

中国 5 个地区酒企中高温大曲真菌群落结构的比较

张敏^{1,2}, 郭壮^{1,3}, 张青⁴, 郭逸臻², 王慧², 李擎², 任国军², 侯强川^{1,3*}

(1. 湖北文理学院湖北省食品配料工程技术研究中心, 湖北襄阳 441053) (2. 内蒙古河套酒业集团股份有限公司, 内蒙古巴彦淖尔 015400) (3. 湖北文理学院酿酒技术产业学院, 湖北襄阳 441053) (4. 河套学院农学系, 内蒙古巴彦淖尔 015400)

摘要: 中高温大曲的真菌构成是决定酒体风格的关键因素之一, 但目前关于跨地区真菌组成的共性与差异仍缺乏系统性研究。为了系统解析我国跨地区中高温大曲真菌群落结构的共性规律与分化特征, 本研究整合了内蒙古巴彦淖尔、山东临沂、河南周口、山东潍坊和江西鹰潭 5 个地区白酒企业大曲的高通量测序数据, 对比分析了其真菌组成及互作关系。分析发现, 嗜热真菌属 (22.11%)、根霉属 (15.89%) 和曲霉属 (14.68%) 等为各地中高温大曲的优势真菌属。此外, 根霉属、曲霉属等构成了各地共有菌群, 占比 67.64%~83.15%。LEfSe 分析明确了各地区显著富集的特征菌群, 如巴彦淖尔的嗜热真菌属、临沂的毕赤酵母属等。相关性分析表明, 河南周口及山东两地大曲的真菌互作网络较复杂, 同时文氏壶菌属与毛孢子菌属的正相关性等多组互作关系表现出跨地区稳定性。整体而言, 5 个地区中高温大曲真菌群落呈现出核心类群保守与地域特异性并存的生态特点。本研究的开展为各地区企业独特酒体风味的形成机制解析奠定了一定的微生物学基础。

关键词: 5 个地区; 中高温大曲; 真菌群落结构; 高通量测序技术; 浓香型白酒

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.8.0624

Comparison of Fungal Community Structure of Middle-High

Temperature Daqu from Baijiu Enterprises across Five Regions in China

ZHANG Min^{1,2}, GUO Zhuang^{1,3}, ZHANG Qing⁴, GUO Yizhen², WANG Hui², LI Qing², REN Guojun²,
HOU Qiangchuan^{1,3*}

(1.Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Ingredients, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441053, China) (2.Inner Mongolia Hetao Wine Group Co., Ltd., Bayannur 015400, China)
(3.Brewing Technology Industrial College, Hubei University of Arts and Science, Xiangyang 441053, China)
(4.Department of Agriculture, Hetao College, Bayannur 015400, China)

Abstract: The fungal composition of medium-high temperature Daqu (MHTD) is one of the key factors determining the style of Baijiu. However, systematic research on the commonalities and differences of fungal communities across regions remains scarce. To systematically elucidate the common regularities and differentiation characteristics of the fungal community structure in cross-regional MHTD in China, high-throughput sequencing data of Daqu from Baijiu enterprises in five regions (Bayan Nur in Inner Mongolia, Linyi in Shandong, Zhoukou in Henan, Weifang in Shandong, and Yingtan in Jiangxi) were integrated in this study, and their fungal compositions and interactions were comparatively analyzed. The analysis revealed that *Thermomyces* (22.11%), *Rhizopus* (15.89%), and *Aspergillus* (14.68%), among others, constituted the dominant fungal genera. Furthermore, *Rhizopus*, *Aspergillus*, and others formed a shared core fungal community across all regions, accounting for 67.64%~83.15% of the total abundance. LEfSe analysis clarified the significantly enriched characteristic fungal taxa in each region, such as *Thermomyces* in Bayan Nur and *Pichia* in Linyi. Correlation analysis revealed that complex fungal interaction networks were formed in the Daqu from Zhoukou (Henan) and the two regions in Shandong, while multiple interactions, such as the positive correlation between *Apiotrichum* and *Trichosporon*, exhibited cross-regional stability. Overall, the fungal communities of MHTD from the five regions exhibited an ecological characteristic characterized by the coexistence of core taxa conservation and regional specificity. This study establishes a microbiological foundation for elucidating the formation mechanisms of unique Baijiu flavors in enterprises across various regions.

收稿日期: 2026-04-22; 修回日期: 2026-08-07; 接受日期: 2026-08-07

基金项目: 湖北省高等学校优秀中青年科技创新团队计划项目 (T2023022); 湖北文理学院科研启动费 (kyqdf2020003)

作者简介: 张敏 (1986-), 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 酿酒技术与工艺, E-mail: 597936367@qq.com

通讯作者: 侯强川 (1988-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: houqiangchuan@163.com

Key words: five regions; medium-high temperature Daqu; fungal community structure; high-throughput sequencing technology; strong-flavor Baijiu

中国白酒作为世界上最古老的蒸馏酒之一,拥有数千年的历史,其与威士忌、白兰地、伏特加、朗姆酒和金酒并称为世界六大蒸馏酒^[1]。中国白酒香型丰富,其中浓香型白酒销售份额占据整个白酒市场的 70%左右,是中国白酒的主要类型之一^[2]。与西方蒸馏酒工艺不同,中国浓香型白酒生产主要使用中高温大曲(制曲顶温通常控制在 55~60 ℃之间)作为糖化发酵剂。中高温大曲不仅是发酵体系中核心真菌群落如霉菌、酵母菌等的主要载体,其还富含各类水解酶与风味物质前体,是决定浓香型白酒最终风格和品质的关键因素之一^[3-5]。由于浓香型白酒生产企业在我国分布十分广泛,受各地区气候环境条件、原辅料和不同企业生产工艺参数差异的影响,不同地区企业生产的浓香型白酒在风味和口感等品质特性方面展现出各自独特的风格特征^[6]。而大曲中所蕴含的微生物群落结构差异可能是导致这种品质多样性的根本因素之一。

相关研究表明,相较于细菌,发酵环境的变化对真菌群落结构的形成和演替影响更大^[7],这使其成为指示不同地区企业大曲品质差异的理想对象。近年来,白酒大曲领域的研究有所增加,但现有研究多集中于四川地区或特定企业的大曲。例如,Wang 等^[2]基于泸州老窖股份有限公司中高温大曲的研究发现,曲霉属(*Aspergillus*)、毕赤酵母属(*Pichia*)等是其中的优势菌属,以曲霉为核心的协同微生物群在酯合成代谢网络中占据主导地位。Zhu 等^[8]研究发现,热子囊菌属(*Thermoascus*)、嗜热真菌属(*Thermomyces*)、柯达酵母属(*Kodamaea*)和曲霉属是四川宜宾某知名酒企业中高温大曲中的优势真菌属。尽管如此,当前关于四川省外代表性浓香型白酒企业中高温大曲真菌群落结构共性和差异的研究仍然不足,这已成为限制人们全面理解白酒地区风格差异原因的主要瓶颈。

近年来,随着测序技术的发展,公共数据库中积累了一些中高温大曲微生物高通量测序数据。然而,这些研究多基于特定企业的样品开展研究,缺乏对不同地区中高温大曲真菌群落的横向比较分析。为填补这一空白,本研究利用 5 家不同白酒企业公开的 ITS 测序数据,在统一生物信息学分析框架下开展比较分析,以减少不同研究分析策略带来的偏差,从群落组成、差异菌群及共现网络等多个层面系统揭示不同产区中高温大曲真菌群落的地域差异。这为从微生物生态学的角度系统性揭示我国浓香型白酒地区风格差异的形成机理奠定了一定的理论基础,同时也可以为建立更具普适性的大曲质量评价体系和实现跨区域的制曲工艺优化提供关键的理论支撑。

