

基于高通量法分析鲈鱼冻藏期间的微生物群落变化

吴琼静¹, 赵金丽¹, 水珊珊¹, 苏来金², 张宾¹

(1. 浙江海洋大学 食品与药学院, 浙江 舟山 316002;

2. 温州市农业科学研究院温州市特色食品资源工程技术研究中心, 浙江 温州 325006)

摘要: **目的** 分析不同冻藏时期鲈鱼表面微生物群落的变化, 为鲈鱼冻藏期间微生物安全控制提供相关依据。**方法** 将新鲜鲈鱼冻藏于-18℃冰箱中, 分别在冻藏前、冻藏40 d与冻藏100 d时取样, 采用高通量测序技术提取分析其表面微生物。**结果** 冻藏鲈鱼样品操作分类单元(Operational taxonomic units, OTU)数量范围为115~266, 优化有效序列为38 899~45 012条; 其中, 样品在冻藏前的OTU数量最高, 冻藏100 d时的OTU数量最低, 此时样品的Ace, Chao, Shannon等3个指数均值偏低, 但Simpson指数较高, 可见其菌群种类和丰度较低; 同时, 嗜冷杆菌(*Psychrobacter*)和鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)为样品冻藏前的优势菌群, 而在冻藏40 d时不动杆菌(*Acinetobacter*)也成为样品的主要微生物; 当样品在冻藏100 d时, 其优势菌群为乳球菌(*Lactococcus*)和芽孢杆菌(*Bacillus*)等。**结论** 鲈鱼样品在不同冻藏时期的菌群组成存在较大差异, 表明冻藏时间对菌群组成有明显影响。

关键词: 鲈鱼; 冻藏; 微生物群落; 高通量测序

中图分类号: S984.1+1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2020)17-0007-08

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2020.17.002

Analysis of Microbial Community in Mackerel (*Scomber Japonicus*) Based on High-throughput Sequencing

WU Qiong-jing¹, ZHAO Jin-li¹, SHUI Shan-shan¹, SU Lai-jin², ZHANG Bin¹

(1. College of Food Science and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. Wenzhou Research Center of Characteristic Food Resources Engineering and Technology, Wenzhou Academy of Agricultural Sciences, Wenzhou 325006, China)

ABSTRACT: The study aims to analyze the changes of microbial community on the surface of mackerel (*scomber japonicus*) during different frozen storage, to provide relevant basis for microbial safety control during frozen storage of mackerels. The fresh mackerels were stored in the refrigerator at -18℃, and samples were taken on the 0th day, 40th day, and 100th day, and then the surface microorganisms were extracted and analyzed by high-throughput sequencing technology. The number of operational taxonomic units (OTU) for frozen mackerels ranged from 115 to 266, with an optimized effective sequence of 38 899 to 45 012. Among them, the OTU number of frozen mackerels on day 0 was the highest, while the OTU number on day 100 was the lowest. At the end of freezing, the average values of the three indicators of Ace, Chao, and Shannon of the sample were low, but the Simpson index was high, showing low species and abundance of

收稿日期: 2020-06-16

基金项目: 国家自然科学基金(31871871); 浙江省自然科学基金(LY18C200008); 温州市重大科技创新攻关项目(ZS2019001, ZD202003)

作者简介: 吴琼静(1995—), 女, 浙江海洋大学硕士生, 主攻水产品加工及贮藏。

通信作者: 张宾(1981—), 男, 博士, 浙江海洋大学教授, 主要研究方向为水产品加工及贮藏。

the flora. Meanwhile, *psychrobacter* and *sphingomnas* were the dominant flora at the 0th day of the samples, and *acinetobacter* also became the main microorganisms at the 40th day of the samples. When the samples were frozen for 100 days, the dominant flora was *lactococcus* and *bacillus*. The composition of the microbiota of mackerels at different periods of frozen storage is quite different, indicating that the frozen storage time has a significant impact on the composition of the microbiota.

KEY WORDS: mackerel; cryopreservation; microorganism; high-throughput sequencing

鲈鱼 (*Scomber japonicus*) 又名鲑鱼、青花鱼, 属青皮红肉鱼, 其营养价值高且价格较低, 深受消费者喜爱。根据 2020 中国渔业统计年鉴数据显示^[1], 2019 年我国海洋捕捞产量中鱼类总量达 6 828 817 t, 其中鲈鱼为 414 710 t, 位居各类鱼种前列。此外, 浙江地区鲈鱼捕捞产量位居全国首位, 约占总鲈鱼捕获量的 40.7%。鲈鱼鱼肉中组氨酸含量较高, 易发生腐败变质^[2]。渔民从海水中捕捞后的鲈鱼, 大多采用低温贮藏, 然而时间过长易引起其肌肉水分流失, 色泽加深和脂肪氧化问题, 造成品质下降。同时, 样品在腐败过程中, 微生物污染与某些蛋白酶对鲈鱼贮藏的影响最为显著。多数条件下, 只有一些主要微生物(具有最适生活力、数量最多的微生物种群)参与了水产品的腐败变质过程^[3]。这些优势腐败菌参与了鲈鱼的冻藏过程, 影响着鲈鱼及其产品的食用安全品质。分析优势微生物群落特征对鲈鱼品质的影响, 对延长其贮藏货架期有一定意义。

