酵工艺制作成塔拉格后优势真菌门没有明显变化。说明不同的传统发酵工艺对真菌菌群组成的影响不同。

主要真菌属的相对丰度如图 5b 所示，牛乳的优势真菌属为 *Clavispora*（53.80%）、*Tirchosporon*（26.91%）；乌如木的优势真菌属为 *Geotirchum*（84.35%）、*Unclassified_f_Dipodascaceae*（13.58%）；胡乳德的优势真菌属为 *Unclassified_f_Metschnikowiaceae*（46.49%）、*Clavispora*（28.3%）、*Issatchenkia*（7.96%）；而塔拉格的真菌属相对丰度最高，优势真菌属为 *Geotirchum*（23.1%）、*Dekkera*（28.3%）、*Apiotrichum*（15.3%）、*Cutaneotrichosporon*（13.3%）、*Unclassified_o_Saccharomycetales*（10.52%）。Gao 等[1]发现，锡林郭勒盟正蓝旗传统乳制品中 *Kluyveromyees*、*Pichia*、*Geotrichum* 是优势真菌属，与巴林右旗传统乳制品优势真菌属不同。与锡林郭勒、呼伦贝尔等地区乳及乳制品中优势真菌属比较，巴林右旗地区乳及传统发酵乳制品中的特有优势真菌属为 *Unclassified_f_Metschnikowiaceae*、*Issatchenkia*[17,18]。*Metschnikowiaceae* 是一种被广泛应用的工程菌，多用于生物防治及酿酒中，*M.pulcherrima* 已知的抗菌特性使其成为工业微生物，而且 *M. pulcherrima* 是 β-葡萄糖苷酶的良好来源，这些酶有可能通过水解其他无味的糖苷来增强葡萄酒风味；*M. koreensis* 的羰基还原酶能将糖转化为糖醇，并且 *M. reukaufii* 产生的一种能够凝固牛奶的酸性蛋白酶被认为具有作为凝乳酶替代品的潜力[19]。*Issatchenkia* 发酵会产生风味化合物和香气，对产品的风味有很大影响[20]。根据研究报告，*Clavispora* 是一种潜在的生物催化剂，用于木质纤维素乙醇生产。*Geotirchum* 用乳清和酪乳对基质进行发酵过程而获得香气，这可能就是乌如木、胡乳德、塔拉格具有特殊香气的原因。而且，*Apiotrichum* 和 *Cutaneotrichosporon* 已被证明具有产油脂特征，可用作生物催化剂以提高油脂产量[21,22]。*Dekkera* 在发酵过程中会产生乙基酚，可能会导致产品腐败变质[23]。*Saccharomycetales* 这种酵母与酿酒酵母和乳酸克鲁维酵母一起用于酿酒和发酵，它们能够使用各种反应转化一系列单萜醇[24]。总之，由于真菌对不同环境的适应性不同，牛乳与传统发酵乳制品真菌菌群组成有很大差异，并且具有不同作用。

通过组间差异显著性检验（图 5c）可知，在属水平真菌菌群组成中 *Geotrichum*、*Clavispora*、*Dekkera*、*Apiotrichum* 及 *Unclassified_o_Saccharomycetales* 相对丰度均存在显著差异（$P<0.05$），其中，乌如木与塔拉格 *Geotrichum* 相对丰度显著增加，乌如木与胡乳德 *Clavispora* 相对丰度显著降低；而塔拉格中 *Dekkera*、*Apiotrichum* 及 *Unclassified_o_Saccharomycetales* 相对丰度显著增加。属水平牛乳及其乳制品中真菌群落组成存在显著差异。该研究中发现与牛乳相比在乳制品（乌如木、胡乳德、塔拉格）中与致病相关的真菌属

Trichosporon、*Candida* 相对丰度下降（表 2），可见发酵会有效减少病原菌的数量，且有益真菌的占比增加，这表明发酵能有效减少病原真菌并富集有益真菌。该研究结果为牛乳及其乳制品中真菌的研究和安全性评价提供参考依据。

