阿拉善地区白绒山羊奶及其乳制品中真菌多样性分析和功能基因比较

王　芳，白高娃，于靖和，朱　丽，张有谊，刘俐娟，乌云达来*

（内蒙古农业大学 食品科学与工程学院，内蒙古 呼和浩特　010018）

摘　要　内蒙古阿拉善白绒山羊奶及其乳制品是当地牧民重要的乳类供给来源，营养价值较高且具有保健功能，但目前关于其发挥益生作用的真菌多样性相关研究却鲜有报道。本研究采用 Illumina Miseq 测序技术对白绒山羊奶、乳制品毕希拉格和艾日嘎中真菌 ITS 基因序列进行测定，比较真菌群落结构和多样性。结果表明，白绒山羊奶和毕希拉格中真菌的 Shannon 指数显著高于艾日嘎（$P<0.05$），Simpson 指数显著低于艾日嘎（$P<0.05$），白绒山羊奶和毕希拉格中真菌的 Shannon 指数和 Simpson 指数无显著差异（$P>0.05$）。白绒山羊奶、毕希拉格及艾日嘎的 Ace 指数和 Chao 指数均无显著差异（$P>0.05$）。真菌 Beta 多样性分析显示，白绒山羊奶和毕希拉格的真菌群落组成具有高度相似性，但艾日嘎真菌群落结构与白绒山羊奶、毕希拉格存在差异性。白绒山羊奶、毕希拉格及艾日嘎的优势真菌门均为子囊菌门（Ascomycota）和担子菌门（Basidiomycota）；白绒山羊奶的优势真菌属为阿氏酵母属（*Apiotrichum*）、皮肤丝孢酵母属（*Cutaneotrichenkia*）、枝孢属（*Cladosporium*）、链格孢属（*Alternaria*）；毕希拉格的优势真菌属为阿氏酵母属、皮肤丝孢酵母属、线担酵母属（*Filobasidium*）；艾日嘎的优势真菌属为伊萨酵母属（*Issatchenkia*）、红酵母属（*Rhodotorula*）、哈萨克斯坦酵母属（*Kazachstania*）、毕赤酵母属（*Pichia*）。白绒山羊奶及其乳制品中真菌代谢相关酶的相对丰度较高的是 α-1，4-葡萄糖水解酶（glucan 1，4-alpha-glucosidase）、三磷酸腺苷酶（adenosine triphosphatase）、RNA 聚合酶（DNA-directed RNA polymerase）、外源性 α-唾液酸酶（exo-alpha-sialidase）及肽酰丙氨酰异构酶（peptidylprolyl isomerase）。FUNGuild 功能预测表明，腐生营养型是白绒山羊奶及其乳制品主要的真菌营养方式。本研究结果不仅阐明了内蒙古阿拉善白绒山羊奶及其乳制品中真菌多样性，而且为山羊奶及其乳制品中真菌的研究和安全性评价提供依据。

关键词　阿拉善；白绒山羊奶；乳制品；真菌；多样性；功能基因

中图分类号　Q938.1　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1005－7021(2026)02－0025－11

doi：10.3969/j.issn.1005－7021.2026.02.003

Analysis of Fungal Diversity and Comparison of Functional Genes in White Cashmere Goat Milk and Its Dairy Products in Alxa Region

WANG Fang, BAI Gao-wa, YU Jing-he, ZHU Li, ZHANG You-yi, LIU Li-juan, Wuyundalai*

(*College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot* 010018)

Abstract　Inner Mongolia Alxa white cashmere goat milk and its dairy products with rich nutritional value and outstanding health care functions, serve as a vital source of dairy for local herders, but few studies related to the diversity of fungi that play a probiotic role have been reported. Therefore, in this study, Illumina-Miseq sequencing technology

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：王芳　女，硕士。研究方向为食品微生物。E-mail：1311979971@qq.com

* 通讯作者。男，教授，博士，博士生导师。研究方向为食品微生物及其生物技术。E-mail：wydl@imau.edu.cn

收稿日期：2025-05-20

中国知网　https://www.cnki.net

was used to determine the fungal ITS gene sequences in white cashmere goat milk, bishylag and airiga, and the comparison of fungal community structure and diversity were conducted. The results showed that the Shannon index of fungi in white cashmere goat milk and bishylag was significantly higher than that in airiga ($P<0.05$), while the Simpson index was significantly lower ($P<0.05$). However, there was no significant difference ($P>0.05$) between the Shannon and Simpson indices of the fungi in white cashmere goat milk and bishylag. Additionally, no significant differences were found in the Ace and Chao indices among white cashmere goat milk, bishylag and airiga ($P>0.05$). Beta diversity analysis revealed a high similarity in fungal community composition between white cashmere goat milk and bishylag, whereas the fungal community structure of airiga was distinct from that of white cashmere goat milk and bishylag. The dominant fungal phyla in white cashmere goat milk, bishylag and airiga were Ascomycota and Basidiomycota. At the genus level, the dominant fungi were *Apiotrichum*, *Cutaneotrichosporon*, *Cladosporium* and *Alternaria* in white cashmere goat milk; *Apiotrichum*, *Cutaneotrichosporon* and *Filobasidium* in bishylag; and *Issatchenkia*, *Rhodotorula*, *Kazachstania* and *Pichia* in airiga. The relative abundance of fungal metabolism-relatde enzymes in white cashmere goat milk and its dairy products was higher for glucan 1,4-alpha-glucosidase, adenosine triphosphatase, DNA-directed RNA polymerase, exo-alpha-sialidase, and peptidylprolyl isomerase. FUNGuild functional prediction indicated that saprotrophic fungi were the main nutritional mode in white cashmere goat milk and its dairy products. These findings not only establish a comprehensive understanding of fungal diversity in white cashmere goat milk and its dairy products in Alxa, Inner Mongolia, but also provide a basis for the study and safety evaluation of fungi in white cashmere goat milk and its dairy products.

