



## 专论与综述

## 营养相互作用对传统发酵食品微生物群落构建的推动作用研究进展

魏军林<sup>1,2</sup> 聂尧<sup>1,2</sup> 杜海<sup>\*1,2</sup> 徐岩<sup>\*1,2</sup>

1 江南大学工业生物技术教育部重点实验室 江苏 无锡 214122

2 江南大学生物工程学院酿造微生物学与应用酶学研究室 江苏 无锡 214122

**摘要:** 传统发酵食品是由自然接种的多微生物组成的混菌体系, 了解微生物群落自发式构建的机制是认识发酵机理和调控发酵的关键。尽管大量的测序数据已经对传统发酵食品中微生物群落的结构和功能有了较为清晰的认识, 但是仍然不清楚微生物群落自发式构建的机制。本文提出微生物群落是分布式的代谢系统, 微生物之间的营养相互作用推动了传统发酵食品微生物群落的自发式构建。本文主要阐述了营养相互作用的概念、发生的机理以及研究方法体系, 整理了传统发酵食品中微生物之间营养相互作用的研究进展, 并提出了未来的研究方向。通过营养相互作用推动的传统发酵食品微生物群落的自发式构建有助于定向控制发酵过程中的微生物种类、提高生产效率和改善发酵质量。

**关键词:** 传统发酵食品, 微生物群落构建, 营养相互作用, 定向调控

## How trophic interactions drive the spontaneous construction of microbial community in traditional fermented foods: a review

WEI Junlin<sup>1,2</sup> NIE Yao<sup>1,2</sup> DU Hai<sup>\*1,2</sup> XU Yan<sup>\*1,2</sup>

1 Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China

2 Brewing and Enzyme Technology Center, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China

**Abstract:** Traditional fermented food is a system composed of a great variety of naturally inoculated microorganisms. Understanding the mechanism of microbial spontaneous construction is the foremost to unveil and control fermentation process. Although a large amount of sequencing data is produced to determine the microbial diversity and function, the mechanism of microbial spontaneous construction is still unclear. Here, we build on the perspective that microbial communities are fundamentally distributed metabolic systems, and are driven by trophic interactions. This review expounds the concept, mechanism and research methods of trophic interaction, and summarizes the research advances and future

**Foundation items:** Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20201341); National Key Research and Development Program of China (2018YFC1604100)

**\*Corresponding authors:** Tel: 86-510-85918201

E-mail: DU Hai: duhai88@126.com; XU Yan: yxu@jiangnan.edu.cn

**Received:** 08-03-2021; **Accepted:** 29-04-2021; **Published online:** 10-05-2021

**基金项目:** 江苏省自然科学基金(BK20201341); 国家重点研发计划(2018YFC1604100)

**\*通信作者:** Tel: 0510-85918201

E-mail: 杜海: duhai88@126.com; 徐岩: yxu@jiangnan.edu.cn

**收稿日期:** 2021-03-08; **接受日期:** 2021-04-29; **网络首发日期:** 2021-05-10

development of trophic interactions of microbial community in traditional fermented foods. The spontaneous construction of microbial community controlled by trophic interactions is helpful to targeting control microorganisms, improve the production efficiency and quality of traditional fermented foods.

**Keywords:** traditional fermented foods, microbial community construction, trophic interactions, targeting control

传统发酵食品的制作已有几千年的历史,是人们为了保存食物和提升食物口感而发明的。传统发酵食品充分利用了微生物的作用,其制作过程通常是由多种微生物通过酶转化和物质发酵而完成。一般情况下,微生物来源的水解酶降解原料中的大分子物质(淀粉、蛋白质、纤维素、多糖等)为小分子营养物质(单糖、氨基酸等),这些小分子物质被发酵微生物利用,生成终产物如乙醇、乳酸、乙酸等,同时伴随着众多的风味物质<sup>[1]</sup>。

发酵是一个复杂的群体微生物生态系统,包含来自曲、原料、器具和酿造环境的多种微生物,这些微生物的代谢活性对发酵食品的安全、风味、质地有着非常重要的作用,具有一个稳定且鲁棒性强的微生物群体是酿造高质量发酵食品的前提<sup>[2]</sup>。然而自然接种的发酵技术不利于传统发酵食品生产的控制,传统发酵食品的改革创新需要清晰认识发酵酿造机制以及微生物群落的构建机制。近年来,微生物组学和分子生物学技术的发展让我们对参与食品发酵的微生物结构组成、演替规律及酿造功能有了比较清晰的认识,为传统发酵食品的改革提供了一定的理论基础,但是自然环境来源的微生物如何自发式构建,以及何种因素推动其朝着有序、有规律的方向演替仍然不清晰。我们认为传统发酵食品体系本质上是一个代谢系统,是在发酵环境多重压力胁迫下大分子与小分子物质的互补关系上建立的,细胞与营养物质之间的相互关系推动了微生物群落的形成。在此基础上,我们提出营养相互作用推动了传统发酵食品中微生物群落的自发式构建。本文介绍了营养相互作用的概念、发生的机理及研究方法,整理了传统发酵食品中微生物之间的营养相互作用研究进展,并提出了未来的研究方向。通过营养相互作用推动的传统发酵食品微生物

群落构建机制的解析有望全面了解发酵过程,为合成微生物群落和定向调控提供研究依据,实现传统发酵食品的高效率生产。

## 1 传统发酵食品微生物群落的基本特征

### 1.1 传统发酵食品微生物来源于自然环境

传统发酵食品酿造是自然接种的开放式发酵体系,酿造过程中的每一个阶段都富集了来自自然环境的不同微生物,以中国白酒酿造为例,其酿造属于边糖化边发酵的固态发酵过程,酿造过程包括原料蒸煮、加曲、堆积发酵和窖池发酵,因此传统酿造食品微生物主要来源于以下3方面:

(1) 酿造原料:传统发酵食品酿造所用原料众多,如谷物、豆类、果蔬、牛奶等,其来源及处理方式都会影响微生物的定殖及繁殖,如酱香型白酒酿造原料为发酵过程提供了微生物 *Klebsiella* 和 *Sphingomonas*<sup>[3]</sup>。

(2) 种曲:我国传统发酵食品(如白酒、醋、酱酒等)通常以曲作为发酵剂,实现边糖化边发酵,曲不仅为这些食品的后续发酵提供了水解酶(淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶),同时也提供了大量微生物,例如大曲为清香型白酒酿造提供了 9.10%–27.39% 的细菌和 61.06%–80.00% 的真菌<sup>[4]</sup>。

(3) 酿造环境:传统发酵食品在自然条件下进行,环境(车间空气、地面、生产器具)来源的微生物会定殖到主发酵过程中,如白酒酿造环境为发酵过程提供了 62.91%–90.90% 的细菌和 20.00%–38.94% 的真菌<sup>[4]</sup>。窖泥是中国白酒酿造特有的环境,其独特的厌氧生境为浓香型白酒酿造提供了重要的厌氧微生物,为发酵过程提供了超过 14% 的原核微生物<sup>[5]</sup>。