近些年, 随着现代快速测序技术的发展, 因 Illumina Miseq 高通量测序技术对微生物单一基因或全基因组具有鉴定功能, 其还具有通量高、检测全面、准确等特点, 已被广泛应用于土壤和肠道环境、海洋水产、医疗保健等领域^[4]。当前, 许多研究人员对水产品中微生物群落特征进行了高通量测序分析, 如鲍宝龙等^[5]利用该技术对草鱼肝胰脏和胆汁中菌落组成和共生菌种进行了比较分析; Zhang 等^[6]应用此技术分析了发酵鱼制备过程中微生物的群落动态, 发现其优势菌主要是气单胞菌属与乳球菌属等; 梁锐等^[7]将鲈鱼在不同温度下进行冻藏, 实验发现其处于 -18 °C 时品质变化显著, 且在冻藏 40~90 d 期间变化尤为剧烈, 但尚未讨论微生物变化情况; 翁佩芳等^[8]通过 16S rDNA 克隆文库法研究了在 -20 °C 条件下冻藏 1, 8, 20 d 后鲈鱼鳃组织中菌群的变化情况, 发现不同时期其细菌多样性均较强, 然而对鲈鱼鱼肉经长期冻藏后的菌群变化尚未进一步分析。其他对鲈鱼微生物研究主要集中在短期冷藏保鲜方面, 关于冻藏鲈鱼不同阶段的优势微生物及菌群变化情况对其品质影响还鲜见报道。基于以上研究, 文中实验采用高通量测序技术, 研究样品在 -18 °C 条件下冻藏前、冻藏 40 d 与冻藏 100 d 后, 其表面微生物菌群的变化情况, 旨在为鲈鱼的品质与腐败微生物、货架期的关系提供有效数据, 并为其微生物安全管理提供

理论参考。

1 实验

1.1 材料与仪器

实验原料: 新鲜鲈鱼, 质量为(250±20)g, 体长为(20±2)cm, 购自浙江舟山市东河水产品市场。鲈鱼样品采用带有冰袋的无菌密封箱包装后, 在 30 min 内带回实验室进行处理。

主要试剂及仪器^[9]: TransStart FastPfu DNA 聚合酶, 美国 Qiagen 公司; TruSeq™ 的 DNA 样品准备试剂盒, 美国 Illumina 公司; ABI GeneAmp®9700 型 PCR 仪, 美国 ABI 公司; QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统, 美国 Promega 公司。

1.2 实验分组与处理

将新鲜鲈鱼原料去鳞、腮及内脏后, 去除鱼头、骨及尾, 无菌解剖制备成大小均匀的鲈鱼块, 经蒸馏水迅速淋洗, 再将样品表面水分用无菌纱布擦拭, 分装于封口袋中, 置于 -18 °C 冰箱中保存。冻藏过程中, 分别在冻藏前、冻藏 40 d 和冻藏 100 d 时取出部分鲈鱼样品, 并利用高通量测序技术对微生物进行提取和分析。

1.3 鲈鱼表面微生物提取与分析

1.3.1 微生物提取

称取鲈鱼样品 10 g, 并按质量(g)与体积(mL)之比为 1:9 的比例加入无菌生理盐水, 分别使用无菌纱布和无菌水进行过滤、淋洗操作, 完成离心操作后(12 000 r/min, 10 min)弃滤液, 取沉淀物进行分析^[10]。每组样品进行 3 次平行实验。

1.3.2 微生物群落分析

按照 DNA 提取试剂盒说明, 在体积分数为 1% 的琼脂糖凝胶电泳下检测所制备沉淀物中基因组 DNA 纯度与浓度, 而后开展生物信息学分析, 并进行 Illumina Miseq 2x300 bp 高通量测序。

1.3.3 微生物信息分析

通过 PCR 引物扩增, 采用 MiSeq 测序平台, 对样品数据进行拼接划分及聚类分析, 对各类收集序列进行深度分析, 并对每个分类级别进行菌落结构统

计, 经过以上处理, 对菌群分布变化进行统计关联和可视化处理^[6,11-12]。具体由微基生物科技(上海)有限公司协助完成。

2 结果与分析

2.1 样品测序数据分析

以多个鲈鱼样品为基础, 通过高通量测序平台整理原始数据, 并进行统计优化, 结果见表 1。各鲈鱼样品优化有效序列范围为 38 899~45 012 条, 平均长度范围为 375.43~376.42 bp。在 97%相似水平下, 对测序样品所有序列进行操作分类单元(Operational taxonomic units, OTU)划分, 并进行生物信息统计, 各组样品 OTU 数量范围为 115~266。经对比分析可知, 冻藏鲈鱼样品在冻藏前的 OTU 数量最高, 表明其微生物种类较丰富, 而在冻藏 100 d 时样品反之, 可能是其样品表面微生物受到低温环境的影响所致。郑瑞生^[13]研究发现, 超低温冻藏可有效抑制甚至杀死部分耐冷性差的微生物。冻藏鲈鱼样品表面微生物在长期低温胁迫环境下, 会停止繁殖及生长, 使冻藏后期的鲈鱼表面微生物 OTU 数量逐渐降低, 这与文中的研究结果相符。

2.2 样品多样性指数分析

在 Illumina Miseq 测序结果分析中, 样品 Coverage 指数值与样品序列检出概率呈正相关, 其值越高表明样品分析结果更具真实性。由表 2 可知, 所有样品的 Coverage 指数值均在 0.999 以上, 说明此次实验能满足样品微生物多样性分析要求。此外, 当样品序列数量超过 30 000 时, 各样品的 Rarefaction 曲线(见图 1a)逐步趋于平整, 表明测序量已经相对合理, 再增加测序数量也不会产生更多新 OUT, 从而影响结果分析。同时, Shannon-Wiener 曲线(见图

