

基于 Illumina MiSeq 技术对特香型白酒中高温和高温大曲真菌群落结构解析

王玉荣^{1,2}, 蔡文超^{1,2}, 田龙新^{2,3}, 周加平^{2,3}, 刘菊珍^{2,3}, 郭壮^{1,2*}

(1. 湖北文理学院湖北省食品配料工程技术研究中心, 乳酸菌生物技术与工程襄阳市重点实验室, 湖北襄阳 441053) (2. 襄阳市酱香型白酒固态发酵企校联合创新中心, 湖北襄阳 441053)

(3. 酱香型白酒固态发酵襄阳市重点实验室, 湖北襄阳 441053)

摘要: 该研究以江西省鹰潭地区特香型白酒中高温和高温大曲为研究对象, 采用高通量测序技术对真菌多样性进行分析。结果表明, 大曲中的真菌属以曲霉属 (*Aspergillus*, 18.40%)、干霉菌属 (*Xeromyces*, 18.16%)、根霉菌属 (*Rhizopus*, 11.33%) 和横梗霉属 (*Lichtheimia*, 10.01%) 等为主。多样性分析显示中高温大曲中真菌的多样性和丰富度均显著高于高温大曲 ($P<0.05$), 且两者中真菌群落的整体结构存在显著性差异 ($P=0.001$)。对潜在关键菌属甄别发现中高温大曲中的潜在关键菌属为 *Rhizopus*、根毛霉菌 (*Rhizomucor*) 和 *Lichtheimia*, 高温大曲中的潜在关键菌属为假丝酵母属 (*Candida*)、嗜磷脂菌属 (*Hyphopichia*) 和干霉菌属, 差异分析进一步表明 *Rhizopus*、*Lichtheimia*、*Candida* 和 *Xeromyces* 在两者中存在显著差异 ($P<0.05$)。相关性分析发现, 中高温和高温大曲中真菌属的网络结构存在较大差异, 且高温大曲中真菌群落的稳定性较高。综上所述, 大曲随着制曲温度的升高, 真菌群落的多样性和丰富度逐渐丧失, 群落结构发生明显改变, 但其会明显提升大曲中真菌群落结构的稳定性, 并增加大曲中生态网络的复杂性。

关键词: 特香型大曲; 真菌多样性; 网络相异性

文章编号: 1673-9078(2023)10-113-118

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.10.1342

Illumina MiSeq Analysis of the Fungal Community Structure in Medium-high-temperature and High-temperature Daqu

WANG Yurong^{1,2}, CAI Wenchao^{1,2}, TIAN Longxin^{2,3}, ZHOU Jiaping^{2,3}, LIU Juzhen^{2,3}, GUO Zhuang^{1,2*}

(1. Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Ingredients, Xiangyang Lactic Acid Bacteria Biotechnology and Engineering Key Laboratory, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441053, China)

(2. Xiangyang Jiangxiang Baijiu Solid State Fermentation Enterprise-School Joint Innovation Center, Xiangyang 441053, China) (3. Xiangyang Key Laboratory of Solid State Fermentation of Jiangxiang Baijiu, Xiangyang, 441053, China)

Abstract: The fungal diversity of special-flavor Baijiu, namely medium-high-temperature and high-temperature Daqu, from Yingtan, Jiangxi Province was analyzed through high-throughput sequencing. The results showed that *Aspergillus* (18.40%), *Xeromyces* (18.16%), *Rhizopus* (11.33%), and *Lichtheimia* (10.01%) were the dominant fungal genera in Daqu. The diversity analysis further suggested that fungal diversity and abundance in the medium-high-temperature Daqu were significantly higher than those in the high-temperature Daqu ($P<0.05$), and their overall fungal community structures differed significantly ($P=0.001$). In particular, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, and *Lichtheimia* were the potential key genera

引文格式:

王玉荣, 蔡文超, 田龙新, 等. 基于 Illumina MiSeq 技术对特香型白酒中高温和高温大曲真菌群落结构解析[J]. 现代食品科技, 2023, 39(10): 113-118

WANG Yurong, CAI Wenchao, TIAN Longxin, et al. Illumina miseq analysis of the fungal community structure in medium-high-temperature and high-temperature Daqu [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(10): 113-118