Keywords Alxa; white cashmere goat milk; dairy products; fungi; diversity; functional genes

山羊奶可以直接作为鲜奶售卖,也是加工各种乳制品的优良原料,其营养丰富、风味独特,越来越受到人们的喜爱[1-3]。阿拉善地区白绒山羊奶含有人体所需要的乳蛋白、脂肪、乳糖等,以其为原料制成的奶制品主要有毕希拉格、艾日嘎等。其中,毕希拉格的制作过程包括过滤除杂、自然发酵、去除上浮脂肪、加热凝乳、排出乳清、高温搅拌、模具定型和风干等步骤[4-5]。艾日嘎是一种酒精含量较低的乳饮料,通常由新鲜马奶或羊奶自然发酵而成[6]。微生物在传统乳制品的发酵过程中发挥着至关重要的作用[7]。山羊奶及其乳制品中的微生物种类多、结构复杂,这些微生物在生长代谢过程中相互作用,赋予了山羊奶及其乳制品独特的风味和营养价值。目前关于真菌对传统乳制品的影响研究尚少,有必要对传统乳制品中真菌的多样性进行深入分析。同时,研究真菌的功能基因可以为开发新型乳制品保鲜技术提供参考。近年来,乳制品中真菌的研究主要集中在腐败真菌的多样性及其对食品安全的影响方面,而对真菌在乳制品发酵中的积极作用关注较少[8]。例如,巴西乳制品中青霉菌属(*Penicillium*)和枝孢菌属(*Cladosporium*)可能会造成乳制品污染,该结果可支持制定控制食品变质的保护策略[9];Garnier 等[10]研究发现酵母菌和霉菌是导致乳制品变质的主要原因,并调查分析了乳制品中腐败真菌的多样性,其中普通青霉(*Penicillium commune*)和比阿娄维扎青霉(*Penicillium bialowiezense*)是最常见的丝状真菌,季也蒙迈耶氏酵母(*Meyerozyma guilliermondii*)和阿萨希丝孢酵母(*Trichosporon asahii*)是最常见的酵母菌等。这些研究倾向可能源于食品安全监管的需求,但也可能导致对真菌潜在功能价值的低估,忽视了真菌在促进发酵、风味调控和功能成分合成等方面的潜力[11-13]。乳制品中真菌的分离和鉴定结果表明,乳制品中常见的真菌主要包括青霉菌、曲霉菌、酵母菌等[14]。这些真菌在乳制品中的分布和数量受到原料来源、加工工艺、储存条件等多种因素的影响。且不同地区和不同种类的乳制品中真菌的多样性也存在差异,例如在西藏地区由于特殊的地理环境和传统制作工艺,曲拉中的真菌多样性与其他地区存在显著差异[15-16]。据研究报道,真菌中的一些基因与抗逆性、代谢途径、毒素合成等有关[17-18]。通过对这些功能基因的研究对深入了解真菌的生物学特性和开发新型的乳制品保鲜技术具有重要意义。然而,目前对于乳制品中真菌功能基因的研究有限,需要进一步深入探索。本研究采用 Il-

中国知网 https://www.cnki.net

lumina Miseq 测序技术对阿拉善地区白绒山羊奶、毕希拉格及艾日嘎中真菌 ITS 基因序列进行测序,通过分析比较真菌的群落结构和多样性,进一步对真菌基因功能进行预测,为白绒山羊奶及其乳制品中真菌的研究与开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样本的收集 白绒山羊奶及其乳制品(毕希拉格、艾日嘎)样本共 12 份,于 2021 年 9 月采集自内蒙古阿拉善右旗 3 个苏木、2 个镇的牧民家庭(表 1)。毕希拉格是一种类似奶酪的传统乳制品,其制作流程为将鲜羊奶倒入铁锅煮沸后,加入少量酸奶使其凝固并分离乳清,直至奶液变浓稠,装入白布口袋挂起晾晒成型即可。艾日嘎是蒙古语中对一种发酵奶的称呼,是通过将鲜羊奶放入木桶中,多次搅拌发酵制成的含酒精饮料。乳制品在牧民家庭中自然发酵而制成,其制作过程均未使用任何食品添加剂和商业发酵剂。所采集的样本均储存在 50 mL 无菌离心管中,于车载冰箱低温(1 ~ 4 ℃)保存,随后转运至实验室,并于 -80 ℃保存备用。

表 1 样本收集信息

Table 1 Specific locations where samples were collected

样本	样本编号	收集地点
艾日嘎	AY_26	雅布赖镇
	AY_27	雅布赖镇
	AY_30	阿拉腾朝克苏木
毕希拉格	AY_20	曼德拉苏木
	AY_31	阿拉腾朝克苏木
	AY_37	巴彦高勒苏木苏布日格嘎查
白绒山羊奶	AY_08	阿拉腾敖包镇
	AY_24	曼德拉苏木
	AY_25	雅布赖镇
	AY_29	巴音笋布日嘎查
	AY_32	阿拉腾朝克苏木
	AY_39	巴彦高勒苏木苏布日格嘎查

1.1.2 主要试剂与仪器设备 E. Z. N. A.® soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U. S.);DNA 纯化回收试剂盒(北京天根生化科技有限公司);琼脂糖(上海生工生物工程股份有限公司);5 × TransStart FastPfu 缓冲液(上海生工生物工程股份有限公司);2.5 mmol/L dNTPs(上海生工生物工程股份有限公司);TransStart FastPfu DNA 聚合酶(上海生工生物工程股份有限公司);核酸染料(上海生工生物工程股份有限公司);DNA Marker(北京宝日医生物技术有限公司)。超净工作台(ZHJH-1115B,上海智城分析仪器制造有限公司);电泳槽与电泳仪(BIO-RAD,美国伯乐);超低温冰箱(DW-86L578J,青岛海尔生物医疗股份有限公司);离心机(TG16-WS,湖南湘仪);PCR 扩增仪(Veriti 96-Well,ABI 公司);超微量分光光度计(Thermo NanoDrop 2000,美国 Thermo Science)。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取和 PCR 扩增 按照 E. Z. N. A.® soil DNA kit 说明书从白绒山羊奶及其乳制品样品中抽提微生物群落总 DNA;使用引物 ITS1F(5′-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3′)和 ITS2R(5′-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3′)对真菌的 ITS 基因序列进行 PCR 扩增。PCR 反应体系:DNA 模板 10 ng,上下游引物各 0.8 μL,5 × TransStart FastPfu 缓冲液 4 μL,2.5 mmol/L dNTPs 2 μL,TransStart FastPfu DNA 聚合酶 0.4 μL,用 ddH_2O 补足至 20 μL。PCR 扩增程序:预变性 95 ℃,3 min;变性 95 ℃,30 s;退火 55 ℃,30 s;延伸 72 ℃,45 s;30 个循环,延伸 10 min,4 ℃结束。每个样本 3 个重复。PCR 产物利用 1% 琼脂糖凝胶电泳验证,并使用通用型 DNA 纯化回收试剂盒纯化,使用超微量分光光度计测定基因浓度和纯度[19]。

1.2.2 Illumina MiSeq 测序 将纯化的扩增子以等摩尔量汇集,并按照 Majorbio Bio-Pharm Technology Co. Ltd.(中国上海)的标准协议于 Illumina MiSeq PE300 平台(Illumina,San Diego,USA)进行双端测序。