1b)也逐渐趋于饱和, 即当前测定可反映大多数微生物的信息。上述结果表明, 此次实验中各鲈鱼样品中微生物分析方法较为合理, 可获得有效的测序结果。

样品菌群的丰富度基于 Ace 和 Chao 指数, 而物种多样性反映在 Shannon 和 Simpson 指数中。其中, Ace、Chao 和 Shannon 指数数值越高, 菌群种类和群落数量越多, 反之亦然。由表 2 分析表明, 冻藏 100 d 时鲈鱼样本的 Ace、Chao 和 Shannon 指数最低, 然而 Simpson 指数最高, 表明此时微生物的丰度和多样性较低。相较于冻藏前鲈鱼样品, 贮藏 40 d 后样品的 Chao 指数值有所下降, 而 Ace 和 Shannon 指数较高, Simpson 指数则偏低。根据数据结果可知冻藏时间的增加将导致菌群丰度多样性发生变化, 但总体而言此时鲈鱼样品微生物菌群丰度和物种数目较高。该结果与带鱼冷藏时期菌落组成的报道^[14]一致, 可能在前期冻藏状态下, 微生物生长较缓慢, 经一段时间后鲈鱼样品开始腐败, 微生物种类和含量较高。

2.3 样品菌群组成分析

Heatmap 中用颜色对比反映数据信息, 可直观表示样品中菌落含量变化的情况。由图 2 可知, 在冻藏过程中, 鲈鱼样品中菌落组成有明显变化。整体而言, 样品表面菌群组成随着冻藏时间的延长, 种类不断减少。在属水平上进行聚类分析发现, 冻藏前和冻藏 40 d 时鲈鱼样品中优势微生物均为嗜冷杆菌(*Psychrobacter*), 该测定结果与程三红^[15]、姜晓娜^[16]等的研究结果相一致。嗜冷杆菌属对温度变化有很强的适应性(在 7 ℃及以下能够生长, 最适生长温度范围为 20~30 ℃), 且耐受高盐度胁迫的影响^[17]。冻藏 100 d 后的鲈鱼样品中, 含量较高的是芽孢杆菌(*Bacillus*)和乳球菌(*Lactococcus*)。其中, 芽孢杆菌属是一类分布广泛的微生物菌群, 具有较强的抗逆能力, 同时在生长代谢过程中会产生多种抑菌物质^[18]。

表 1 鲈鱼在不同冻藏时间的 OTU 数量、优化序列数据统计
Tab.1 Statistics of the number of OTU and optimized sequence data of mackerels during different frozen storage

冻藏时间/d	优化序列数	碱基数/bp	平均长度/bp	OTU 数量
冻藏前	45 012	16 900 112	376.05	266
40	38 899	14 615 989	375.43	253
100	42 401	15 897 879	376.42	115

表 2 鲈鱼在不同冻藏时间的 Alpha 指数分析
Tab.2 Analysis of Alpha-diversity of mackerels during different frozen storage

冻藏时间/d	Ace	Chao	Coverage	Shannon	Simpson
冻藏前	101	270	0.999 770	2.69	0.1741
40	135	252	0.999 921	2.90	0.1391
100	75	150	0.999 129	1.78	0.2889

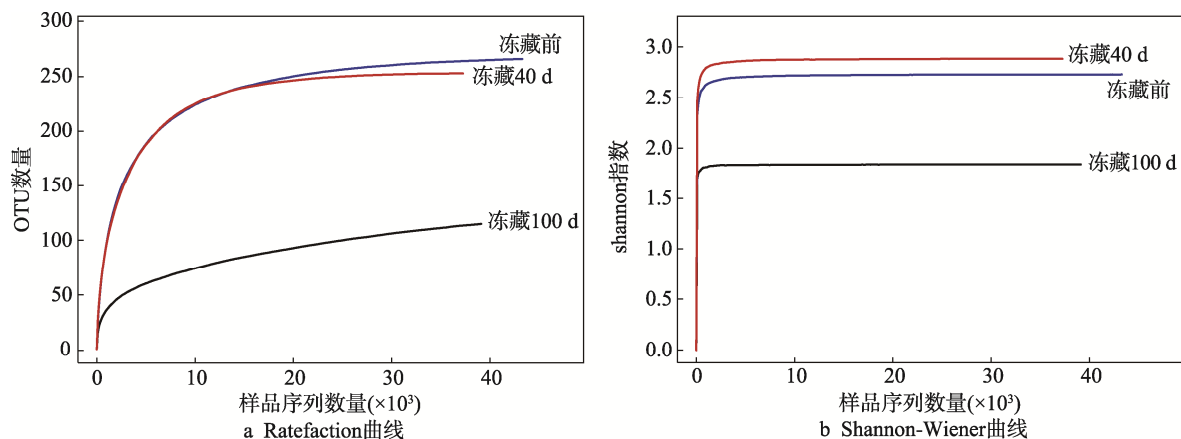


图1 鲈鱼在不同冻藏时间的 Rarefaction 曲线和 Shannon-Wiener 曲线分析

Fig.1 Analysis of Rarefaction curve and Shannon-Wiener curve of mackerel during different frozen storage

