DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260104008
引用格式: 盖晓, 宋茹. 室温和冷藏下南美白对虾贮藏中期和末期菌群多样性及功能差异比较[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(12): 210–220.
GAI X, SONG R. Comparation of bacterial community diversity and functional differences in *Litopenaeus vannamei* during mid- and late-storage at room temperature and under refrigeration [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(12): 210–220. (in Chinese with English abstract).

室温和冷藏下南美白对虾贮藏中期和末期菌群多样性及功能差异比较

盖 晓, 宋 茹*

(浙江海洋大学食品与药学学院, 舟山 316022)

摘 要: 目的 探究室温和冷藏下南美白对虾贮藏中期和末期菌群多样性及功能差异。**方法** 通过 16S rDNA 测序技术分析南美白对虾在室温和冷藏(4 °C)下贮藏中期和末期菌群结构组成, 采用京都基因与基因组百科全书数据库(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)预测不同贮藏期室温和冷藏南美白对虾腐败菌的功能差异性。**结果** 南美白对虾优势腐败菌主要为厚壁菌门(Firmicutes) (>95.5%), 在属水平上, XI 科未分类属(Family_XI_unclassified) (32.59%)、迪氏菌(*Tissierella*) (19.97%)、漫游球菌(*Vagococcus*) (8.00%)和库尔特氏菌(*Kurthia*) (6.00%)为室温贮藏中期优势菌。室温贮藏末期优势菌有消化链球菌(*Peptostreptococcus*) (26.60%)、XI 科未分类属(26.56%)、漫游球菌(12.90%)和迪氏菌(5.95%)。相比之下, 冷藏处理显著降低了能引起食品腐败的库尔特氏菌和消化链球菌的相对丰度, 但漫游球菌(16.03%→22.86%)、嗜肽菌(*Peptoniphilu*) (9.24%→17.34%)、X1 科未分类属菌(<0.5%→12.04%)和迪氏菌(0.06%→10.11%)在冷藏末期的相对丰度均大幅度增加。KEGG 功能注释结果显示在贮藏中期, 菌体通过增强营养物质吸收、代谢活动和遗传物质合成, 以促进生长和竞争。与室温贮藏相比, 冷藏中期部分核苷酸的合成通路水平下降, 有助于抑制腐败菌生长。贮藏末期为应对不利环境, 菌体主要通过上调大量遗传物质合成修复由环境压力(温度)引起的 DNA 损伤, 上调特定氨基酸合成和降解、细胞壁强化等途径提高其生存能力和适应性。**结论** 南美白对虾在室温和冷藏下优势腐败菌有交叉重叠, 但相对丰度差异大。冷藏对南美白对虾腐败菌有一定的抑制作用, 改变了优势腐败菌的菌群结构从而导致功能差异。

关键词: 南美白对虾; 贮藏温度; 优势腐败菌; 菌群结构; 功能差异

收稿日期: 2026-01-04
基金项目: 国家自然科学基金项目(32272374)
第一作者: 盖晓(2001—), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为水产品加工与贮藏。E-mail: 1812558943@qq.com
***通信作者:** 宋茹(1976—), 女, 博士, 教授, 主要研究方向为水产品加工与贮藏。E-mail: rusong@zjou.edu.cn

Comparation of bacterial community diversity and functional differences in *Litopenaeus vannamei* during mid- and late-storage at room temperature and under refrigeration

GAI Xiao, SONG Ru*

(*School of Food Science and Pharmacy*, *Zhejiang Ocean University*, *Zhoushan* 316022, *China*)

