



专论与综述

葡萄生态系统中自然微生物群落多样性及其代谢酶系统的研究现状

丁银霆¹ 魏如腾¹ 宋英琇³ 李华^{*1,2} 王华^{*1,2}

1 西北农林科技大学葡萄酒学院 陕西 杨凌 712100

2 中国葡萄酒产业技术研究院 宁夏 银川 750021

3 蓬莱市葡萄与葡萄酒产业发展服务中心 山东 蓬莱 265600

摘要: 自然微生物是影响葡萄生理生长和葡萄酒质量的重要因素, 广泛存在于葡萄和葡萄酒的生态系统中。其中, 微生物的种类、数量和生长分布取决于气候、土壤、生长时期和发酵过程控制等多种因素。自然状态下, 葡萄微生物生态系统的物种组成和代谢作用直接影响葡萄藤的健康和葡萄酒的发酵质量, 并产生特定的葡萄酒风味特征。因此, 本文对现有研究的葡萄园土壤、果实和葡萄酒自然发酵过程中的真菌和细菌的群落多样性和动态变化, 及其代谢酶类对葡萄酒质量特性的影响进行了综述, 以期通过对微生物群落的生理代谢和生态作用的全面认识, 探究葡萄微生态的互作机理和代谢功能, 促使微生物群落向葡萄和葡萄酒有益的方向发展, 从而达到葡萄生态系统可持续、高质量发展的目的。

关键词: 微生物多样性, 葡萄果实, 自然发酵, 酶系统

Research status of the diversity of natural microbial community and metabolic enzyme system in grape ecosystem

DING Yinting¹ WEI Ruteng¹ SONG Yinghui³ LI Hua^{*1,2} WANG Hua^{*1,2}

1 College of Enology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

2 China Wine Industry Technology Institute, Yinchuan, Ningxia 750021, China

3 Penglai Grape and Wine Industry Development Service Center, Penglai, Shandong 265600, China

Abstract: Natural microorganisms are important factors affecting the physiological growth of grape and the quality of wine, and widely exist in the ecosystem of grape and wine. The species, number and distribution of microorganisms depend on many factors such as climate, soil, growth period and fermentation process control. Under natural conditions, the species composition and metabolism of grape microecosystem directly affect the health of grape vine and the fermentation quality of wine, and produce

Foundation items: National Key Research and Development Program of China (2019YFD1002500); Key Research and Development Program of Shaanxi Province in 2020 (2020ZDLNY07_08)

***Corresponding authors:** Tel: 86-29-87091099

E-mail: LI Hua: lihuawine@nwsuaf.edu.cn; WANG Hua: wanghua@nwsuaf.edu.cn

Received: 19-10-2020; **Accepted:** 17-12-2020; **Published online:** 11-03-2021

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD1002500); 陕西省 2020 年重点研发项目(2020ZDLNY07_08)

***通信作者:** Tel: 029-87091099

E-mail: 李华: lihuawine@nwsuaf.edu.cn; 王华: wanghua@nwsuaf.edu.cn

收稿日期: 2020-10-19; **接受日期:** 2020-12-17; **网络首发日期:** 2021-03-11

specific wine terroir. Therefore, the diversity and dynamics of fungal and bacterial communities in vineyard soil, grape berry and wine natural fermentation, as well as the effects of their metabolic enzymes on wine quality were reviewed in this paper, with a view to fully understand the physiological metabolism and ecological function of the microbial community, exploring the interaction mechanism and metabolic function of the grape microecology, and promoting the development of the microbial community in the beneficial direction of grape and wine, in order to achieve the goal of sustainable and high-quality development of grape ecosystem.

Keywords: microbial diversity, grape berry, natural fermentation, enzyme system

葡萄的生长发育过程依赖于葡萄园的生态系统,其生物多样性对葡萄的生理生态有重要影响。葡萄生态系统的组成包括葡萄园土壤、葡萄植株、园内覆盖的其他植物、有益昆虫等小动物以及各种微生物群体,构成复杂且动态的种间生态网络^[1]。在自然状态下,葡萄生态系统中生物多样性的相互作用能够增强植株自身的免疫力和对环境的适应性和抗性,有利于葡萄的健康生长。各种微生物群落的动态演变和代谢作用是自然状态下葡萄转化成为葡萄酒的本质核心,主要是酵母菌利用糖类物质产生乙醇和其他代谢产物^[2]。因此,探究自然微生物群落在葡萄生态系统中的群落组成和动态演变对葡萄的生长和葡萄酒的酿造具有重要意义。

目前的葡萄栽培和葡萄酒酿造过程充斥着大量的化学助剂和过度的人为干预,其目的是保障葡萄的产量和发酵过程的可控性。特定的人类干预措施,包括杀虫剂、杀菌剂和除草剂的使用,影响了葡萄园生境的微生物多样性。例如,为了应对葡萄霜霉病,人们选择喷施大量的波尔多液,铜离子的富集不仅对环境和人体造成危害,而且造成霜霉病菌(*Plasmopara viticola*)变异性和抗药性显著增强,从而驱使人们研制杀伤性更强的药物,但这些高毒性的农药没有选择性,不仅杀死了病原菌而且杀死了葡萄本身存在的有益微生物。已有研究发现,田间施药对自然发酵葡萄酒的酵母菌群落结构有显著影响,化学农药的使用会改变自然发酵过程酵母菌的种类和比例,导致酿酒酵母(*Saccharomyces*)等发酵有益菌的数量和比例降低,隐球酵母(*Cryptococcus*)等发酵有害菌的种类和数量提高^[3]。

此外,由于地上部过度施加化学肥料和农药,使得葡萄所需养分主要通过外源充分供给,这不仅导致植株对养分的需求减少,葡萄树的根系逐渐变浅和退化,植株对逆境的抵抗力减弱,而且无选择性地杀死了地下部的葡萄园土壤微生物,尤其是能够影响植株环境抗性能力的根际微生物,造成了整个葡萄生态系统遭到破坏。在葡萄酒的酿造过程中,商业酵母、外源果胶酶和二氧化硫抗氧化剂的使用不仅增加了生产成本,而且同样也杀死了葡萄本身携带的有益微生物菌群,这些菌群伴随葡萄共同进化,具有明显的亲和性,能够增强葡萄酒的风味复杂性。这些外源化学成分的添加破坏了葡萄有益菌群的生长代谢,抑制了微生物代谢的酶系统,造成严重的葡萄酒风味同质化现象,使得葡萄酒丧失了自然风土特性。

鉴于此,我们首次提出了极简化的葡萄生态生产理念,其核心思想是尽量减少人为干预,增加葡萄生态系统的生物多样性,减少各种杀虫剂和化学肥料的使用,运用生物防治技术管理葡萄园的鸟害和虫害,倡导有机栽培模式,保持葡萄生态系统中微生物群落的自然状态,突出微生态的风土特征^[4]。同时,在葡萄酒发酵过程中,促进有益微生物的活动,抑制有害微生物活动,发酵过程也不使用化学方法,在不改变发酵培养基成分的前提下,尽量做到零添加,保证自然微生物在发酵过程中的代谢活动和相互作用。我们的目标是在自然状态下,通过物理手段促进微生物群落向葡萄和葡萄酒生态系统有益的方向发展,从而达到葡萄产业可持续、高质量发展的目的。所以,首先要了解自然环

境下葡萄生态系统中微生物群落的物种组成和动态变化规律,及其在葡萄生长和葡萄酒酿造过程中的代谢作用,只有在这个基础上,才能充分认识微生物菌群的生态作用,找到实现目标的方法。

现代分子生物技术包括高通量测序技术的发展,弥补和更新了传统基于培养的方法对葡萄相关微生物的认识。多组学技术在葡萄生态学研究方面的应用能深入探讨微生物组与基因组和代谢组的联系,建立物种的基因通路和代谢产物以及表观调控的分子网络^[5]。本文对葡萄生态系统中自然微生物群落及其代谢酶系统的现有研究进行综述,包括葡萄园土壤、葡萄浆果表面和自然发酵过程中微生物的群落结构和动态变化,以及酵母代谢的酶系统,并阐述了特定物种与葡萄酒中代谢物的相关性和微生物间的相互作用,以期通过对微生物的群落结构和演变规律的全面认识,促进葡萄生态系统中微生物的生态作用和生理代谢研究,从而推动葡萄生态系统可持续、高质量发展。

1 葡萄园土壤微生物群落特征

葡萄园土壤是供给葡萄植株生理生长,促进果实发育的基础。土壤的理化性质如质地、pH、含水量、碳氮含量以及碳氮比等直接影响着土壤中微生物的数量和分布,而不同的农艺实践、葡萄园朝向和海拔等也能导致土壤微生物群落发生变化^[6]。土壤微生物与葡萄藤的关系可能是有益的、有害的或者二者共生,它们参与植物的营养吸收和植物对生物和非生物胁迫的抗性等关键功能,促进植株生长、增强抗病性和提高果实的产量^[7]。我们倡导的葡萄极简栽培模式要求在葡萄园行内覆盖枝条,行间全面生草,从而改变葡萄园土壤微生物区系,形成特定的微气候模式。通过研究发现,以清耕为对照,行内覆盖枝条能够增加土壤中细菌、真菌和放线菌的数量和多样性^[8],行间自然生草使得不同土层的微生物数量也有所提高,且深土层较表土层明显^[9],同时生草还能避免冬季越冬的病原菌孢子在次年经雨水飞溅而重新侵袭葡萄藤树体。