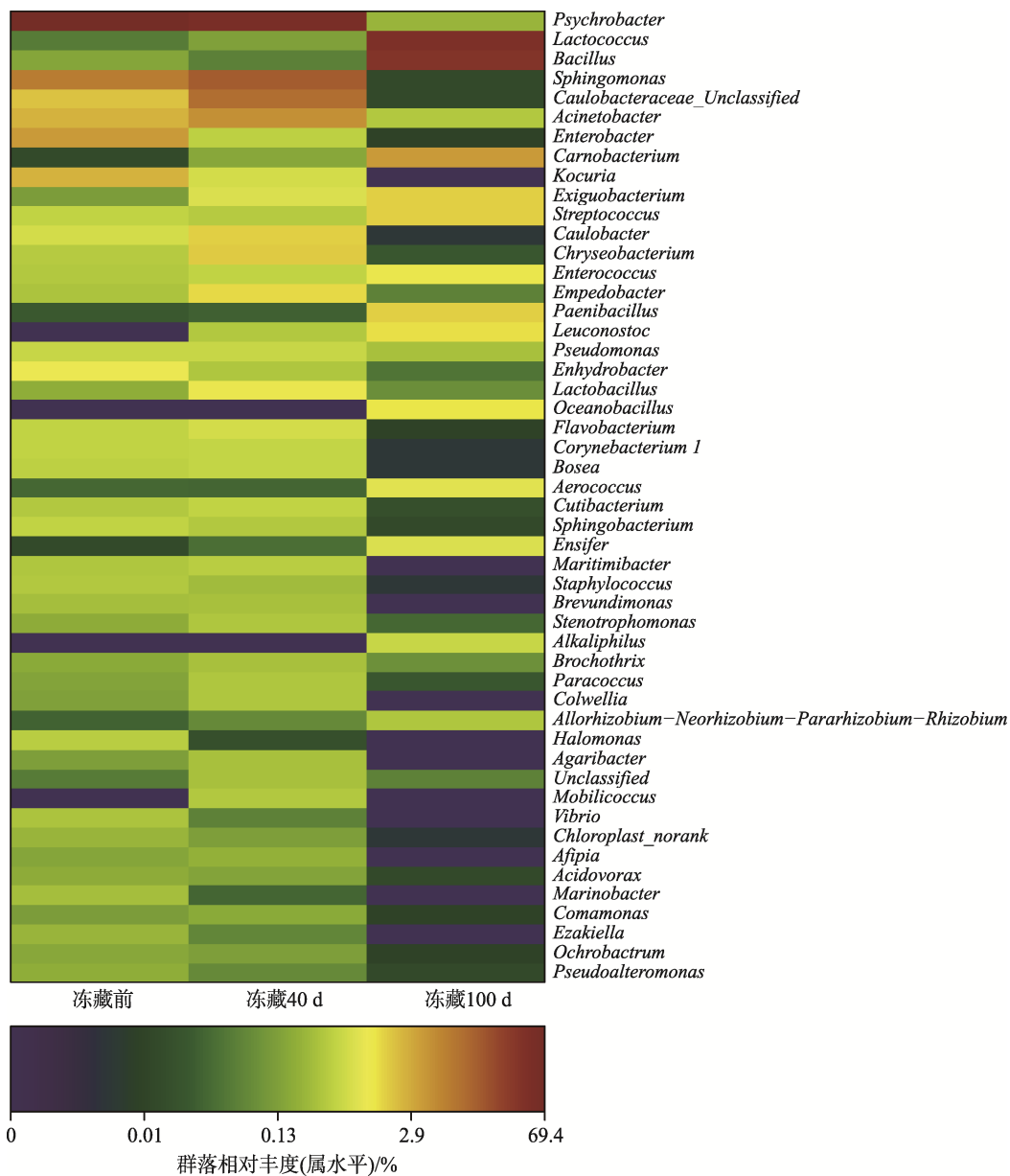


图2 鲈鱼在不同冻藏时期的属水平上群落丰度表现热图

Fig.2 Heatmaps of community abundance performance of mackerels at the genus level during different frozen storage

文中实验结果表明, 其它微生物含量和种类逐渐减少, 这可能与芽孢杆菌的存在及抑菌物质有关。

新鲜鲈鱼样品经过冻藏 100 d 后, 其中某些对低温环境适应能力较强的菌群数量提升, 主要有气单胞菌 (*Aerococcus*)、嗜碱菌 (*Alkaliphilus*)、肉食杆菌 (*Carnobacterium*) 和剑菌 (*Ensifer*) 等, 上述菌群比例显著增加而成为冻藏鲈鱼样品中的优势微生物。随着冻藏时间的延长, 水产品中的水分含量和水分活度呈逐渐下降的趋势, 这种环境下微生物生长受到抑制^[19-20]。此时不动杆菌 (*Acinetobacter*)、克氏库克菌 (*Kocuria*)、海杆菌 (*Marinobacter*)、肠杆菌 (*Empedobacter*)、弧菌 (*Vibrio*)、短波单胞菌 (*Brevundimonas*) 和 *Afipia* 等微生物菌群数明显下降, 当微生物处于低水分活度时, 由于渗透作用难以利用自由水进行新陈代谢活动, 细胞生长被抑制甚至死亡^[21], 因此判断上述菌群在低温环境、低水分活度适应性方面较弱。

由上可知, 处于不同冻藏时期的鲈鱼样品中菌群结构、优势微生物及丰度均存在显著性差异; 新鲜鲈鱼样品的菌相组成较为多样, 优势菌以海洋菌类为主, 随着冻藏时间的延长, 样品中多种微生物菌群的数量及含量均逐渐降低, 这与郑振霄等^[22]的研究结果基本一致。研究表明, 那些数量多、生存能力强的优势微生物对冻藏水产品品质变化过程有着至关重要的影响。其在生存过程中, 会使蛋白质分解, 从而产生某些小分子物质, 导致水产品贮存过程中产生不良气味和品质恶化, 如假单胞菌属可使鱼体产生氨臭味^[23]。尤其当鱼类在被捕捞、运输等过程中出现物理损伤时, 更易被该类微生物侵入, 从而导致产品发生腐败变质^[24]。