### 1.2 微生物群落物种多样性高,代谢产物复杂

不同于西方发酵食品仅由纯种或者少量物种

完成发酵过程,中国传统发酵食品中微生物物种多样、种属丰富,如中国白酒酿造过程集成了包括霉菌、酵母、细菌及厌氧菌在内的超过 200 个属的物种,完成了从原料大分子物质到乙醇和风味物质的转变,此过程产生了多种代谢产物。目前对传统发酵食品中的挥发性风味物质研究得较透彻,却忽略了非挥发性物质的解析,非挥发性物质既是风味物质的重要组成成分,同时又是微生物的营养物质来源,因此对非挥发性物质的解析至关重要。

### 1.3 微生物群落与环境及群落内部成员之间存在复杂的相互关系

#### 1.3.1 微生物群落与环境之间的关系

发酵过程中,内生环境因子(温度、水分、酸度等)对微生物群落的物种组成和演替具有重要的影响。温度是影响清香型白酒一年四季不同批次酿造过程中微生物群落结构差异的主要因素<sup>[6]</sup>,泡菜发酵过程中 NaCl 和总酸分别是调节发酵前期和后期微生物菌群结构的主要因素<sup>[7]</sup>。

#### 1.3.2 微生物群落内部成员之间的相互关系

传统发酵食品微生物群落内部成员之间存在复杂的相互关系,是群落保持稳定及产生复杂风味的重要保障<sup>[8]</sup>。近年来,国内外学者对传统发酵食品中微生物之间的相互作用关系及互作机制进行了详细的研究,如物种之间关于营养物质和生态位的竞争、基于代谢物交换的共生关系等。这些研究是基于纯培养微生物在异位条件下的结果,对于未培养微生物的功能认识严重缺乏,更重要的是对多菌种发酵体系中微生物相互作用机制以及这种机制对发酵过程的影响缺乏系统的研究。

### 1.4 解析微生物群落自发式构建机制是认识发酵与实现调控的关键

传统食品发酵过程中,微生物与微生物及微生物与环境间的相互作用使体系内部形成了一个在时空上持续演变又相对稳定的生物群落结构。然而基于自然接种的发酵食品生产周期长、微生物组成复杂、环境依赖性强,阻碍了生产效率的提高,使

得传统发酵食品的品质稳定性很难控制,无法精确调控。大量的研究已表明,传统发酵食品体系是可追踪、可重现、可扰动的模式生态系统,如奶酪皮已被作为模式微生物生态系统<sup>[9]</sup>。要实现传统发酵食品体系的可重现与可控以达到调控的目的,首先需要明确在自然接种条件下发酵微生物如何自发式构建成独特的微生物群落并进行精准代谢生成独特的风味物质,目前关于发酵食品微生物群落的构建机制鲜有报道。

虽然传统发酵食品微生物群落来源于自然环境,外部环境和发酵过程中的内生环境对微生物群落的形成和推动有着重要的影响,但是每种传统发酵食品都基于其特有的发酵原料,微生物群落内部成员形成了在物质利用及调控上的代谢网络关系,在发酵过程的各种压力条件下,这种代谢网络关系推动着微生物群落的演替并形成特有的风味品质,因此,基于原料大分子物质的营养相互作用决定了传统发酵食品微生物群落的构建及演替,这种现象在其他自然微生物群落的形成中也已被证实。如:Goldford 等<sup>[10]</sup>在对土壤和植物来源的自然微生物群落在实验室条件下通过添加特定碳源的合成培养基监测其组装过程时,发现尽管这些不同群落中的物种组成存在很大的差异,但是最终群体的物种组成和功能严格受营养物质的供应决定,在相同碳源的培养基中进行培养时,不同来源的微生物群落其物种组成最终趋向一致,而且物种之间存在多种代谢物依赖现象,外部资源供应和代谢物依赖推动了微生物群落的组装,并保证了群落中多物种的共存和多样性。Du 等<sup>[11]</sup>通过多模块分工构建了白酒中用于生成挥发性硫化物 3-甲硫基丙醇的合成微生物群落,其分为 3 个模块,每个模块包含一个超级物种,第 1 个模块是芽孢杆菌水解原料高粱中的蛋白质提供合成前体物质蛋氨酸,第 2 个模块是酿酒酵母利用蛋氨酸生成 3-甲硫基丙醇,第 3 个模块是乳杆菌强化蛋氨酸的再生成。虽然此研究中的合成微生物群落只包含 3 个物种,以一种物质的合

成为导向,但展示了传统发酵食品体系中微生物之间存在的营养相互关系,通过这种营养相互关系有望实现自然微生物群落的重构及靶向调控风味物质。因此,基于营养相互作用关系的微生物群落构建机制的解析是认识发酵机制、实现调控的必然趋势。

## 2 营养相互作用概述

### 2.1 营养相互作用的定义

传统发酵食品是多菌种、多代谢物的复杂体系,大量研究表明一个物种产生的代谢物可以作为其他物种的营养物质来源,也可能抑制或调节其他物种的生长。因此,营养相互作用是指在一个微生物群落中,一个物种产生的代谢物作为营养因子、调节因子或抑制因子来调节其他物种的生长与代谢,从而建立起微生物群落的代谢调控网络,推动

微生物群落的构建并维持群落中物种的多样性及稳定性。

以中国传统发酵食品(白酒、食醋)的酿造为例进行说明。在中国白酒酿造体系中,集成了霉菌、酵母、细菌及厌氧菌四大微生物模块<sup>[12]</sup>,这4个模块之间存在密切的营养级联关系,如图1所示。白酒酿造原料以高粱、玉米、小麦等为主(淀粉质为主,含有一定比例的蛋白质和脂肪),霉菌和芽孢杆菌等糖化菌会分泌淀粉酶、糖化酶、蛋白酶等水解酶,将这些大分子物质水解为寡糖、单糖和氨基酸等,进而酵母菌和乳酸菌利用这些物质完成主发酵过程产生乙醇、乳酸以及其他风味物质;乳酸菌是白酒发酵后期的主导优势细菌,而且乳酸菌是氨基酸营养缺陷,酵母菌合成的氨基酸和其他一些调节因子可以刺激乳酸菌的生长与代谢;白酒酿造特有的