1.2.3 测序数据处理 采用 fastp 0.20.0(https://github.com/OpenGene/fastp)对原始白绒山羊奶及其乳制品样本的真菌 ITS 基因序列实施质控,运用 FLASH1.2.11(http://www.cbcb.umd.edu/software/flash)进行拼接操作。利用 UPARSE 7.1(http://drive5.com/uparse/)依据 97% 的相似度进行 OTU 聚类,并去除嵌合体。借助 RDP classifier2.2(http://rdp.cme.msu.edu/)针对每条序列进行物种分类注释,比对

中国知网 https://www.cnki.net

ITS 数据库(138 版本),设定比对阈值为 70%[20]。

1.2.4 生物信息学和统计分析 利用 Mothur1.30.2 软件计算样本序列,经抽平至最小序列数列后,于 OTU 水平计算 Good's coverage 等 Alpha 多样性指数,并绘制稀释性曲线与香农指数曲线。借助 Qiime 2021.4 软件计算 Beta 多样性距离矩阵,绘制样本层级聚类图和 PCoA 图[20]。基于真菌 ITS 基因序列,使用 PICRUSt2 和 FUNGuild 对白绒山羊奶及其乳制品中的真菌运用 R 语言工具(3.3.1 版本)进行基因功能预测分析,确定真菌所涉及的 KEGG 代谢通路以及 FUNGuild 功能分类[19]。通过 Majorbio I-Sanger 云平台进行生物信息学分析。采用 Kruskal-Wallis 秩和检验进行组间统计分析,$P<0.05$ 被认为具有显著性差异。使用 Origin 2020b 进行相关绘图。

2 结果与分析

2.1 真菌 ITS 基因序列特点

内蒙古阿拉善地区的白绒山羊奶、毕希拉格及艾日嘎样本经基因序列测序和质控获得 859 924条真菌 ITS 基因序列,平均每个样本产生高质量真菌 ITS 基因序列 71 660 条(SD = 1 551)。真菌 ITS 基因序列的平均长度为 428 bp。由表 2 可知,所有高质量的真菌 ITS 基因序列按 97% 的相似度进行 OTU 分类,每个样本中真菌 OTU 的数量为 19 ~ 87 个。所有样本的测序深度均大于 0.99,说明样本测序结果可以反映样品的真实情况。由图 1 各样本真菌序列的稀释性曲线和香农指数曲线分析可知,各样本曲线均趋于平缓,表示测序深度饱和。测序数据量合理,样本中真菌较为丰富,因此本研究中真菌 ITS 基因序列的测序量可满足后续生物信息学分析的要求。

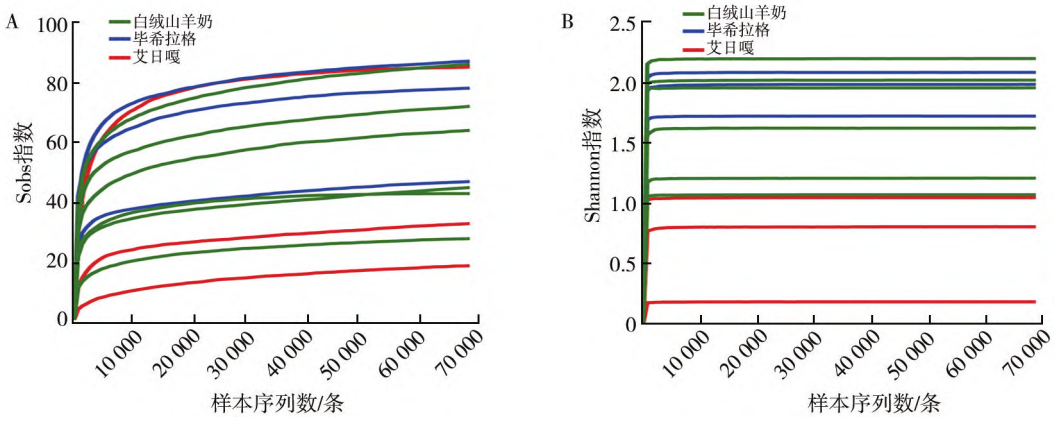


图 1 OTU 水平真菌的稀释性曲线(A)和香农指数曲线(B)

Fig. 1 Dilution curves (A) and Shannon index curves (B) for fungi based on OTU levels

表 2 真菌 ITS 基因序列数信息

Table 2 Sequence information of fungal ITS genes in samples

样本编号	序列数/条	OTUs/个	Good's coverage
AY_32	72 666	64	0.999 9
AY_25	71 365	47	0.999 9
AY_26	70 431	85	1.000 0
AY_31	73 439	87	0.999 9
AY_39	70 196	45	0.999 9
AY_30	70 199	33	0.999 9
AY_20	74 225	28	0.999 9
AY_24	71 112	86	0.999 9
AY_37	73 460	78	0.999 9
AY_08	72 461	72	0.999 9
AY_29	70 048	43	1.000 0
AY_27	70 322	19	0.999 9

2.2 真菌 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性是指一个特定地区或生态系统内的物种多样性[21-22]。阿拉善地区白绒山羊奶及其乳制品真菌的 Alpha 多样性分析结果见图 2。由图 2A、2B 可知,毕希拉格的物种多样性最高,其次是白绒山羊奶,而艾日嘎的物种多样性最低。白绒山羊奶和毕希拉格中真菌的 Shannon 指数显著高于艾日嘎($P=0.037\ 3$),而 Simpson 指数显著低于艾日嘎($P=0.062\ 3$)。白绒山羊奶和毕希拉格中真菌的 Shannon 指数和 Simpson 指数均无显著差异($P>0.05$)。由图 2C、2D 可知,毕希拉格的物种丰富度最高,白绒山羊奶次

中国知网 https://www.cnki.net

之,艾日嘎的物种丰富度最低。白绒山羊奶、毕希拉格及艾日嘎的真菌 Ace 指数和 Chao 指数均无显著差异($P=0.725\ 8$、$P=0.478\ 0$)。虽然白绒山羊奶及其乳制品的真菌物种种类数目不存在显著差异,但艾日嘎的物种均匀度较低,导致艾日嘎物种多样性指数与白绒山羊奶和毕希拉格存在显著性差异。在制作艾日嘎的过程中,随着二氧化碳浓度增加、酸度提高及酒精产生[23],可能致使一些真菌生长繁殖能力降低,从而导致其物种多样性下降。