1 材料与方法

1.1 测序数据的获取与样本生境背景

为控制多源数据整合分析时的系统误差,本研究制定了严格的数据纳入标准:(1)研究对象为酿酒生产用中高温大曲;(2)论文中公开了可供下载的原始高通量测序数据;(3)测序扩增靶标为真菌 ITS2 可变区。基于上述标准,本研究从 NCBI SRA 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>)最终筛选并获取了 5 家非四川省代表性企业的中高温大曲测序数据,共计纳入 73 份样本。各企业高通量测序数据的具体项目检索号及样本量分布如下:内蒙古巴彦淖尔(PRJNA1338961, 15 份)^[9]、山东临沂(PRJNA1338969, 13 份)及河南周口(PRJNA1338969, 15 份)^[10]、山东潍坊(PRJNA1338975, 15 份)^[11]以及江西鹰潭(PRJNA1035562, 15 份)^[12]。本研究中纳入分析的各地区中高温大曲样本,均为经过规定储存期、可直接用于白酒酿造生产的成品曲。在制曲原辅料方面,除江西鹰潭中高温大曲以面粉(35%~40%)、麦麸(40%~45%)和酒糟(15%~20%)为主要原料外,其余 4 个地区均以小麦作为主要制曲原料。同时通过政府相关网站公布的各地区气候信息,本研究梳理了 5 家企业所属地区的气候特点,结果见表 1。

表 1 5 个企业所属地区的气候特点

Table 1 Climate characteristics of the regions where the five enterprises are located

地区	气候类型	年平均气温/℃	年降水量/mm	年均相对湿度/%
内蒙古巴彦淖尔	温带大陆性干旱气候	8.5~9.0	135.0~145.0	42.0~44.0
山东潍坊	暖温带季风性半湿润性气候	12.6~12.8	601.2~636.1	61.0~66.0
山东临沂	温带季风大陆气候	13.9~14.2	826.1~881.8	63.0~68.0
河南周口	暖温带季风气候	14.2~14.7	696.5~889.6	71.0~73.0

江西鹰潭	中亚热带温暖湿润季风气候	18.0~18.5	1750.0~1872.8	75.8~76.3
------	--------------	-----------	---------------	-----------

整体而言,这5个地区的气候条件呈现出显著的地域差异,从巴彦淖尔到鹰潭,各地的年均气温、年降水量及年均相对湿度均呈现出明显的阶梯性递增趋势。具体而言,巴彦淖尔属于温带大陆性干旱气候,表现为典型的干冷少雨特征;地处温带及暖温带季风区的潍坊、临沂和周口,水热条件适中,呈现温和的半湿润至湿润气候特征;而鹰潭属于中亚热带温暖湿润季风气候,表现出显著的温暖、高湿且多雨特征。上述气象条件差异连同制曲原料的多样性,为后续探究不同地域中高温大曲真菌群落结构的分布差异提供了重要的生境背景信息。

1.2 生物信息学分析

对于原始双端数据,使用 QIIME 平台 (v1.9.1) 内置的 fastq-join 算法进行序列拼接,合并条件要求重叠区域碱基数大于 10 bp 且最大错配率为 0.2;拼接后的序列继续进行严格的过滤与质控,保留碱基核苷酸条形码 (barcode) 无错配、最大引物错配数 ≤ 2 的序列,并剔除含有碱基 N 以及平均质量分 <20 的低质量序列片段,最终获得高质量序列。

随后,基于筛选得到的高质量测序数据进一步基于 QIIME 平台进行真菌群落结构和多样性的分析,具体步骤如下:(1) 使用 PyNAST 软件 (v1.2.2) 进行序列多重比对;(2) 按照 97% 的序列相似度阈值,使用 UCLUST 算法划分操作分类单元 (OTUs),并剔除仅含有一条序列的单体以减少测序误差的干扰;(3) 使用 vsearch 软件 (v2.15.0) 识别并剔除嵌合体序列;(4) 选取每个 OTU 的代表序列,使用 UNITE 数据库 (v10.0) 对各 OTU 的分类学地位进行注释,在此基础上统计各样本在不同分类学水平上的相对含量信息;(5) 将所有样本抽平至相同测序深度后,通过计算 Observed species 指数和 Shannon 指数等 Alpha 多样性指数,评估各样本中真菌的丰度和多样性。

1.3 多元统计学分析

本研究运用非参数的 Kruskal-Wallis 检验评估不同地区大曲微生物 α 多样性是否具有显著性差异。同时,采用 Benjamini 等^[13]方法对多重比较中的假阳性率予以控制,并将 $P<0.05$ 设定为存在显著差异的阈值。使用 R 统计软件进行统计分析,具体而言,为了深入评估真菌群落结构的变化,利用 R 软件中的 “ade4” 包 (v1.7.15)^[14] 和 “vegan” 包 (v2.6.2)^[15],基于非加权和加权 UniFrac 距离进行主坐标分析和置换多元方差分析 (PERMANOVA; Adonis, 置换次数=999)。此外,为识别不同地区中高温大曲中具有显著丰度差异的特征真菌类群,本研究在 Galaxy 在线分析平台 (http://galaxy.biobakery.org/tool_runner?tool_id=LEfSe_for) 上开展了 LEfSe (Linear discriminant analysis effect size) 分析。该算法依次采用非参数的 Kruskal-Wallis 秩和检验与 Wilcoxon 秩和检验评估不同地区组间物种丰度的显著性差异 (显著性阈值设定为 $P<0.05$),随后利用线性判别分析 (LDA) 估算各差异物种对组间分化的影响程度,最终将 LDA 对数值 (Log10) 大于 4.0 的分类单元确定为具备统计学意义的特征真菌类群^[16]。通过 Spearman 秩相关分析解析大曲优势真菌属间的关联关系,采用 Benjamini 等法对多重检验 P 值进行校正,仅保留校正后 $P<0.05$ 且相关系数绝对值 $|r|\geq 0.4$ 的配对用于可视化绘图。在此基础上,计算了各地区大曲真菌相关性网络的密度,其计算方法为网络中实际存在的显著相关连线数,与理论上可能存在的最大连线数之比。最后,基于 R 语言 “ggplot2” 包 (v4.0.2) 进行数据可视化。

2 结果与讨论

2.1 不同地区中高温大曲中真菌菌群多样性分析

本研究所有样品真菌 ITS 区测序量为 4 378 265 条,平均每个样本的序列数为 59 976 条 (24 643~111 406, SD=1 990)。本研究利用稀疏曲线和 Shannon 多样性指数对当前测序量是否能充分代表样品中的菌群组成进行了评估,结果如图 1 所示。

由图 1a 可知,随着测序深度的增加,真菌的稀疏曲线斜率逐渐降低,但仍未达到完全水平状态。然而,由图 1b 可知,真菌的 Shannon 多样性曲线随着测序量的增加已经趋于水平。这表明尽管进一步增加测序量可能会发现新的种系型,但现有的测序量已足以揭示样品中主要真菌类群的组成。本研究通过 α 多样性分析比较了 5 个地区中高温大曲的真菌丰度 (图 1c) 及多样性 (图 1d) 的差异。发现物种数指数的结果显示,河南周口和江西鹰潭酒