ABSTRACT: Objective To investigate the bacterial community diversity and functional differences in *Litopenaeus vannamei* during mid- and late-storage at room temperature and under refrigeration. **Methods** The bacterial community structure of *Litopenaeus vannamei* during mid- and late-storage at room temperature and under refrigeration (4 °C) was characterized by 16S rDNA sequencing. The Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) database was used to predict the functional differences of spoilage bacteria in *Litopenaeus vannamei* stored at room temperature and under refrigeration during different storage periods. **Results** Phylum-level analysis revealed Firmicutes as the predominant lineage (>95.5%) in spoiled *Litopenaeus vannamei*. At the genus level, mid-stage room temperature storage was characterized by the co-dominance of Family_XI_unclassified (32.59%), *Tissierella* (19.97%), *Vagococcus* (8.00%) and *Kurthia* (6.00%). This assemblage transitioned to a *Peptostreptococcus* (26.60%), Family_XI_unclassified (26.56%), *Vagococcus* (12.90%), *Tissierella* (5.95%) consortium at late-stage room temperature storage. Conversely, refrigeration significantly attenuated the relative abundance of spoilage-associated *Kurthia* and *Peptostreptococcus*, while concomitantly enriching *Vagococcus* (16.03%→22.86%), *Peptoniphilu* (9.24%→17.34%), Family_XI_unclassified (<0.5%→12.04%) and *Tissierella* (0.06%→10.11%) at terminal storage. KEGG-based functional prediction revealed that mid-stage bacterial communities under room-temperature storage upregulated nutrient acquisition, energy metabolism, and nucleotide biosynthesis pathways, conferring competitive growth advantages. Compared with room temperature storage, the abundance of certain nucleotide biosynthesis pathways was downregulated during mid-refrigerated storage, which contributed to the suppression of spoilage bacterial growth. At the end of storage, bacteria coped with adverse conditions by upregulating genetic material synthesis to repair temperature-induced DNA damage, and enhancing amino acid metabolism and cell wall reinforcement pathways to improve survival and adaptability. **Conclusion** The dominant spoilage bacteria in *Litopenaeus vannamei* stored at room temperature and under refrigeration partially overlap, yet their relative abundances differ significantly. Refrigeration exerts a certain inhibitory effect on spoilage bacteria of *Litopenaeus vannamei*, altering the community structure of dominant spoilage bacteria, and consequently resulting in functional differences.

KEY WORDS: *Litopenaeus vannamei*; storage temperature; specific spoilage organisms; microbial community structure; functional differences

0　引　言

水产品水分含量高, 且蛋白质含量丰富, 在贮藏过程中易滋生微生物导致腐败变质。水产品的腐败与部分微生物参与腐败过程有关, 这类微生物能逐渐适应保存(环境)条件, 最终在数量上占据优势地位, 产生腐败臭味和异味代谢产物, 被称作优势腐败菌(specific spoilage organisms, SSOs)[1]。SSOs 通常具有很强的蛋白质分解能力, 并能产生不良风味物质, 如生物胺等[2]。已报道水产品常见的优势腐败菌有假单胞菌属(*Pseudomonas*)、希瓦氏菌属(*Shewanella*)、气单胞菌属(*Aeromonas*)、乳酸菌属(*Lactobacillus*)等, 但是不同贮藏条件下(贮藏气体成分、贮藏温度、pH、盐度等)水产品的微生物菌群结构、优势菌群类型及丰度均存在一定的差异性[3–4]。

南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)通常采用低温(包括冷藏、微冻和冷冻)和防腐方式保鲜。大量研究表明温度是影响南美白对虾保鲜期的关键因素, 赵海鹏等[5]报道了冷藏条件下南美白对虾的腐败菌有腐败希瓦氏菌、气单胞菌和假单胞菌, 其中腐败希瓦氏菌为主要 SSOs。DON 等[6]研究表明贮藏温度影响虾的变质率和腐败菌类型, 其中常温下腐败菌为肠杆菌科细菌, 冷藏条件下为假单胞菌, 而冰冻条件下为假单胞菌和肠杆菌科细菌。但是, 专门针对南美白对虾在不同温度下贮藏中期和末期的菌群结构变化及功能差异比较的研究还少见报道。

本研究以室温和冷藏条件下南美白对虾中期和末期腐败菌为研究对象，基于 16S rDNA 测序技术分析菌群结构组成变化，线性判别分析(LEfSe-linear discriminant analysis, LEfSe-LDA)不同贮藏温度和贮藏期的差异菌，采用京都基因与基因组百科全书数据库(Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)进行功能注释并分析差异功能，旨在为后续针对性开发室温及冷藏条件下南美白对虾保鲜剂(或抑菌剂)奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