2.3 真菌 Beta 多样性分析

基于 Brary Curtis 距离算法绘制样本层级聚类图(图 3A)和 PCoA 图(图 3B),进而比较白绒山羊奶、毕希拉格及艾日嘎样本中真菌群落组成的相似性和差异性。由图 3A 可知,白绒山羊奶与毕希拉格聚类在一起,即白绒山羊奶和毕希拉格的真菌菌群结构具有高度相似性。艾日嘎的真菌群落结构较为分散,与白绒山羊奶和毕希拉格的真菌群落结构存在差异性。由图 3B 可知,样本之间的距离越近,表示样本微生物群落组成的相似性越高[21,24],毕希拉格的样品重叠于白绒山羊奶样品的内部区域,表明白绒山羊奶和毕希拉格的真菌群落组成具有高度相似性;白绒山羊奶样品的区域与艾日嘎样品的区域相交,但相交面积较小,表明白绒山羊奶和艾日嘎的真菌群落组成具有差异性;毕希拉格样品的区域与艾日嘎样品的区域没有交集,表明毕希拉格和艾日嘎的真菌群落组成具有差异性。推测可能是由于艾日嘎的制作工艺和发酵方式影响其真菌群落组成。

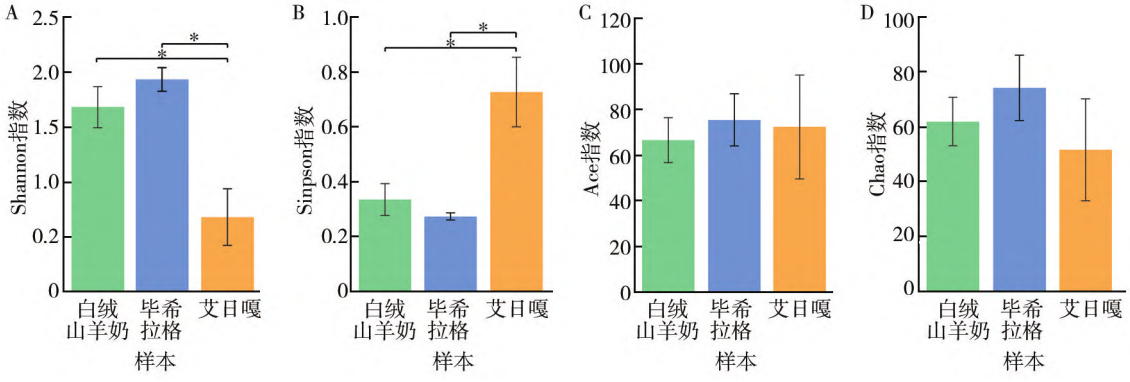


图 2 基于 OTU 水平真菌 Alpha 多样性及组间差异分析

Fig. 2 Analysis of fungal Alpha diversity and intergroup differences for fungi based on OTU levels

*:$P<0.05$

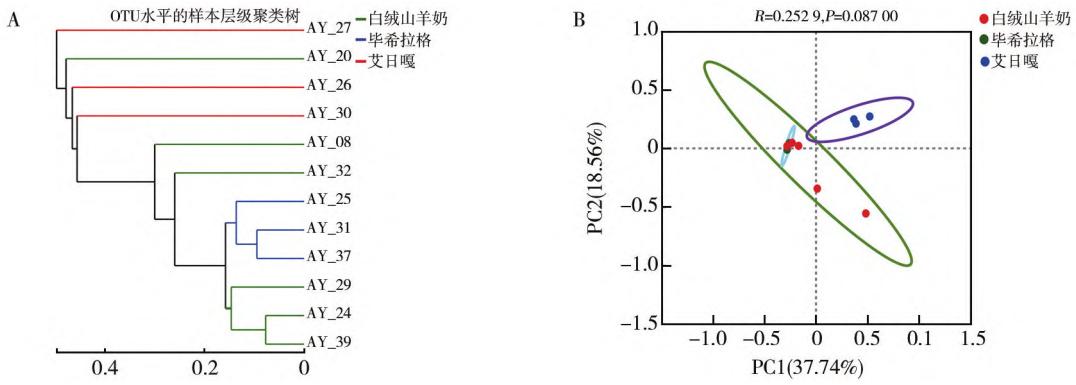


图 3 基于 Brary Curtis 距离算法的真菌 Beta 多样性分析

Fig. 3 Beta diversity analysis of fungi based on the brary_curtis distance algorithm

A:真菌样本层级聚类图;B:真菌 PCoA 图

A: Hierarchical clustering plot of fungal samples; B: PCoA plot of fungi

中国知网 https://www.cnki.net

2.4 真菌的物种 Venn 图

Venn 图能够直观展示不同样品间共有和独有的 OTUs 数，也可以直观反映不同样品中的 OTUs 数的差异性[25]。由图 4 可知，在 OTU 水平上，白绒山羊奶、毕希拉格、艾日嘎样本中真菌物种数量分别为 171、130、109 种，其中白绒山羊奶的真菌物种组成最多，其次为毕希拉格；白绒山羊奶、毕希拉格、艾日嘎中特有物种数量分别为 93、59、56 种，共有物种 38 种，占总物种数的 13%。研究结果表明，阿拉善地区白绒山羊奶及其乳制品 OTU 水平真菌群落结构组成具有一定的差异。与白绒山羊奶比较，通过传统工艺制作的乳制品的真菌物种数量减少，毕希拉格与艾日嘎的真菌 OTUs 数量小于白绒山羊奶，而毕希拉格与艾日嘎的真菌独有 OTUs 数量相似。由此推测，毕希拉格与艾日嘎均以白绒山羊奶为原料通过发酵制作而成，随着发酵过程中氧气的减少和酸度的提高，其真菌的生长繁殖受到抑制[24]，还可能是发酵过程中优势菌种竞争、酸性环境抑制以及储存环境的温度、通风等多种因素共同作用的结果。了解这些原因有助于更好地控制毕希拉格和艾日嘎的制作过程，提高产品质量和安全性。

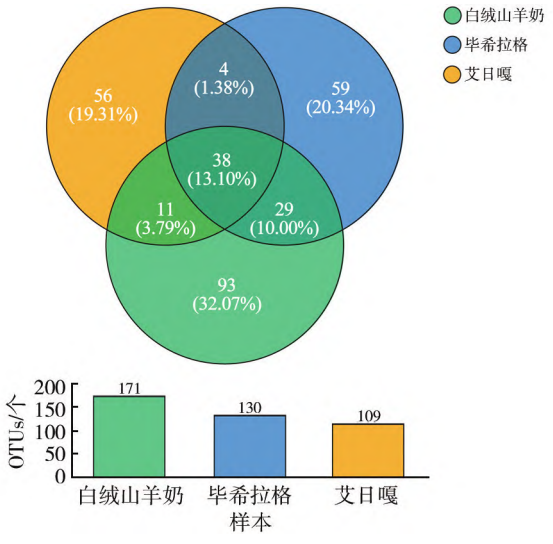


图 4 基于 OTU 水平白绒山羊奶、毕希拉格及艾日嘎中真菌物种 Venn 图

Fig. 4 Venn diagram of fungal species based on OTU level for white cashmere goat milk, bishylag and airiga