企最高,其次是山东潍坊酒企,而山东临沂和内蒙古巴彦淖尔酒企最低,并显著低于其他地区($P<0.05$)。Shannon多样性结果显示,江西鹰潭、河南周口和山东临沂酒企最高,其次是山东潍坊酒企,内蒙古巴彦淖尔酒企显著低于其他地区($P<0.05$)。上述结果表明,河南周口和江西鹰潭酒企大曲在真菌的丰度及多样性方面均表现出较高的水平,而内蒙古巴彦淖尔酒企在这两方面均显著较低。

大曲中 α 多样性的显著地域性差异,推测可能与各地区自然气候环境对大曲微生态的影响有一定关系。中高温大曲属于开放式发酵,其微生物群落的初期富集极大地受制于当地的温湿度条件^[17]。江西鹰潭和河南周口地处中南腹地,气候整体较为温暖湿润,这种环境条件客观上为环境中各类真菌的生长、繁殖以及在曲块中的定殖提供了有利基础,这或可作为两地大曲真菌丰度与多样性较高的原因之一。相反,内蒙古巴彦淖尔地处我国北方,空气相对干燥、降水量少且昼夜温差大。这种较为苛刻的气候环境可能构成了潜在的筛选压力,限制了部分非耐受型真菌的生长,这可能在一定程度上造就了该地区大曲的真菌群落丰度与多样性偏低的特点。需要特别指出的是,由于本研究数据主要源自公共数据库,普遍缺乏与测序样本对应的水分、酸度、酶活力等理化指标数据,因而无法就微生物群落结构与环境因子之间的关系开展严密的统计学相关性验证。因此,本文关于气候环境对真菌群落影响的讨论主要基于典型地理特征与宏观生态学理论作出的初步推论,确切的微生态驱动机制仍需未来结合配套理化数据的实证研究予以确证。

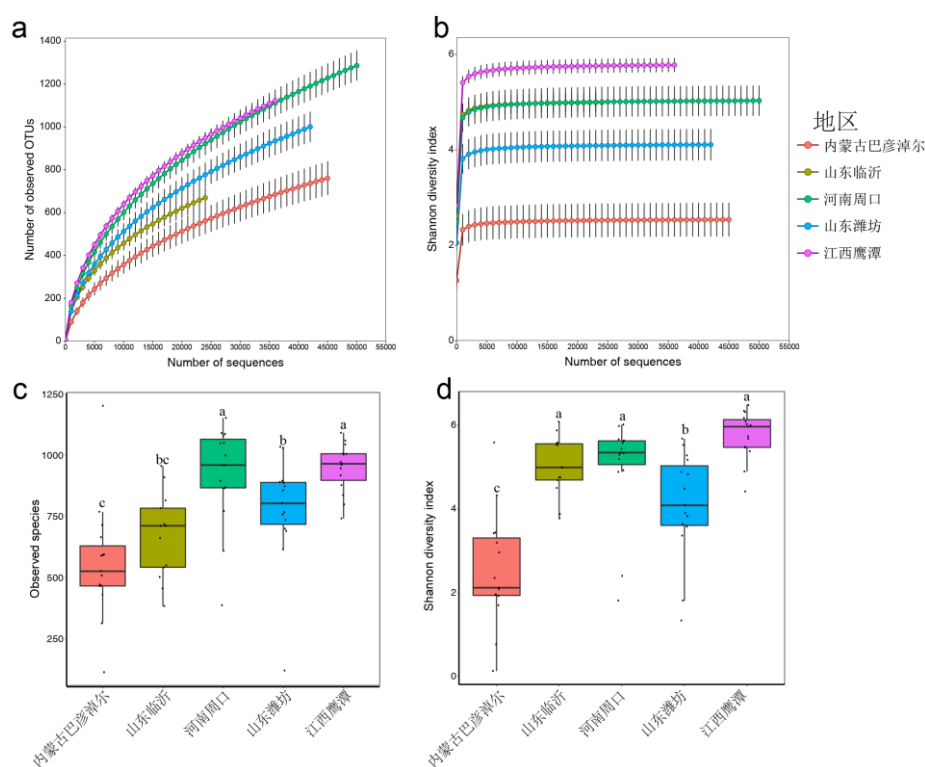


图1 不同地区中高温大曲真菌群落的测序深度及多样性评估

Fig. 1 Evaluation of sequencing depth and diversity of fungal communities in medium-high temperature Daqu from different regions

注:(a)稀疏曲线;(b)Shannon多样性曲线;(c)发现物种数指数;(d)Shannon多样性指数。不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同地区中高温大曲真菌 β 多样性分析

为了直观展现不同地区中高温大曲真菌群落结构的异同,本研究基于非加权和加权 UniFrac 距离进行了主坐标分析和置换多元方差分析。结果发现,不同地区中高温大曲整体真菌群落结构存在显著差异($P<0.05$) (图2)。具体而言,基于非加权 UniFrac 距离分析结果(图2a)显示,内蒙古巴彦淖尔和山东潍坊大曲与其他地区样品明显分离;而基于加权 UniFrac 距离分析结果(图2b)显示,内蒙古巴彦淖尔和江西鹰潭大曲与其他地区样品明显分离。需要指出的是,由于中高温大曲属开放式发酵微生态系统,真菌群落受地域气候、微环境及工艺波动的综合影响较大,样本异质性较强,因此 PCoA 前两轴的累计方差解释度相对偏低,这在高度复杂的环境微生物样本分析中较为常见^[18]。综合上述结果表明,内蒙古巴彦淖尔大曲在低丰度和高丰度物种方面均与其他地区存在较大

差异,而山东潍坊和江西鹰潭大曲分别在低丰度和高丰度物种方面具有独特的菌群。

这种真菌群落结构的显著分化,反映了地理环境与企业生产工艺对大曲微生态的共同塑造作用。一方面,大曲采用开放式发酵,各产区独特的温湿度、降水及海拔等地理气候因子形成了差异化的发酵条件,可能构成不同的环境选择压力,进而间接影响了特定菌群的富集与群落结构分化^[19]。另一方面,不同酒企在原辅料来源、制曲峰温控制及水分管理等工艺参数上的细微差别,进一步产生了差异化的生态筛选压力,使特定功能的真菌类群在各自的生产生境中获得竞争优势。这种自然环境因素与企业人为干预的共同作用,最终形成了各产区中高温大曲真菌群落独特的结构特征,并构成了白酒产生地域风格差异的微生物学基础。

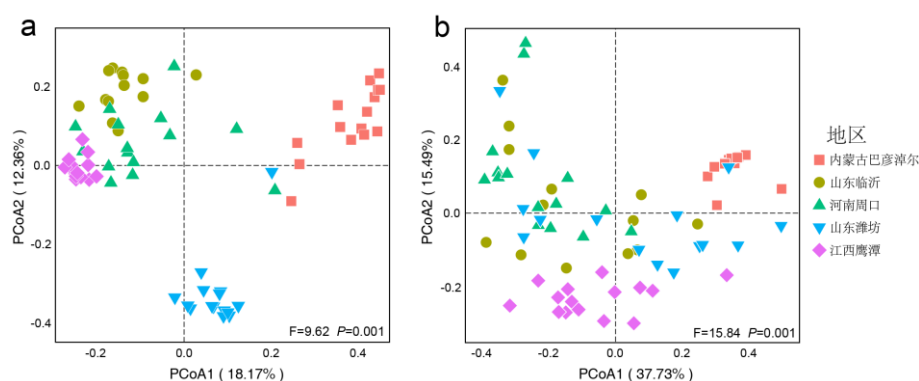


图2 不同地区中高温大曲真菌群落的主坐标分析

Fig.2 Principal coordinate analysis of fungal communities in medium-high temperature Daqu from different regions