南美白对虾活虾(平均体重 25 g±5 g)：购于舟山老碶菜场，碎冰覆盖，30 min 内运至实验室。

DNA 抽提试剂盒(美国 Omega Bio-Tek 公司)；AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒(美国 AXYGEN 公司)。

1.2 仪器与设备

HZK-FA210 电子天平[精密度 0.0001 g，华志(福建)电子科技有限公司]；ZHeraeus Multifuge X1R 高速冷冻离心机(湖南湘仪仪器有限公司)；DSX-280KB24 手提式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂)；VD-650 桌上式洁净工作台(上海力辰邦西仪器科技有限公司)；GeneAmp® 9700 型聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)仪[北京全式金生物技术(TransGen Biotech)股份有限公司]；Qubit 3.0 荧光计(美国赛默飞世尔科技公司)；DYY-6C 电泳仪(北京市六一仪器厂)；QuantiFluor™ -ST blue 荧光定量系统(美国 Promega 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 室温及冷藏条件下贮藏中期和末期腐败菌收集

新鲜活虾分别置于无菌自封袋中，分别在室温(25 °C)和 4 °C 下冷藏，虾头出现黑变为贮藏中期，虾头或虾体完全黑变为贮藏末期，室温下放置 4 d 和 8 d 分别作为室温贮藏中期(NR4)和末期(NR8)样本；在 4 °C 下放置 6 d 和 12 d 分别作为冷藏贮藏中期(NC6)和末期(NC12)样本。向自封袋中按照虾重量 1:5 (m:V)比例加入少量无菌水，冲洗虾体表面以获得细菌悬液，然后 4 °C 下 3500×g 离心 10 min，收集细菌沉淀，用于总 DNA 提取。

1.3.2 提取细菌总 DNA

NR4、NR8、NC6 和 NC12 组按照细菌 DNA 抽提试剂盒操作说明提取总 DNA。

1.3.3 PCR 扩增及 16S rDNA 高通量测序

委托上海元莘生物科技有限公司进行，以提取的细菌基因组 DNA 作为模板，以 515F-907R 为引物(515F, 5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3'; 907R, 5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')，对 16S rDNA 的 V4-V5 区进行聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增：95 °C, 3 min; 27 个循环(95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s); 72 °C 5 min，维持在 10 °C 直至停止。使用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒切割和回收聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)产物，通过 Qubit 3.0 荧光计测定 PCR 产物浓度，2%琼脂糖凝胶电泳测量 PCR 扩增质量。最后，使用 QuantiFluor™-ST blue 荧光定量系统对 PCR 扩增产物进行定量，所有测序在 Illumina PE250 平台上完成。

1.3.4 数据优化与生物信息学分析

使用 QIIME(定量微生物生态学分析工具)(V1.9.0http://qiime.org/scripts/assign_taxonomy.html)对相关原始数据进行分析，经质量控制及低质量序列过滤后，每个样本优化数据的序列条数在 49900~73300 之间，序列平均长度在 309.00~318.40 bp 之间，将有效序列按 97%相似性聚类为操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)。基于 OTU 聚类分析[Usearch(vsesion 7.0.1090 http://drive5.com/uparse/)]，采用 α 多样性分析(包括 Ace、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数)NR4、NR8、NC6 和 NC12 的微生物群落丰度和多样性，采用 β 多样性分析[基于 UniFrac 的 principal coordinates analysis, PCoA]组间(样本间)相似性与差异性[7]。然后，从门、科和属水平分析 NR4、NR8、NC6 和 NC12 的微生物群落组成。采用 LEfSe-LDA 分析 NR4、NR8、NC6 和 NC12 的显著差异菌，分别对贮藏中期的 NR4 和 NC6，贮藏末期 NR8 和 NC12 进行 KEGG 功能注释，预测功能差异性。