2.5 真菌群落组成分析

在门分类水平上，阿拉善地区白绒山羊奶及其乳制品真菌群落结构组成见图 5A。从阿拉善地区白绒山羊奶、毕希拉格及艾日嘎的样本中共鉴定得到 7 个菌门，其中优势真菌门为子囊菌门(Ascomycota)(相对丰度分别为36.60%、18.79%、66.14%)和担子菌门(Basidiomycota)(相对丰度分别为 63.37%、80.80%、33.67%)，其余真菌门相对丰度小于 1.0% 被列入到 Other。该结果与张文齐等[26]对甘南牧区牦牛酸奶真菌多样性研究结果较为一致。在奶制品中，子囊菌门和担子菌门真菌具有多种作用，它们会参与发酵过程，影响奶制品的风味、质地和营养价值。

在属分类水平上，阿拉善地区白绒山羊奶及其乳制品真菌群落结构组成见图 5B。在白绒山羊奶、毕希拉格和艾日嘎样本中共鉴定出 149 个真菌属，其中白绒山羊奶的优势真菌属为阿氏酵母属(*Apiotrichum*，相对丰度 39.06%)、皮肤丝孢酵母属(*Cutaneotrichenkia*，15.46%)、枝孢菌属(*Cladosporium*、14.32%)和链格孢属(*Alternaria*、8.26%)；毕希拉格的优势真菌属为阿氏酵母属(44.77%)、皮肤丝孢酵母属(30.33%)和线担酵母属(*Filobasidium*，4.76%)；艾日嘎的优势真菌属为伊萨酵母属(*Issatchenkia*，32.45%)、红酵母属(*Rhodotorula*，28.96%)、哈萨克斯坦酵母属(*Kazachstania*，22.29%)和毕赤酵母属(*Pichia*，7.98%)。以上研究结果表明，艾日嘎的优势真菌属与白绒山羊奶和毕希拉格的优势真菌属相比存在明显差异，而白绒山羊奶和毕希拉格的优势真菌属具有一定的相似性，这与 PCoA 图的结果较为一致。艾日嘎中优势真菌属为伊萨酵母属，可能通过代谢艾日嘎中的糖类等物质，产生 CO_2、醇类、有机酸等代谢产物，这些代谢产物可以改变奶制品的口感、香气和酸度。该真菌属可能对环境压力具有更高的耐受性，能够在较为不利的条件下进行发酵，从而提高了奶制品生产的环境适应性[27]。哈萨克斯坦酵母属在奶制品的发酵中具有一定的乙醇生产能力，能够调节与乳酸菌共培养时香气的产生[28]。艾日嘎在发酵过程中会产生酒精，可能与哈萨克斯坦酵母属有关。阿氏酵母属在奶制品中具有产生风味物质、改善质地、产生抗菌物质来抑制腐败菌的生长和延长保质期等作用[29]。毕希拉格的优势真菌属皮肤丝孢酵母属可能在特定条件下参与奶制品的发酵过程，产生的一些代谢产物影响奶制品的口感和风

中国知网 https://www.cnki.net

味[30];线担酵母属可能会产生一些酶类物质,如淀粉酶、蛋白酶等,这些酶可能会对奶制品中的蛋白质、碳水化合物等成分进行分解和转化,还可能会产生一些独特的代谢产物,从而影响奶制品的风味和品质[31]。本研究发现艾日嘎中的阿氏酵母属、皮肤丝孢酵母属等的相对丰度下降,可能是由于在艾日嘎的发酵过程中温度和湿度发生了变化,而对温、湿度变化敏感的阿氏酵母属和皮肤丝孢酵母属的生长受到抑制[32],从而导致其相对丰度下降。

通过优势真菌属的组间差异显著性检验(Kruskal-Wallis 秩和检验)分析可知,在属水平上皮丝孢酵母属(*Cutaneotrichosporon*)、枝孢菌属和曲霉属的相对丰度存在显著差异($P<0.05$)。毕希拉格中,皮丝孢酵母属的相对丰度显著高于白绒山羊奶和艾日嘎($P<0.05$),艾日嘎中未见枝孢菌属和曲霉属,本研究为针对性筛选白绒山羊奶及其乳制品中特定功能的真菌提供了研究方向。总之,在毕希拉格和艾日嘎发酵过程中,原料乳中一些适应其发酵环境、能够利用原料乳中的营养物质进行生长和代谢的微生物会逐渐占据优势地位[33]。由于毕希拉格采用传统发酵方式(不添加发酵剂),原料乳的微生物物种组成对传统发酵毕希拉格的微生物物种组成有着重要影响。而艾日嘎在传统发酵过程中,需要添加已经完成发酵的艾日嘎从而导致其优势菌属的改变。由于艾日嘎酸度较高且含有酒精,因此其属水平真菌物种组成与白绒山羊奶及毕希拉格存在显著差异,该结果侧面验证了 PCoA 图(图 3B)的结果。