2.4 属分类水平上的样品群落结构

从属分类水平的角度来看 (见图 3), 新鲜鲈鱼样品最直接的优势微生物以嗜冷菌为主, 包括嗜冷杆菌 (*Psychrobacter*)、不动杆菌 (*Acinetobacter*) 和鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas*)。其中, 嗜冷杆菌属有显著的耐寒性, 能适应极端低温环境^[25]。鞘氨醇单胞菌具有极强的生命力, 在自然界中分布广泛, 是海洋厌氧性超微细菌的代表菌群, 并可适应不断变化的海洋环境^[26]。从海水中捕捞的鲈鱼会留有海水, 因此在新鲜的样品中存有这类菌群。鲈鱼样品冻藏 40 d 后, 其表面嗜冷杆菌和拟杆菌 (*Bacteroides*) 的相对丰度显著下降, 可能与该类微生物低温耐受性相对较弱有关, 不动杆菌 (*Acinetobacter*) 和鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas*) 相对含量有所升高。有研究表明, 不动杆菌属菌群含量的增多会加速水产品品质的劣变进程, 对水产品的品质特性有显著影响^[27]。此外, 还出现部分金黄杆菌 (*Chryseobacterium*)、柄杆菌

(*Caulobacter*) 和短黄杆菌 (*Empedobacter*), 这几类微生物也广泛存在于海水、淡水及土壤等中。

经冻藏 100 d 后, 鲈鱼样品表面优势微生物逐渐发展为乳球菌 (*Lactococcus*)、耐受水分活度的芽孢杆菌 (*Bacillus*) 和蓝藻菌 (*Camobacterium*), 还存在少量肠球菌 (*Enterococcus*) 等菌群。在冻藏过程中, 嗜冷杆菌 (*Psychrobacter*) 和不动杆菌 (*Acinetobacter*) 所占比例均大幅减少。一方面, 嗜冷杆菌在食品腐败过程中不能与腐败微生物相抗衡, 随着鲈鱼样品后期发生腐败, 这些菌类也大大减少^[28]; 另一方面, 经过冻藏 100 d, 水产品中的水分活度值不断下降^[29], 该 2 种菌属的生长得到抑制。此外, 冻藏后期还有少量微小杆菌 (*Exiguobacterium*) 被检出。其中, 雷芬芬^[30]曾从深海沉积物中分离筛选出该菌菌株, 该菌对生长条件要求不高且易培养, 可能参与鱼体酶解过程^[31]。大多数情况下, 引起鲈鱼品质劣变的嗜冷菌 (如乳球菌属等) 能适应低温环境, 并可较好生长。此外, 可能由于后期加工及贮藏过程中受到外界污染, 鲈鱼样品在冻藏末期中还能检测到以肠杆菌 (*Enterobacter*) 和类芽孢杆菌 (*Paenibacillus*) 等为代表的嗜温菌, 这是由于上述菌群生长较慢, 结果与蒋倩倩等^[32]的研究结果相一致。

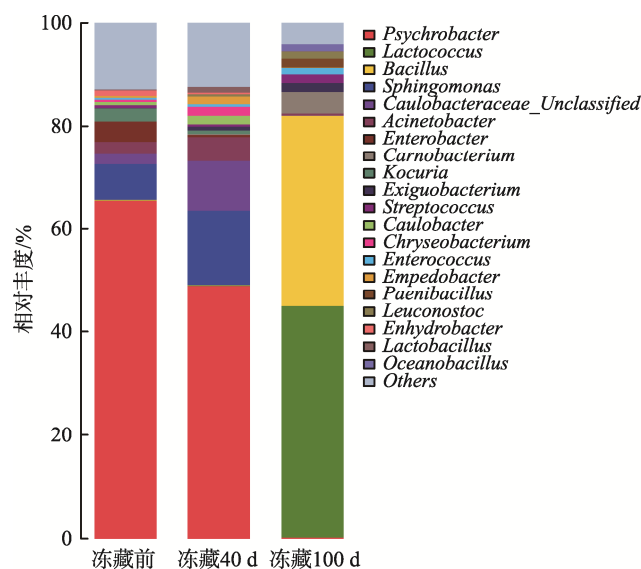


图 3 鲈鱼样品在不同冻藏时期的微生物群落结构 (属水平)

Fig.3 Microbial community structure diagram of mackerels during different frozen storage (genus level)

2.5 β 多样性分析

主成分分析 (Principal component analysis, PCA) 是对样品相似性或差异性的可视化分析, 每个样品分别对应一个点, 样本间差异和距离与其 OUT 数量相关。不同样品以集散分布情况表现, 其反映在 PCA

图中为两点距离的远近,距离越近则表示两者间群落构成差异越小,记录了样本在各个维度上的位置,其中PC1为x轴,PC2为y轴,依此类推。由图4可知,对主成分PC1-2, PC1-3, PC2-3进行综合分析发现,各组鲈鱼样品在该水平上的特征值差异明显,表明不同冻藏时间对鲈鱼样品的微生物区系组成有较大影响。在冻藏过程中,不同的贮藏时间对其菌群组成会产生较大的影响,因此,应重点规范和进一步探索鲈鱼在冻藏过程中不同优势菌群类型,并制定相应的控制技术。