1.4 数据处理

每组样品重复 3 个，结果用平均值±标准差表示(n=3)，采用方差分析(analysis of variance, ANOVA)分析组间差异显著性(SPSS 19.0)，P<0.05 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 α 多样性分析

采用 Ace、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数来评估南美白对虾室温及冷藏条件贮藏中期和末期群落多样性，结果见表 1。

各组的覆盖率指数均超过 0.99，表明样本库具有较高的覆盖度，未检出序列的概率较低。因此，本研究中检测到的序列可用于微生物多样性分析。在与 α 多样性相关的指标中，Ace 指数和 Chao1 指数反映微生物丰度——数值越高，微生物丰度越大。Shannon 指数和 Simpson 指数通常与微生物多样性相关，Shannon 指数越高，Simpson 指数越低，通常意味着微生物多样性越高[8]。

在贮藏中期，NC6 组的 Ace 指数和 Chao1 指数均显著低于 NR4 组(P<0.05)，表示冷藏下虾的细菌丰度低于室温

表 1　不同贮藏条件下南美白对虾腐败菌 α 多样性指数(n=3)

Table 1　α-diversity indices of spoilage bacteria in *Litopenaeus vannamei* under different storage conditions (n=3)

组别	Ace 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	覆盖率
NR4	1800.67±6.94^{b}	1781.67±24.55^{b}	5.96±0.07^{b}	0.0066±0.0005^{b}	0.9927
NR8	1920.00±37.07^{a}	1905.00±54.26^{a}	6.13±0.04^{a}	0.0046±0.0003^{c}	0.9938
NC6	1427.00±39.61^{c}	1424.00±58.49^{c}	5.53±0.02^{c}	0.0095±0.0007^{a}	0.9957
NC12	1880.33±25.30^{a}	1872.00±33.89^{ab}	6.01±0.03^{b}	0.0059±0.0004^{b}	0.9947

注：同一指数下不同小写字母表示不同样品组间差异显著(P<0.05)。

下的丰度。NC6 组的 Shannon 指数显著低于 NR4 组，而 Simpson 指数则显著高于 NR4 组(P<0.05)，说明冷藏下菌群多样性降低。表 1 结果表明冷藏对南美白对虾贮藏中期细菌生长繁殖具有抑制作用。在贮藏末期，NC12 组和 NR8 组的 Ace 指数和 Chao1 指数差异无统计学意义(P>0.05)。但 NC12 组的 Shannon 指数显著低于 NR8 组，Simpson 指数显著高于 NR8 组(P<0.05)，反映出贮藏末期冷藏条件下南美白对虾的菌群多样性低于室温下的菌群多样性。

2.2　β 多样性分析

β 多样性可以评估不同组群间微生物群落的差异，PCoA 可以区分样本在属水平上的相似性。样本组成越相似，PCoA 图上的点就越接近[9]。图 1 中样本在 PC1、PC2 和 PC3 的变异量分别为 35.71%、12.97%和 9.95%。室温组(NR4 和 NR8)与冷藏组(NC6 和 NC12)明显分离，表明贮藏温度影响了微生物群落在属水平上的变化，图 1 中组内样本散点分布模式也提示组内样本微生物群落组成存在一定的局部差异。值得注意的是，NC12 与 NR8 组以及 NC6 与 NR8 组之间有少量重叠区域，表明不同贮藏温度和贮藏时间下微生物在菌属水平上存在一定相似性，即该部分微生物可能是南美白对虾在室温和冷藏条件下共有的优势腐败菌。

2.3　不同贮藏条件下南美白对虾腐败菌在门水平上比较

图 2 在门水平上，南美白对虾在室温及冷藏条件下的腐败菌主要由厚壁菌门(Firmicutes)微生物构成(>95.5%)，其中 NR4 组相对丰度为 95.84%，贮藏末期 NR8 组则进一步提高到 98.53%，而冷藏后期 NC12 组的相对丰度略有下降。变形菌门(Proteobacteria)的相对丰度在室温贮藏组从 NR4 组的 3.13%降至 NR8 组的 0.73%，相比之下，冷藏组则是从 0.15% (NC6)提高到 0.41% (NC12)。上述结果表明，贮藏温度和时间对南美白对虾腐败菌的厚壁菌门和变形菌门微生物组成有一定影响。