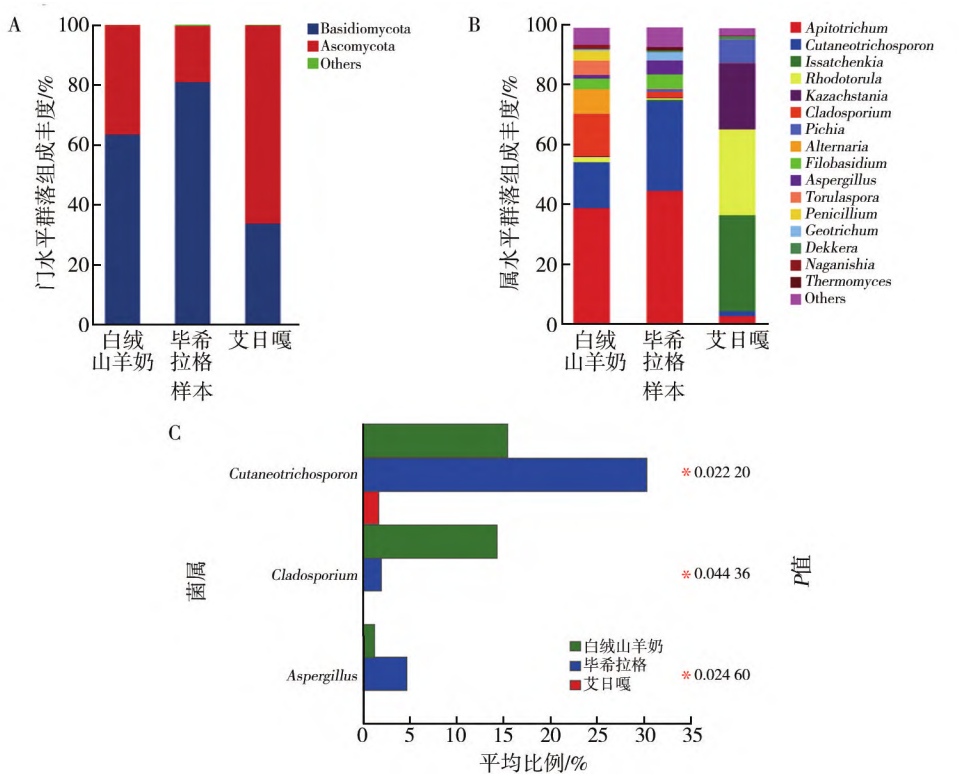


图 5 真菌群落组成及差异性分析

Fig. 5 Fungal community composition and differential analysis

A:门水平真菌群落组成相对丰度;B:属水平真菌群落组成相对丰度;C:属水平物种差异性分析;*:$P<0.05$

A:Relative abundance of fungal community composition at the phylum level; B:Relative abundance of fungal community composition at the genus level; C:Species dissimilarity analysis at the genus level; * represents $P<0.05$

2.6 真菌代谢基因功能预测

2.6.1 酶相关基因功能和相对丰度热图 如图 6 所示,白绒山羊奶、毕希拉格及艾日嘎样本中真菌的各种代谢相关通路基于 KEGG 数据库水平相对丰度前 5 的酶主要为 α-1,4-葡萄糖水解酶(glucan1,4-alpha-glucosidase)、三磷酸腺苷酶

中国知网 https://www.cnki.net

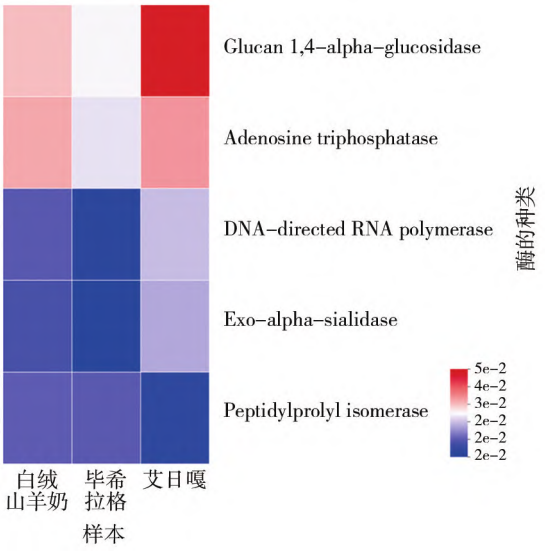


图 6 酶基因功能预测和相对丰度热图

Fig. 6 Heatmap of enzyme-related gene function prediction and relative abundance

(Ade-nosine triphosphatase)、RNA 聚合酶(DNA-directed RNA polymerase)、外源性 α-唾液酸酶(exo-alpha-sialidase)和肽酰丙氨酰异构酶(peptidylprolyl isomerase)。其中,α-1,4-葡萄糖水解酶相对丰度最高,说明其相关基因在阿拉善地区白绒山羊奶及其乳制品真菌的代谢功能中起着重要作用。艾日嘎的真菌代谢相关酶基因相对丰度高于白绒山羊奶和毕希拉格,并且白绒山羊奶和毕希拉格的 RNA 聚合酶和外源性 α-唾液酸酶的相关基因相对丰度相似。因此白绒山羊奶及其乳制品中真菌代谢相关酶的基因功能和相对丰度存在一定差异,可能导致白绒山羊奶及其乳制品最终的风味和质地不同。α-1,4-葡萄糖水解酶在山羊奶及其乳制品中可能通过参与真菌的特殊代谢、在进化过程中经历水平基因转移以及与葡萄糖代谢和胰岛素分泌的信号转导、糖原和细胞壁的形成等[34],影响真菌的代谢功能。艾日嘎中 α-1,4-葡萄糖水解酶的相对丰度最高,可能是艾日嘎中真菌利用该酶参与分解葡萄糖等有机物产生酒精。三磷酸腺苷酶主要参与乳酸菌的生长和代谢以及奶制品的风味形成等过程。真菌代谢相关酶的基因功能差异可能与不同种类奶制品的生产工艺、营养成分和微生物群落等因素有关。了解这些基因功能对白绒山羊奶及其乳制品品质的影响以及提高山羊奶产品的质量和生产效益具有重要意义。

2.6.2 *真菌群落 FUNGuild 功能预测* 不同样本的真菌群落 FUNGuild 功能预测见图 7。白绒山羊奶及其乳制品中的真菌根据营养方式主要分为病理营养型、腐生营养型及共生营养型。其中,白绒山羊奶中真菌的主要营养方式为腐生营养型和病理营养型,包括土壤腐生、未定义腐生、动物病原及动物病原-内生-寄生-植物病原-木质腐生等功能类群[35];毕希拉格中真菌的主要营养方式为腐生营养型和病理营养型,包括土壤腐生、未定义腐生及动物病原等功能类群;艾日嘎中真菌的主要营养方式为腐生营养型和共生营养型,包括未定义腐生、动物共生-动物病原-内生-植物病原-未定义腐生及动物共生-未定义腐生等功能类群。由此可知,白绒山羊奶和毕希拉格的营养方式和功能类群较为相似,而艾日嘎的营养方式和功能类群与前两者有一定差异。真菌的不同营养方式对白绒山羊奶及其制品的作用不同。腐生真菌的代谢产物可能会影响发酵过程中微生物群落,还

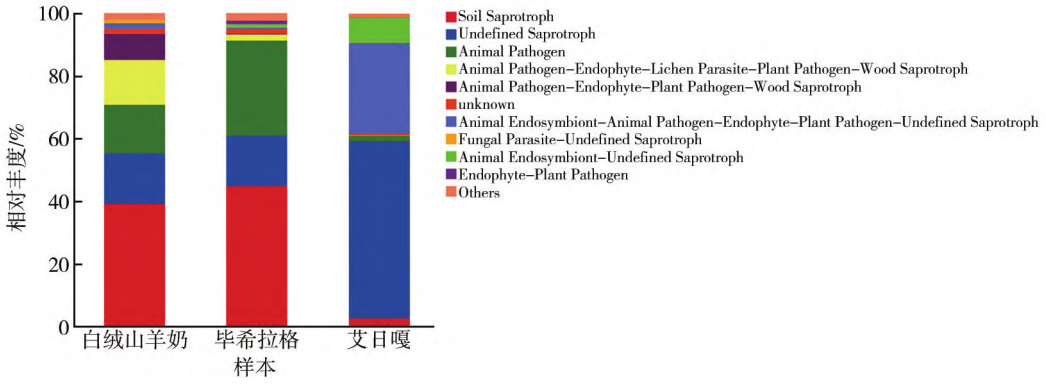


图 7 真菌群落 FUNGuild 功能预测

Fig. 7 Function prediction for fungal community by FUNGuild

中国知网 https://www.cnki.net

可能通过抗氧化、抗菌等作用来提高产品的营养价值和保健功能[36]。如果山羊的饲料被病理营养型真菌污染,这些真菌可能会在山羊体内生长繁殖,进而影响山羊奶的质量[37]。病理营养型真菌在艾日嘎中相对丰度低可能是在制作艾日嘎过程中产生的酒精抑制了该型真菌的生长繁殖。在发酵乳制品的制作过程中,一些与乳酸菌共生的真菌共同参与发酵过程,从而影响乳制品的风味和质量[38]。本研究结果为山羊奶及其乳制品中益生菌的研究和安全性评价提供了参考。