注: (a) 基于非加权 UniFrac 距离; (b) 基于加权 UniFrac 距离。

2.3 不同地区中高温大曲真菌群落结构的整体组成

基于 UNITE 数据库,本研究共注释到 11 个真菌门和 179 个真菌属。在门水平上(图 3a),子囊菌门(Ascomycota)在中高温大曲中占据主导地位,平均相对丰度高达 64.46%,其次为毛霉门(Mucoromycota, 23.53%)和担子菌门(Basidiomycota, 10.86%)。Wang 等^[2]在先前的研究中也观察到了类似的群落分布特征。子囊菌门中包含了大量高度适应中高温发酵生境的类群,这可能是其在严苛的制曲环境中成为绝对优势菌门的宏观生态学基础。由于门水平的分类层级较高,所包含的真菌类群在代谢潜能上具有极强的异质性,为了更准确、严谨地阐释这些优势微生物在酿酒过程中的生态学作用,本研究进一步在属水平上对其组成与功能潜力进行了深入剖析。

在属水平上(图 3b),平均相对丰度在 1%以上的真菌属共有 12 个,分别为嗜热真菌属(22.11%)、根霉属(*Rhizopus*, 15.89%)、曲霉属(14.68%)、文氏壶菌属(*Apiotrichum*, 6.94%)、热子囊菌属(5.62%)、双足囊菌属(*Dipodascus*, 4.95%)、横梗霉属(*Lichtheimia*, 4.54%)、迈耶氏酵母属(*Meyerozyma*, 3.16%)、根毛霉属(*Rhizomucor*, 2.73%)、毛孢子菌属(*Trichosporon*, 1.58%)、毕赤酵母属(1.19%)和耐干霉菌属(*Xeromyces*, 1.18%)。此外,各样品中无法鉴定到属水平的序列平均占比为 5.20%。从群落生态学角度可以发现,中高温大曲发酵是一个历经强烈环境筛选的微生态演替过程。嗜热真菌属、热子囊菌属等典型耐热真菌占据了超过四分之一的丰度(合计 27.73%),显示出中高温大曲发酵体系对耐高温类群具有强烈的定向选择作用。同时,根霉属和曲霉属等具有极强环境适应力和孢子繁殖能力的丝状真菌,也在此过程中确立了核心地位。这种由少数耐热和抗逆真菌属占据绝对主导(前 7 大属累计丰度近 80%)、多种酵母属(如迈耶氏酵母属、毕赤酵母属等)共存的结构模式,构成了我国中高温大曲基本的微生态骨架。该结构分布反映了微生物在长期酿造生境驯化下,对底物竞争和环境胁迫所作出的宏观生态响应。

为进一步验证上述以耐热真菌为核心的微生态骨架是否具有跨区域的普遍性,本研究将结果与四川核心产区已发表的大曲真菌群落数据进行了比较。Ma 等^[20]解析了四川泸州、成都和德阳地区浓香型大曲的真菌群落结构,发现热子囊菌属、嗜热真菌属、复膜孢酵母属(*Saccharomycopsis*)、伊萨酵母属(*Issatchenkia*)、曲霉属和罗萨氏菌属(*Rasamsonia*)等为四川三个地区大曲样品中的优势真菌属。值得注意的是,热子囊菌属、嗜热真菌属和曲霉属三个典型的耐高温丝状真菌为本研究五个地区与四川核心产区大曲中的共有优势真菌属。这表明,无论产区地理位置如何,中高温这一共同的制曲温度条件可能是塑造大曲核心真菌群落的关键驱动因素,由其筛选形成的

“耐热核心菌群”具有跨越核心产区与非核心产区的普遍性，可作为浓香型中高温大曲跨区域共有的功能性微生态基础。另一方面，本研究识别出的根霉属、横梗霉属、根毛霉属等毛霉门优势属，以及迈耶氏酵母属、毕赤酵母属等酵母类群，并非 Ma 等报道的四川产区优势菌群；而四川产区报道的复膜孢酵母属、伊萨酵母属等酵母类群，也并非本研究涉及产区的优势属。这种差异提示，在中高温这一共性环境因子驱动形成的核心耐热菌群之外，不同产区的大曲真菌群落仍存在显著的地域分化特征，这可能与各产区所处的气候条件、酿造原料及制曲工艺细节密切相关，这也可能是不同产区浓香型白酒呈现风格差异的潜在微生态基础之一。

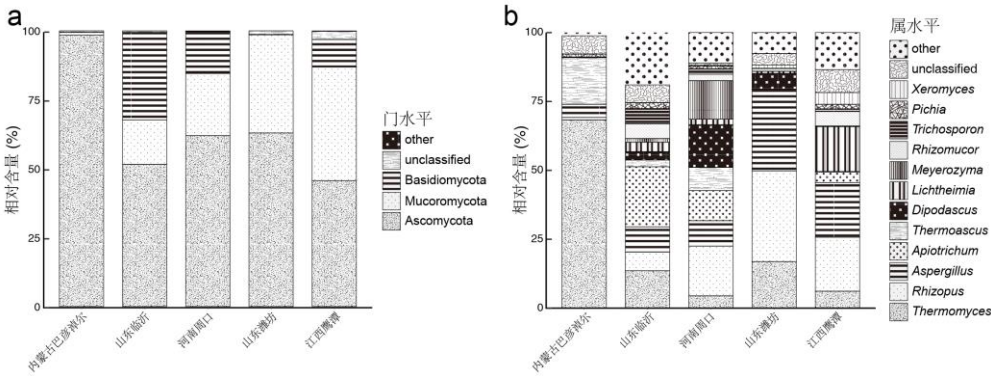


图 3 不同地区中高温大曲真菌群落的组成比较

Fig.3 Comparison of fungal community composition in medium-high temperature Daqu from different regions

注：(a) 门水平组成；(b) 属水平组成。

2.4 不同地区中高温大曲共有菌群及特有菌群分析

不同地区生产的中高温大曲中存在的共有和特有真菌类群以及这些真菌所占比例是人们所关心的问题。本研究基于 97%序列相似性划分得到的 OTU 水平，将在不同地区中高温大曲中均出现的 OTU 定义为“共有 OTU”，而将仅在某一地区出现而在其他地区样品中未出现的 OTU 定义为“特有 OTU”。结果显示，共有 618 个 OTU 满足“共有 OTU”的条件（图 4a）。这些 OTU 主要注释结果为根霉属（264 个）、曲霉属（118 个）、横梗霉属（72 个）、毕赤酵母属（67 个）和根毛霉属（41 个）等。共有 OTU 所包含的序列在各地区酒企样品中的平均占比分别为：内蒙古巴彦淖尔 83.13%（71.0%~99.4%）、山东临沂 67.64%（49.22%~90.59%）、山东潍坊 83.15%（45.95%~93.57%）、河南周口 78.31%（68.66%~93.59%）、江西鹰潭 74.75%（62.36%~85.76%）（图 4b）。这种高比例的核心真菌类群分布表明，尽管各地理环境和生产工艺存在差异，中高温大曲中仍存在一类稳定且适应性强的共有微生态基础。