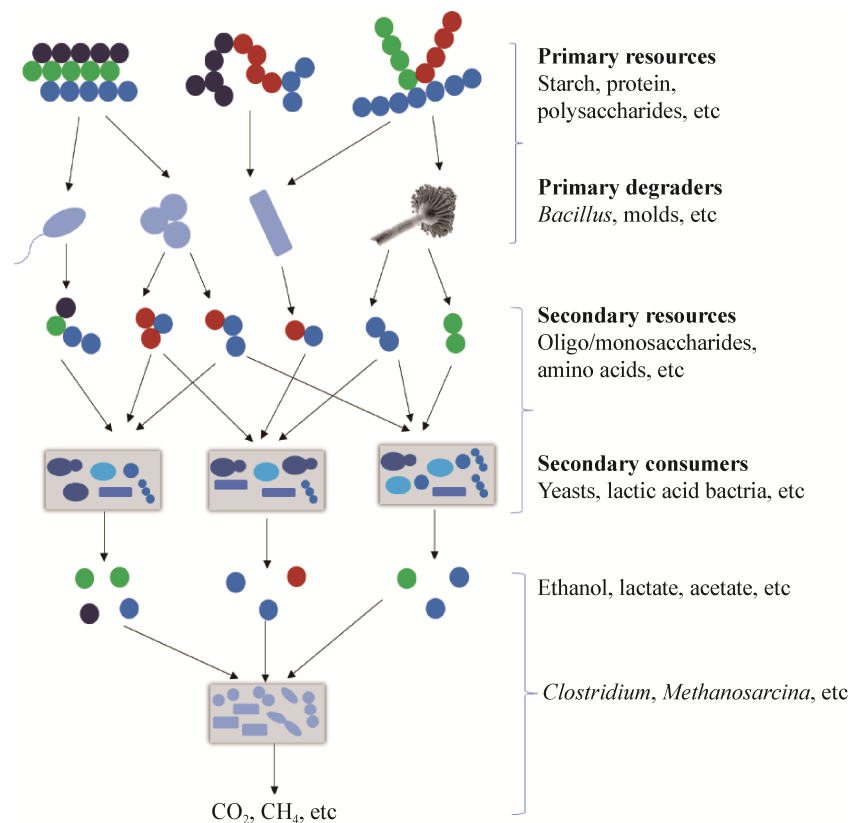


图1 中国白酒酿造体系中微生物之间的营养级联示意图

Figure 1 Schematic diagram of nutritional cascade between microorganisms in Chinese liquor

窖泥生态系统为白酒酿造提供了丰富的厌氧微生物,窖泥厌氧生境是由细菌和产甲烷古菌组成的共生系统,优质窖泥微生物菌群具有从复杂碳源降解到甲烷生成的代谢互作网络,即当窖泥中同时存在水解菌群、互营养产乙酸菌群和产甲烷菌群,而且该三类菌群代谢互作趋于稳定时,窖泥微环境将维持偏中性,微生物群落趋向稳定。在厌氧生境中,除了微生物之间的营养代谢互作外,还存在物种间的能量和电子传递<sup>[13-14]</sup>,维持着厌氧微生物群的互作与稳定,但是目前对白酒厌氧微生物之间能量和电子传递的研究很少。与中国白酒发酵相似,中国传统食醋的制作过程中也存在密切的营养级联反应,传统食醋是固态或半固态发酵过程,包含淀粉糖化、乙醇发酵与乙酸发酵这3个主要步骤,谷物原料中的淀粉等大分子被来自曲中的糖化微生物和水解酶降解为可发酵性糖,然后糖被酵母菌等发酵微生物转化为乙醇,之后乙醇又被醋酸菌和乳酸菌等转化为醋酸,这个过程伴随众多风味物质的生成<sup>[15]</sup>。以上的研究结果是基于传统可培养和微生物组学技术手段初步得出的结论,传统酿造体系物种多样性高、代谢产物复杂,必然存在更复杂的营养相互关系,利用新技术、新手段对酿造过程中微生物菌群结构的解析、物种之间代谢互作网络以及电子能量传递机制的解析将是我们认识发酵机制、定向调控的关键,也是未来的研究趋势。

## 2.2 微生物之间营养相互作用发生的机理

通过查阅对单菌和群体微生物营养相互关系的研究,我们总结了微生物群落中发生营养相互关系的机理,包括但不限于以下4种:(1)当体系中的营养物质匮乏时,微生物会合成其生长所需的物质并流到环境中,当外部资源供应消失时,利用自身合成的物质维持生命<sup>[16-17]</sup>。在营养限制的环境中会触发细胞的代谢失衡,从而释放出一些代谢物,为其他细胞的生长和相互作用创造生态位,如在赖氨酸营养缺陷型酵母的培养体系中,当环境中的赖氨酸缺少时,酵母细胞表现出代谢失衡,会释放有机硫化物,供体系中的其他物种利用<sup>[18]</sup>。(2)噬菌

体诱导的细胞裂解会导致细胞内含物的释放,也是影响营养相互作用的另一种生态机制,如在陆生深层生物圈的微生物群体研究中,发现由噬菌体诱导细胞释放出的代谢产物维持了关键的发酵代谢,保持了系统中微生物的多样性和稳定性<sup>[19]</sup>。传统发酵食品中也存在多种病毒,这些病毒是否会影响微生物菌群结构的形成还需进一步解析<sup>[20]</sup>。此外,酵母自溶是发酵食品中一种常见的现象,其释放一些营养物质,构成了其他微生物的营养来源<sup>[21]</sup>。(3)一些大分子物质的水解需要胞外水解酶,在细胞外水解后其产物释放到环境中被其他微生物利用,如最常见的淀粉被水解释放寡糖和单糖供其他微生物利用<sup>[22]</sup>。(4)很多微生物都具有无成本排泄代谢物供其他物种生存的能力,如Pacheco等<sup>[23]</sup>在用代谢模型研究24个物种两两配对的代谢物生成情况时,发现在营养物质匮乏的体系中,无成本代谢物的释放是维持微生物相互作用关系的基础。综上所述,存在多种机制(还有其他潜在机制尚未发现)可以解释在各种需氧和厌氧环境下微生物细胞释放代谢产物的原因,这些机制的解析表明具有营养结构的微生物群体可能是基于细胞代谢设计原则的结果。微生物能够利用外部供应物质及分泌大量代谢物是为了能够适应和调节营养物质的供应和资源分配,同时也是为了响应其他微生物的需求,为其他物种创造生态位,保持了物种多样性。

## 2.3 营养相互作用的研究手段

### 2.3.1 微生物组学技术

随着高通量测序技术和分子生物学的发展,形成了包括宏基因组学、宏转录组学、宏蛋白组学及宏代谢组学手段在内的微生物组学技术,用于解析传统发酵食品微生物群落的物种结构组成、功能特性和潜在的代谢模式,并挖掘工业重要微生物和酶资源。宏基因组可以测定一个群体中的微生物结构组成并检测物种间的相互作用模式,用于预测群体成员之间的代谢相互关系。如Lu等<sup>[24]</sup>利用宏基因组学手段重组了甲烷菌属(*Methanosaeta*)的乙酸发酵产甲烷途径,此研究表明窖泥中的营养代谢相互

作用对于维持窖泥微生物的甲烷生成至关重要。宏转录组和宏蛋白组学用于判定编码代谢相关功能的基因和酶表达情况。如 Xu 等<sup>[25]</sup>利用宏蛋白组学技术研究了开菲尔中常见的微生物 *Lactobacillus hordei* 和 *Saccharomyces cerevisiae* 的相互作用关系,发现在开菲尔的氮源和有机酸限制条件下, *S. cerevisiae* 释放葡萄糖酸、果糖、氨基酸和脂肪酸来促进 *L. hordei* 的生长。代谢组学可以检测发酵过程中的代谢物质变化,从而预测微生物之间可能存在的营养相互关系。在目前的传统发酵食品研究中,多组学技术联用是研究多个物种和群体之间营养相互关系最常见的手段。Ponomarova 等<sup>[26]</sup>利用代谢组学、转录组学和分子遗传操作手段证明了酵母菌的氮流向途径为乳杆菌提供了生长生态位; Blasche 等<sup>[27]</sup>通过宏转录组和代谢组学技术研究了开菲尔发酵过程中原核微生物(乳酸菌和乙酸菌)和真核生物(酵母菌)之间长期稳定共存的机制,发现早期定殖的物种通过产生氨基酸和乳酸为后来的物种提供了生态位,种间的营养相互关系保证了在长期生产进化中多物种的共存。