收稿日期: 2022-10-23

基金项目: 襄阳市重大科技计划项目 (2020AAT002153); 湖北文理学院教师科研能力培育基金“科技创新团队” (2020kypytd009); 湖北文理学院科研启动基金 (kyqdf2021014)

作者简介: 王玉荣 (1993-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品微生物与生物技术, E-mail: wangyurong1993@163.com

通讯作者: 郭壮 (1984-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: guozhuang@vip.163.com

in the medium-high-temperature *Daqu*, whereas *Candida*, *Hyphopichia*, and *Deuteromycetes* were the potential key genera in the high-temperature *Daqu*. Variance analysis indicated that the abundance of *Rhizopus*, *Lichtheimia*, *Candida*, and *Xeromyces* differed significantly between the two types of *Daqu* ($P < 0.05$). Moreover, correlation analysis revealed that the network structures of the fungal genera in the two *Daqu* differed significantly, and the stability of the fungal community in the high-temperature *Daqu* was higher. In conclusion, as the production temperature of special-flavor *Daqu* increases, the diversity and abundance of the fungal communities in it will gradually diminish, leading to a considerable alteration in the community structure; however, the stability of the fungal community structure and the complexity of the ecological network in *Daqu* will increase.

Key words: special-flavor *Daqu*; fungal diversity; network dissimilarity

中国白酒具有以酯类为主体的复合香味,主要以曲类或酒母为糖化发酵剂,利用淀粉质(糖质)原料,经过一系列工艺发酵而成^[1]。白酒根据香型可分为酱香、清香、浓香和特香等十二种,其中酱香、浓香和清香是白酒的三大基础香型^[2],而特香型白酒则素有“浓头酱尾清中间”之说^[3]。四特酒作为特香型白酒的代表,一直以“一口三香,清香醇纯,回味无穷”的特香口感为消费者所喜爱^[4]。特香型白酒的香味离不开独特的大曲配方和工艺^[5],与其他大曲所不同的是,特香型大曲主要以面粉、麦麸和酒糟为主,并按照一定比例混拌而成,且其混合比例随季节而调整^[3]。大曲的品质也直接决定发酵白酒的品质,素有“曲为酒之骨”的说法^[6]。

不同地区和香型的大曲因其制作环境和工艺的不同导致大曲中的微生物存在较大的差异^[7,8]。孙利林采用高通量测序技术对贵州茅台酱香型大曲中真菌的群落结构进行解析^[9],发现大曲中的优势真菌属为曲霉属(*Aspergillus*)、嗜热子囊菌属(*Thermoascus*)和嗜热真菌属(*Thermomyces*);杨旭等^[10]通过高通量测序对河南贾湖酒业中高温大曲中真菌的群落结构进行分析,发现大曲发酵前期主要为假丝酵母属(*Candida*)、根霉属(*Rhizopus*)和曲霉属,而发酵后期则主要以毛霉属(*Mucor*)和曲霉菌为主。由于特香型白酒发酵的主要原料中含有的淀粉不能被大多数细菌和酵母直接利用,需要通过丝状真菌产生的糖化酶和 α -淀粉酶水解成可发酵糖^[11]。由此可见,真菌在大曲酿造特香型白酒过程中发挥着重要的作用。

本研究从江西省鹰潭市某特香型酒厂制曲车间采集了30份大曲样本,使用IlluminaMiSeq高通量测序技术结合生物信息学分析等手段对其真菌多样性和构成进行了解析,以期于为特香型白酒大曲的制作工艺提升提供必要的数据支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

特香型白酒大曲样本采集自江西省鹰潭市某特香

型酒厂制曲车间,共采集30份,其中中高温大曲和高温大曲各15份,编号分别为Z1~Z15和G1~G15。所有特香型大曲均以麦麸、面粉和酒糟为主要原料,按一定比例搅拌均匀后制成曲面光滑平整、棱条清晰和无软陷外形的砖型曲坯进行发酵,发酵时间在30天左右。取样时将大曲砖分别粉碎,每份五点取样共300g,并将其置于无菌袋中低温运回实验室备用。