3 讨 论

内蒙古阿拉善白绒山羊奶及其乳制品中真菌多样性和丰富度存在显著差异($P<0.05$),且通过传统工艺制作乳制品过程中白绒山羊奶的真菌群落组成发生变化。由 Alpha 多样性可知毕希拉格的物种多样性和丰富度最高,其次是白绒山羊奶,艾日嘎的最低。由真菌的 Beta 多样性分析显示,白绒山羊奶和毕希拉格的真菌群落组成具有高度相似性,但艾日嘎真菌群落结构与白绒山羊奶、毕希拉格相比存在差异性。Venn 图显示与白绒山羊奶比较,通过传统工艺制作的乳制品的真菌物种数量减少,毕希拉格和艾日嘎的真菌 OTUs 数量小于白绒山羊奶,而毕希拉格和艾日嘎的真菌独有 OTUs 数量相似。苗伟刚[39]也发现在鲜马奶发酵为酸马奶的过程中,真菌物种数量呈减少趋势。

白绒山羊奶和乳制品的优势真菌门相同,均为子囊菌门和担子菌门。乳制品相较于白绒山羊奶优势真菌属的相对丰度发生改变,其中白绒山羊奶的优势菌属为阿氏酵母属、皮肤丝孢酵母属、枝孢菌属、链格孢属;毕希拉格的优势菌属为阿氏酵母属、皮肤丝孢酵母属、线担酵母属;艾日嘎的优势菌属为伊萨酵母属、红酵母属、哈萨克斯坦酵母属、毕赤酵母属。据研究报道,不同地区和不同类型的乳制品真菌多样性存在明显差异,例如甘南牧区牦牛曲拉的优势真菌门为子囊菌门,优势真菌属为毕赤酵母属和双足囊菌属(*Dipodascus*)[40];高茜[41]发现锡林郭勒传统酸马奶的优势真菌属为德克酵母属(*Dekkera*),这与内蒙古阿拉善地区白绒山羊奶及其乳制品中的优势真菌门和菌属具有一定的差异性。了解这些差异性有助于更好地认识少数民族地区白绒山羊奶和乳制品中微生物多样性,以便更好地开发利用这些宝贵的微生物资源,从而服务于食品行业的发展。

白绒山羊奶及其乳制品的真菌代谢相关酶的基因相对丰度较高的是 α-1,4-葡萄糖水解酶、三磷酸腺苷酶、RNA 聚合酶、外源性 α-唾液酸酶和肽酰丙氨酰异构酶。白绒山羊奶及其乳制品真菌代谢相关酶的基因功能和相对丰度存在差异,证明这些主要酶的基因功能在传统乳制品的功能中发挥着重要作用[20]。FUNGuild 功能预测表明在白绒山羊奶、毕希拉格及艾日嘎中,腐生营养型是主要的真菌营养方式。白绒山羊奶和毕希拉格的营养方式和功能类群较为相似,而艾日嘎的营养方式和功能类群与前二者具有一定差异。据研究报道,真菌和细菌共存于不同的环境中,它们的共同存在和相互作用影响生态系统的功能,在食物的生态系统中,它们负责酸化、风味产生、乙醇和 CO_2 产生等不同的过程[42-44]。因此,分析白绒山羊奶及其乳制品中的真菌多样性具有多方面的意义,首先在保障食品安全方面,可以预防真菌污染和监控变质的风险;在提升白绒山羊奶及其乳制品的品质方面,可以优化风味的形成和改善质地特性;在促进产业健康发展方面,可以反映山羊饲养环境的生态状况,还可以在一定程度上探究对人体健康的影响。本研究结果也可以验证真菌多样性对特色乳制品开发的指导意义,例如提供风味来源、控制奶产品质量、促进相关产品的开发等。虽然有些真菌是无害的,但某些真菌会对乳制品造成污染,它们的生长会导致乳制品出现可见或不可见的缺陷,如产生异味和异色。例如链格孢属在适宜的温、湿度条件下会在食品表面生长繁殖,分解食品中的营养成分,导致食品出现霉变、异味等变质现象,缩短食品的保质期[45]。另外,部分真菌可能存在致病性,未来可以通过进一步深入分析,为乳制品的安全性研究提供新的方向和思路,推动民族地区传统乳制品中真菌的系统研究。但目前关于真菌对传统乳制品的影响研究尚少,因此本研究通过揭示阿拉善地区白绒山羊奶及其乳制品中真菌多样性和功能基因的差异性,为白绒山羊奶及其乳制品中真菌的相关研究提供参考。

中国知网 https://www.cnki.net

参考文献：

[1] Dolatowska-Z Ebrowska K, Ostrowskaligeza E, Wirkowska-Wojdyla M, et al. Characterization of thermal properties of goat milk fat and goat milk chocolate by using DSC, PDSC and TGA methods[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2019, 138(4): 2769-2779.

[2] Balthazar CF, Pimentel TC, Ferrao LL, et al. Sheep milk: Physicochemical characteristics and relevance for functional food development[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2017, 16(2): 247-262.

[3] 吴小松. 羊奶的功能特性及其掺假鉴别方法研究进展[J]. 中国乳品工业, 2022, 50(2): 38-42.

[4] 贾志斌, 乔向宇, 王彩云, 等. 古奶酪风味物质分析及其风味强度评价模型建立[J]. 乳业科学与技术, 2024, 47(2): 9-14.

[5] 肖芳. 内蒙古锡盟地区传统手工奶豆腐的加工工艺及其营养分析[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(8): 28-29.

[6] Oyun TB, Erdenetsetseg B, Shinoda M, et al. Who is making airag (Fermented mare's milk)? A nationwide survey of traditional food in Mongolia[J]. Nomadic Peoples, 2015, 19(1): 7-10.

[7] 夏傲喃, 李建华, 林祥娜, 等. 发酵食品微生物多样性分析方法研究进展[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(4): 220-224.