2.4　不同贮藏条件下南美白对虾腐败菌在科和属水平上比较

如图 3(A)所示在科水平上，NR4 组细菌主要由厚壁菌门下的 3 个科构成：XI 科(Family_XI) (57.33%)、平球菌科(Planococcaceae) (10.73%)和肠球菌科(Enterococcaceae)

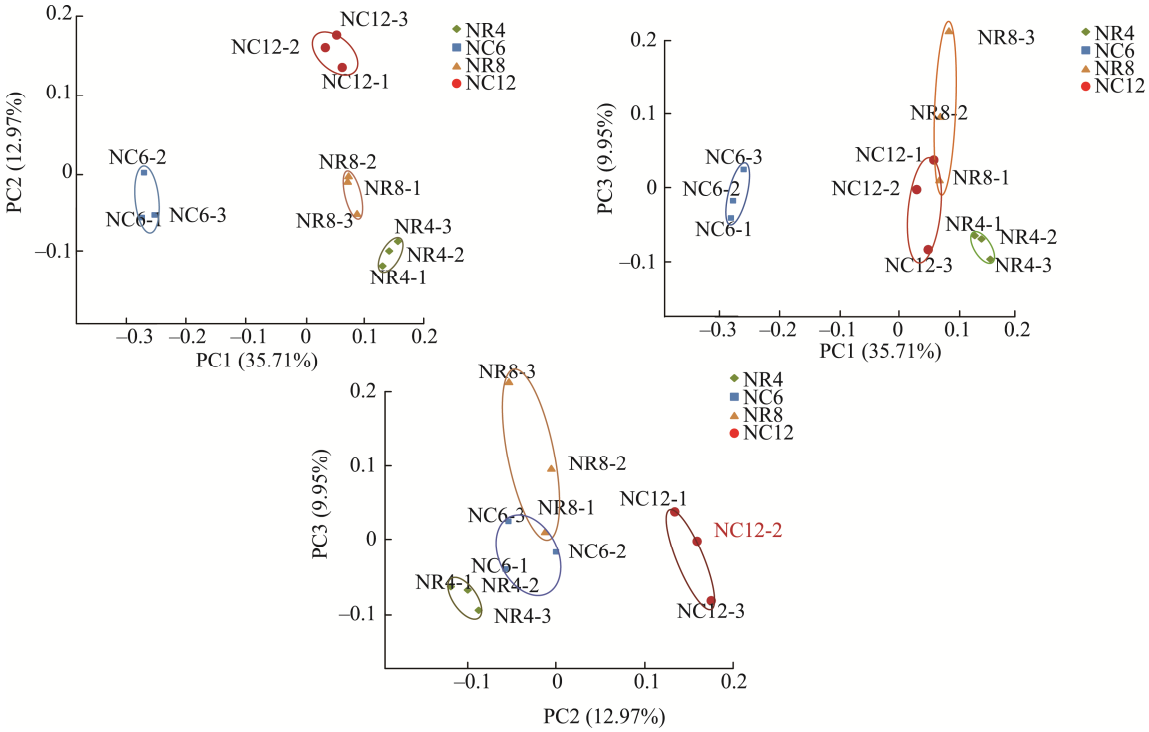


图 1　不同贮藏条件下南美白对虾腐败菌的 PCoA

Fig.1　PCoA of spoilage bacteria in *Litopenaeus vannamei* under different storage conditions