引物ITS3F/ITS4R,武汉天一辉远生物科技有限公司;QIAGEN DNeasymericon Food Kit DNA基因组提取试剂盒,德国QIAGEN公司;10×FastPfu Buffer、FastPfuFlyDNA Polymerase (5 U/ μ L),宝生物工程大连有限公司;IlluminaMiSeq高通量测序平台配套试剂,美国Illumina公司。

1.2 仪器与设备

ND-2000C微量紫外分光光度计,美国Nano Drop公司;IlluminaMiSeq PE300高通量测序平台,美国Illumina公司;R930机架式服务器,美国DELL公司;Veriti 96孔梯度聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)仪,美国ABI公司;CR21N高速冷冻离心机,日本HITACHI公司。

1.3 实验方法

1.3.1 宏基因DNA提取和测序

特香型白酒大曲样本分别置于无菌研钵中研磨成粉末,每份称取约0.6g于2mL无酶无菌的离心管中,使用基因组提取试剂盒对大曲中微生物的宏基因组DNA进行提取,并参照王玉荣的PCR扩增条件和体系^[12],使用引物ITS3F/ITS4R对真菌的ITS区进行PCR扩增。最后,收集扩增产物并使用微量紫外分光光度计和1.2%的琼脂糖凝胶电泳对提取DNA的浓度和纯度进行检验,并将检验合格的DNA扩增产物送至上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序。

1.3.2 生物信息学分析

将序列数据下机后,遵循碱基核苷酸标签无错配、最大错配比率小于0.2、重叠区大于10bp和引物串行

错配数小于 2 bp 等条件对序列进行质控^[13]。依据碱基核苷酸标签将质控后的序列分配到各个样本中,并最终合并成一个 fasta 文件进行后续分析。

本研究采用 QIIME (v1.9.1) 分析平台对合并的序列文件分析,其主要步骤如下:(1)使用 PyNAST 软件将质控后的序列与标准数据库比对和对齐以获得高质量序列^[14];(2)使用 UCLUST 法分别按 100%和 97%构建非冗余数据集和分类操作单元 (Operational Taxonomic Units, OTU) ^[15];(3)将 OTU 的代表性序列与 UNITE 数据库进行同源性比对以获得物种构成信息^[16];(4)构建系统发育树^[17],并对真菌的 α 多样性和 β 多样性进行解析^[18]。

1.3.3 多元统计学分析

使用 Wilcoxon test 对中高温和高温大曲中真菌的 α 多样性进行差异分析;使用置换多因素方差分析 (Permutational Multivariate Analysis of Variance,

PERMANOVA) 对中高温和高温大曲中真菌的整体结构进行比较分析;使用 Lefse 分析对中高温和高温中的差异菌属进行甄别;使用 R 软件对真菌属中的潜在关键物种进行识别^[19],并对真菌群落的网络相异性进行计算^[20]。本研究所有分析和绘图均使用 R 软件完成。