[8] Buehler AJ, Evanowski RL, Martin NH, et al. Internal transcribed spacer (ITS) sequencing reveals considerable fungal diversity in dairy products[J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(11): 8814-8825.

[9] Virginia SL, Silva RRD, Andressa F, et al. Diversity of filamentous fungi associated with dairy processing environments and spoiled products in brazil[J]. Foods, 2022, 12(1): 153.

[10] Garnier L, Valence F, Pawtowski A, et al. Diversity of spoilage fungi associated with various French dairy products[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 241: 191-197.

[11] 崔玉琦, 王雅炜, 武瑞霞, 等. 酵母菌在发酵乳制品中的应用研究[J]. 食品科技, 2014, 39(10): 53-56.

[12] Agyei D, Owusu-Kwarteng J, Akabanda F, et al. Indigenous African fermented dairy products: Processing technology, microbiology and health benefits[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(6): 991-1006.

[13] Mcauliffe O, Kilcawley K, Stefanovic E. Symposium review: Genomic investigations of flavor formation by dairy microbiota[J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102(1): 909-922.

[14] 宋继宏, 王记成, 其木格苏都, 等. 乳酸菌及其代谢产物在乳制品保鲜中的应用[J]. 中国乳品工业, 2014, 42(8): 37-41.

[15] 梁晓琳, 张哲川, 王宇豪, 等. 传统发酵牦牛乳制品中微生物群落及其与代谢产物相关性[J]. 食品科学, 2024, 45(9): 84-92.

[16] 马江, 文鹏程, 罗俏俏, 等. 甘南牦牛曲拉中真菌群落结构[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(4): 51-56.

[17] Labella AL, Opulente DA, Steenwyk JL, et al. Signatures of optimal codon usage in metabolic genes inform budding yeast ecology[J]. PLoS Biology, 2021, 19(4): e3001185.

[18] Rathnayake AU, Saravanakumar K, Abuine R, et al. Fungal biotechnology and bioengineering[M]. Cham: Springer International Publishing, 2020: 305-329.

[19] 何宇星. 蒙古国 Hurunge 中细菌多样性、益生特性及全基因组研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.

[20] 杨晓凤, 于靖和, 刘明超, 等. 内蒙古阿拉善白绒山羊奶及其乳制品细菌多样性分析[J]. 现代食品科技, 2025, 41(3): 115-123.

[21] 申小营, 姜丹, 李萌, 等. 山西省不同地区柴胡根部可培养内生真菌的多样性分析[J]. 微生物学杂志, 2023, 43(6): 18-34.

[22] 冯月, 李一圣, 段飞鹏, 等. 肠道菌群失调加剧变应性鼻炎小鼠肺部炎症机理研究[J]. 遵义医科大学学报, 2021, 44(2): 165-172.

[23] 朱建军, 王康, 刘彦敏, 等. 酸马奶的微生物学及生产工艺研究现状[J]. 食品科技, 2022, 47(1): 13-19.

[24] 任志超, 李想, 李先锋, 等. 生物炭对黑胫病抗性不同烤烟品种根际土壤真菌群落结构的影响[J]. 河南农业科学, 2024, 53(1): 105-115.

[25] Edgar RC. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996.

[26] 张文齐, 麻和平, 刘彩云, 等. 高通量测序分析不同采集保存温度下甘南牧区牦牛酸奶真菌多样性[J]. 食品工业科技, 2021, 42(13): 163-169.

[27] Li Y, Wu Z, Li R, et al. Integrated transcriptomic and proteomic analysis of the acetic acid stress in *Issatchenkia orientalis*[J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(6): e13203.

[28] Kondybayev A, Achir N, Mestres C, et al. Growth kinetics of *Kazachstania unispora* and its interaction with lactic acid bacteria during Qymyz production[J]. Fermentation, 2023, 9: 101.

[29] Gorte O, Aliyu H, Neumann A, et al. Draft genome sequence of the oleaginous yeast *Apiotrichum porosum* (syn. *Trichosporon porosum*) DSM 27194[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2019, 29(7): 11-13.

[30] Hittinger CT, Steele JL, Ryder DS. Diverse yeasts for diverse fermented beverages and foods[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2018, 49: 199-206.

[31] Fang Y, Wang Z, Shi Y, et al. Efficient biotransformation of sclareol to sclareolide by *Filobasidium magnum* JD1025[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2023, 195(2): 1184-1196.

[32] 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.

中国知网 https://www.cnki.net

[33] 王媛媛,剧柠,苟萌,等. 宏基因组学探究原料乳冷藏过程菌群变化规律[J]. 农业工程学报,2020,36(22):333-340.
[34] Silano V,Barat Baviera JM,Bolognesi C,et al. Safety evaluation of the food enzyme glucan1,4-α-glucosidase from Trichoderma reesei (strain DP-Nzh63)[J]. EFSA Journal,2019,17(10):e05825.
[35] 席守鸿. 南亚热带乡土树种及桉树人工林土壤真菌群落结构与功能[D]. 南宁:广西大学, 2023.
[36] 李晓雅,董雪娜,杨宇. 塑料降解昆虫肠道核心真菌的多样性[J]. 微生物学杂志,2024,44(5):16-27.
[37] De Matos CJ,Schabo DC,Nascimento YM,et al. Aflatoxin M1 in Brazilian goat milk and health risk assessment[J]. Journal of Environmental Science and Health Part B,2021,56(4):415-422.
[38] 陈毅坚,张建前,胡秋月,等. 乳酸菌与酵母菌混菌发酵新型乳制品的研究[J]. 中国乳品工业,2021,49(6):27-32.
[39] 苗伟刚. 锡林郭勒盟酸马奶微生物多样性分析与菌株分离鉴定[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2022.
[40] 马江. 甘南牧区牦牛曲拉中真菌群落结构及优势菌特性研究[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2020.
[41] 高茜. 传统酸马奶中乳酸菌与酵母的共生关系及其在马乳发酵中的应用[D]. 昆明:昆明理工大学, 2021.
[42] Carbonetto B,Nidelet T,Guezenec S,et al. Interactions between *Kazachstania humilis* yeast species and lactic acid bacteria in Sourdough[J]. Microorganisms,2020,8(2):240.
[43] De Melo Pereira GV,De Carvalho Neto DP,Maske BL,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.
[44] 王小梅,格让拉姆,李仲玄,等. 乳酸菌共培养提高罗伊氏乳杆菌抑菌活性的条件优化研究[J]. 饲料工业,2025,46(11):120-127.
[45] Lee HB,Patriarca A,Magan N. Alternaria in food:Ecophysiology,mycotoxin production and toxicology[J]. Mycobiology,2015,43(2):93-106.

中国知网 https://www.cnki.net