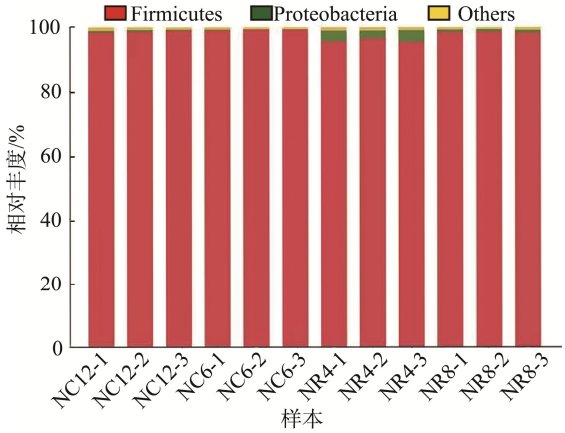
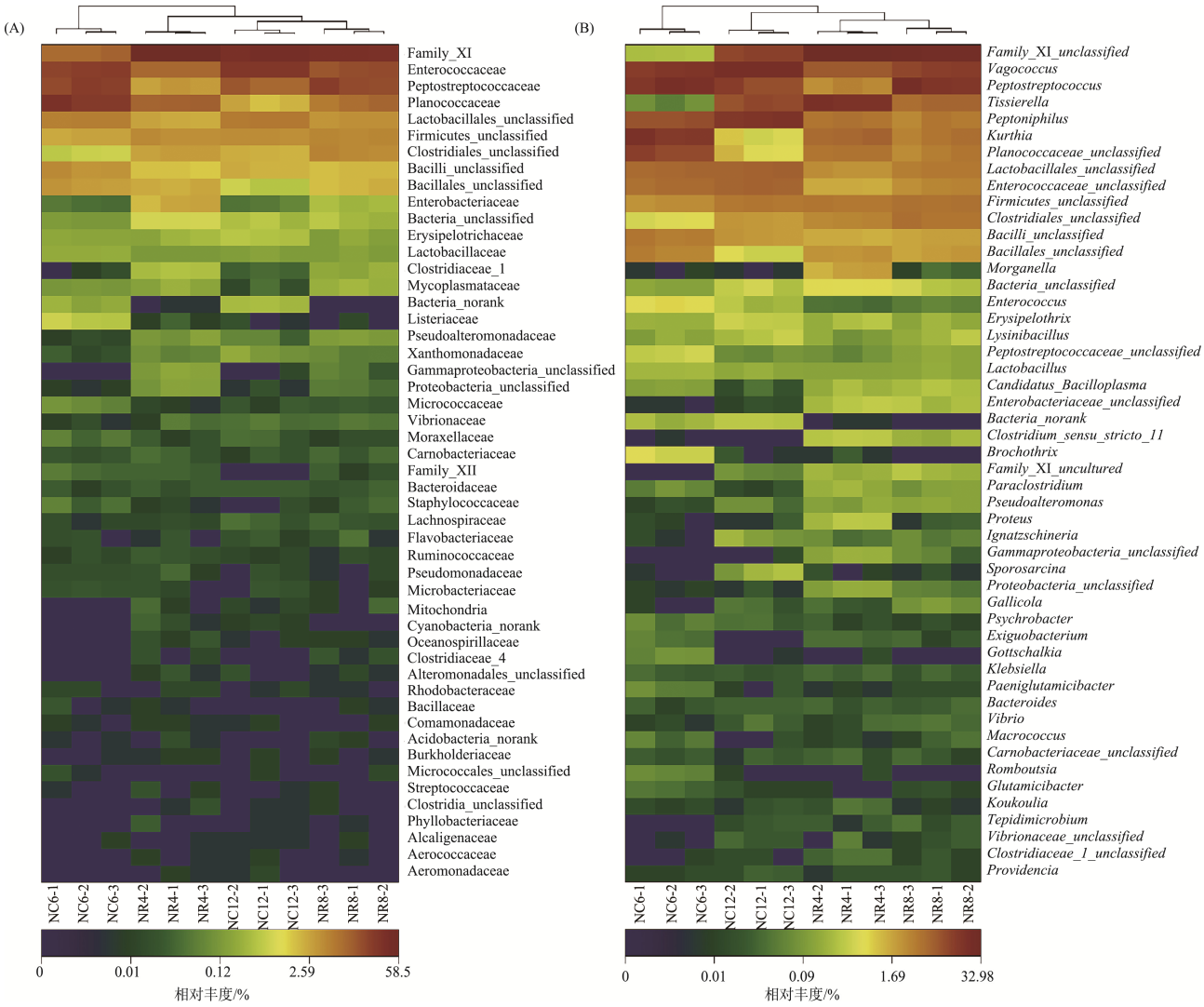