2 结果与分析

2.1 特香型中高温和高温大曲中真菌多样性

分析

发现物种数和香农指数是两种较为常见的 α 多样性指数,常被用来评估微生物中物种的丰富度和多样性,中高温和高温大曲中真菌 α 多样性指数比较分析如图 1 所示。

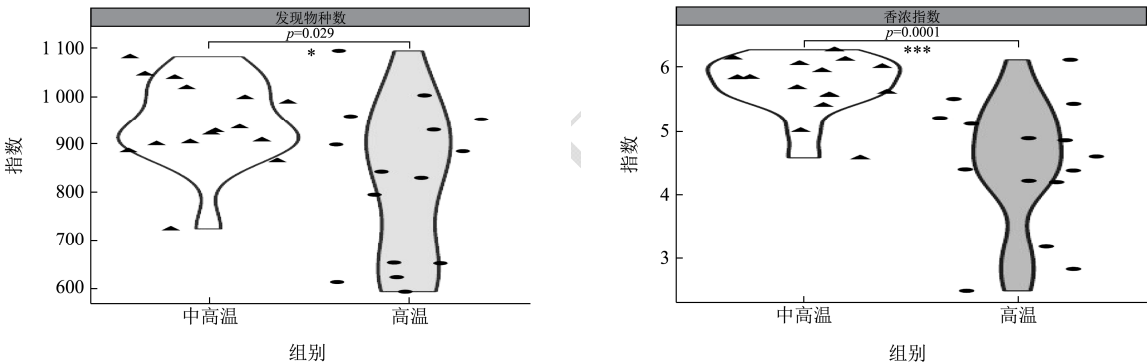


图 1 中高温和高温大曲中真菌 α 多样性的比较分析

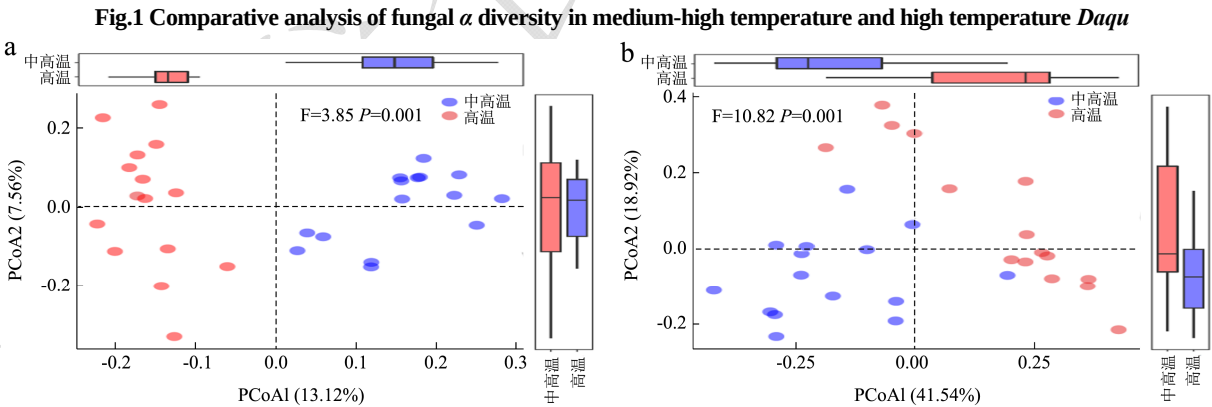


图 2 基于加权 (a) 和非加权 (b) Uni-Frac 距离中高温和高温大曲的主坐标分析

Fig.2 Principal coordinate analysis based on weighted (a) and unweighted (b) Uni-Frac distances in medium-high temperature and high temperature Daqu

由图 1 可知,中高温大曲中真菌的发现物种数和香农指数均显著高于高温大曲 ($P<0.05$)。由此可知,高温大曲中真菌的丰富度和多样性显著的低于中高温大曲。本研究进一步从定量和定性两个维度对中高温大曲和高温中真菌群落整体结构的相似性进行了分析。 β 多样性可以准确评估不同样本间真菌结构的相

似性,基于加权和未加权 Uni-Frac 距离的中高温和高温大曲中真菌群落的相似性分析结果如图 3 所示。

由图 2a 亦可知,中高温大曲主要分布在 X 轴正方向,高温大曲主要分布在 X 轴负方向,两组样本在二维空间上亦呈现出明显的聚类 and 分离趋势,且 PERMANOVA 检验结果亦证明两者差异显著

($F=3.85$, $P=0.001$)。由图 2b 可知, 基于非加权 Uni-Frac 距离的主坐标分析显示, 中高温大曲样本主要分布在二维空间的左下角, 而高温大曲则主要位于其他二维空间的 diagonal 上, 组内样本呈现出明显的聚类趋势, 组间样本呈现出明显的分离趋势, 经 PERMANOVA 检验发现两组大曲样本中真菌结构差异显著 ($F=10.82$, $P=0.001$)。由此可见, 中高温和高温大曲中真菌的群落结构存在显著的差异。

物种多样性在解析环境微生物的过程中发挥着重要的作用。本研究发现随着制曲温度的升高会导致特香型大曲中真菌群落丰富度和多样性的丧失。高温大曲中真菌群落的 Shannon 指数和发现物种数下降, 表明大曲中真菌群落在温度升高时没有恢复潜力。而随着制曲温度的升高, 大曲中水分丢失加剧, 这使得无法适应水分含量降低的真菌群落丧失生长活性或出现

死亡, 并最终导致真菌群落的 α 多样性降低^[21]。 β 多样性结果亦证实了制曲温度升高不仅会导致大曲中中高温物种的种类和丰度发生较大的变化, 而且会使得一些低丰度物种消失, 并富集环境中的另一些物种。