研究表明,葡萄园土壤可能是葡萄生态系统中微生物的首要来源,参与植株地上部微生物群落的物种演变。土壤微生物可以经昆虫、风、降雨冲刷、浆果脱落等生物和非生物途径与植株地上部的微生物菌群进行相互传播,候鸟、蜜蜂和果蝇等动物媒介可以作为远距离的运输载体,从而跨地区传播酵母菌等微生物^[10]。土壤中根际微生物与植株本身关系较为紧密,根系可以释放大量的含碳化合物,称为根状沉积物,从而塑造根际微生物群落,驱动土壤对植物生长和防御的反馈。通常,根际微生物能进行活跃的物质转化和相互作用,使得根际微生物的种类低于非根际土壤^[11]。此外,葡萄根内生菌也能改变植株内生菌群的负载,影响地上部器官的物种组成,并在采收过程中附生迁移到葡萄表面,引起葡萄酒发酵过程中的菌群变化。

1.1 葡萄园土壤细菌的群落结构

微生物是土壤中的活跃组分,其中细菌数量约占70%–90%,其余是真菌和放线菌等^[12]。通常,葡萄园土壤中的细菌群落大多为变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和放线菌门(*Actinobacteria*)。Burn 等^[6]在纳帕谷葡萄园的细菌群落与土壤因素的相关性研究中发现,所有样本中4个最丰富的细菌群是变形菌门、放线菌门、酸杆菌门和拟杆菌门,且发现甲基杆菌属(*Methylobacterium*)、根瘤菌属(*Rhizobium*)、*Skermanella*和链霉菌属(*Streptomyces*)与经度、纬度、地形和降雨等因素均呈正相关,无色杆菌属(*Achromobacter*)、贪噬菌属(*Variovorax*)、欧文氏菌属(*Erwinia*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和节细菌属(*Arthrobacter*)均与环境因素呈负相关,表明葡萄产区、气候和地形通过影响土壤特性而改变土壤细菌群落组成。Zarraonaindi 等^[13]发现葡萄植株地上部的细菌多样性低于地下部,根际的核心细菌群落包括黄单胞菌目(*Xanthomonadales*)、根瘤菌目(*Rhizobiales*)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、腐螺旋菌目(*Saprospirales*)、噬纤维菌目(*Cytophagales*)

和放线菌目(*Actinomycetales*), 土壤可能是葡萄生态系统细菌群落的源库, 一些促进葡萄生长的菌群和根系菌群能够在植株富集, 且土壤细菌群落受土壤 pH 和碳氮比的显著影响。同样, Ma 等^[14]使用高通量测序技术分析了新疆葡萄园的微生物多样性, 他发现土壤中细菌的相对丰度高于叶片和果实, 土壤中最丰富的细菌属是节细菌属, 其次是 *Kaistobacter* 和 *Skermanella*, 不同地理位置的独特气候导致了微生物群落的多样性, 而果实和叶片上的微生物群落很容易受到葡萄园土壤的影响。王晓雯等^[15]也对葡萄园土壤的细菌群落结构多样性进行了分析, 实验表明根际土壤细菌多样性和丰度均低于非根际土壤, 土壤中的优势细菌属包括乳球菌属(*Lactococcus*)、节细菌属、*Candidatus Nitrososphaera*、亚硝化螺菌属(*Nitrososphaera*)、热单胞菌属(*Thermomonas*)等, 其中根际土壤中节细菌属、泛菌属(*Pantoea*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)的丰度明显低于非根际土壤, 冗余分析表明, 土壤细菌群落多样性与土壤 pH 值、有机质、有效磷、淀粉酶和蔗糖酶含量具有不同程度的相关关系。

1.2 葡萄园土壤真菌的群落结构

与细菌群落相比, 葡萄园土壤中真菌群落的数量和多样性较低, 但 Liu 等^[16]发现土壤真菌群落与葡萄醪的真菌群落具有较高的相关性, 认为土壤真菌群落是葡萄园生态系统的重要组分, 对葡萄酒的地区风土特性影响更大。她通过随机森林模型分析发现土壤特性和天气因素强烈影响土壤真菌的多样性, 降水和碳氮比是土壤真菌丰富度和群落组成的最佳预测因子, 并且土壤真菌较细菌对环境条件更为敏感, 它们能提高植株对当地环境的适应性, 增强葡萄和葡萄酒的区域特征表达。Wei 等^[17]发现新疆产区 3 个葡萄园土壤的优势真菌群包括 *Ascomycota*、*Sordariales*、*Tetracladium* 和 *Geomyces* 等, 还含有少量的 *Erysiphe*、*Pleosporales*、*Penicillium* 和 *Sclerotinia* 等菌群, 相关菌属数量受到季节变

化的影响。Ramírez 等^[18]从 2 个相邻葡萄园的果实和土壤中分离可培养微生物, 随后用其接种葡萄酒发酵, 发现土壤中发酵型酵母菌的数量在接近采收时显著增加, *Aureobasidium*、*Cryptococcus*、*Filobasidium*、*Pichia*、*Rhodospiridium* 和 *Torulaspora* 仅存在于土壤中, *Saccharomyces* 和 *Lachnaceae* 存在于采收后的土壤和葡萄酒中, 葡萄园土壤是葡萄发酵酵母菌的天然来源, 如果葡萄园土壤中的灰尘过多地积聚在葡萄串上, 或者在收获期葡萄醪受到土壤的直接污染, 土壤中 *Torulaspora* 和 *Lachnaceae* 的杀手菌株可能导致发酵问题, 深入研究葡萄园中的真菌生态学将了解葡萄植株如何在每年的生长周期中与土壤真菌相互作用, 从而影响地上部的真菌群落组成。

2 葡萄表面微生物的群落特征

葡萄浆果表面附着有各种微生物, 如细菌、酵母菌和丝状真菌, 健康葡萄表面微生物的数量大致为 10^7 – 10^8 CFU/g^[19], 这些微生物群可能受到土壤和人类学条件的影响, 而且果实富集的微生物在发酵过程中会持续存在, 影响葡萄酒的发酵质量。通常, 葡萄表面微生物群落结构组成受到地理因素、气候、紫外线照射、栽培模式、年份、葡萄品种、成熟期、以及病虫害和农药、杀菌剂等因素的影响^[20]。在特定的葡萄和葡萄酒产区, 微生物菌群每年繁殖生长, 已经适应了当地的地理条件、气候和品种特性, 且伴随自然选择的作用形成了该产区甚至是该品种特有的微生物群落^[21]。葡萄表面微生物的数量与浆果含糖量的变化和果实渗出营养成分的改变直接相关, 葡萄破损和腐烂会显著影响浆果表面微生物的相互作用, 改变微生物群落的生境状态。浆果表面常见的自然微生物及其生理作用见表 1。

2.1 葡萄表面酵母菌多样性

葡萄果实表面的酵母菌生物多样性可以受到葡萄品种、果实质量、地理环境、生长期等因素的影响^[22]。未成熟的葡萄果实表面酵母菌的数量

表 1 葡萄果实微生物群落特征

Table 1 Microbial population characteristics of grape berries

微生物类别 Microorganism category	分类 Classification	相关种属 Related species	代谢性质及对果实品质的影响 Metabolic properties and its effect on fruit quality
霉菌 Mold	寄生霉菌 Parasitic mold	<i>Plamospara viticola</i>	有害; 霜霉病 Harmful; Downy mildew
		<i>Erysiphe necator</i>	有害; 白粉病 Harmful; Powdery mildew
		<i>Alternaria</i> sp.	有害; 黑腐病(产毒素) Harmful; Black spot (produce toxic metabolites)
	腐生霉菌 Saprophytic mold	<i>Colletotrichum acutatum</i>	有害; 葡萄炭疽病 Harmful; Grapevine anthracnose
		<i>Botrytis cinerea</i>	有害; 灰霉病(腐烂) Harmful; <i>Botrytis cinerea</i> (spoilage)
		<i>Cladosporium</i> sp.	有害; 产毒素引起腐烂 Harmful; Produce toxins and rot
		<i>Greeneria uvicola</i>	有害; 苦腐病 Harmful; Bitter rot
		<i>Aspergillus</i> spp.	有害; 腐烂; 产毒素 Harmful; rot; Produce toxin
		<i>Penicillium</i> spp.	有害; 腐烂; 产毒素 Harmful; rot; Produce toxin
	担子菌酵母 <i>Basidiomycetes</i>	<i>Cryptococcus</i>	产果胶酶 Produce pectinase
		<i>Rhodotorula</i>	产葡萄糖苷酶 Produce glucosidase
		<i>Sporobolomyces</i>	无害物种 Innocuous
		<i>Filobasidium</i> spp.	无害物种 Innocuous
		<i>A. pullulans</i>	无害物种 Innocuous
		<i>Hanseniaspora</i>	污染物种 Contamination
		<i>Ascomycetes</i>	污染物种 Contamination
		<i>Candida</i>	污染物种 Contamination
		<i>Metschnikowia</i>	污染物种 Contamination
		<i>Pichia</i>	污染物种/可成膜腐败 Contamination/filming spoilage
		<i>Debaryomyces</i>	污染物种 Contamination
		<i>Kluyveromyces</i>	污染物种 Contamination
细菌 Bacterial	子囊菌类强 发酵型酵母 <i>Ascomycetes</i> strong fermentation yeast	<i>Zygosaccharomyces</i>	有害 Harmful
		<i>Brettanomyces</i>	有害 Harmful
		<i>Schizosaccharomyces</i>	有害 Harmful
		<i>Saccharomyces</i>	有害 Harmful
		<i>Saccharomyces</i>	可发酵可腐败 Fermentability/spoilage
		<i>Oenococcus</i> sp.	苹果酸乳酸发酵 Malolactic fermentation
		<i>Lactobacillus</i> spp.	苹果酸乳酸发酵/腐败 Malolactic fermentation/spoilage
	乳酸菌 <i>Lactobacillus</i>	<i>Pediococcus</i> spp.	产异味、黏稠和生物胺 Peculiar smell, stickiness and biogenic amine
		<i>Leuconostoc</i> spp.	产异味、黏稠和生物胺 Peculiar smell, stickiness and biogenic amine
		<i>Gluconobacter</i> spp.	有害 Harmful
		<i>Acetobacter</i> spp.	有害 Harmful
		<i>Gluconoacetobacter</i> spp.	有害 Harmful
	环境型细菌 Environmental bacterial	<i>Bacillus</i> sp.	污染物种 Contamination
		<i>Micrococcus</i> sp.	污染物种 Contamination
		<i>Pseudomonas</i> spp.	污染物种(产胞外多糖) Contamination (produce extracellular polysaccharide)
		<i>Staphylococcus</i> spp.	污染物种 Contamination