### 2.3.2 合成微生物组技术

微生物群落是在资源竞争、营养共生、群体感应和基因水平转移等相互作用机制下形成的复杂生态系统。虽然自然界中的微生物很难全部筛选出来,但是众多研究表明传统发酵食品体系是可追踪、可重复的,随着可培养组学技术手段的进步,大量原位体系中的微生物被筛选出来,并通过还原原位体系组成了合成微生物群落。产生的合成微生物群落具有一定的复杂性,在替代自然发酵群落上具有一定的效果,可以用于研究发酵微生物群落成员之间存在的营养相互关系。合成微生物组的设计原则包括“自上而下(Top-Down Design)”和“自下而上(Bottom-Up Design)”,“自上而下”一般用于在微生物群落互作机制尚不清晰的基础上,通过增加环境扰动变量,预测群落中微生物之间的相互关系变化,以达到操纵最终所需要的功能;“自下而上”是指首先通过高通量测序和多组学等相关技术的结

果预测微生物群落特定的代谢网络及其调控机制,然后设计最终所需功能的微生物群落,此方法以微生物群落的代谢网络及其产物为核心,突出微生物的互作特点(如协同、竞争等),在分子层面设计并优化特定微生物群落的代谢特征<sup>[28]</sup>。

### 2.3.3 代谢模型的构建

通过构建代谢模型来研究微生物之间的营养相互关系也是目前最常见的一种方法,其被称为消耗者-资源(Consumer-Resource)模型。通常情况下,此模型包括了能量输入、随机定殖过程、代谢物的交换和利用,模拟  $S$  个物种动态竞争  $M$  种可用资源的过程,通过测定动态过程中代谢物和物种丰度的变化来预测微生物之间的营养相互作用关系<sup>[29]</sup>。建立代谢模型最大的优点是可以外部施加环境扰动,研究扰动下微生物的代谢相互关系变化。如 2 株具有代谢依赖的酵母可以供给彼此必需的氨基酸,根据外部提供的氨基酸含量,2 株酵母之间表现出 7 种不同的关系,从少量外部供应营养的共生关系到高含量外部供应营养的竞争关系等<sup>[30]</sup>。代谢模型的构建是未来的主要研究趋势。

## 3 传统发酵食品中微生物之间的营养相互作用研究进展

传统发酵食品中的代谢物众多,微生物群落内部成员之间存在异常复杂的代谢关系,一些物种产生的代谢物可能作为其他物种的营养物质来源,也可能抑制其他物种的生长。近年来,通过可培养实验和多组学技术的应用,研究者们对传统发酵食品中微生物之间的营养相互关系进行了较多的研究。根据代谢物的用途,我们将这些营养相互作用归结为营养因子(Trophic Factor)、调节因子(Regulatory Factor)和抑制因子(Inhibitory Factor),发酵体系中往往存在多种营养相互作用(表 1)。

### 3.1 营养因子

营养因子是指一个物种产生的代谢产物是另一个物种的直接营养物质来源,这些营养物质主要包括碳水化合物和氨基酸,最常见的例子是淀粉、

表 1 传统发酵食品中的主要微生物及其之间的营养相互作用类型

Table 1 The main microbes and their trophic interactions in traditional fermented foods

| 发酵食品<br>Fermented food                        | 发酵基质<br>Main ingredients                 | 主要优势微生物<br>Main microbes   | 营养相互作用类型<br>Types of trophic interaction   |
|---|--|--|--|
| Baijiu (Chinese liquor) <sup>[24,31-34]</sup> | Sorghum, wheat, barley, rice, maize, pea | Filamentous fungi: <i>Aspergillus</i> , <i>Penicillium</i> , <i>Rhizomucor</i> , <i>Rhizopus</i> , <i>Monascus</i><br>Yeast: <i>Candida</i> , <i>Pichia</i> , <i>Saccharomyces</i> , <i>Zygosaccharomyces</i> , <i>Wickerhamomyces</i> , <i>Kazachstania</i><br>Bacteria: <i>Lactobacillus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Acetobacter</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Weissella</i> , <i>Methanosaeta</i> , <i>Methanosarcina</i> , <i>Petrimonas</i> , <i>Proteiniphilum</i> | Trophic factor:<br>Filamentous fungi→Oligo- and monosaccharides, amino acids→Yeast<br>Yeast→Amino acids→Lactic bacteria<br>Microbial communities of hydrolytic→Short- and medium chain fatty acids→<br>Syntrophic acetogen→Acetate→Methanogens<br>Inhibitory factor:<br>Filamentous fungi→Mannitol and erythritol→Yeasts<br><i>Pichia</i> →2-phenylethanol→Filamentous fungi |
| Kefir <sup>[25,27]</sup>                      | Milk, kefir grains                       | Yeast: <i>Saccharomyces</i> , <i>Kazachstania</i><br>Bacteria: <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Acetobacter</i>   | Trophic factor:<br>Early members→Amino acids and lactate→Followers<br>Yeast→Amino acids→Lactic bacteria  |
| Sourdough <sup>[35-36]</sup>                  | Wheat flour                              | Yeast: <i>Candida</i> , <i>Kazachstania</i> , <i>Saccharomyces</i> , <i>Torulaspora</i> , <i>Wickerhamomyces</i><br>Bacteria: <i>Lactobacillus</i> , <i>Weissella</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Acetobacter</i>  | Trophic factor:<br><i>S. cerevisiae</i> →Amino acids, CO <sub>2</sub> →Lactic bacteria<br>Maltose-positive lactic bacteria→Glucose→Maltose-negative yeasts   |
| Wine <sup>[37]</sup>                          | Grape                                    | Yeast: <i>Saccharomyces</i> , <i>Sporobolomyces</i> , <i>Torulaspora</i> , <i>Yarrowia</i> , <i>Zygoascus</i> , <i>Zygosaccharomyces</i><br>Bacteria: <i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Weissella</i> , <i>Oenococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Gluconobacter</i> spp.  | Trophic factor:<br>Yeast autolysis→Nitrogen compounds→Bacteria<br>Regulatory factor:<br>Yeast→Ammonia, farnesol, tryptophol, and phenylethanol   |
| Cocoa <sup>[38]</sup>                         | Cocoa beans                              | Yeast: <i>Saccharomyces</i> , <i>Pichia</i> , <i>Kazachstania</i> , <i>Nectria</i><br>Bacteria: <i>Enterobacter</i> , <i>Acetobacter</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Bacillus</i>   | Regulatory factor:<br>Quorum sensing→Bacterial dominance   |
| Yogurt <sup>[39-41]</sup>                     | Milk                                     | Yeast: <i>Saccharomyces</i> , <i>Pichia</i><br>Bacteria: <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterobacter</i>  | Inhibitory factor:<br>Lactic bacteria→Antimicrobial compounds (e.g. lactate and bacteriocins)→Fungi and pathogens<br>Lactic bacteria→Manganese ion depletion→Spoilage yeast and molds  |
| Cheese <sup>[9,42-43]</sup>                   | Milk                                     | Fungi: <i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Chrysosporium</i> , <i>Debaryomyces</i> , <i>Galactomyces</i> , <i>Candida</i> , <i>Scopulariopsis</i> ,<br>Bacteria: <i>Staphylococcus</i> , <i>Brevibacterium</i> , <i>Brachybacterium</i> , <i>Arthrobacter</i> , <i>Nocardiosis</i> , <i>Hafnia</i> , <i>Halomonas</i> , <i>Vibrio</i> , <i>Halomonas</i> , <i>Pseudoalteromonas</i>   | Trophic factor:<br><i>Hafnia alvei</i> →Iron→ <i>Brevibacterium aurantiacum</i><br><i>Brevibacterium aurantiacum</i> →Glycerol→ <i>Hafnia alvei</i><br>Regulatory factor:<br>Fungi→Volatiles→ <i>Vibrio casei</i> and <i>Vibrio</i> -dominated community   |