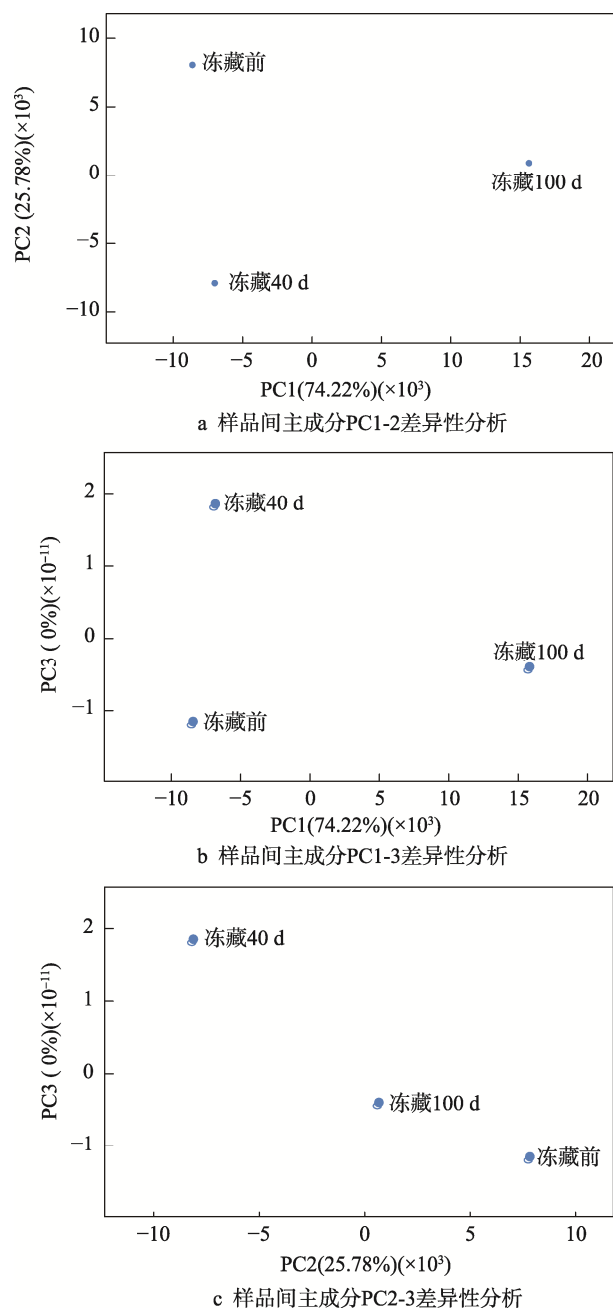


图4 不同鲈鱼样品主成分(PCA)分析: PC1-2, PC1-3和PC2-3两两组合图

Fig.4 Principal component analysis (PCA) of different mackerels: PC1-2, PC1-3, and PC2-3 in pairs

3 结语

以不同贮藏时期的冷冻鲈鱼样品为研究对象进行聚类分析,各组样品 OTU 数量范围为 115~266,优化有效序列范围为 38 899~45 012 条。其中,冻藏前的 OTU 数量最高,反映此时鲈鱼样品中微生物种类较多;冻藏 100 d 后反之,表示微生物种类少。除此之外,根据 Alpha 多样性指数变化状况反映出冻藏 100 d 后鲈鱼样品的菌群丰度、多样性方面偏低。随后根据 PCA 分析结果,不同冻藏时期的鲈鱼样品在主成分水平上均存在较大距离,表明在不同冻藏阶段,其菌群组成差异较大,在鲈鱼品质安全控制方面需要有针对性地进行研究。

以微生物菌群为基础进行对比研究,结果发现,属水平上,冻藏前冻藏鲈鱼样品中,优势菌群主要是嗜冷杆菌 (*Psychrobacter*)、鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas*)。此外,冻藏 40 d 后不动杆菌属也发展为优势菌群之一。经过冻藏 100 d 后,微生物菌群组成不断减少,鲈鱼样品的优势菌群主要为乳球菌 (*Lactococcus*)、芽孢杆菌 (*Bacillus*) 等。该时期还含有少量嗜温菌,即肠杆菌 (*Enterobacter*)、类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus*)、弧菌属 (*Vibrio*) 等,可能与外界污染有关。以上微生物在冻藏过程中的组成变化对鲈鱼品质安全产生重要影响,在加工及贮藏时应适时进行调控。

参考文献:

- [1] 于秀娟,徐乐俊,吴反修,等. 2020 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2020: 38—43.
YU Xiu-juan, XU Le-jun, WU Fan-xiu, et al. China Fishery Statistical Yearbook[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2020: 38—43.
- [2] 顾赛麒,张晨超,张月婷,等. 舟山渔场三种海鱼冰藏过程中品质和风味的变化[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(11): 244—251.
GU Sai-qi, ZHANG Chen-chao, ZHANG Yue-ting, et al. Changes in the Quality and Flavor of Three Kinds of Marine Fish in Zhoushan Fishing Ground during Ice Storage[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(11): 244—251.
- [3] GRAM L, HANS H H. Microbiological Spoilage of Fish and Fish Products[J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 33: 121—137.
- [4] 唐慧芳,孙力军,刘颖,等. 基于 Illumina Miseq 高通量测序技术分析硃洲岛海星共附生微生物多样性[J]. 微生物学通报, 2020, 47(6): 1675—1684.
TANG Hui-fang, SUN Li-jun, LIU Ying, et al. Analysis of Symbiotic Microbial Diversity in Starfish of Naozhou Island Based on Illumina Miseq High-throughput Sequencing Technology[J]. Microbiology China, 2020,