2.2 特香型白酒中高温和高温大曲中物种构成分析

在解析大曲中真菌多样性的基础上, 本研究进一步对真菌的构成进行了分析。特香型白酒大曲中共注释到 9 个真菌门, 主要以子囊菌门 (Ascomycota)、毛霉亚门 (Mucoromycota)、担子菌门 (Basidiomycota) 和接合菌门 (Zygomycota) 为主, 其相对丰度分别为 59.86%、21.10%、12.23% 和 3.62%。中高温和高温大曲中真菌群落在属水平构成分析结果如图 3 所示。

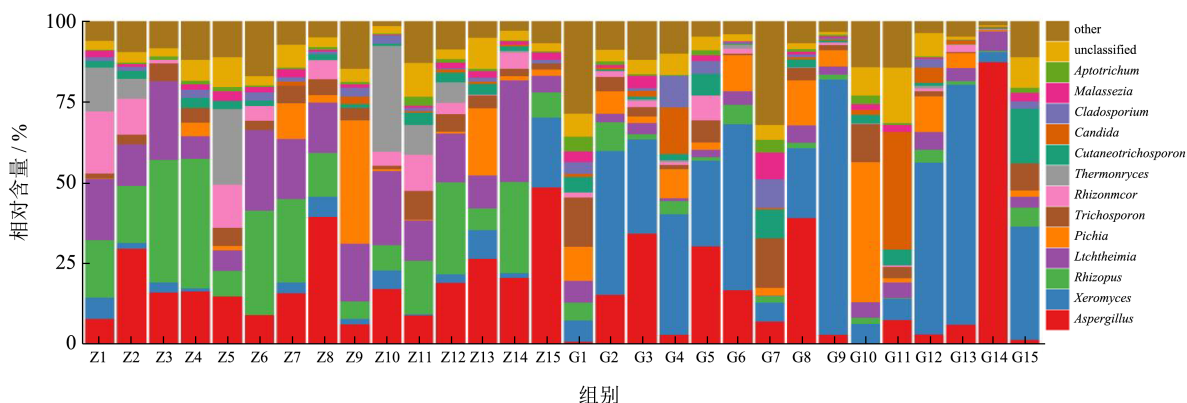


图 3 中高温和高温大曲中优势真菌属的构成分析

Fig.3 Analysis on the composition of dominant fungal genera in medium-high temperature and high temperature Daqu

由图 3 可知, 特香型大曲中共注释到 151 个真菌属, 其中优势真菌属 (平均相对丰度大于 1%) 有 13 个, 分别为曲霉属 (*Aspergillus*, 18.40%)、干霉菌属 (*Xeromyces*, 18.16%)、根霉菌属 (*Rhizopus*, 11.33%)、横梗霉属 (*Lichtheimia*, 10.01%)、毕赤酵母属 (*Pichia*, 6.96%)、毛孢子菌属 (*Trichosporon*, 4.60%)、根毛霉属 (*Rhizomucor*, 3.30%)、嗜热真菌属 (*Thermomyces*, 3.21%)、毛孢子菌属 (*Cutaneotrichosporon*, 2.66%)、假丝酵母属 (*Candida*, 2.34%)、芽枝霉属 (*Cladosporium*, 1.75%)、马拉色菌属 (*Malassezia*, 1.60%) 和丝孢酵母属 (*Aptotrichum*, 1.02%), 且中高温和高温大曲在优势菌属的相对丰度上存在明显不同。为了更加准确的对差异真菌属进行甄别, 本研究使用 Lefse 分析对真菌属进行了分析, 具体结果见图 4。

由图 4 可知, 本研究通过 Lefse 分析共甄别到了 13 个在中高温和高温大曲中存在差异的真菌属 ($P<0.05$), 其中有 10 个属在中高温大曲中显著富集 ($P<0.05$), 有 3 个属在高温大曲中显著富集

($P<0.05$)。进一步对比发现甄别到的 13 个真菌属中有 5 个为优势菌属, 分别为 *Rhizopus*、*Lichtheimia*、*Pichia*、*Candida* 和 *Xeromyces*。值得注意的是, 中高温大曲中富集了更多的酵母, 而高温大曲中则富集了更多的霉菌, 这可能是因为霉菌相较于酵母能耐受的温度更高。本研究通过对菌属的特异性性和占有率进行计算以识别中高温和高温大曲中潜在的关键物种, 其结果如图 5 所示。