很低, 约为 10^1 – 10^3 CFU/g, 在葡萄采收时增加到 10^3 – 10^6 CFU/g, 且主要是非酿酒酵母, 未成熟时浆果表面酿酒酵母(*S. cerevisiae*)的数量很少, 葡萄破损可以显著增加酿酒酵母的种群数量^[23]。

浆果表面的酵母菌分属担子菌类和子囊菌类, 担子菌酵母在转色期之后数量明显增多, 例如: 隐球酵母属(*Cryptococcus*)、红酵母属(*Rhodotorula*)和 *Filobasidium* 等^[24]。它们可以在营养较低的环境下生长, 在葡萄园中分布广泛, 但它们在葡萄酒的环境下不能生存, 不能发酵糖分。子囊菌类的 *Aureobasidium pullulans* (黑酵母菌)是一种类酵母真菌, 广泛存在于浆果表面, 也不能参与葡萄酒发酵。*A. pullulans* 在葡萄坐果时分布广泛, 转色期时数量显著下降, 逐渐被发酵型酵母所取代, 在采收期时数量最少^[25]。当葡萄成熟期时, 随着浆果表面积膨大, 糖分和营养物质的可利用性增加, 子囊菌类的弱发酵型酵母逐渐增多, 主要包括有孢汉逊酵母属(*Hanseniaspora*)、假丝酵母属(*Candida*)、梅奇酵母属(*Metschnikowia*)、毕赤酵母属(*Pichia*)、德巴利氏酵母属(*Debaryomyces*)和克鲁维酵母属(*Kluyveromyces*)等, 其中有孢汉逊酵母属和梅奇酵母属多为优势菌属^[26-27]。葡萄腐烂和破损会导致葡萄汁流出, 易形成高糖环境, 使得葡萄表面的一些强发酵型酵母属和有害酵母属数量增加, 例如有孢圆酵母属(*Torulaspora*)、接合酵母属(*Zygosaccharomyces*)、类酵母属(*Saccharomycodes*)、裂殖酵母属(*Schizosaccharomyces*)和酒香酵母属(*Brettanomyces*)等, 这些酵母的代谢活动大多会引起葡萄酒的产膜败坏, 多数被视为葡萄酒发酵的有害微生物^[28]。

Martins 等^[29]研究了不同栽培模式下葡萄成熟阶段果实表面的真菌变化, 发现产自有机栽培的果实表面微生物数量明显高于常规葡萄园, 并且过熟期时葡萄表面真菌数量最多。Kántor 等^[30]测定了 14 个葡萄品种的表皮微生物, 发现 *Hanseniaspora uvarum*、*Metschnikowia pulcherrima* 和 *Rhodotorula*

在多数葡萄品种表面较为常见, 少量的 *A. pullulans*、*Kluyveromyces marxianus* 和 *Candida saitoana* 等物种为少数品种所特有。Combina 等^[31]分离鉴别了门多萨产区马尔贝克葡萄表面的酵母菌群落, 得到 *Kloeckera apiculata*、*M. pulcherrima*、*Pichia membranifaciens*、*Saccharomycodes ludwigii*、*Candida* sp.、*Issatchenkia orientalis* 和 *Rhodotorula* spp. 等物种, 采收期前后的降雨对酵母菌群的数量和质量均有影响。Cordero-Bueso 等^[32]也发现有机和常规葡萄园中西拉、歌海娜和巴贝拉葡萄的酵母菌群明显不同, *S. cerevisiae*、*C. stellata*、*H. guilliermondii* 和 *M. pulcherrima* 在有机葡萄表面数量较多, 在常规的葡萄表面较少, 说明栽培模式能影响葡萄酵母菌群落的组成。Jara 等^[33]对智利 6 个产区的葡萄果实表面酵母菌进行鉴定, 发现主要的非酿酒酵母有 *Metschnikowia*、*Hanseniaspora*、*Rhodotorula*, 还包括少数 *Cryptococcus*、*Hyphopichia*、*Candida* 和 *Aureobasidium*, 不同菌群的分布与当地的纬度、降雨量、相对湿度和温度均相关。

2.2 葡萄表面霉菌多样性

葡萄浆果表面附着有寄生霉菌和腐生霉菌两大类, 寄生霉菌能够引起葡萄病害, 这些病原菌会对葡萄生长产生负面影响, 导致葡萄枯萎、皱缩、藤蔓腐烂和组织损伤。例如 *Plasmopara viticola* 能够引起葡萄霜霉病, *Erysiphe necator* 能导致葡萄白粉病, 尤其是高湿多雨的天气有利于分生孢子的产生和传播, 易引起病害的发生。腐生霉菌包括 *Cladosporium* spp.、*Aspergillus* spp.、*Penicillium* spp. 等, 它们能分泌真菌毒素并引起葡萄腐烂^[34], 其中灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)侵染会引起葡萄灰霉病, *Greeneria uvicola* 造成葡萄苦腐病, *Aspergillus* 能够分泌赭曲霉毒素 A, 干扰微生物的生态环境, 影响酒精发酵中酵母的生长代谢。Kioroglou 等^[35]研究了澳大利亚产区的赤霞珠和设拉子在 2 个成熟阶段的真菌群落组成, 发现 *Aureobasidium* 和

Mycosphaerella 是葡萄表面普遍存在的真菌属, *Penicillium*、*Colletotrichum*、*Aspergillus* 和 *Botrytis* 在葡萄表面的数量也较多, 其比例取决于地区、品种和成熟期, 在成熟采收阶段, *Penicillium* 对赤霞珠样品影响最大, 而 *Botrytis* 对设拉子样品影响最大。浆果表面的霉菌也只能在葡萄表面生长, 不能在葡萄酒环境下存活, 然而它们可以引起葡萄破损, 分泌代谢物而间接影响发酵菌群的存活状态。

2.3 葡萄表面细菌多样性

葡萄表面的细菌主要包括环境型细菌、乳酸菌和醋酸菌等三大类。葡萄成熟过程中, 葡萄表面细菌数量逐渐增加, 在浆果过熟期时达到最高水平。环境型细菌主要指存在于自然环境中的细菌, 它们只存在葡萄表面, 也不能在葡萄酒环境中存活, 属于无害的污染物, 主要包括假单胞菌属(*Pseudomonas*)、沙雷氏菌属(*Serratia*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、微球菌属(*Micrococcus*)和葡萄球菌属(*Staphylococcus*)等^[36]。Martins 等^[37]研究了不同成熟过程和栽培模式下梅洛葡萄表面附生细菌的动态和多样性, 结果表明, 葡萄生长过程中, 果实表面革兰氏阴性菌群(主要是假单胞菌)逐渐减少, 而革兰氏阳性菌群(主要是微球菌)逐渐增加, 有机和常规栽培的葡萄表面均以假单胞菌属和微球菌属为主, 还发现少量短小杆菌属(*Curtobacterium*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)、肠杆菌属、芽孢杆菌属和节细菌属。此外, 杀菌剂中铜离子浓度和细胞密度之间呈负相关, 说明铜离子浓度可以抑制细菌群落。Mezzasalma 等^[38]对意大利北部和阿尔卑斯山地区以及西班牙北部的赤霞珠、霞多丽和长相思微生物群的研究中发现, 尽管产地和品种不同, 但果实表面的细菌群落均含有芽孢杆菌属、甲基杆菌属、鞘脂单胞菌属, 多数细菌属在葡萄园土壤和果实表面同时存在, 也表明葡萄园土壤可能是葡萄相关细菌的主要来源, 且机器学习分析发现可以通过葡萄的微生物组成高精度地预测葡萄的品种和地理来源。

相比于环境型细菌, 乳酸菌和醋酸菌可以在葡萄酒的环境下生存并显著影响葡萄酒的质量。健康的葡萄表面乳酸菌和醋酸菌的群落数量一般都在 10^2 – 10^3 CFU/g 之间, 乳酸菌主要包括酒球菌属(*Oenococcus* sp.)、乳杆菌属(*Lactobacillus* spp.)、片球菌属(*Pediococcus* spp.)和明串珠菌属(*Leuconostoc* spp.)等, 酒球菌(*Oenococcus oeni*)是启动苹果酸乳酸发酵的主要菌种, 但其在葡萄表面数量较少^[39]。醋酸菌是指能够生成醋酸的一类细菌的统称, 主要包括葡糖杆菌属(*Gluconobacter* spp.)、醋酸杆菌属(*Acetobacter* spp.)和葡糖醋杆菌属(*Gluconoacetobacter* spp.), 葡萄破损和霉菌侵染会显著增加醋酸菌的丰富度和多样性, 数量可能达到 10^6 CFU/g。醋酸杆菌属主要存在于酸腐葡萄中, 而 *Gluconobacter* 和 *Gluconoacetobacter* 主要存在于健康的浆果表面。Nisiotou 等^[40]研究了健康葡萄和被 *Botrytis* 侵染的葡萄表面细菌的组成, 发现被 *Botrytis* 侵染的葡萄表面乳酸菌株和醋酸菌株的数量明显增加, *Botrytis* 侵染可能改变了细菌生境。