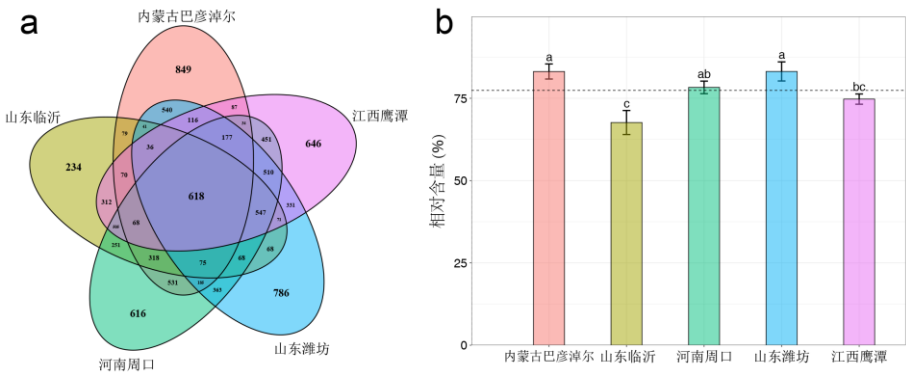


图 4 不同地区中高温大曲共有及特有菌群分析

Fig.4 Analysis of shared and unique fungal communities in Middle-high temperature Daqu from different regions

注：(a) Venn 图；(b) “共有 OTU”所包含的序列在各地区酒企样品中的平均占比。

相比之下，各地区大曲均拥有一定数量的特有 OTU，但这些特有 OTU 所包含的总序列数占比却整体偏低。这说明各地区大曲中虽然存在丰富的特有真菌种类，但它们大多属于低丰度的边缘类群。其中，江西鹰潭大曲的特有 OTU 占比最高(7.77%)，除未分类序列外，主要隶属于红酵母属(*Rhodotorula*, 0.32%)、木霉菌属(*Trichoderma*,

0.31%)、哈萨克斯坦酵母属 (*Kazachstania*, 0.22%)、篮状菌属 (*Talaromyces*, 0.22%) 和斜盖伞属 (*Clitopilus*, 0.21%)。山东临沂 (3.25%) 主要为青霉菌属 (*Penicillium*, 0.42%)、短梗霉属 (*Aureobasidium*, 0.37%) 和 *Phialemoniopsis* (0.35%)。河南周口 (2.16%) 主要为毕赤酵母属 (0.32%)、葡萄孢盘菌属 (*Botryotinia*, 0.19%)、*Robbauera* (0.12%) 和假丝酵母属 (*Candida*, 0.11%)。山东潍坊 (1.71%) 主要隶属于曲霉属 (0.40%) 和 *Diutina* (0.15%)。内蒙古巴彦淖尔的特有序列占比最低 (1.29%), 主要为热子囊菌属 (0.40%) 和嗜热真菌属 (0.32%)。各地区特有菌属大部分为白酒酿造中的非典型微生物, 这反映了不同酒企独特的自然地理环境或制曲原料差异驱动了这些边缘真菌的种群分化^[7]。从生态学角度分析, 这些低丰度的特有 OTU 尽管相对丰度较低, 但它们在大曲微生物生态系统中依然具有重要的生态学意义。一方面, 它们作为发酵体系的组成部分, 可以提供微生物生态系统的功能冗余。当制曲或发酵生境发生剧烈波动时, 这类边缘菌群能够迅速响应并可能演替为主导类群, 从而提升大曲整体群落结构的稳定性和抗逆力^[21]; 另一方面, 这些特有类群往往具备高度特异性的代谢途径, 参与微量挥发性风味前体物质的合成与微调, 对塑造不同产区白酒个性化的风味特征起到了不可或缺的修饰与补充作用^[22]。

2.5 不同地区中高温大曲真菌差异比较

本研究采用 LEfSe 分析揭示了不同地区中高温大曲中的特征性真菌, 结果如图 5 所示。由图 5 可知, 不同地区中高温大曲在多个系统发育水平均展现出特异性的富集类群。在门水平上, 内蒙古巴彦淖尔和山东临沂大曲分别显著富集了子囊菌门和担子菌门; 江西鹰潭大曲则以富集毛霉门为主要特征。在纲至科的分类层级上, 内蒙古巴彦淖尔大曲以散囊菌纲 (*Eurotiomycetes*) 及散囊菌目 (*Eurotiales*)、嗜热子囊菌科 (*Thermoascaceae*) 和发菌科 (*Trichocomaceae*) 等为主; 山东临沂大曲主要富集银耳纲 (*Tremellomycetes*)、马拉色菌纲 (*Malasseziomycetes*) 及丝孢酵母科 (*Trichosporonaceae*) 等; 江西鹰潭大曲显著富集毛霉纲 (*Mucoromycetes*)、座囊菌纲 (*Dothideomycetes*) 及横梗霉科 (*Lichtheimiaceae*) 等; 河南周口大曲在双足囊菌科 (*Dipodascaceae*) 和德巴利酵母科 (*Debaryomycetaceae*) 水平上表现出显著富集; 山东潍坊大曲则显著富集了柔膜菌目 (*Helotiales*) 以及根霉科 (*Rhizopodaceae*)、曲霉科 (*Aspergillaceae*) 和复膜孢酵母科 (*Saccharomycopsidaceae*)。在属水平, 内蒙古巴彦淖尔大曲嗜热真菌属和热子囊菌属显著富集; 山东临沂大曲文氏壶菌属、毛孢子菌属、马拉色菌属 (*Malassezia*) 和毕赤酵母属显著富集; 河南周口大曲双足囊菌属、迈耶氏酵母属和耶氏酵母属 (*Yarrowia*) 显著富集; 山东潍坊大曲中根霉属、曲霉属和复膜孢酵母属显著富集; 江西鹰潭大曲横梗霉属、根毛霉属和耐干霉菌属显著富集。上述结果表明, 不同地区的中高温大曲在真菌群落构成上具有明显的地域分化特征。

这种群落结构的显著地域分化, 进一步印证了不同酒企间地理气候差异与制曲工艺共同的筛选作用。在内蒙古巴彦淖尔大曲中, 嗜热真菌属和嗜热子囊菌属呈现出极其显著的特异富集。从生态适应性的角度来看, 巴彦淖尔地处我国北方干旱地带, 气候干燥且昼夜温差极大。在这种气候下, 大曲发酵及失水干燥过程中的环境胁迫尤为剧烈。前人研究证实, 大曲发酵过程中的生物热效应会导致曲块水分活度迅速下降, 而嗜热真菌属和热子囊菌属作为典型的耐热与耐旱型丝状真菌, 能够在这种苛刻生境中维持极强的生存与定殖优势^[23]。其在该地区的显著富集, 反映了北方干旱气候对大曲耐热真菌类群强烈的定向筛选作用。相比之下, 地处中原腹地与黄淮流域的河南周口和山东临沂地区, 气候整体更加温和。在这种环境中, 推测延缓了发酵初期曲块表面水分的快速散失, 从而为毕赤酵母、迈耶氏酵母等酵母型真菌在高温期到来前的大量扩增创造了适宜的微环境窗口^[24]。此外, 山东潍坊大曲显著富集了根霉属和曲霉属, 作为糖化发酵的核心驱动者^[25], 这种经典丝状真菌的富集表明该地区可能通过特定的制曲工艺, 强化了以淀粉降解为核心的微生态演替方向。在江西鹰潭大曲中, 横梗霉属和根毛霉属的显著富集构成了其最显著的地域特征。这种特征群落的形成, 可能是该地区湿热气候与制曲时酒糟加入共同作用的结果。一方面, 鹰潭地处南方湿润季风气候区, 常年具有极高的相对湿度, 而毛霉门真菌普遍具有生长迅速、喜高温高湿的生物学特性^[26], 暖湿气候加速了这类真菌孢子的萌发; 另一方面, 该地区大曲在配料中独特性地添加了 15%~20% 的酒糟, 酒糟的加入不仅大幅提升了发酵初期的整体水分, 还赋予了曲块偏酸性的微环境, 并带来了丰富的残余营养物质与特异性前体^[27]。横梗霉和根毛霉等毛霉门真菌对微酸性且富含水分的生境具有极强的适应性与降解能力^[28]。因此, 得天独厚的气候条件与酒糟配料产生的协同效应, 促使这类真菌在发酵早期的微生物资源竞争中迅速占据绝对优势, 最终塑造了鹰潭大曲独特的真菌类群特征。