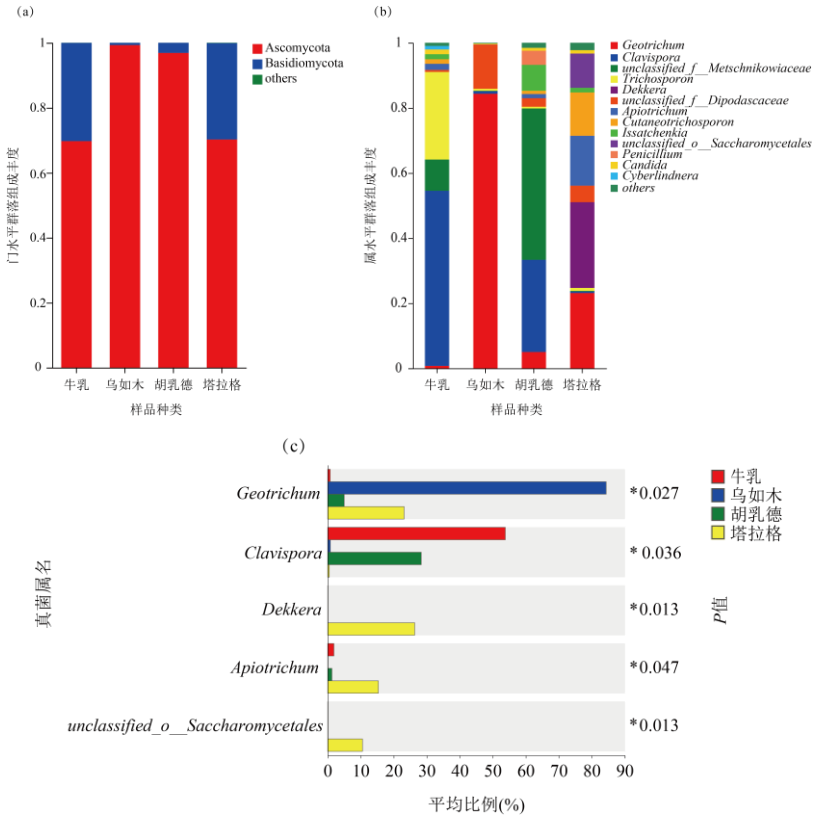

图 5 真菌菌群组成与差异分析

Fig.5 Analysis of fungal community composition and differences

注：（a）细菌门水平微生物群落结构；（b）细菌属水平微生物群落结构；（c）基于 Kruskal-Wallis 属水平真菌菌群组成相对丰度及显著性分析；*P < 0.05。

表 2 牛乳和乳制品中真菌属百分比（%）

Table 2 Percentage of fungal genus in milk and dairy products (%)

真菌属	牛乳	乌如木	胡乳德	塔拉格
Geotrichum	0.8	84	5	23.1
Clavispora	54	0.8	28.3	0.5
unclassified_f__Metschnikowiaceae	9.6	-	46.5	-
Trichosporon	27	0.6	0.53	0.9
Dekkera	-	-	-	26.3
unclassified_f__Dipodascaceae	0.62	13.6	2.6	5.1
Apiotrichum	1.9	0.05	1.3	15.3
Cutaneotrichosporon	1.4	-	1	13.3
Issatchenkia	1.6	-	8.0	1.4
unclassified_o__Saccharomycetales	-	-	-	10.5
Penicillium	-	-	4.3	-
Candida	1.4	0.03	0.9	1.1
Cyberlindnera	1.1	-	-	-

2.5 真菌功能预测分析

牛乳及乌如木、胡乳德、塔拉格中真菌群落的营养和功能群按营养模式进行分类，FUNGuild 真菌功能预测结果表明，乳及传统发酵乳制品中真菌主要分为 4 个类群（未定义腐生菌、动物病原菌及土壤腐生菌、其他）和 2 个营养模式（腐生营养型、病理营养型）（图 6），牛乳的主要营养模式为腐生营养型和病理营养型，包括未定义的腐生菌及动物病原菌；乌如木和胡乳德的主要营养模式均为腐生营养型，包括未定义的腐生菌；塔拉格的主要营养模式与牛乳相同，包括未定义的腐生菌、土壤腐生菌及动物病原菌，相比牛乳，塔拉格中动物病原菌的占比减少，土壤腐生菌占比增加。腐生性真菌是最常见的类群。可见，牛乳与乌如木、胡乳德、塔拉格的真菌功能组成存在差异，三种发酵乳制品之间的真菌功能组成也存在差异。腐生菌在乳制品制作过程中有重要作用，它们能够分解乳糖等物质使其容易被消化吸收或赋予乳制品香气，改变乳制品质地等，但部分腐生菌会导致食物变质[23]。土壤腐生菌在塔拉格中占比增加，这可能是因为塔拉格在制作过程中被土壤腐生菌污染所致。动物病原菌在牛乳中占比最多，这可能是由于牛乳房感染或环境微生物污染所致，但在乌如木、胡乳德和塔拉格中占比减少，这与几种乳制品的加工工艺有关。相比牛乳，它们在制作过程中经过的煮沸或发酵减少了动物病原菌的数量。与牛乳相比，发酵会减少动物病原菌的数量，且腐生菌的占比增加，所以不同的加工工艺会导致乳制品中真菌功能组成不同，减少动物病原菌占比的效果也不同，这为巴林右旗地区乳及传统发酵乳制品的安全性评价提供参考依据。此外，其他及未定义的腐生菌还有待研究。