3 葡萄酒自然发酵中微生物的群落特征

葡萄酒的自然发酵是一个由不同微生物种属之间相互协作的复杂过程, 其中酵母菌、乳酸菌和醋酸菌对葡萄酒的质量有主要影响。自然发酵也受多种因素的影响, 包括内源的微生物区系、葡萄品种、气候条件、酿酒过程等^[41]。因此, 自然发酵的质量很难控制, 多种微生物的相互作用和代谢过程容易引起葡萄酒的发酵停滞和形成不良风味, 且年份差异较大, 可能每年的葡萄酒质量风格都不同^[42]。微生物多样性在发酵过程中不断变化, 群落之间竞争生态位以及菌群对环境变化的耐受性不同, 使得优势菌群才能在葡萄醪的生境中存活^[43]。

3.1 自然发酵过程中酵母菌群落的动态变化

在葡萄酒的自然发酵过程中, 由于不同菌种和菌株的相互作用, 以及对营养物质的竞争和对乙醇的耐受力不同, 使得一些酵母菌的生长逐渐受到抑制, 形成不同的发酵动力曲线^[44]。很多研究表明,

酒精发酵主要由非酿酒酵母启动,通常是 *Hanseniaspora*、*Candida* 和 *Metschnikowia* 等属的酵母菌,它们多需氧且乙醇耐受性较低,而 *Saccharomyces* 在发酵前期数量较少。发酵启动后,非酿酒酵母的数量可能逐渐增加,有时浓度可达到 10^6 – 10^7 CFU/mL,可能出现 *Pichia* 和 *Issatchenkia* 等属的酵母。在发酵中后期,由于 *S. cerevisiae* 对乙醇的抗性和发酵能力均较强,因而数量逐渐增加,浓度可达到 10^7 – 10^8 CFU/mL,而大多数非酿酒酵母对发酵环境变化的抗性较低,生长活性受到抑制,但在发酵末期也能检测到少量抗性较强的非酿酒酵母,在发酵后期,酿酒酵母(*S. cerevisiae*)的种群数量占据绝对优势,主导酒精发酵的完成^[45],表 2 总结了葡萄酒发酵相关酵母菌的酿酒学特性。

Padilla 等^[55]对 Priorat 地区的歌海娜和佳利酿葡萄进行自然发酵,发现歌海娜和佳利酿葡萄酒发酵前期存在的酵母菌主要是 *A. pullulans*、*H. uvarum*、*C. zemplinina*、*I. terricola* 和 *S. cerevisiae*,其中 *A. pullulans* 和 *H. uvarum* 的数量较多,*S. cerevisiae* 数量很少,发酵中期 *H. uvarum* 数量减少,*S. cerevisiae* 的数量相对增加,发酵结束时 *S. cerevisiae* 数量最多,还存在少量的 *C. zemplinina*。Díaz 等^[56]对不同品种自然发酵酵母群落的动态变化研究发现,由于氮源的减少和酒精含量的增加,发酵过程中酵母菌的物种组成逐渐减少,不同品种发酵结束时发酵醪中的酵母菌种的组成不同,但主要包括 *Saccharomyces bayanus*、*S. cerevisiae*、*M. pulcherrima*、*Pichia klyveri*、*P. membranifaciens* 和 *Rhodotorula mucilaginosa* 等菌种。

3.2 自然发酵过程中细菌群落的动态变化

发酵过程中细菌群落的丰度和多样性会增加其与酵母菌的拮抗作用,抑制酒精发酵的进程。葡萄酒发酵环境中存在的细菌主要包括乳酸菌、醋酸菌和芽孢杆菌等。在纳帕产区赤霞珠和霞多丽的发酵过程也发现了欧文氏菌属(*Erwinia*)、肠杆菌科

(*Enterobacteriaceae*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)等^[57],发现肠杆菌科与葡萄酒的发酵速率存在负相互作用,假单胞菌与葡萄酒的发酵速率存在正相互作用,葡萄附生细菌在葡萄酒发酵中的性质和作用的研究尚不明确。

葡萄酒中的乳酸菌主要包括乳杆菌属(*Lactobacillus*)、片球菌属(*Pediococcus*)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)和酒球菌属(*Oenococcus*),乳酸菌在发酵前期数量较少,通常少于 10^3 CFU/mL,发酵后期数量逐渐增加,可达到 10^6 – 10^8 CFU/mL,而且乳酸菌的生存依赖于发酵液中的 pH 值, pH 值高于 3.5 有利于片球菌属和乳杆菌属的存活,这时有些乳酸菌(包括短乳杆菌、植物乳杆菌和有害片球菌等)能够分解酒石酸,引起葡萄酒的败坏。pH 低于 3.5 有利于酒球菌属的存活。酒球菌(*O. oeni*)能够耐受较低的 pH 和较高的二氧化硫和乙醇浓度,其含量在发酵后期逐渐增加,从而启动苹果酸乳酸发酵^[58]。通过苹果酸乳酸发酵能够代谢苹果酸产生乳酸和 CO_2 ,消耗细菌繁殖的营养物质,产生细菌素,从而抑制不良细菌生长,提高葡萄酒的生物学稳定性^[59]。

葡萄酒中的醋酸菌主要包括醋酸杆菌属(*Acetobacter*)、葡糖杆菌属(*Gluconobacter*)和葡糖醋杆菌属(*Gluconacetobacter*)。在有机发酵的葡萄酒中,葡糖杆菌属的数量较多。如果葡萄酒发酵过程控制不当,大量的氧气进入能显著增加醋酸菌的数量,导致葡萄酒挥发酸含量增高,引起酒的酸败。醋酸菌和乳酸菌的存在会与酵母菌竞争营养,抑制酵母发酵速率。Portillo 等^[60]研究歌海娜葡萄自然发酵过程中细菌和酵母的生长动力学,发现醋酸杆菌科(*Acetobacteraceae*)占据细菌的主要部分,其中葡糖杆菌属(*Gluconobacter*)数量较高,在发酵中期达到最大值,而醋酸杆菌属(*Acetobacter*)的数量较为稳定,葡糖醋杆菌属(*Gluconacetobacter*)数量呈下降趋势,在发酵末期数量最低。Mezzasalma 等^[61]使用高通量测序鉴定了歌海娜葡萄和自然发

表 2 葡萄酒发酵相关酵母酿酒学特性

Table 2 Oenological characteristics of yeasts related to wine fermentation

葡萄酵母属 Yeast genus	相关菌株 Related strains	有利影响 Beneficial effects	不利影响 Negative Effects	参考文献 References
梅奇酵母属 <i>Metschnikowia</i>	<i>M. pulcherrima</i>	分泌糖苷酶, 增强葡萄酒的芳香度; 降低乙醇产量 Secret glycosidase, enhance the aroma of wine; reduce ethanol production	延迟发酵; 产生过量的乙酸乙酯 Delay fermentation; produce excess ethyl acetate	[46]
假丝酵母属 <i>Candida</i>	<i>C. stellata</i> <i>C. zemplinina</i> <i>C. pulcherrima</i>	耐高渗; 高产甘油、萜烯醇; 低产挥发酸 Hypertonic resistance; high production of glycerin and terpene alcohol; low production of volatile acid	发酵率低; 产硫化化合物和过量的高级醇; 高产乙酸乙酯 Low fermentation rate; production of sulfur compounds and excess higher alcohols; high yield ethyl acetate	[47]
有孢汉逊酵母属 <i>Hanseniaspora</i>	<i>H. guilliermonii</i> <i>H. uvarum</i> <i>H. vineae</i>	产生挥发性酯类; 高产胞外酶; 低产赭曲霉毒素 A Produce volatile esters; high production of extracellular enzymes; low-yielding ochratoxin A	发酵力弱; 发酵果糖; 产生乙偶姻和生物胺; 与酿酒酵母竞争营养 Weak fermentability; ferment fructose; produce acetoin and biogenic amines; competing with <i>S. cerevisiae</i> for nutrients	[48]
毕赤酵母属 <i>Pichia</i>	<i>P. anomala</i> <i>P. vini</i> <i>P. kluyveri</i>	增加挥发性硫醇和多糖浓度; 酯酶活性较高 Increase the concentration of volatile mercaptans and polysaccharides; higher esterase activity	产酶抑制 <i>S. cerevisiae</i> Enzyme production inhibits <i>S. cerevisiae</i>	[49]
伊萨酵母属 <i>Issatchenkia</i>	<i>I. terricola</i> <i>I. orientalis</i>	分泌 β -葡萄糖苷酶增加萜烯含量; 降解苹果酸 Secrete β -glucosidase to increase terpene content; degrade malic acid	产生生物胺 Biogenic amine production	[50]
接合酵母属 <i>Zygosaccharomyces</i>	<i>Z. bailii</i>	发酵能力强; 产 SO_2 和 H_2S 含量少; 低产高级醇, 降解苹果酸 Strong fermentation capacity; low production of SO_2 and H_2S ; low production of higher alcohols and degradation of malic acid	挥发酸含量高; 二次发酵产生过量 CO_2 High volatile acid content; excessive CO_2 produced by secondary fermentation	[51]
酒香酵母属 <i>Brettanomyces</i>	<i>B. bruxellensis</i>	产膜(雪莉酒); 产多种胞外酶 Membrane production (sherry wine); Production of multiple extracellular enzymes	产生乙基酚和乙烯酚, 形成异味 Ethyl phenol and vinyl phenol are produced, forming a peculiar smell	[52]
裂殖酵母属 <i>Schizosaccharomyces</i>	<i>S. pombe</i>	降解苹果酸和葡萄糖酸 Degrade malic acid and gluconic acid	高产乙醛、丙醇和 2,3-丁二醇; 产酯类含量低 High yield of acetaldehyde, propanol	[53]
有孢圆酵母属 <i>Torulaspora</i>	<i>T. delbrueckii</i>	发酵纯度高; 低产挥发酸、乙醛; 高产酯类; 耐高渗透压 High fermentation purity; low production of volatile acid and acetaldehyde; high production of esters; high osmotic pressure resistance	产硫化化合物较高 Higher sulfur producing compounds	[54]