纤维素等多糖大分子物质被霉菌、芽孢杆菌等微生物分泌的水解酶降解成寡糖、单糖等小分子物质供发酵微生物利用。中国白酒酿造是多酶协同糖化的过程,宏蛋白组学技术发现清香型白酒酿造过程中包含 46 种碳水化合物水解酶,来源于根霉属、曲霉属和根毛霉属的  $\alpha$ -淀粉酶和葡萄糖苷酶是最重

要的糖化酶,这些糖化酶水解原料中的多糖,形成了由葡萄糖、D-半乳糖、阿拉伯糖、麦芽糖和纤维二糖组成的糖谱,其中葡萄糖和麦芽糖与发酵过程中微生物群落的演替变化具有显著相关性,而且当葡萄糖和麦芽糖以 9:1 (质量比)组合时,能显著提高功能微生物酿酒酵母和发酵乳杆菌的生物量



和乙醇产量<sup>[44-46]</sup>。此外, 发酵过程中不同的糖会选择不同的发酵微生物, 从而造成微生物结构组成及演替的差异<sup>[33,47]</sup>。

作为传统发酵食品中最常见的两类微生物, 酵母菌和乳酸菌之间存在密切的营养互作关系。在富含氮源的体系中, 酵母菌启动相关代谢途径将氮源转换为氨基酸供乳酸菌生长代谢, 尤其是在乳糖为碳源的体系中, 这种共生关系更显著<sup>[26]</sup>。此外, 乳酸菌可以分泌麦芽糖水解酶, 将体系中的麦芽糖水解为葡萄糖, 乳酸菌将葡萄糖外排后, 麦芽糖阴性酵母菌则利用外排的葡萄糖进行生长与代谢, 碳源竞争的避免使得酵母菌和乳酸菌都得以生长增殖<sup>[48]</sup>。保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌是乳制品发酵过程中的重要微生物, 保加利亚乳杆菌几乎没有合成氨基酸的能力, 而嗜热链球菌则有除组氨酸以外的所有与氨基酸合成相关的酶, 保加利亚乳杆菌因其较强的蛋白水解力为嗜热链球菌提供生长所需的氨基酸和短肽<sup>[49]</sup>。然而大多数保加利亚乳杆菌缺乏丙酮酸-甲酸裂解酶, 不能产生甲酸、叶酸及吡啶, 而嗜热链球菌具有较高的丙酮酸-甲酸裂解酶活性, 为保加利亚乳杆菌提供了生长所需的物质<sup>[50]</sup>。

中国传统发酵食品的酿造几乎都涉及厌氧发酵过程, 厌氧体系中存在更加密切且复杂的营养代谢互作关系。如中国浓香型白酒发酵的窖泥厌氧生境体系中同时存在水解、发酵、互营养产酸和产甲烷菌群, 这些菌群形成了从复杂碳源降解到甲烷生成的代谢互作网络, 当这些菌群的代谢互作趋向稳定时, 窖泥微生物结构稳定、质量最优; 相反地, 如果这些菌群结构不稳定会造成代谢紊乱, 影响窖泥的质量, 如当产酸菌大量增殖时, 其产生的超量乳酸无法通过微生物菌群代谢互作转化为甲烷, 窖泥质量会退化<sup>[51-53]</sup>。在产甲烷厌氧生境中, 甲烷生产者同时会依赖发酵菌群提供的电子载体(氢、乙酸盐、甲酸盐和 CO<sub>2</sub>)<sup>[54-55]</sup>。Pham 等<sup>[42]</sup>在用奶酪中常见的 3 个物种 *Debaryomyces hansenii*、*Brevibacterium aurantiacum* 和 *Hafnia alvei* 组成的小型合成培养基研究物种之间的代谢相互作用时, 发现 *H. alvei* 通

过铁载体生成的方式为 *B. aurantiacum* 提供铁离子, *B. aurantiacum* 分泌三酰基甘油酯酶水解甘油三酸酯释放甘油供 *H. alvei* 生长。

### 3.2 调节因子

调节因子是指一些物种产生的代谢物可以调节其他物种的生长与代谢, 从而影响微生物群落的组装与演替。最常见的是群体感应现象, 是由一些被称为自诱导物的小分子物质介导的群体交流现象, 一些物种产生信号分子并释放到环境中, 当这些信号物质的浓度达到一定的阈值后触发细胞响应信号分子, 导致基因表达的改变, 从而影响微生物之间的相互关系和微生物群体的演替。真核生物和原核生物产生的信号分子不一样, 在酵母中检测到的信号分子主要是一些芳香醇如酪醇、法尼醇、苯乙醇、色胺醇和氨, 通常发生在葡萄酒和奶酪发酵过程中; 细菌产生的信号分子包括信号肽(乳酸链球菌肽、细菌素、植物乳杆菌素等)、酰基高丝氨酸内酯和 Autoinducer-2 等, 主要由乳酸菌产生, 常见于泡菜、酸面团发酵过程中<sup>[56]</sup>。这些调节因子介导了微生物群落的形成, 如在可可豆的发酵过程中, 在多种物种中都检测到了群体感应现象, 从而调节了不同发酵时间的优势主导微生物<sup>[38]</sup>。

### 3.3 抑制因子

抑制因子是指一些物种产生的代谢物可以抑制其他物种的生长及代谢, 这种抑制可以分为 2 种: (1) 有益微生物产生的代谢物抑制有害微生物的生长, 如最常见的乳酸菌产生的乳酸和芽孢杆菌产生的抗菌肽对有害微生物的抑制; (2) 一些微生物产生的代谢物对有益功能微生物产生抑制, 从而影响发酵效率、降低产量。

在酸面团和发酵奶制品中, 乳酸菌通过产生酸、细菌素和抗菌肽抑制病原菌和真菌, 为有益微生物的生长代谢创造了适宜条件, 并维持了发酵稳定<sup>[39,57]</sup>。乳酸菌能够抑制病原菌和真菌的另一新机制是对离子的竞争排斥, 乳酸菌迅速消耗掉体系中的微量元素锰, 从而延缓了体系中病原菌的生长<sup>[40]</sup>。从高温酿造大曲中筛选的芽孢杆菌能够合成