综上所述, 不同地区中高温大曲真菌群落结构的显著分化, 并非偶然的随机组合, 而是各地区宏观自然地理气候与酿造工艺长期协同筛选的结果。这些基于高通量测序确立的结构标志物, 客观揭示了微生物群落对特定地

域生境的生态适应机制，构成了各产区白酒微生态特征的核心载体^[27]。但是这些高度特异的菌群结构特征如何具体映射到酶系表达与代谢转化方面，仍有待未来通过宏基因组学、代谢组学等功能维度的定量研究进一步确认。

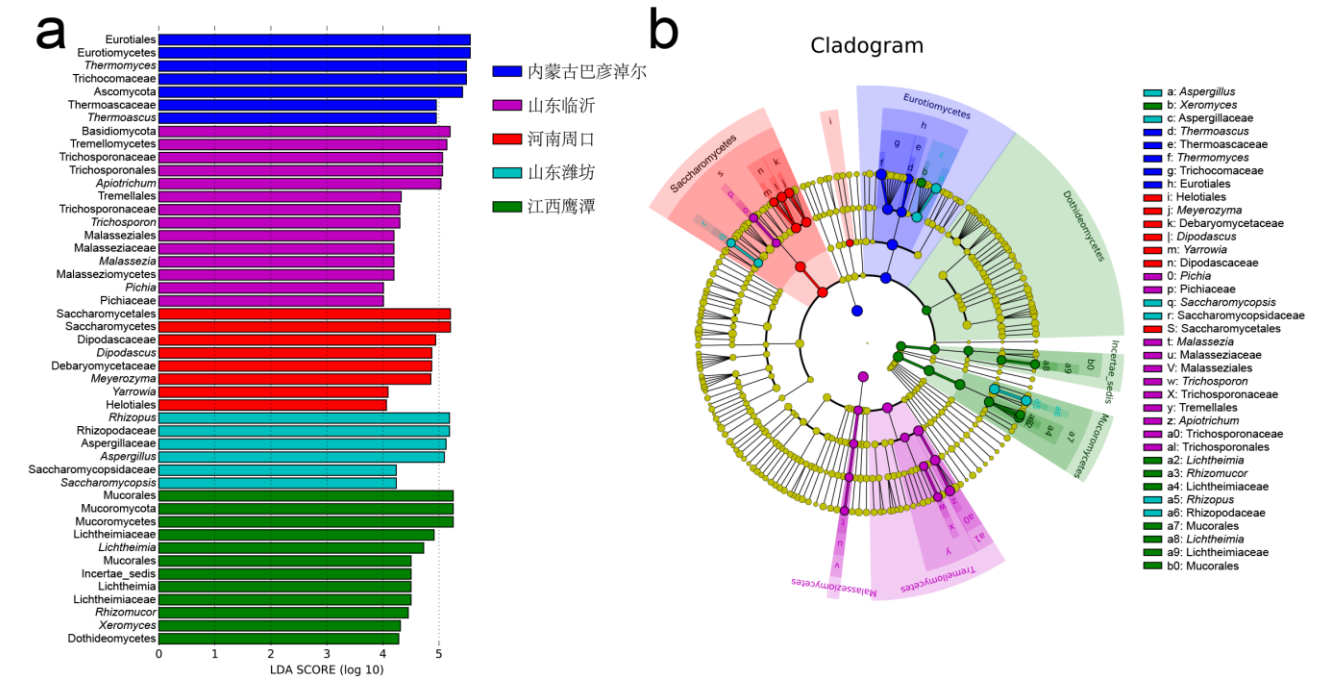


图 5 基于 LEfSe 分析不同地区中高温大曲的特征真菌类群

Fig.5 Characteristic fungal taxa in Middle-high temperature Daqu from different regions revealed by LEfSe analysis

注：（a）LDA 值分布柱状图；（b）进化分枝图。

2.6 不同地区中高温大曲真菌互作关系差异分析

为了揭示中高温大曲中真菌属彼此间的相关关系，本研究分别对 5 个地区中高温大曲优势菌属（平均相对含量>0.5%）进行了 Spearman Rank 相关性分析，各地区优势菌属中具有显著相关关系（ $P<0.05$ ）的菌属如图 6 所示。由图 6 可知，不同地区中高温大曲中存在显著相关关系的真菌属在数量方面存在明显的差异。内蒙古巴彦淖尔地区（图 6a）的大曲中存在显著相关关系的真菌属最少，仅有 4 个，而最多的为山东临沂（图 6b）地区大曲，共有 20 个。此外，这些菌属彼此间相关关系的网络密度也存在非常大的差异，整体而言，河南周口（图 6c）、山东潍坊（图 6d）和山东临沂大曲中的真菌类群相关性较为密切，而江西鹰潭（图 6e）和内蒙古巴彦淖尔地区大曲真菌相关性相对较低。具体而言，山东临沂地区菌属相关性分布较为离散，未形成集中关联模式，部分菌属如枝孢菌属（*Cladosporium*）和毛孢子菌属，以及短梗霉属和青霉菌属之间呈现显著正相关性（ $P<0.05$ ），而曲霉属和青霉菌属等组合呈现显著负相关性（ $P<0.05$ ）。河南周口地区存在显著负相关（ $P<0.05$ ）的真菌主要集中在双足囊菌属和横梗霉属、迈耶氏酵母属、耶氏酵母属、丝孢酵母菌属（*Cutaneotrichosporon*）之间，以及耶氏酵母属和热子囊菌属之间；而显著正相关（ $P<0.05$ ）则集中在 *Fusicolla* 和横梗霉属、迈耶氏酵母属、毛孢子菌属、文氏壶菌属之间。山东潍坊地区的互作关系相对集中，曲霉属与丝孢毕赤酵母属（*Hyphopichia*）、半乳糖霉菌（*Galactomyces*）等菌属的显著负相关（ $P<0.05$ ），同时横梗霉属、根霉属、复膜孢酵母属等菌属间显著正相关（ $P<0.05$ ）是其主要特征。内蒙古巴彦淖尔与江西鹰潭地区优势真菌的互作网络强度较低，前者仅表现为复膜孢酵母属和根霉属的显著正相关（ $P<0.05$ ），以及热子囊菌属和嗜热真菌属的显著负相关（ $P<0.05$ ）；后者则以根毛霉属与嗜热真菌属的显著正相关（ $P<0.05$ ）和根毛霉属与毕赤酵母属的显著负相关（ $P<0.05$ ）为主导。值得注意的是，部分菌属间的相关性在不同地区保持一致性，如文氏壶菌属和毛孢子菌属在临沂、周口和鹰潭地区均呈极显著正相关（ $P<0.05$ ），毕赤酵母属和根毛霉属在周口和鹰潭地区均呈极显著负相关（ $P<0.05$ ），预示着这些互作关系可能具有跨地区的功能保守性。

上述相关性分析揭示了真菌属彼此间复杂的生态关联及其潜在功能分化特征。不同地区显著相关菌属数量及网络密度的差异，一方面可能与各地区在相对含量>0.5%阈值下纳入分析的菌属数量存在一定关系，另一方面也