酵葡萄醪中的细菌和真菌群落,发现 *Gluconobacter* 和 *Gluconacetobacter* 在发酵前期广泛存在,发酵末期数量较低,乳杆菌属(*Lactobacillus*)种群数量在发酵前期数量较少,发酵后期数量较高,从而能在酒精发酵后迅速启动苹果酸乳酸发酵。

4 葡萄酒发酵过程中酵母代谢的酶系统

传统的葡萄酒发酵过程中,为了控制葡萄酒的发酵进程,提高葡萄酒的澄清度、抑制杂菌滋生和防止氧化,往往选择人为添加优选的商业酵母、外源果胶酶和二氧化硫。葡萄醪中的微生物系统和酶系统决定了发酵过程的生化反应,但这些外源成分的添加不仅降低了发酵醪中自然微生物的多样性,而且抑制了微生物本身代谢的酶系统。其中,酵母菌在发酵过程中会产生丰富的胞外酶,这些酶可以促进芳香前体物质的释放和葡萄醪的澄清,对葡萄酒中代谢物的特征有重要影响^[62-63],自然发酵的酵母菌群能够增加葡萄酒中挥发性化合物的含量,赋予葡萄酒特殊的香气轮廓。

4.1 酵母代谢与香气相关的酶类

酵母菌分泌的糖苷酶和碳-硫裂解酶可以水解结合态的品种香气,促进游离态芳香物质的释放。葡萄酒中的品种香气是主要存在于葡萄外果皮的甲氧基吡嗪、C₁₃-降异戊二烯类化合物、挥发性硫化化合物和萜烯等,它们以游离态或结合态的形式存在,结合态的芳香物质只有转化为游离态才具有香气特性^[64]。其中,萜烯类物质主要以葡萄糖苷形式存在,经酵母菌代谢的酶水解可以释放香茅醇、香叶醇、芳樟醇和橙花醇等萜烯醇。单糖苷单萜类化合物只需要经 β -D-葡萄糖苷酶水解,即可释放葡萄糖和萜烯,而双糖苷单萜类的水解需要两步进行。首先,根据缀合物不同,特定的 α -L-阿拉伯糖苷酶、 α -L-鼠李糖苷酶或 β -D-洋芹糖苷酶可裂解特定的五碳糖与葡萄糖之间的化学键,释放 β -D-葡萄糖单糖苷。然后,释放的单糖苷被一个 β -D-葡萄糖苷酶水解,释放葡萄糖和相应的单萜^[65]。结

合态挥发性硫醇是以半胱氨酸-3-巯基-1-醇(Cys-3MH)和半胱氨酸-4-巯基-4-甲基戊烷-2-酮(Cys-4MMP)的半胱氨酸酰化形式存在,通过酵母代谢产生的碳-硫裂解酶水解半胱氨酸或谷胱甘肽前体释放游离态的挥发性硫醇^[66]。*S. cerevisiae* 可以产生糖苷酶和碳-硫裂解酶,多数非酿酒酵母可以分泌糖苷酶,例如 *Candida*、*Hanseniaspora*、*Kluyveromyces*、*Metschnikowia*、*Debaryomyces* 等,少数非酿酒酵母可以释放碳-硫裂解酶,包括:*C. zemplinina*、*M. pulcherrima*、*P. kluyveri*、*T. delbrueckii* 等。

4.2 酵母代谢的其他酶类

酵母菌还可以释放淀粉酶、纤维素酶、果胶酶等成分,一些产酶酵母还能分泌蛋白酶、酯酶、木聚糖酶和脲酶等胞外酶。*H. uvarum* 的菌株能产生淀粉酶、纤维素酶,*H. anomala*、*T. delbrueckii*、*C. zemplinina* 可以产生果胶酶和淀粉酶,*S. cerevisiae* 可以分泌果胶酶和纤维素酶等。果胶酶可以增加出汁率,提高葡萄酒的澄清和过滤能力,释放葡萄皮中的色素和风味物质,对葡萄酒的感官特性产生积极影响^[67]。 α -淀粉酶有利于葡萄中不溶性淀粉的水解和利用;蛋白酶能增加葡萄酒的澄清率;酯酶是重要的发酵香气成分。这些酶作用于葡萄汁中相关底物能改变葡萄酒中的生化反应^[68]。Merín 等^[67]利用本土优选的高产果胶酶的 *A. pullulans* 与 *S. cerevisiae* 混合发酵,发现在冷浸渍过程中,混合发酵较接种纯培养 *S. cerevisiae* 能显著提高果胶分解活性,而不影响发酵进程,明显改善葡萄酒的颜色特征、芳香性酯类和萜类物质的含量,这可能是由于浸渍过程中酵母代谢较高的果胶酶活性促进浆果中的水溶性化合物的提取,如花青素和芳香前体物质等。微生物自身的酶系统代谢机理的研究,对于探究葡萄酒发酵中的自然能量体系和微生物代谢作用与葡萄酒风味物质的联系具有重要意义,利用产酶的有益微生物不仅能够降低生产成本,而且可以突出微生物的风土特性。

5 微生物生态作用对葡萄酒代谢组分的影响

5.1 自然微生物与葡萄酒中代谢物的相关性

葡萄酒中的代谢物多是由微生物产生、消耗或修饰的,基于各种预测关联模型的分析,发现发酵微生物和代谢物之间具有一定的相关性,特定物种能够在自然发酵中产生明确的代谢特征。Lu 等^[69]基于 Spearman 相关性指数发现马瑟兰葡萄发酵不同时期的某些微生物与挥发性化合物的形成密切相关。因此,葡萄汁中微生物的物种组成可以作为发酵开始前葡萄酒中代谢产物预测的生物标志。Bokulich 等^[57]测定了美国纳帕谷不同的 AVA 产区和不同葡萄园的赤霞珠和霞多丽葡萄酒中微生物多样性和代谢组分的关系,发现葡萄汁中的微生物和代谢物都能对葡萄产区进行不同程度的区分,某些微生物和代谢产物具有显著的相关性。实验显示,赤霞珠的细菌群落与假定代谢物谱的关联较密切,而霞多丽的真菌群落与假定的代谢物谱的关联更为密切,原因可能是赤霞珠红葡萄酒经过了苹果酸乳酸发酵的细菌代谢过程。随机森林模型也显示葡萄醪的微生物组成可以预测葡萄酒中的代谢物成分。例如, *Cladosporium* 和 *Bacillaceae* 能够预测比对到 C_6 酮酸, *P. guilliermondii* 能够预测到 $C_6H_{10}O_2$ 酸、酯或内酯, *Saccharomyces*、*W. anomalus*、*Acetobacteraceae* 和一些附生菌 *Botryotinia fuckeliana*、*Enterobacteriaceae*、*Pseudomonas* 都是最具预测性的微生物,图 1 为实验中微生物对代谢物丰度的预测分析结果,这些结果显示了许多在葡萄酒发酵过程中发挥未知作用的微生物群与葡萄酒化学之间的关联性。然而,发酵微生物与葡萄酒代谢物的相关研究仍然较少,了解自然微生物群落的代谢功能及其代谢路径以及它们与葡萄植株的相互作用仍然是很重要的。

5.2 自然微生物间的相互作用

为保证自然发酵的质量,需要尽可能利用有益的微生物,产生优良的代谢产物,同时抑制病原体

和腐败微生物的活动。这需要了解微生物菌种之间的相互作用。从现象上看,2 个微生物种群之间的相互作用可能是积极的,也可能是消极的,意味着生长促进或抑制。微生物对代谢产物的相互利用,即其中一个群体受益于另一个群体的代谢副产物就是一种积极的相互作用,这可以降低种群间争夺资源的程度。微生物间的负相互作用可能是对资源的竞争(包括电子供体和受体、营养物、光或物理空间),也可能是直接的细胞间接触,或者产生毒素和分泌抑制化合物等^[70]。例如, *A. pullulans* 具有控制果实腐败微生物(*Aspergillus rots*)的潜力, *Epicoccum nigrum* 能够有效的拮抗 *B. cinerea* 和 *P. viticola* 病原体。Kasfi 等^[71]对果实中 *Aspergillus flavus*、*A. niger* 和 *A. ochraceus* 分泌的黄曲霉毒素和赭曲霉毒素 A 的积累进行拮抗试验,筛选出了 5 株酵母和 2 株细菌,它们表现出明显的抗真菌活性,其拮抗微生物的作用具有替代杀菌剂使用的潜力。