表面活性素,抑制了大曲中产生不良风味物质 Geosmin 的入侵微生物 *Streptomyces*,从而维持了大曲微生物菌群结构与功能的稳定<sup>[58]</sup>。挥发性风味物质是传统发酵食品中重要的产物,对食品的口感及质量有着重要的影响,最近研究发现挥发性风味物质能够影响群体中微生物的生长及代谢,进而影响微生物群体的组装。在中国白酒发酵过程中,Zhang 等<sup>[59]</sup>发现 *Pichia* 代谢产生的挥发性风味物质 2-苯乙醇能够抑制丝状真菌的生长,从而形成了以 *Pichia* 为优势主导真菌的白酒酿造微生物群落。挥发性风味物质介导的微生物群体组装也发生在奶酪表皮中,真菌产生的挥发性物质刺激了 *Vibrio casei* 的最强生长,从而形成了由 *Vibrio* 主导的微生物群落<sup>[43]</sup>。这些研究表明由挥发性风味物质介导的微生物相互作用在群体组装方面具有重要作用,应该给予较多关注。

相反地,在发酵微生物群落中一些物种产生的物质则会抑制发酵功能微生物的生长及代谢,从而影响发酵质量。乙酸是发酵食品中一种重要的呈味物质,适量的乙酸保持了发酵食品的口感,但是过量的乙酸则会抑制功能微生物如酿酒酵母的生长及代谢,严重影响发酵效率<sup>[34]</sup>。丝状真菌一方面能够分泌多种水解酶,降解原料中的大分子为小分子物质供发酵微生物生长代谢,但同时也产生一些能够降低功能酵母产酒能力的抑制物质如甘露醇和赤藓糖醇<sup>[33]</sup>。因此,我们要明确这些微生物在发酵体系中的比例,通过一定的控制手段使其保持在一定范围内,既能产生足够的有益物质供其他微生物生长,又能减少有害物质的生成。

#### 4 展望营养相互作用的未来研究方向

营养相互作用在传统发酵体系中无处不在,形成了微生物群落构建的基石,但是要明晰复杂微生物群落中物种之间存在的营养相互关系比较困难,检测多物种之间的代谢关系具有很大难度。目前的研究主要存在以下几点问题:(1)仅解析了少数几种微生物之间的营养相互关系,而且都是基于 2 个

物种配对或者小规模合成微生物群而研究的,合成微生物群落的构建都是选择进化关系清晰、功能已知的具有代谢相互作用的物种构建的,通过宏基因组学手段构建的代谢相互关系缺少验证;(2)目前的研究仅选择了少数几种代谢物,而且大多数基于某一类别物质,如碳水化合物连接的微生物相互作用,却忽略了多种类型营养物质之间的共同作用,在代谢物丰富的发酵体系中,多种代谢物共同推动微生物群落组装和演替是必然的;(3)忽略了未培养微生物的作用。传统发酵食品微生物群落物种之间的营养相互关系具有复杂性、多样性及动态变化的特点,营养相互作用推动的微生物群落构建有待深入解析,复杂的代谢体系还需深入挖掘,为揭开传统发酵食品微生物群落的自发式构建机制提供更深层的见解,从而实现简易合成微生物群、定向调控发酵过程及提高生产效率的目标。

##### 4.1 利用已有数据挖掘微生物之间的营养相互关系

在不实施物种—配对实验的条件下,我们需要知道微生物群落中物种之间的潜在营养交互属性和代谢依赖关系。目前,各种传统发酵食品的研究产生了大量的数据,包括测序数据、理化指标、酶系组成以及代谢物变化,这些数据应该被充分用于挖掘微生物群落中物种之间存在的潜在营养相互关系,为后续的可培养验证提供依据和思路。

##### 4.2 新技术与新方法的应用

目前对于传统发酵食品中微生物之间营养相互作用的研究手段仍然集中在单一宏基因组学技术上,如宏基因组、宏转录组学等。多组学联用技术是研究发酵体系中微生物之间营养相互作用有力的手段:代谢组学尽可能多地测定发酵过程中的营养物质底物组成及变化,宏转录组解析特定时期微生物的物质利用表达基因,宏蛋白质组解析发酵过程中的酶系组成,宏基因组重构物质利用代谢途径<sup>[60]</sup>,从而全面了解微生物群落物种之间的营养交互关系。此外,稳定同位素探针结合高通量测序技术 (Stable Isotope Probe Combined with

High-Throughput Sequencing Technology, SIP-HTS) 和单细胞测序技术(Single-Cell Sequencing, SCS)也被用于研究微生物的物质利用能力和相互作用关系: 稳定同位素探针可以研究利用特定物质的微生物群体组成及功能基因表达<sup>[61]</sup>; 单细胞测序技术在单细胞水平上解析微生物的原位功能及微生物之间的相互作用关系, 可以用于发酵体系微生物的共生互作关系的研究<sup>[62]</sup>。

### 4.3 未培养微生物的功能解析是认识微生物营养互作关系的关键

我们要研究并验证发酵体系中的微生物营养相互关系, 势必要分离出体系中尽可能多的微生物, 而大部分自然界中的微生物是不可培养或难以培养的, 如中国白酒酿造窖泥中存在大量未培养及功能未知的微生物, 认识这些未培养微生物的功能是解析发酵食品微生物功能及相互作用的关键。针对不可培养或难培养微生物, 研究者们在 2012 年提出了可培养组学的概念, 通过解决微生物筛选条件的多样性及高通量来实现难培养微生物的可培养性<sup>[63]</sup>。同时研究者们研发了一些通过原位培养技术来培养难培养微生物的新兴技术, 在土壤和肠道微生物中应用良好。这些新技术包括膜扩散培养[如 Isolation Chip (iChip)、Soil Substrate Membrane System (SSMS) 和 Hollow-Fibre Membrane Chambers (HFMC)]、细胞分选技术[如 Fluorescence *in situ* Hybridization of Live Cells (Live-FISH)、Raman-Activated Cell Sorting (RACS)和 Reverse Genomics]及微流体培养系统[如 SlipChip 和 Nanoporous Microscale Microbial Incubators (NMMI)]等<sup>[64]</sup>。这些新型技术可以用于分离传统发酵体系中的难培养微生物。