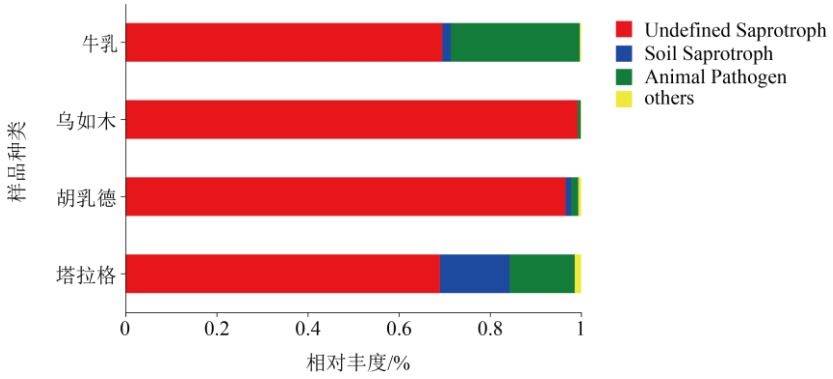

图 6 真菌功能预测

Fig.6 Prediction of fungal function

3 结论

该研究对赤峰市巴林右旗地区乳及传统发酵乳制品中真菌多样性分析和真菌功能预测可知，牛乳的优势真菌属为 *Clavispora*、*Tirchosporon*；乌如木的优势真菌属为 *Geotirchum*、*Unclassified_f_Dipodascaceae*；胡乳德的优势真菌属为 *Unclassified_f_Metschnikowiaceae*、*Clavispora*、*Issatchenkia*；塔拉格的优势真菌属为 *Geotirchum*、*Dekkera*、*Apiotrichum*、*Cutaneotrichosporon*、*Unclassified_o_Saccharomycetales*，三种乳制品的优势真菌属较牛乳均发生改变。与牛乳相比，乌如木、胡乳德、塔拉格中与致病相关的真菌属 *Trichosporon*、*Candida* 相对丰度下降，且有益真菌的占比增加，可见发酵能有效减少病原真菌并富集有益真菌。在属水平真菌菌群组成中 *Geotrichum*、*Clavispora*、*Dekkera*、*Apiotrichum* 及 *Unclassified_o_Saccharomycetales* 相对丰度均存在显著差异（$P<0.05$），综上所述，优势真菌属均存在差异，且牛乳经自然发酵而制作成发酵乳制品后真菌属丰富度发生改变，不同加工工艺对乳制品真菌菌群组成的影响不同。FUNGuild 功能预测表明牛乳、乌如木、胡乳德、塔拉格中，腐生菌是主要的真菌营养方式，大部分病原真菌在发酵后减少。因此，发酵可减少病原真菌、富集有益真菌。该研究结果为巴林右旗地区乳及乳制品中有益真菌的研究及安全性评价提供参考依据。

参考文献

[1] GAO M L, HOU H M, TENG X X, et al. Microbial diversity in raw milk and traditional fermented dairy products (Hurood cheese and Jueke) from Inner Mongolia, China [J]. Genetics and Molecular Research, 2017, 16(1): 16019451.

[2] WANG D, LIU W, REN Y, et al. Isolation and identification of lactic acid bacteria from traditional dairy products in Baotou and Bayannur of midwestern Inner Mongolia and q-PCR analysis of predominant species [J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources,

2016, 36(4): 499-507.

[3] GODOS J, TIERI M, GHELFI F, et al. Dairy foods and health: an umbrella review of observational studies [J]. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 2019, 71(2): 138-151.

[4] AFSHARI R, PILLIDGE C J, DIAS D A, et al. Cheesomics: the future pathway to understanding cheese flavour and quality [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(1): 33-47.