自然发酵过程中非酿酒酵母与酿酒酵母的相互作用与葡萄醪的初始糖、酸浓度、可同化氮浓度、发酵温度和氧浓度有关^[22]。最近的研究表明,一些酿酒酵母可以在稳定生长期发生细胞间接触,产生抑菌肽抑制其他非酿酒酵母菌株^[72]。有些霉菌分泌的真菌毒素也能抑制发酵过程中酵母菌的生长,例如某些代谢产物如短至中链脂肪酸(如乙酸、己酸、辛酸和癸酸)和酵母杀手毒素可以促进酵母细胞死亡^[73]。同时,还有研究发现自然微生物细胞间存在群体感应现象,即微生物细胞间接触达到一定的密度时可以触发群体感应,通过分泌特定的群体感应分子抑制细胞的生长。例如,当 *C. albicans* 培养达到细胞高密度时,法尼醇在培养基中积累会抑制酵母细胞向丝状生长过渡,在 *S. cerevisiae*、*H. uvarum*、*Torulaspora pretoriensis*、*zygosomyces bailii*、*C. zemplinina* 和 *Dekkera bruxellensis* 的研究中也发现了 2-苯乙醇、色氨酸和酪氨酸等群体感应分子在细胞达到高密度时在

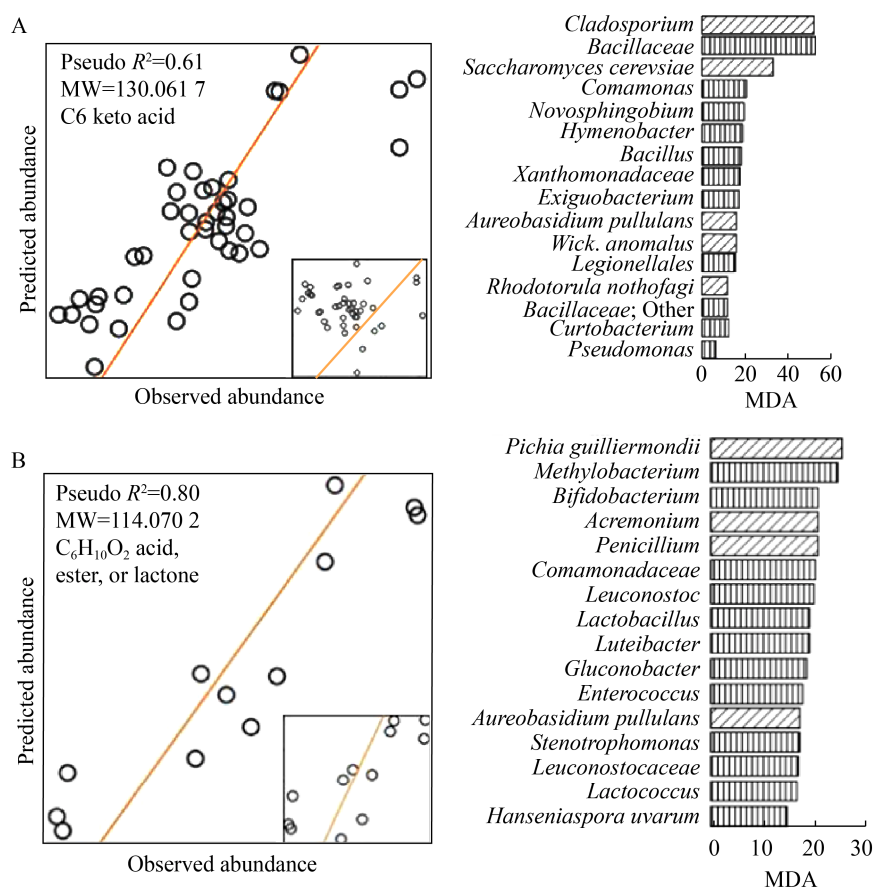


图1 随机森林回归预测模型通过微生物组成准确预测代谢物丰度

Figure 1 The random forest regression prediction model accurately predicted metabolite abundance by microbial composition

注：图片引自 Bokulich 等^[57]的文章，略做修改，引用已获得杂志许可；图中显示使用随机森林分类验证赤霞珠葡萄酒(A)中 C₆ 酮酸丰度和霞多丽葡萄酒(B)中 C₆H₁₀O₂ 酸、酯或内酯丰度的结果，嵌入的小图为随机森林预测模型，MDA 参数表示真菌(倾斜的点)和细菌(竖线)随机森林预测准确性的降低程度，该值越大表示该变量的重要性越大

Note: The figure is quoted from an article by Bokulich et al^[57], slightly modified, and it has been approved by the publisher. The graph shows the results of using random forest classification to verify the abundance of C6 keto acid in Cabernet Sauvignon wine (A) and the abundance of C₆H₁₀O₂ acids, esters or lactones in Chardonnay wine (B). The inset is a random forest prediction model. The mean decrease accuracy (MDA) indicates the decrease of the accuracy of random forest prediction by fungi (inclined point) and bacteria (vertical line). The larger the value, the more important the variable is

培养基中释放，产生原因可能与酵母的氮代谢有关^[74]，关于不同微生物之间可能的防御机制和相互作用机理也需深入研究。

6 展望

目前的葡萄酒产业面临着大量化学药剂使用和过度人为干预的现状。在葡萄栽培方面，化肥和农药的使用严重破坏了葡萄生态系统，抑制了自然微生物的多样性。葡萄酒酿造过程中商业酵母、酶

制剂和二氧化硫的添加，也引起葡萄酒的同质化现象并增加了生产成本。为此，保证葡萄产业的可持续发展才能从根本上保障获得优质的葡萄原料和提高葡萄酒的质量。我们结合多年对葡萄生态系统的研究，创造性地提出了极简生态模式，其理念是尽量减少过度的人为干预，保障葡萄的最佳状态，发挥葡萄生态系统的生态作用，提高葡萄自身对环境的抵抗力。本综述对微生物的群落组成和动态变化及酶系统进行了概述，发现葡萄生态系统中

微生物群落的研究大多深入到表型层面,关于微生物间互作机理和微生物与环境及代谢组分的相关性研究仍不清晰,为此提出了以下一系列重要的研究方向,以推动自然微生物内在机理和生态作用的研究发展。

6.1 基于多组学的方法,探索微生物与环境和植株的相互作用

随着多组学技术(例如宏基因组、宏转录组、宏蛋白组和宏代谢组等)的发展,使得实验提取、测序的成本大大降低,建立多组学和方法学统计分析(例如 CCA 和 RDA 分析等)的关联能够深入探究微生物群落与环境(非生物因素)和宿主(根际、叶际、果实表面等生物因素)的相互作用,从而深入到分子基因层面全面认识微生物群落的生态功能,并将信息整合到数据模型以提高微生物群落对葡萄生态系统功能的预测性。

6.2 确定特定产区的标志性物种或指示物种及其代谢作用,建立微生物与葡萄酒中标志代谢物的相关性

这需要尽可能多的在不同产区采集葡萄样本以丰富数据库,由于自然微生物群落具有时间动态性,随着物候期的变化,微生物群落组成不断更替,需要了解特定地区的微生物群落变化模式。通过宏基因组学和信息代谢组学分析葡萄酒中可能存在的代谢途径,利用 LEfSe 检验方法确定生物标志物,找到有效区分、判断不同生长阶段和发酵时期的指示物种,可为后续菌群差异响应和互作机理研究提供指导。

6.3 确定微生物代谢物对葡萄酒感官质量和人体健康的影响

食品安全问题关系到人们的生命健康,由于自然发酵的葡萄酒是不可控的,多种微生物复杂的生化反应可能产生有害的代谢物,例如生物胺和氨基甲酸乙酯具有致癌性,因此需要在营养层面加深研究并应用动物学实验确定其对人体健康的影响。因此,应对自然发酵的葡萄酒进行成分检测,同时感官研究也很有必要来确定微生物与

代谢物的关联是否延伸到人们可以察觉葡萄酒的地区风土差异,这对减少葡萄酒的同质化现象具有重要意义。

6.4 研发微生物组群设计与调控技术,利用有益微生物,抑制有害微生物^[75]

应用合成生物学方法和微生物工程学技术,培养利用葡萄生态系统中的有益菌群,抑制有害的微生物,从而增强葡萄的抗逆性并保持植株健康,通过有益菌群产生优良的代谢产物改善葡萄酒的风味,提高葡萄酒的风土特征,促进自然微生物群落向葡萄生态系统有益的方向发展。

REFERENCES

- [1] Paiola A, Assandri G, Brambilla M, Zottini M, Pedrini P, Nascimbene J. Exploring the potential of vineyards for biodiversity conservation and delivery of biodiversity-mediated ecosystem services: A global-scale systematic review[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 706: 135839
- [2] Liu PT, Lu L, Duan CQ, Yan GL. The contribution of indigenous non-*Saccharomyces* wine yeast to improved aromatic quality of Cabernet Sauvignon wines by spontaneous fermentation[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2016, 71: 356-363
- [3] Xu WN, Liu XM, Kong XJ, Chen X, Li M, Geng CL. Effect of pesticide application on the community structure of wine yeasts during spontaneous fermentation[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(4): 721-728 (in Chinese)
许维娜, 刘希萌, 孔祥君, 陈熙, 李梅, 耿常乐. 田间施药对自然发酵葡萄酒酵母菌群落结构的影响[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(4): 721-728
- [4] Li H, Wang H. Extremely simplified grapevine cultivation[J]. *Sino-Overseas Grapevine & Wine*, 2020(4): 47-51 (in Chinese)
李华, 王华. 极简生态葡萄栽培[J]. *中外葡萄与葡萄酒*, 2020(4): 47-51
- [5] Sirén K, Mak SST, Fischer U, Hansen LH, Gilbert MTP. Multi-omics and potential applications in wine production[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, 56: 172-178
- [6] Burns KN, Kluepfel DA, Strauss SL, Bokulich NA, Cantu D, Steenwerth KL. Vineyard soil bacterial diversity and composition revealed by 16S rRNA genes: Differentiation by geographic features[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 91: 232-247
- [7] Belda I, Zarraonaindia I, Perisin M, Palacios A, Acedo A. From vineyard soil to wine fermentation: Microbiome approximations to explain the “*terroir*” concept[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 821