- 47(6): 1675—1684.
- [5] 鲍宝龙, 谢彩霞, 杨桂梅, 等. 16S rDNA 文库法分析草鱼肝胰脏和胆汁细菌群落组成[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(4): 440—446.
- BAO Bao-long, XIE Cai-xia, YANG Gui-mei, et al. Analysis of the Composition of Bacterial Communities in the Hepatopancreas and Bile of *Ctenopharyngodon Idellus* Through Sequencing 16S rDNA Library[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2010, 19(4): 440—446.
- [6] ZANG J H, XU Y S, XIA W S, et al. Dynamics and Diversity of Microbial Community Succession during Fermentation of Suan Yu, a Chinese Traditional Fermented Fish, Determined by High Throughput Sequencing[J]. Food Research International, 2018, 111: 565—573.
- [7] 梁锐, 张宾, 李淑芳, 等. 鲈鱼在不同冻藏温度下品质变化的研究[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2012, 31(4): 345—349.
- LIANG Rui, ZHANG Bin, LI Shu-fang, et al. Study on the Quality of *Pneumatophorus Japonicus* at Different Refrigeration Temperatures[J]. Journal of Zhejiang Ocean University(Natural Science), 2012, 31(4): 345—349.
- [8] 翁佩芳, 李微微, 吴祖芳, 等. 水产品鲈鱼(*Pneumatophorus Japonicus*)细菌多样性及优势微生物分析[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(3): 788—795.
- WENG Pei-fang, LI Wei-wei, WU Zu-fang, et al. Analysis of Bacteria Diversity and Predominant Microorganism in Aquatic Products of Mackerel[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(3): 788—795.
- [9] 赵金丽, 魏婉莹, 张宾, 等. 基于高通量测序的紫贻贝中微生物群落分析[J]. 现代食品科技, 2019, 35(2): 253—258.
- ZHAO Jin-li, WEI Wan-ying, ZHANG Bin, et al. Microbial Community Analysis of Mussel (*Mytilus Edulis*) Based on High-throughput Sequencing[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(2): 253—258.
- [10] HU D K, PAN L Q, ZHAO Q, et al. Transcriptomic Response to Low Salinity Stress in Gills of the Pacific White Shrimp *Litopenaeus Vannamei*[J]. Marine Genomics, 2015, 24: 297—304.
- [11] 邓晓影, 张宾, 汤贺, 等. 基于高通量测序的南美白对虾中微生物群落分析[J]. 食品科学, 2018, 39(24): 149—155.
- DENG Xiao-ying, ZHANG Bin, TANG He, et al. Analysis of Microbial Diversity in Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) by MiSeq High-throughput Sequencing[J]. Food Science, 2018, 39(24): 149—155.
- [12] EDGAR R C. UPARSE: Highly Accurate OTU Sequences from Microbial Amplicon Reads[J]. Nature Methods, 2013, 10: 996—998.
- [13] 郑瑞生. 即食鲍产品加工过程品质与安全控制技术研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2013: 34—56.
- ZHENG Rui-sheng. Study on the Quality and Safety Control Technology for Ready-to-eat (RTE) Abalone Production[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2013: 34—56.
- [14] 高乾坤, 焦琳舒, 杜贺, 等. 高通量测序分析不同产地带鱼冷藏时微生物群落多样性[J]. 食品科学, 2018, 39(18): 127—132.
- GAO Qian-kun, JIAO Lin-shu, DU He, et al. High-throughput Sequencing Analysis of Microbial Community Diversity of Hairtail from Different Waters during Chilled Storage[J]. Food Science, 2018, 39(18): 127—132.
- [15] 程三红, 汤海青, 欧昌荣, 等. 鲈鱼和大黄鱼冷藏期间体表细菌群落组成和代谢功能的比较分析[J]. 食品科学, 2018, 39(19): 218—225.
- CHENG San-hong, TANG Hai-qing, OU Chang-rong, et al. Comparative Analysis of Compositions and Metabolic Functions of Bacterial Communities on the Surface of Mackerel and Large Yellow Croaker during Refrigerated Storage[J]. Food Science, 2018, 39(19): 218—225.
- [16] 姜晓娜, 孟璐, 冯俊丽, 等. 鲈鱼贮藏过程中的品质变化及腐败微生物多样性分析[J]. 中国食品学报, 2019, 19(10): 197—205.
- JIANG Xiao-na, MENG Lu, FENG Jun-li, et al. Analysis of Quality Change and Microbial Assessment of Chub Mackerel in Storage[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(10): 197—205.
- [17] HANAN M, GEHAN M, HANAN A, et al. Characterization and Bioremediation Potential of Marine *Psychrobacter* Species[J]. Egyptian Journal of Aquatic Research, 2016, 42(2): 193—203.
- [18] 严婉荣, 肖敏, 陈圆, 等. 芽孢杆菌基本特征, 16S rRNA 对比分析及特异性基因挖掘[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(11): 4686—4692.
- YAN Wan-rong, XIAO Min, CHEN Yuan, et al. Comparative Analysis Between Basic Characteristics and 16S rRNA, and Specific Gene Discovery of *Bacillus*[J]. Genomics and Applied Biology, 2017, 36(11): 4686—4692.
- [19] 马路凯, 张宾, 王晓玲, 等. 海藻糖, 海藻胶及寡糖对蒸煮南美白对虾的抗冻保水作用[J]. 食品科学, 2015, 36(16): 266—271.
- MA Lu-kai, ZHANG Bin, WANG Xiao-ling, et al. Comparison of the Eryoprotective Effects of Trehalose, Alginate and Alginate-derived Oligosaccharides on Cooked Shrimp (*Litopenaeus Vannamei*) [J]. Food Science, 2015, 36(16): 266—271.
- [20] 杨祯祯, 王联珠, 郭莹莹, 等. 不同糖醇对鲈鱼丝贮藏品质的影响[J]. 南方农业学报, 2018, 49(6): 1189—1195.
- YANG Zhen-zhen, WANG Lian-zhu, GUO Ying-ying,