[5] BAO W, HE Y, YU J, et al. Diversity analysis and gene function prediction of bacteria and fungi of bactrian camel milk and naturally fermented camel milk from Alxa in Inner Mongolia [J]. Food Science and Technology, 2022, 169: 114001.

[6] CHEN C, HUANG K, YU H, et al. The diversity of microbial communities in Chinese milk fan and their effects on volatile organic compound profiles [J]. Journal of Dairy Science, 2021, 104(3): 2581-2593.

[7] CHOI J, IN LEE S, RACKERBY B, et al. Assessment of overall microbial community shift during cheddar cheese production from raw milk to aging [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(14): 6249-60.

[8] CHOI J, LEE S I, RACKERB Y B, et al. Microbial communities of a variety of cheeses and comparison between core and rind region of cheeses [J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(5): 4026-4042.

[9] GÉRARD A, EL-HAJJAJI S, BURTEAU S, et al. Study of the microbial diversity of a panel of Belgian artisanal cheeses associated with challenge studies for *Listeria monocytogenes* [J]. Food Microbiol, 2021, 100: 103861.

[10] COSETTA C M, WOLFE B E. Deconstructing and reconstructing cheese rind microbiomes for experiments in microbial ecology and evolution [J]. Current Protocols in Microbiology, 2020, 56(1): e95.

[11] FAN H, HUO R, ZHAO J, et al. Microbial diversity analysis of jiaoke from Xilingol, Inner Mongolia [J]. Journal of Dairy Science, 2020, 103(7): 5893-5905.

[12] ABI KHALIL R, YVON S, COUDERC C, et al. Microbial communities and main features of Labneh Ambaris, a traditional Lebanese fermented goat milk product [J]. Journal of Dairy Science, 2023, 106(2): 868-883.

[13] ADDIS M F, TANCA A, UZZAU S, et al. The bovine milk microbiota: insights and perspectives from -omics studies [J]. Molecular Biosystems, 2016, 12(8): 2359-2372.

[14] DE MELO PEREIRA G V, DE CARVALHO NETO D P, MASKE B L, et al. An updated review on bacterial community composition of traditional fermented milk products: what next-generation sequencing has revealed so far? [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(7): 1870-1889.

[15] CENCI-GOGA B, CRUCIANI D, CROTTI S, et al. Diversity of yeasts and moulds in dairy products from Umbria, central Italy [J]. Journal of Dairy Research, 2021, 88(2): 217-220.

[16] 苟萌,胡婕,张彤彤,等.基于 Illumina MiSeq 和 IonS5 XL 测序对原料乳中微生物多样性的比较分析[J].食品与生物技术学报,2021,40(4):67-75.

[17] GUO L, XU W, LI C, et al. Comparative study of physicochemical composition and microbial community of khoormog, chigee, and airag, traditionally fermented dairy products from Xilin Gol in China [J]. Food Science & Nutrition, 2021, 9(3): 1564-1573.

[18] SUN Z, LIU W, BAO Q, et al. Investigation of bacterial and fungal diversity in tarag using high-throughput sequencing [J]. Journal of Dairy Science, 2014, 97(10): 6085-6096.

[19] LACHANCE M A. *Metschnikowia*: half tetrads, a regicide and the fountain of youth [J]. Yeast, 2016, 33(11): 563-574.

[20] SHI W-K, WANG J, CHEN F-S, et al. Effect of *Issatchenkia terricola* and *Pichia kudriavzevii* on wine flavor and quality through simultaneous and sequential co-fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Food Science and Technology, 2019, 116: 108477.

[21] FRÖHLICH-WYDER M T, ARIAS-ROTH E, JAKOB E. Cheese yeasts [J]. Yeast, 2019, 36(3): 129-141.

[22] CHATTOPADHYAY A, MAITI M K. Lipid production by oleaginous yeasts [J]. Advances in Applied Microbiology, 2021, 116: 1-98.

[23] ÁVILA L D D, AYUB M A Z. Occurrence of *Brettanomyces*/*Dekkera* in Brazilian red wines and its correlation with ethylphenols [J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2013, 44(1): 81-88.

[24] KING A, RICHARD DICKINSON J. Biotransformation of monoterpene alcohols by *Saccharomyces cerevisiae*, *Torulaspora delbrueckii* and *Kluyveromyces lactis* [J]. Yeast, 2000, 16(6): 499-506.