## REFERENCES

- [1] Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligné B, Gänzle M, Kort R, Pasin G, Pihlanto A, et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2017, 44: 94-102
- [2] Tamang JP, Shin DH, Jung SJ, Chae SW. Functional properties of microorganisms in fermented foods[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 578
- [3] Zhang HX, Wang L, Tan YW, Wang HY, Yang F, Chen LQ, Hao F, Lv XB, Du H, Xu Y. Effect of *Pichia* on shaping the fermentation microbial community of sauce-flavor Baijiu[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 336: 108898
- [4] Wang XS, Du H, Zhang Y, Xu Y. Environmental microbiota drives microbial succession and metabolic profiles during Chinese liquor fermentation[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84: e02369-17
- [5] Wang XS, Du H, Xu Y. Source tracking of prokaryotic communities in fermented grain of Chinese strong-flavor liquor[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2017, 244: 27-35
- [6] Wang SL, Xiong W, Wang YQ, Nie Y, Wu Q, Xu Y, Geisen S. Temperature-induced annual variation in microbial community changes and resulting metabolome shifts in a controlled fermentation system[J]. *mSystems*, 2020. DOI:10.1128/msystems.00555-20
- [7] Zhao N, Yang B, Lu WW, Liu XM, Zhao JX, Ge LH, Zhu YQ, Lai HM, Paul Ross R, Chen W, et al. Divergent role of abiotic factors in shaping microbial community assembly of Paocai brine during aging process[J]. *Food Research International*, 2020, 137: 109559
- [8] Smid EJ, Lacroix C. Microbe-microbe interactions in mixed culture food fermentations[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2013, 24(2): 148-154
- [9] Wolfe BE, Button JE, Santarelli M, Dutton RJ. Cheese rind communities provide tractable systems for *in situ* and *in vitro* studies of microbial diversity[J]. *Cell*, 2014, 158(2): 422-433
- [10] Goldford JE, Lu NX, Bajić D, Estrela S, Tikhonov M, Sanchez-Gorostiaga A, Segre D, Mehta P, Sanchez A. Emergent simplicity in microbial community assembly[J]. *Science*, 2018, 361: 469-474
- [11] Du RB, Liu J, Jiang J, Wang YQ, Ji XA, Yang N, Wu Q, Xu Y. Construction of a synthetic microbial community for the biosynthesis of volatile sulfur compound by multi-module division of labor[J]. *Food Chemistry*, 2021, 347: 129036
- [12] Jin GY, Zhu Y, Xu Y. Mystery behind Chinese liquor fermentation[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 63: 18-28
- [13] Lin RC, Cheng J, Ding LK, Murphy JD. Improved efficiency of anaerobic digestion through direct interspecies electron transfer at mesophilic and thermophilic temperature ranges[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 350: 681-691
- [14] Jin Z, Zhao ZQ, Zhang YB. Potential of direct interspecies electron transfer in synergetic enhancement of

- methanogenesis and sulfate removal in an up-flow anaerobic sludge blanket reactor with magnetite[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 677: 299-306
- [15] Lu ZM, Wang ZM, Zhang XJ, Mao J, Shi JS, Xu ZH. Microbial ecology of cereal vinegar fermentation: insights for driving the ecosystem function[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2018, 49: 88-93
- [16] Schink SJ, Biselli E, Ammar C, Gerland U. Death rate of *E. coli* during starvation is set by maintenance cost and biomass recycling[J]. *Cell Systems*, 2019, 9(1): 64-73
- [17] Zampieri M, Hörl M, Hotz F, Müller NF, Sauer U. Regulatory mechanisms underlying coordination of amino acid and glucose catabolism in *Escherichia coli*[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 3354
- [18] Green R, Sonal, Wang L, Hart SFM, Lu WY, Skelding D, Burton JC, Mi HB, Capel A, Chen HA, et al. Metabolic excretion associated with nutrient-growth dysregulation promotes the rapid evolution of an overt metabolic defect[J]. *PLoS Biology*, 2020, 18(8): e3000757
- [19] Daly RA, Roux S, Borton MA, Morgan DM, Johnston MD, Booker AE, Hoyt DW, Meulia T, Wolfe RA, Hanson AJ, et al. Viruses control dominant bacteria colonizing the terrestrial deep biosphere after hydraulic fracturing[J]. *Nature Microbiology*, 2019, 4(2): 352-361
- [20] Costantini A, Doria F, Saiz JC, Garcia-Moruno E. Phage-host interactions analysis of newly characterized *Oenococcus oeni* bacteriophages: implications for malolactic fermentation in wine[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2017, 246: 12-19
- [21] Gnoinski GB, Schmidt SA, Close DC, Goemann K, Pinfeld TL, Kerslake FL. Novel methods to manipulate autolysis in sparkling wine: effects on yeast[J]. *Molecules*, 2021, 26(2): 387
- [22] Huang YH, Yi ZL, Jin YL, Huang MJ, He KZ, Liu DY, Luo HB, Zhao D, He H, Fang Y, et al. Metatranscriptomics reveals the functions and enzyme profiles of the microbial community in Chinese Nong-flavor liquor starter[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1747
- [23] Pacheco AR, Moel M, Segrè D. Costless metabolic secretions as drivers of interspecies interactions in microbial ecosystems[J]. *Nature Communications*, 2019, 10: 103
- [24] Lu MM, Zhou WC, Ji F, Wu JF, Nie Y, Ren C, Xu Y. Profiling prokaryotic community in pit mud of Chinese strong-aroma type liquor by using oligotrophic culturing[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 337: 108951
- [25] Xu D, Behr J, Geißler AJ, Bechtner J, Ludwig C, Vogel RF. Label-free quantitative proteomic analysis reveals the lifestyle of *Lactobacillus hordei* in the presence of *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2019, 294: 18-26
- [26] Ponomarova O, Gabrielli N, Sévin DC, Mülleder M, Zirngibl K, Bulyha K, Andrejev S, Kafkia E, Typas A, Sauer U, et al. Yeast creates a niche for symbiotic lactic acid bacteria through nitrogen overflow[J]. *Cell Systems*, 2017, 5(4): 345-357
- [27] Blasche S, Kim Y, Mars RAT, Machado D, Maansson M, Kafkia E, Milanese A, Zeller G, Teusink B, Nielsen J, et al. Metabolic cooperation and spatiotemporal niche partitioning in a kefir microbial community[J]. *Nature Microbiology*, 2021, 6(2): 196-208
- [28] Lawson CE, Harcombe WR, Hatzepichler R, Lindemann SR, Löffler FE, O'Malley MA, Martin HG, Pfleger BF, Raskin L, Venturelli OS, et al. Common principles and best practices for engineering microbiomes[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(12): 725-741
- [29] Marsland R, Cui WP, Goldford J, Sanchez A, Korolev K, Mehta P. Available energy fluxes drive a transition in the diversity, stability, and functional structure of microbial communities[J]. *PLoS Computational Biology*, 2019, 15(2): e1006793
- [30] Hoek TA, Axelrod K, Biancalani T, Yurtsev EA, Liu JH, Gore J. Resource availability modulates the cooperative and competitive nature of a microbial cross-feeding mutualism[J]. *PLoS Biology*, 2016, 14(8): e1002540
- [31] Song ZW, Du H, Zhang Y, Xu Y. Unraveling core functional microbiota in traditional solid-state fermentation by high-throughput amplicons and metatranscriptomics sequencing[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1294
- [32] Wang BW, Wu Q, Xu Y, Sun BG. Synergistic effect of multiple saccharifying enzymes on alcoholic fermentation for Chinese baijiu production[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020. DOI:10.1128/aem.00013-20
- [33] Wei JL, Du H, Zhang HX, Nie Y, Xu Y. Mannitol and erythritol reduce the ethanol yield during Chinese Baijiu production[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2021, 337: 108933
- [34] Zhang HX, Wang L, Wang HY, Yang F, Chen LQ, Hao F, Lv XB, Du H, Xu Y. Effects of initial temperature on microbial community succession rate and volatile flavors during Baijiu fermentation process[J]. *Food Research International*, 2021, 141: 109887
- [35] Sieuwerts S, Bron PA, Smid EJ. Mutually stimulating interactions between lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* in sourdough fermentation[J]. *LWT*, 2018, 90: 201-206
- [36] Carbonetto B, Nidelet T, Guezennec S, Perez M, Segond D, Sicard D. Interactions between *Kazachstania humilis* yeast species and lactic acid bacteria in sourdough[J].