可能与各地气候特征及制曲工艺等因素有关。河南周口、山东潍坊和山东临沂的菌属相关性展现出高密度网络，反映了这些地区真菌属形成了更为复杂的代谢分工与协同体系。而内蒙古巴彦淖尔地区的低密度网络则可能与该地区昼夜温差大、空气湿度低等环境压力筛选出了适应性更强的少数核心真菌类群有关。值得注意的是，本研究中观察到的多种显著相关性与前人文献中报道的普遍规律高度契合。例如，在内蒙古巴彦淖尔大曲中发现的热子囊菌属与嗜热真菌属存在显著负相关，这与已有文献报道的两者往往在酿酒体系中呈现负相关性的结果一致^[28,29]。两者同为典型的耐热丝状真菌，在高温发酵阶段大量富集，这种负相关性可能源于它们在极端高温生态位中对有限碳氮底物及生存空间的强烈竞争。相反，在山东潍坊及内蒙古巴彦淖尔地区观察到的根霉属与复膜孢酵母属等菌属间的显著正相关，则生动反映了发酵体系中不同菌群之间的物质互养机制。前人研究表明，根霉属等丝状真菌具备强大的产胞外水解酶的能力，能将淀粉、蛋白质、脂肪和纤维素等大分子营养物质降解为更容易被发酵利用的小分子底物^[30]，从而促进了后续酵母菌的生长与代谢网络运行。本研究同时发现，部分菌属间的相关性在多个地区保持高度一致，预示着其跨区域的生态保守性。其中，文氏壶菌属和毛孢子菌属均属于毛孢子菌目（Trichosporonales），两者在系统发育进化关系上高度相似^[31]，相似的环境胁迫响应机制与代谢需求可能是两者在多地均存在显著正相关的原因。此外，偏好中温的毕赤酵母属与偏好高温的根毛霉在多个地区均呈现极显著负相关，这一竞争排斥现象在多项前人研究中也得到了印证^[32,33]。两者对于外界环境的喜好差异明显，这在一定程度上揭示了中温菌群与耐高温菌群在生态位上的竞争性排斥关系^[34]。

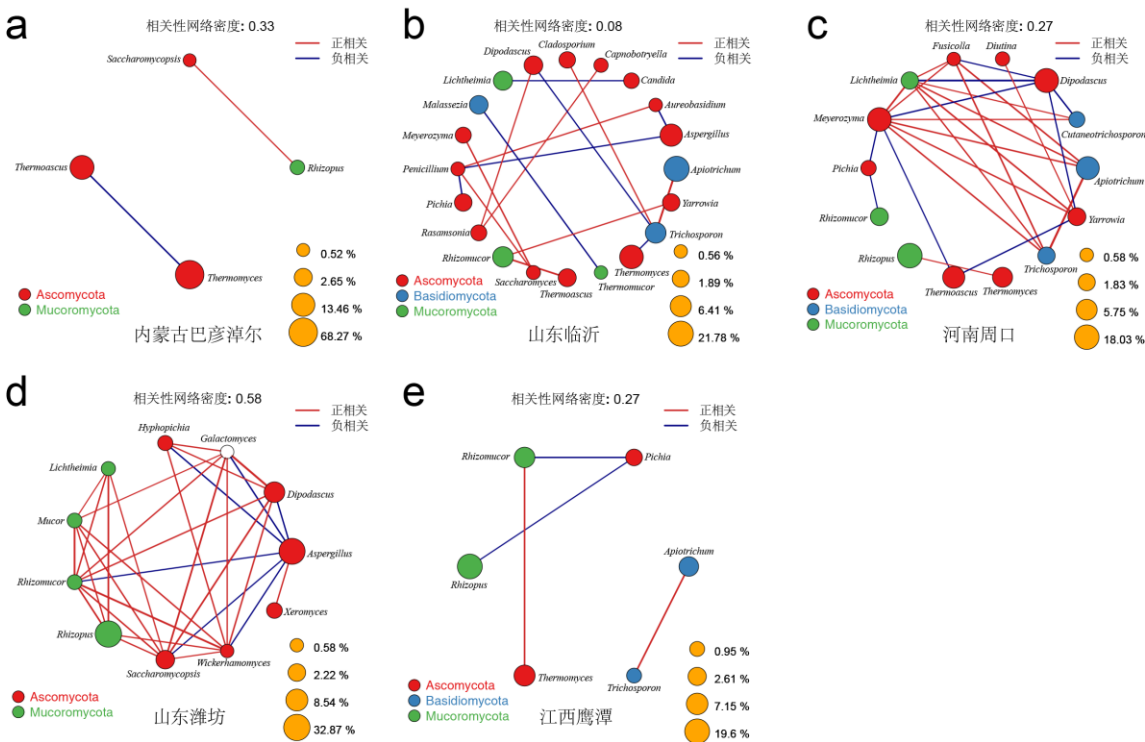


图 6 不同地区中高温大曲优势真菌属相关性分析

Fig.6 Correlation analysis of dominant fungal genera in Middle-high temperature Daqu from different regions

注：图中相关性网络密度计算方式：菌间实际连线数/每两个菌之间均建立连线的总数；两个菌属之间存在连线，则表示两者之间存在显著相关关系（ $P < 0.05$ ）。

需要指出的是，本研究采用基于 97%序列相似性的 OTU 聚类策略开展真菌群落分析。尽管该方法能够较好地反映群落整体组成特征，但在区分近缘物种方面仍存在一定局限。近年来，基于 QIIME2 平台的 ASV 分析方法因其能够保留单碱基差异而获得广泛应用，在一定程度上提高了微生物分类分辨率。然而，对于真菌 ITS2 扩增区而言，其种水平鉴定能力仍受限于不同类群间序列变异程度的影响。因此，未来的研究工作有必要结合 ASV 分析、宏基因组学以及目标菌株分离鉴定等手段，实现对关键真菌更精细的种水平甚至菌株水平解析，以进一步揭示我国浓香型白酒区域特色风味形成的微生物学基础。此外，本研究作为一项基于公共数据库的二次整合分析，在样本背景信息方面，除了能明确各地大曲在制曲原料上的差异外，各原始文献对制曲顶温、关键工艺参数、理化特性等信息大多没有呈现在论文中。这在一定程度上限制了本研究将微生态结构的地域性分化与理化环境因子

进行深度的相关性挖掘。这就意味着,在缺乏足够变量参数进行控制的情况下,我们难以将气候因素与工艺差异完全剥离。因此,本文中所观察到的地区间真菌群落差异,实质上是该产区自然地理环境与各酒企独特制曲工艺等多种因素共同塑造的综合结果。基于此,本研究呼吁在未来大曲微生态的研究中,建立并推广更为标准化的背景信息记录与数据共享规范。这不仅有助于提升跨区域、多维度整合分析数据的可比性,也将为全面解析自然地理与酿造工艺协同驱动下的白酒微生态演替规律提供更加坚实的数据支撑。