由图 5 可知, 特香型中高温和高温大曲中各识别到 3 个潜在的关键菌属, 中高温大曲中潜在的关键菌属分别为 *Rhizopus*、*Rhizomucor* 和 *Lichtheimia*, 高温大曲中潜在的关键菌属分别为 *Candida*、嗜磷脂菌属 (*Hyphopichia*) 和 *Xeromyces*。结合图 4 可知, *Candida*、*Xeromyces*、*Rhizopus* 和 *Lichtheimia* 是造成中高温和高温大曲菌群结构差异的关键菌属。物种构成分析显示高温大曲中主要以 *Xeromyces* 和 *Aspergillus* 为主, 而中高温大曲中则主要以 *Aspergillus* 和 *Rhizopus* 为主, 且 *Xeromyces* 和 *Rhizopus* 在两组中存在显著性差异。

杨少勇等^[13]对襄阳地区中高温和高温大曲中真菌构成进行了解析,发现襄阳大曲中主要以 *Thermomyces*、*Thermoascus*、*Aspergillus* 和 *Rhizopus* 为主,其种类与本研究类似,但相对含量存在较大差异。由此说明,发酵工艺和条件可能对大曲优势物种的相对含量造成较大影响。本研究最终共甄别到 4 个关键菌属,分别为 *Candida*、*Xeromyces*、*Rhizopus* 和 *Lichtheimia*。He 发现 *Candida* 与大多数芳香型物质呈显著正相关,且积极参与白酒的发酵过程^[22]。Yang 等^[23]发现 *Lichtheimia* 积极参与特香型白酒早期的分解代谢活动,为整个发酵进行打下基础。综上所述,大曲中微生物构成的差异在一定程度上能影响特香型白酒进程和品质的形成。

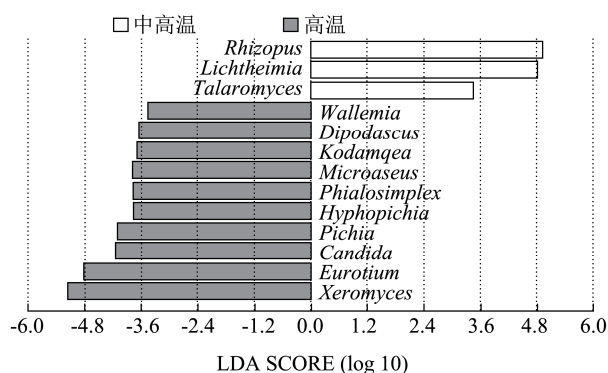


图4 中高温和高温大曲中真菌群落结构的 Lefse 分析

Fig.4 Lefse analysis of fungal community structure in medium-high temperature and high temperature Daqu

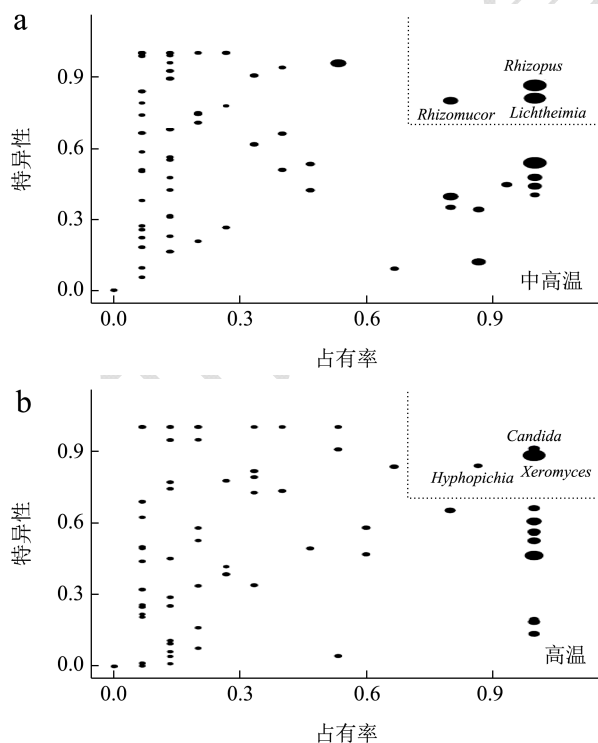


图5 中高温和高温大曲中潜在关键物种的识别

Fig.5 Identification of potential key genus in medium-high temperature and high temperature Daqu