- Microorganisms, 2020, 8(2): 240
- [37] Liu YZ, Rousseaux S, Tourdot-Maréchal R, Sadoudi M, Gougeon R, Schmitt-Kopplin P, Alexandre H. Wine microbiome: a dynamic world of microbial interactions[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017, 57(4): 856-873
- [38] Almeida OGG, Pinto UM, Matos CB, Frazilio DA, Braga VF, Von Zeska-Kress MR, De Martinis ECP. Does quorum sensing play a role in microbial shifts along spontaneous fermentation of cocoa beans? An *in silico* perspective[J]. Food Research International, 2020, 131: 109034
- [39] Hu YX, Liu XL, Shan CJ, Xia XD, Wang Y, Dong MS, Zhou JZ. Novel bacteriocin produced by *Lactobacillus alimentarius* FM-MM4 from a traditional Chinese fermented meat Nanx Wudl: purification, identification and antimicrobial characteristics[J]. Food Control, 2017, 77: 290-297
- [40] Siedler S, Rau MH, Bidstrup S, Vento JM, Aunsbjerg SD, Bosma EF, McNair LM, Beisel CL, Neves AR. Competitive exclusion is a major bioprotective mechanism of lactobacilli against fungal spoilage in fermented milk products[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020. DOI: 10.1128/aem.02312-19
- [41] Liu YX, Xu GQ, Cao PX, Jin YL, Li XY, Liu X. Microbial diversity of yak yogurt in agricultural and pastoral areas of Tibet analyzed based on high-throughput 16S rRNA gene sequencing[J]. Food Science, 2020, 41(18): 92-97 (in Chinese)  
刘怡萱, 许国琪, 曹鹏熙, 金彦龙, 李小燕, 刘星. 基于 16S rRNA 高通量测序的西藏农、牧区牦牛酸奶菌群多样性分析[J]. 食品科学, 2020, 41(18): 92-97
- [42] Pham NP, Landaud S, Lieben P, Bonnarne P, Monnet C. Transcription profiling reveals cooperative metabolic interactions in a microbial cheese-ripening community composed of *Debaryomyces hansenii*, *Brevibacterium aurantiacum*, and *Hafnia alvei*[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1901
- [43] Cosetta CM, Kfoury N, Robbat A, Wolfe BE. Fungal volatiles mediate cheese rind microbiome assembly[J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(11): 4745-4760
- [44] Wang BW, Wu Q, Xu Y, Sun BG. Specific volumetric weight-driven shift in microbiota compositions with saccharifying activity change in starter for Chinese baijiu fermentation[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 2349
- [45] Gan SH, Yang F, Sahu SK, Luo RY, Liao SL, Wang HY, Jin T, Wang L, Zhang PF, Liu X, et al. Deciphering the composition and functional profile of the microbial communities in Chinese Moutai liquor starters[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1540
- [46] Wang BW, Wu Q, Xu Y, Sun BG. Multiple sugars promote microbial interactions in Chinese baijiu fermentation[J]. LWT, 2021, 138: 110631
- [47] Liu CC, Feng SB, Wu Q, Huang HQ, Chen ZX, Li SW, Xu Y. Raw material regulates flavor formation via driving microbiota in Chinese liquor fermentation[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 1520
- [48] Song JK, Zhang H, Zhao JX. Effect of soluble sugar and free amino acid content in old dough fermented by lactic acid bacteria[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(16): 256-259 (in Chinese)  
宋佳锟, 张灏, 赵建新. 乳酸菌对老面团发酵过程中可溶性糖和游离氨基酸含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(16): 256-259
- [49] Wang T, Xu ZS, Lu SY, Xin M, Kong J. Effects of glutathione on acid stress resistance and symbiosis between *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*[J]. International Dairy Journal, 2016, 61: 22-28
- [50] Kort R, Westerik N, Mariela Serrano L, Douillard FP, Gottstein W, Mukisa IM, Tuijn CJ, Basten L, Hafkamp B, Meijer WC, et al. A novel consortium of *Lactobacillus rhamnosus* and *Streptococcus thermophilus* for increased access to functional fermented foods[J]. Microbial Cell Factories, 2015, 14: 195
- [51] Hu XL, Du H, Ren C, Xu Y. Illuminating anaerobic microbial community and cooccurrence patterns across a quality gradient in Chinese liquor fermentation pit muds[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2016, 82(8): 2506-2515
- [52] Tao Y, Li JB, Rui JP, Xu ZC, Zhou Y, Hu XH, Wang X, Liu MH, Li DP, Li XZ. Prokaryotic communities in pit mud from different-aged cellars used for the production of Chinese strong-flavored liquor[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(7): 2254-2260
- [53] Ren C, Du H, Xu Y. Advances in microbiome study of traditional Chinese fermented foods[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2017, 57(6): 885-898 (in Chinese)  
任聪, 杜海, 徐岩. 中国传统发酵食品微生物组研究进展[J]. 微生物学报, 2017, 57(6): 885-898
- [54] Embree M, Liu JK, Al-Bassam MM, Zengler K. Networks of energetic and metabolic interactions define dynamics in microbial communities[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(50): 15450-15455
- [55] Tveit AT, Urich T, Frenzel P, Svenning MM. Metabolic and trophic interactions modulate methane production by Arctic peat microbiota in response to warming[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of

- America, 2015, 112(19): E2507-E2516
- [56] Johansen P, Jespersen L. Impact of quorum sensing on the quality of fermented foods[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2017, 13: 16-25
- [57] Ye PX, Wang JW, Liu MM, Li P, Gu Q. Purification and characterization of a novel bacteriocin from *Lactobacillus paracasei* ZFM54[J]. *LWT*, 2021, 143: 111125
- [58] Zhi Y. Metabolic mechanism of highly-efficient biosynthesis of surfactin and its function[D]. Wuxi: Doctoral Dissertation of Jiangnan University, 2017 (in Chinese)  
邹岩. 芽孢杆菌高效合成表面活性素的代谢机制及功能研究[D]. 无锡: 江南大学博士学位论文, 2017
- [59] Zhang HX, Du H, Xu Y. Volatile organic compound-mediated antifungal activity of *Pichia* spp. and its effect on the metabolic profiles of fermentation communities[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021. DOI:10.1128/aem.02992-20
- [60] Chen G, Chen CC, Lei ZH. Meta-omics insights in the microbial community profiling and functional characterization of fermented foods[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 65: 23-31
- [61] Berry D, Loy A. Stable-isotope probing of human and animal microbiome function[J]. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(12): 999-1007
- [62] Nakayama T, Nomura M, Takano Y, Tanifuji G, Shiba K, Inaba K, Inagaki Y, Kawata M. Single-cell genomics unveiled a cryptic cyanobacterial lineage with a worldwide distribution hidden by a dinoflagellate host[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(32): 15973-15978
- [63] Greub G. Culturomics: a new approach to study the human microbiome[J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2012, 18(12): 1157-1159
- [64] Lewis WH, Tahon G, Geesink P, Sousa DZ, Ettema TJG. Innovations to culturing the uncultured microbial majority[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(4): 225-240