3 结论

本研究汇总分析了我国 5 个不同地区浓香型白酒企业生产制作的中高温大曲真菌群落结构及彼此间的互作关系。研究发现,子囊菌门、毛霉门和担子菌门共同构成各地中高温大曲的优势真菌门,而嗜热真菌属、根霉属、曲霉属、文氏壶菌属及热子囊菌属为优势真菌属。同时,根霉属、曲霉属、横梗霉属、毕赤酵母属和根毛霉属等作为“共有”真菌属,广泛存在于各地区大曲中。LEfSe 分析揭示了各地区显著富集的菌群,巴彦淖尔地区为嗜热真菌属与嗜热子囊菌属;临沂地区为毕赤酵母属和文氏壶菌属;周口地区为双足囊菌属和迈耶氏酵母属;潍坊地区为根霉属和曲霉属;鹰潭地区为横梗霉属和根毛霉属。菌属间相关性分析显示,河南周口、山东潍坊和山东临沂大曲中的真菌形成了复杂的互作网络,而江西鹰潭和内蒙古巴彦淖尔地区大曲真菌互作网络较简单。同时,文氏壶菌属和毛孢子菌属的显著正相关性以及毕赤酵母属和根毛霉属间的显著负相关性在多个地区保持一致,揭示了其功能关联具有跨地区稳定性。本研究深化了人们对我国不同地区中高温大曲真菌生态学的认识,证实了其群落组成的地区性特征,并揭示了其内在的互作关系规律。这些结果为各地区企业独特酒体风味的形成机制解析奠定了一定的微生物学基础。由于本研究为基于公共测序数据的回顾性分析,原始论文中缺乏配套的理化数据支撑,未来研究仍需结合细菌群落、宏基因组、代谢组及理化指标等多维数据,进一步揭示不同产区大曲微生态网络的组装规律及其驱动发酵品质形成的协同机制。

参考文献

- [1] 葛怀锐,赵赞,陈非凡,等.功能微生物组对浓香型白酒上层酒醅发酵微生物群落及挥发性风味物质的影响[J].微生物学通报,2026,53(1):402-419.
- [2] WANG Y, QUAN S, ZHAO Y, et al. The active synergetic microbiota with *Aspergillus* as the core dominates the metabolic network of ester synthesis in medium-high temperature Daqu [J]. Food Microbiology, 2023, 115: 104336.
- [3] XIAO C, YANG Y, LU Z M, et al. Daqu microbiota exhibits species-specific and periodic succession features in Chinese Baijiu fermentation process [J]. Food Microbiology, 2021, 98: 103766.
- [4] YI Z, JIN Y, XIAO Y, et al. Unraveling the contribution of high temperature stage to Jiang-flavor Daqu, a liquor starter for production of Chinese Jiang-flavor Baijiu, with special reference to metatranscriptomics [J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 472.
- [5] ZHANG P, LIU Y, LI H, et al. Strategies and challenges of microbiota regulation in Baijiu brewing [J]. Foods, 2024, 13(12): 1954.
- [6] 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.
- [7] DU H, WANG X, ZHANG Y, et al. Exploring the impacts of raw materials and environments on the microbiota in Chinese Daqu starter[J]. International Journal of Food Microbiology, 2019, 297: 32-40.
- [8] ZHU M, ZHENG J, XIE J, et al. Effects of environmental factors on the microbial community changes during medium-high temperature Daqu manufacturing [J]. Food Research International, 2022, 153: 110955.
- [9] 李娜,张海波,叶明波,等.河套地区中高温大曲真菌类群结构解析[J].中国酿造,2024,43(12):110-115.
- [10] 刘仕洋,王玉荣,李学思,等.临沂和周口地区中高温大曲真菌类群比较分析[J].中国酿造,2023,42(11):147-151.
- [11] WANG Y, LEI Y, HOU Q, et al. Elucidation of the fungal community composition and quality of medium-high temperature Daqu: A study based on second-generation sequencing and electronic sensor technologies [J]. Food and Bioprocess Technology, 2026, 157: 312-324.
- [12] 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.
- [13] BENJAMINI Y, YEKUTIELI D. The control of the false discovery rate in multiple testing under dependency [J]. Annals of Statistics, 2001,29(4): 1165-1188.

- [14] DRAY S, DUFOUR A B. The ade4 package: Implementing the duality diagram for ecologists [J]. *Journal of Statistical Software*, 2007, 22(4): 1-20.
- [15] DIXON P. Vegan, a package of R functions for community ecology [J]. *Journal of Vegetation Science*, 2003, 14(6): 927-930.
- [16] SEGATA N, IZARD J, WALDRON L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation [J]. *Genome Biology*, 2011, 12(6): R60.
- [17] GUAN T, WEI X, QIU X, et al. Precipitation and temperature drive microbial community changes affecting flavor quality of Nongxiangxing Daqu [J]. *Food Chemistry X*, 2024, 24: 102063.
- [18] ZHANG J, LIU Y X, ZHANG N, et al. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice [J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(6): 676-684.
- [19] YANG J G, DOU X, MA Y Y. Diversity and dynamic succession of microorganisms during Daqu preparation for Luzhou-flavour liquor using second-generation sequencing technology [J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2018, 124(4): 498-507.
- [20] MA S, LI Y, DONG Y, et al. Stochastic and deterministic processes shape microbial communities and flavor characteristics of strong-flavor Daqu during storage [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2025, 429: 111017.
- [21] LIU M K, TANG Y M, GUO X J, et al. Deep sequencing reveals high bacterial diversity and phylogenetic novelty in pit mud from Luzhou Laojiao cellars for Chinese strong-flavor Baijiu [J]. *Food Research International*, 2017, 102: 68-76.
- [22] SONG X, LI Z, SONG C, et al. Rare taxa as the microbial taxa more sensitive to environmental changes drive alterations of Daqu microbial community structure and function [J]. *Food Bioscience*, 2024, 59: 103983.
- [23] XIAO C, LU Z M, ZHANG X J, et al. Bio-heat is a key environmental driver shaping the microbial community of medium-temperature Daqu[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, 83(23): e01550-17.
- [24] ZHAO Y, HAN Y, CAO R, et al. Multiomics insights into microbiome succession throughout medium-temperature Daqu fermentation [J]. *ACS Food Science & Technology*, 2025, 5(3): 1193-1207.
- [25] CHEN Z P, CAO Q, MENG T T, et al. Yeast community in the first-round fermentation of sauce-flavor Baijiu: Source, succession and metabolic function [J]. *Food Research International*, 2025, 200: 115466.
- [26] WEI Y H, HAN D Y, SONG L, et al. Integrative analysis of fungal communities in three types of Baijiu Daqu using third-generation sequencing and culturomics [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2025, 16: 1748163.
- [27] WANG K, ZHANG D, SHEN K, et al. Multi-omics characterization of new and aged Daqu reveals region-specific microbial succession and metabolic signatures in Maotai-flavor liquor fermentation [J]. *Microbiology Spectrum*, 2026, 14(7): e03775-25.
- [28] ZHOU Y, LI Y, DONG Y, et al. Microbial community of Nongxiangxing Daqu during storage: Microbial succession, assembly mechanisms and metabolic functions [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2025, 105(7): 3665-3678.
- [29] CHEN X, WU Y, ZHU H, et al. Turning over fermented grains elevating heap temperature and driving microbial community succession during the heap fermentation of sauce-flavor Baijiu [J]. *LWT*, 2022, 172: 114173.
- [30] REN H, SUN Y, YANG Y, et al. Unraveling the correlations between microbial communities and metabolic profiles of strong-flavor Jinhui Daqu with different storage periods [J]. *Food Microbiology*, 2024, 121: 104497.
- [31] LI Q, XIAO W, WU P, et al. The first two mitochondrial genomes from *Apiotrichum* reveal mitochondrial evolution and different taxonomic assignment of *Trichosporonales* [J]. *IMA Fungus*, 2023, 14(1): 7.
- [32] ZHANG H, WANG L, TAN Y, et al. Effect of *Pichia* on shaping the fermentation microbial community of sauce-flavor Baijiu [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 336: 108898.
- [33] LU Y, ZHANG C, ZHAO H, et al. Effect of environmental microorganisms on fermentation microbial community of sauce-flavor Baijiu [J]. *Foods*, 2022, 12(1): 10.
- [34] 薄涛,吕娜,杨凯环,等.白酒大曲发酵过程中微生物群落及功能研究进展[J]. *食品科学*, 2023, 44(19): 385-393.