2.3 大曲中真菌相关性分析

相关性分析常常被用来探究生态环境中微生物的相互关系和稳定性。因此,本研究分别对中高温和高温大曲中真菌属的相关关系进行了分析。中高温和高温大曲中真菌属的相关关系如 6 所示。

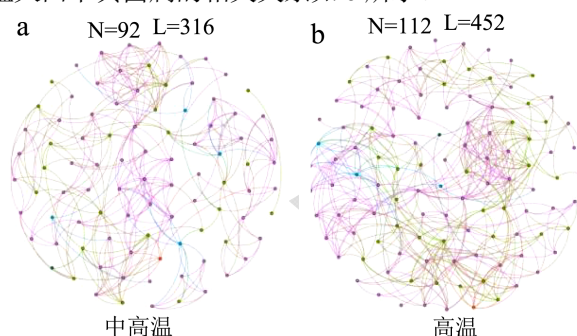


图6 中高温 (a) 和高温大曲 (b) 真菌属的相关性分析

Fig.6 Correlation analysis of fungal genera in medium-high temperature and high temperature Daqu

注: N 代表节点数; L 代表边数。

本研究首先对各真菌属之间的相关关系进行了筛选 ($|r| > 0.4$, 且 $P < 0.05$)。由图 6 可知,中高温大曲中共有 92 个菌属之间存在 316 条显著相关关系,而高温大曲中共有 112 个菌属之间存在 452 条显著相关关系,这表明中高温和高温大曲中真菌属的相关关系存在较大差异。同时,通过网络相异性指数对两个网络结构的差异程度进行评估,发现两者的网络相异性指数为 0.91。由此说明,中高温和高温大曲中真菌网络存在极大的差异,且两种网络的稳定性亦不相同。

本研究结果显示两类酒曲中真菌属的相关关系明显不同,且高温大曲中真菌属的稳定性要明显高于中高温大曲。这表明制曲温度可能会对特香型大曲中真菌的相互关系造成明显的影响,且提升大曲中微生物的稳定性。环境的异质性可以诱导微生物的模块化^[24],而随着制曲温度的升高,特香型大曲中的真菌属在抵抗温度上升过程中逐渐加强联系形成相应的微生物模块。模块化可以反映竞争/共生关系和生态位的分化,产生非随机的网络结构模式,并增加生态网络的复杂性^[25]。因此,制曲温度变化后网络模块可以作为大曲发酵过程的指示物。

3 结论

本研究采用高通量测序技术对特香型白酒中高温和高温大曲中真菌群落结构进行了解析,结果发现大曲中的真菌属主要为 *Aspergillus*、*Xeromyces*、*Rhizopus* 和 *Lichtheimia* 等;两类酒曲真菌群落结构存在明显差异,中高温大曲中的关键菌属为 *Rhizopus* 和

Lichtheimia, 而高温大曲中的关键菌属为 *Candida* 和 *Xeromyces*, 且中高温大曲中真菌的多样性和丰富度均显著高于高温大曲。大曲制曲温度的升高会导致真菌群落丰富度和多样性的丧失, 但其会明显提升大曲中真菌群落结构的稳定性, 并增加生态网络的复杂性。