- [8] Liu S, Xu GQ, Zhang JX. Effects of soil bacterial community structure in vineyard intra-row mulching[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2020, 34(12): 2865-2871 (in Chinese)
刘思, 徐国前, 张军翔. 葡萄行内覆盖对土壤细菌群落结构的影响[J]. *核农学报*, 2020, 34(12): 2865-2871
- [9] Li C, Wang XL, Liu S, Li H, Zhang JX. Effects of natural herbage on soil-nutrients, enzyme activities and microorganisms in vineyard of Helan mountain's eastern foothill[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 32(3): 559-565 (in Chinese)
李超, 王晓玲, 刘思, 李辉, 张军翔. 贺兰山东麓葡萄园自然生草对土壤养分酶活性及微生物的影响[J]. *西南农业学报*, 2019, 32(3): 559-565
- [10] Francesca N, Canale DE, Settanni L, Moschetti G. Dissemination of wine-related yeasts by migratory birds[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2012, 4(1): 105-112
- [11] Berlanas C, Berbegal M, Elena G, Laidani M, Cibrián JF, Sagües A, Gramaje D. The fungal and bacterial rhizosphere microbiome associated with grapevine rootstock genotypes in mature and young vineyards[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1142
- [12] Jiang YW, Xiang GQ, Wang H, Du YP, Yao YX. Effects of different soil managements on soil physical and chemical properties and bacterial community in vineyard[J]. *China Fruits*, 2019(4): 32-38 (in Chinese)
姜亦文, 相广庆, 王辉, 杜远鹏, 姚玉新. 葡萄园不同土壤管理模式对土壤理化性状及细菌群落的影响[J]. *中国果树*, 2019(4): 32-38
- [13] Zarraonaindia I, Owens SM, Weisenborn P, West K, Hampton-Marcell J, Lax S, Bokulich NA, Mills DA, Martin G, Taghavi S, et al. The soil microbiome influences grapevine-associated microbiota[J]. *mBio*, 2015, 6(2): e02527-14
- [14] Ma WR, Wu Y, Wei YJ, Zou W, Yan YZ, Xue J, Tian G, Wang LY, Wang W, Pan HY. Microbial diversity analysis of vineyards in the Xinjiang region using high-throughput sequencing[J]. *Journal of the Institute of Brewing*, 2018, 124(3): 276-283
- [15] Wang XW, Hong ZH, Liu AR, Luo LX. Analysis of bacterial community structure in vineyard soil by RT-PCR and high throughput sequencing[J]. *Liquor-Making Science & Technology*, 2016(11): 28-33,36 (in Chinese)
王晓雯, 洪振瀚, 刘安瑞, 罗立新. 基于荧光定量 PCR 和高通量测序技术的葡萄园土壤细菌群落结构多样性分析[J]. *酿酒科技*, 2016(11): 28-33,36
- [16] Liu D, Chen QL, Zhang PZ, Chen DL, Howell KS. The fungal microbiome is an important component of vineyard ecosystems and correlates with regional distinctiveness of wine[J]. *mSphere*, 2020, 5(4): e00534-20
- [17] Wei YJ, Wu Y, Yan YZ, Zou W, Xue J, Ma WR, Wang W, Tian G, Wang LY. High-throughput sequencing of microbial community diversity in soil, grapes, leaves, grape juice and wine of grapevine from China[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0193097
- [18] Ramírez M, López-Piñeiro A, Velázquez R, Muñoz A, Regodón JA. Analysing the vineyard soil as a natural reservoir for wine yeasts[J]. *Food Research International*, 2020, 129: 108845
- [19] Sun WN, Zhang QG, Li XX, Han Y. Progress on microbial diversity study in wine production[J]. *Food Research and Development*, 2014, 35(18): 365-368 (in Chinese)
孙伟宁, 张巧格, 李兴兴, 韩烨. 葡萄酒酿造过程中微生物多样性的研究现状[J]. *食品研究与开发*, 2014, 35(18): 365-368
- [20] Čadež N, Zupan JR, Raspor P. The effect of fungicides on yeast communities associated with grape berries[J]. *FEMS Yeast Research*, 2010, 10(5): 619-630
- [21] Zhang SW. Study on microbial community diversity and the nitrogen metabolism flux of wine grapes[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of China University of Mining & Technology, Beijing, 2018 (in Chinese)
张世伟. 酿酒葡萄微生物群落多样性及其氮代谢通量研究[D]. 北京: 中国矿业大学(北京)博士学位论文, 2018
- [22] Bordet F, Joran A, Klein G, Roullier-Gall C, Alexandre H. Yeast-yeast interactions: Mechanisms, methodologies and impact on composition[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(4): 600
- [23] Agarbati A, Canonico L, Ciani M, Comitini F. The impact of fungicide treatments on yeast biota of Verdicchio and Montepulciano grape varieties[J]. *PLoS One*, 2019, 14(6): e0217385
- [24] Zhang JJ, Yang X, Guo C, Li MY, Zhang WY, Liu CH. Separation & identification of yeasts from pericarp of different merlot grape strains and analysis of their difference[J]. *Liquor-Making Science & Technology*, 2016(10): 22-26 (in Chinese)
张俊杰, 杨旭, 郭晨, 李明阳, 张文叶, 刘崇怀. 不同株系梅鹿辄葡萄果皮酵母菌的分离鉴定与差异分析[J]. *酿酒科技*, 2016(10): 22-26
- [25] Renouf V, Claisse O, Lonvaud-Funel A. Understanding the microbial ecosystem on the grape berry surface through numeration and identification of yeast and bacteria[J]. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 2005, 11(3): 316-327
- [26] Gao FF, Chen JL, Xiao J, Cheng WD, Zheng XJ, Wang B, Shi XW. Microbial community composition on grape surface controlled by geographical factors of different wine regions in Xinjiang, China[J]. *Food Research International*, 2019, 122: 348-360
- [27] Chavan P, Mane S, Kulkarni G, Shaikh S, Ghormade V, Nerkar DP, Shouche Y, Deshpande MV. Natural yeast flora of different varieties of grapes used for wine making in India[J]. *Food Microbiology*, 2009, 26(8): 801-808
- [28] Hart RS, Jolly NP, Ndimba BK. Characterisation of hybrid yeasts for the production of varietal Sauvignon Blanc wine: A review[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2019, 165:

105699

- [29] Martins G, Vallance J, Mercier A, Albertin W, Stamatopoulos P, Rey P, Lonvaud A, Masneuf-Pomarède I. Influence of the farming system on the epiphytic yeasts and yeast-like fungi colonizing grape berries during the ripening process[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2014, 177: 21-28
- [30] Kántor A, Mareček J, Ivanišová E, Terentjeva M, Kačaniová M. Microorganisms of grape berries[J]. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences Section B Natural, Exact, and Applied Sciences*, 2017, 71(6): 502-508
- [31] Combina M, Mercado L, Borgo P, Elia A, Jofré V, Ganga A, Martinez C, Catania C. Yeasts associated to Malbec grape berries from *Mendoza, Argentina*[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2005, 98(5): 1055-1061
- [32] Cordero-Bueso G, Arroyo T, Serrano A, Tello J, Aporta I, Vélez MD, Valero E. Influence of the farming system and vine variety on yeast communities associated with grape berries[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 145(1): 132-139
- [33] Jara C, Laurie VF, Mas A, Romero J. Microbial terroir in Chilean valleys: Diversity of non-conventional yeast[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 663
- [34] Barata A, Malfeito-Ferreira M, Loureiro V. The microbial ecology of wine grape berries[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2012, 153(3): 243-259
- [35] Kioroglou D, Kraeva-Deloire E, Schmidtke LM, Mas A, Portillo MC. Geographical origin has a greater impact on grape berry fungal community than grape variety and maturation state[J]. *Microorganisms*, 2019, 7(12): 669
- [36] Zhang SW, Chen X, Zhong QD, Huang ZB, Meng Z, Luo JX, Shi L, Bai ZH. Microbial communities on the wine grape surfaces of different cultivars[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2017, 33(3): 128-137 (in Chinese)
张世伟, 陈曦, 钟其顶, 黄占斌, 孟镇, 罗金学, 石玲, 白志辉. 不同品种酿酒葡萄表皮微生物群落多样性分析[J]. *生物技术通报*, 2017, 33(3): 128-137
- [37] Martins G, Miot-Sertier C, Lauga B, Claisse O, Lonvaud-Funel A, Soulas G, Masneuf-Pomarède I. Grape berry bacterial microbiota: Impact of the ripening process and the farming system[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2012, 158(2): 93-100
- [38] Mezzasalma V, Sandionigi A, Guzzetti L, Galimberti A, Grando MS, Tardaguila J, Labra M. Geographical and cultivar features differentiate grape microbiota in northern Italy and Spain vineyards[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 946
- [39] Bae S, Fleet GH, Heard GM. Lactic acid bacteria associated with wine grapes from several Australian vineyards[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2006, 100(4): 712-727
- [40] Nisiotou A, Sgouros G, Mallouchos A, Nisiotis CS, Michaelidis C, Tassou C, Banilas G. The use of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* and *Starmerella bacillaris* strains as a tool to create chemical complexity in local wines[J]. *Food Research International*, 2018, 111: 498-508
- [41] Francesca N, Gaglio R, Alfonzo A, Settanni L, Corona O, Mazzei P, Romano R, Piccolo A, Moschetti G. The wine: Typicality or mere diversity? the effect of spontaneous fermentations and biotic factors on the characteristics of wine[J]. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2016, 8: 769-773
- [42] Knight S, Klaere S, Fedrizzi B, Goddard MR. Regional microbial signatures positively correlate with differential wine phenotypes: Evidence for a microbial aspect to terroir[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 14233
- [43] Spano G, Torriani S. Editorial: microbiota of grapes: Positive and negative role on wine quality[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 2036
- [44] Cui Y, Liu JF. Research progress of non-*Saccharomyces* yeasts in winemaking[J]. *China Brewing*, 2010, 29(11): 13-16 (in Chinese)
崔艳, 刘金福. 非酿酒酵母在葡萄酒酿造中应用的研究现状[J]. *中国酿造*, 2010, 29(11): 13-16
- [45] Capozzi V, Garofalo C, Chiriatti MA, Grieco F, Spano G. Microbial terroir and food innovation: The case of yeast biodiversity in wine[J]. *Microbiological Research*, 2015, 181: 75-83
- [46] Harlé O, Legrand J, Tesnière C, Pradal M, Mouret JR, Nidelet T. Investigations of the mechanisms of interactions between four non-conventional species with *Saccharomyces cerevisiae* in oenological conditions[J]. *PLoS One*, 2020, 15(5): e0233285
- [47] Englezos V, Torchio F, Cravero F, Marengo F, Giacosa S, Gerbi V, Rantsiou K, Rolle L, Cocolin L. Aroma profile and composition of Barbera wines obtained by mixed fermentations of *Starmerella bacillaris* (synonym *Candida zemplinina*) and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *LWT*, 2016, 73: 567-575
- [48] Lombardi SJ, Pannella G, Iorizzo M, Moreno-Arribas MV, Tremonte P, Succi M, Sorrentino E, Macciola V, Di Renzo M, Coppola R. Sequential inoculum of *Hanseniaspora guilliermondii* and *Saccharomyces cerevisiae* for winemaking Campanino on an industrial scale[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2018, 34(11): 1-10
- [49] Benito Á, Calderón F, Benito S. The influence of non-*Saccharomyces* species on wine fermentation quality parameters[J]. *Fermentation*, 2019, 5(3): 54
- [50] De Ovalle S, Cavello I, Brena BM, Cavalitto S, González-Pombo P. Production and characterization of a β -glucosidase from *Issatchenkia terricola* and its use for hydrolysis of aromatic precursors in Cabernet Sauvignon wine[J]. *LWT*, 2018, 87: 515-522
- [51] Canonico L, Solomon M, Comitini F, Ciani M, Varela C. Volatile profile of reduced alcohol wines fermented with selected non-*Saccharomyces* yeasts under different aeration conditions[J]. *Food Microbiology*, 2019, 84: 103247
- [52] Zepeda-Mendoza ML, Edwards NK, Madsen MG, Abel-Kistrup M, Puetz L, Sicheritz-Ponten T, Swiegers JH. Influence of *Oenococcus oeni* and *Brettanomyces*

- bruxellensis* on wine microbial taxonomic and functional potential profiles[J]. American Journal of Enology and Viticulture, 2018, 69(4): 321-333
- [53] Benito S, Palomero F, Calderón F, Palmero D, Suárez-Lepe JA. Selection of appropriate *Schizosaccharomyces* strains for winemaking[J]. Food Microbiology, 2014, 42: 218-224
- [54] Azzolini M, Tosi E, Lorenzini M, Finato F, Zapparoli G. Contribution to the aroma of white wines by controlled *Torulaspora delbrueckii* cultures in association with *Saccharomyces cerevisiae*[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2015, 31(2): 277-293
- [55] Padilla B, García-Fernández D, González B, Izidoro I, Esteve-Zarzoso B, Beltrán G, Mas A. Yeast biodiversity from DOQ priorat uninoculated fermentations[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 930
- [56] Díaz C, Molina AM, Nähring J, Fischer R. Characterization and dynamic behavior of wild yeast during spontaneous wine fermentation in steel tanks and amphorae[J]. BioMed Research International, 2013, 2013: 540465
- [57] Bokulich NA, Collins TS, Masarweh C, Allen G, Heymann H, Ebeler SE, Mills DA. Associations among wine grape microbiome, metabolome, and fermentation behavior suggest microbial contribution to regional wine characteristics[J]. mBio, 2016, 7(3): e00631-e00616
- [58] Zhao HY, Li H, Liu LX, Peng S, Wang H. The research progress of stress adaptation mechanism of *Oenococcus oeni*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(7): 292-299 (in Chinese)
赵红玉, 李华, 刘龙祥, 彭帅, 王华. 酒酒球菌胁迫适应性机制的研究进展[J]. 中国食品学报, 2019, 19(7): 292-299
- [59] Mendes Ferreira A, Mendes-Faia A. The role of yeasts and lactic acid bacteria on the metabolism of organic acids during winemaking[J]. Foods, 2020, 9(9): 1231
- [60] Portillo MDC, Mas A. Analysis of microbial diversity and dynamics during wine fermentation of Grenache grape variety by high-throughput barcoding sequencing[J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 72: 317-321
- [61] Mezzasalma V, Sandionigi A, Bruni I, Bruno A, Lovicu G, Casiraghi M, Labra M. Grape microbiome as a reliable and persistent signature of field origin and environmental conditions in Cannonau wine production[J]. PLoS One, 2017, 12(9): e0184615
- [62] Di Gianvito P, Perpetuini G, Tittarelli F, Schirone M, Arfelli G, Piva A, Patrignani F, Lanciotti R, Olivastri L, Suzzi G, et al. Impact of *Saccharomyces cerevisiae* strains on traditional sparkling wines production[J]. Food Research International, 2018, 109: 552-560
- [63] Wang XC, Li AH, Dizy M, Ullah N, Sun WX, Tao YS. Evaluation of aroma enhancement for “Ecolly” dry white wines by mixed inoculation of selected *Rhodotorula mucilaginosa* and *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Food Chemistry, 2017, 228: 550-559
- [64] Katarina F, Katarina M, Katarina D, Ivan S, Fedor M. Influence of yeast strain on aromatic profile of Gewürztraminer wine[J]. LWT - Food Science and Technology, 2014, 59(1): 256-262
- [65] Tu C, Pan QH, Zhu BQ, Wu YW, Wang ZQ, Duan CQ. Progress in study of monoterpene compounds in grape and wine[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2011, 38(7): 1397-1406 (in Chinese)
涂崔, 潘秋红, 朱保庆, 吴玉文, 王志群, 段长青. 葡萄与葡萄酒单萜化合物的研究进展[J]. 园艺学报, 2011, 38(7): 1397-1406
- [66] Padilla B, Gil JV, Manzanares P. Past and future of non-*Saccharomyces* yeasts: From spoilage microorganisms to biotechnological tools for improving wine aroma complexity[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 411
- [67] Merín MG, Morata de Ambrosini VI. Kinetic and metabolic behaviour of the pectinolytic strain *Aureobasidium pullulans* GM-R-22 during pre-fermentative cold maceration and its effect on red wine quality[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 285: 18-26
- [68] He M, Liu C, Zhu FM, Ge C, Li J, Yan HJ. Diversity and application potential of enzyme producing yeasts in Changli[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(5): 59-67 (in Chinese)
何曼, 刘畅, 朱凤妹, 葛超, 李军, 阎贺静. 昌黎产区产酶酵母多样性及其应用潜力分析[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(5): 59-67
- [69] Lu Y, Sun F, Wang WX, Liu YQ, Wang J, Sun JF, Mu JL, Gao Z. Effects of spontaneous fermentation on the microorganisms diversity and volatile compounds during ‘Marselan’ from grape to wine[J]. LWT, 2020, 134: 110193
- [70] Widder S, Allen RJ, Pfeiffer T, Curtis TP, Wiuf C, Sloan WT, Cordero OX, Brown SP, Momeni B, Shou WY, et al. Challenges in microbial ecology: Building predictive understanding of community function and dynamics[J]. The ISME Journal, 2016, 10(11): 2557-2568
- [71] Kasfi K, Taheri P, Jafarpour B, Tarighi S. Characterization of antagonistic microorganisms against *Aspergillus* spp. from grapevine leaf and berry surfaces[J]. Journal of Plant Pathology, 2018, 100(2): 179-190
- [72] Branco P, Kemsawasd V, Santos L, Diniz M, Caldeira J, Almeida MG, Arneborg N, Albergaria H. *Saccharomyces cerevisiae* accumulates GAPDH-derived peptides on its cell surface that induce death of non-*Saccharomyces* yeasts by cell-to-cell contact[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2017, 93(5): fix055
- [73] Comitini F, Capece A, Ciani M, Romano P. New insights on the use of wine yeasts[J]. Current Opinion in Food Science, 2017, 13: 44-49
- [74] Avbelj M, Zupan JR, Raspor P. Quorum-sensing in yeast and its potential in wine making[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, 100(18): 7841-7852
- [75] Chu HY, Gao GF, Ma YY, Fan KK, Delgado-Baquerizo M. Soil microbial biogeography in a changing world: Recent advances and future perspectives[J]. mSystems, 2020, 5(2): e00803-19