- et al. Effects of Different Sugar Alcohols on Storage Quality of Dried Shredded Squid[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, 49(6): 1189—1195.
- [21] 杨晓莉, 李辉, 许华玉, 等. 药品微生物控制中水分活度测定的应用前景[J]. *中国药业*, 2018, 27(23): 1—4.
YANG Xiao-li, LI Hui, XU Hua-yu, et al. Application Prospect of Water Activity Determination in Microbial Control of Drugs[J]. *China Pharmaceuticals*, 2018, 27(23): 1—4.
- [22] 郑振霄, 周聃, 冯俊丽, 等. 冷海水保藏下鲈鱼 (*Pneumatophorus Japonicus*) 菌相变化规律及优势腐败菌的分离鉴定[J]. *现代食品科技*, 2016, 32(4): 81—86.
ZHENG Zhen-xiao, ZHOU Dan, FENG Jun-li, et al. Microflora Composition Variation in Mackerel (*Pneumatophorus Japonicus*) Stored in Refrigerated Seawater, and Isolation and Identification of the Dominant Spoilage Bacteria[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2016, 32(4): 81—86.
- [23] 曹荣, 刘淇, 赵玲, 等. 基于高通量测序的牡蛎冷藏过程中微生物群落分析[J]. *农业工程学报*, 2016, 32(20): 275—280.
CAO Rong, LIU Qi, ZHAO Ling, et al. Microbial Flora Analysis of Oyster during Refrigerated Storage by High Throughput Sequencing Technology[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2016, 32(20): 275—280.
- [24] 范晓然. 太湖白虾低温贮藏时的菌相分析及其保鲜剂的开发[D]. 南京: 南京财经大学, 2018: 32—35.
FAN Xiao-ran. Microflora Analysis and Preservation of Taihu White Prawn (*Exopalaemon modestus*) during Low Temperature Storage[D]. Nanjing: Nanjing University of Finance and Economics, 2018: 32—35.
- [25] JAY J M, LOESSNER M J, GOLDEN D A. *Modern Food Microbiology*[M]. New York: Springer-verlag New York Inc, 2005: 101—110.
- [26] 胡杰, 何晓红, 李大平, 等. 鞘氨醇单胞菌研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2007(3): 431—437.
HU Jie, HE Xiao-hong, LI Da-ping, et al. Progress in Research of *Sphingomonas*[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2007(3): 431—437.
- [27] 蓝蔚青, 巩涛硕, 孙晓红, 等. 基于高通量分析流通方式对大目金枪鱼品质与微生物种群变化影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(20): 178—184.
LAN Wei-qing, GONG Tao-shuo, SUN Xiao-hong, et al. Effects of Circulation Modes on Quality and Microbial Populations of Big-eye Tuna (*Thunnus Obesus*) Analyzed by High-throughput Sequencing[J]. *Food Science*, 2019, 40(20): 178—184.
- [28] RODRÍGUEZ C, JOSÉ M, MARGARET F, et al. Incidence, Radioresistance, and Behavior of *Psychrobacter spp* in Rabbit Meat[J]. *Journal of Food Protection*, 2005, 68(3): 538—543.
- [29] 崔瑞颖, 祖铁红, 崔波, 等. 冻藏对海湾扇贝闭壳肌理化性质的影响[J]. *食品工业*, 2013, 34(10): 72—74.
CUI Rui-ying, ZU Tie-hong, CUI Bo, et al. Effects of Frozen Storage on Physicochemical Characters of *Argopecten Irradians* Muscle[J]. *The Food Industry*, 2013, 34(10): 72—74.
- [30] 雷芬芬. 深海菌株 *Exiguobacterium sp* SWJS2 发酵产蛋白酶, 酶学性质及酶解特异性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2014: 15—47.
LEI Fen-fen. Purification, Characterization and Hydrolysis Specificity of Protease from Deep-sea Strain *Exiguobacterium sp* SWJS2[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2014: 15—47.
- [31] 杨珊珊, 张晓波, 陈锋, 等. 新疆极端盐碱环境巴里坤湖沉积土壤中细菌的分离培养和鉴定[J]. *疾病预防控制通报*, 2019, 34(5): 1—4.
YANG Shan-shan, ZHANG Xiao-bo, CHEN Feng, et al. Culture, Isolation and Identification of Bacteria From Sedimentary Soil Environment of Extreme Saline Alkali in Balikun Lake of Xinjiang[J]. *Bulletin of Disease Control and Prevention (China)*, 2019, 34(5): 1—4.
- [32] 蒋倩倩, 戴志远, 赵巧灵, 等. 冰藏鲈鱼中组胺的产生及腐败微生物的变化[J]. *中国食品学报*, 2013, 13(8): 219—224.
JIANG Qian-qian, DAI Zhi-yuan, ZHAO Qiao-ling, et al. Histamine Production and Spoilage Microorganisms Variation of the Ice-stored Mackerel. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2013, 13(8): 219—224.