参考文献

- [1] Jia W, Fan Z, Du A, et al. Recent advances in Baijiu analysis by chromatography based technology - A review [J]. Food Chemistry, 2020, 324(9): 126899.
- [2] 任金玫,陈君平,李志健,等.十二种香型白酒相关研究概况[J].中国酿造,2022,41(4):13-19.
- [3] 陈可丹,吴晓江,陈延儒,等.顶温对特香型大曲理化指标及菌群演替的影响[J].食品与发酵工业,2020,46(5):52-58.
- [4] Song X, Zhu L, Wang X, et al. Characterization of key aroma-active sulfur-containing compounds in Chinese LaobaiganBaijiu by gas chromatography-olfactometry and comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with sulfur chemiluminescence detection [J]. Food Chemistry, 2019, 297(11): 124959.
- [5] Wei Y, Zou W, Shen C H, et al. Basic flavor types and component characteristics of Chinese traditional liquors: A review [J]. Journal of Food Science, 2020, 85(12): 4096-4107.
- [6] 林钰宽,吴生文,游勇,等.不同培曲工艺对特香型大曲微生物群落结构的影响[J].食品与发酵工业,2022,48(6):188-194.
- [7] Shoubao Y, Xiangsong C, Jiaquan G. Bacterial and fungal diversity in the traditional Chinese strong flavour liquor Daqu [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2019, 125(4): 443-452.
- [8] Zhou Q, Ma K, Song Y, et al. Exploring the diversity of the fungal community in Chinese traditional Baijiu daqu starters made at low-, medium-and high-temperatures [J]. LWT, 2022, 162(6): 113408.
- [9] 孙利林,李立郎,胡萍,等.酱香型白酒大曲的微生物菌群结构及风味成分分析[J].现代食品科技,2020,36(8):299-306.
- [10] 杨旭,马歌丽,王光路,等.高通量测序解析白酒中高温大曲细菌和真菌群落结构[J].中国酿造,2020,39(6):119-123.
- [11] Zheng X W, Tabrizi M R, Nout M J R, et al. Daqu-a traditional Chinese liquor fermentation starter [J]. Journal of the Institute of Brewing, 2011, 117(1): 82-90.
- [12] 王玉荣,代凯文,沈馨,等.鲜广椒真菌多样性及其对滋味品质影响的评价[J].食品科学,2018,39(18):173-178.
- [13] 杨少勇,黎婷玉,蔡文超,等.襄阳地区高温大曲和中高温大曲真菌多样性解析[J].中国酿造,2021,40(5):76-80.
- [14] Caporaso J G, Bittinger K, Bushman F D, et al. PyNAST: A flexible tool for aligning sequences to a template alignment [J]. Bioinformatics, 2009, 26(2): 266-267.
- [15] Edgar R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST [J]. Bioinformatics, 2010, 26(19): 2460-2461.
- [16] Abarenkov K, Nilsson R H, Larsson K H, et al. The UNITE database for molecular identification of fungi—recent updates and future perspectives [J]. The New Phytologist, 2010, 186(2): 281-285.
- [17] Price M N, Dehal P S, Arkin A P. FastTree: computing large minimum evolution trees with profiles instead of a distance matrix [J]. Molecular Biology and Evolution, 2009, 26(7): 1641-1650.
- [18] Guo Z, Wang Y, Xiang F, et al. Bacterial diversity in pickled cowpea (*Vigna unguiculata* [Linn.] Walp) as determined by illuminaMiSeq sequencing and culture-dependent methods [J]. Current Microbiology, 2021, 78(4): 1286-1297.
- [19] Gweon H S, Bowes M J, Moorhouse H L, et al. Contrasting community assembly processes structure lotic bacteria metacommunities along the river continuum [J]. Environmental Microbiology, 2021, 23(1): 484-498.
- [20] Mo Y, Peng F, Gao X, et al. Low shifts in salinity determined assembly processes and network stability of microeukaryotic plankton communities in a subtropical urban reservoir [J]. Microbiome, 2021, 9(1): 1-17.
- [21] Taylor J D, Cunliffe M. Multi-year assessment of coastal planktonic fungi reveals environmental drivers of diversity and abundance [J]. The ISME Journal, 2016, 10(9): 2118-2128.
- [22] He G, Huang J, Zhou R, et al. Effect of fortified Daqu on the microbial community and flavor in Chinese strong-flavor liquor brewing process [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10(1): 56.
- [23] Yang Y, Wang S T, Lu Z M, et al. Metagenomics unveils microbial roles involved in metabolic network of flavor development in medium-temperature daqu starter [J]. Food Research International, 2021, 140(2): 110037.
- [24] Röttgers L, Faust K. From hairballs to hypotheses-biological insights from microbial networks [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2018, 42(6): 761-780.
- [25] Olesen J M, Bascompte J, Dupont Y L, et al. The modularity of pollination networks [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(50): 19891-19896.