图 2 不同贮藏条件下南美白对虾腐败菌在门水平上比较

Fig.2 Comparison of relative abundance of spoilage bacteria of *Litopenaeus vannamei* at the phylum level under different storage conditions

(9.61%)。NR8、NC6 和 NC12 组中 XI 科的相对丰度分别降至 36.67%、9.67%和 39.62%以下。平球菌科在 NC6 和 NC12 组中的相对丰度分别为 28.81%和 2.17%，而在 NR8 组中为 8.21%。无论是室温还是冷藏，在贮藏末期平球菌的相对丰度均明显下降，说明该菌在贮藏过程中不适应环境条件，生长繁殖受到抑制。与 NR4 组相比，肠球菌科在 NR8、NC6 和 NC12 组中相对丰度均有所提升: NC6 组为 22.22%, NC12 组达 29.44%, NR8 组为 15.88%。肠球菌科是一类革兰氏阳性兼性厌氧球菌，在食品工业中作为益生菌和食品发酵剂具有广泛应用[10]。图 3(A)结果表明冷藏处理较室温贮藏更能有效降低有害菌的生长率，提高潜在益生菌的比例。

在属水平上，如图 3(B)所示，共鉴定出超过 50 种细菌，其中 NR4 组中占比最高的 6 个属分别是: XI 科未分类



注: (A)科水平; (B)属水平。蓝色代表群落相对丰度较低; 红色代表群落相对丰度较高。

图 3 不同贮藏条件下南美白对虾腐败菌在科和属水平上相对丰度比较

Fig.3 Comparison of relative abundance of spoilage bacteria of *Litopenaeus vannamei* at the family and genus levels under different storage conditions

属(Family_XI_unclassified) (32.59%)、迪氏菌属(*Tissierella*) (19.97%)、漫游球菌属(*Vagococcus*) (8.00%)、库尔特氏菌属(*Kurthia*) (6.00%)、嗜肽菌属(*Peptoniphilu*) (4.62%)和消化链球菌属(*Peptostreptococcus*) (3.00%)。

NC6 组的 XI 科未分类属菌的相对丰度(<0.5%)显著低于室温贮藏组 NR4 (32.59%)和 NR8 (26.56%), 但是随着冷藏时间延长到贮藏末期时 NC12 的 XI 科未分类属菌的相对丰度显著提高到 12.04% (P<0.05), 说明冷藏末期的南美白对虾腐败菌组成比较复杂, 存在一些未鉴菌。

NR8 的迪氏菌相对丰度降到 5.95%, 而冷藏条件下迪氏菌相对丰度从 NC6 的 0.06%提高到 NC12 的 10.11%。迪氏菌是一种革兰氏阳性厌氧菌, 能降解蛋白质, 产生乙酸、丁酸和丙酸等挥发性脂肪酸, 部分迪氏菌株还能将肌酐降解为肌酸、肌氨酸和甘氨酸, 这些物质继而被降解为甲胺、氨、二氧化碳和乙酰磷酸[11]。上述结果表明贮藏温度对迪氏菌相对丰度影响大, 该菌在冷藏末期为优势菌之一。漫游球菌在 NR8、NC6 和 NC12 组中相对丰度分别为 12.90%、16.03%和 22.86%。漫游球菌对动物和人类具有致病作用, 有研究表明, 漫游球菌属中有许多菌株不仅是鱼类病原菌, 而且具有高度的活力和增殖性, 在多种水产品的腐败中也占据重要地位[12–13]。图 3(B)中在室温及冷藏末期, 漫游球菌的相对丰度均有所增加, 表明该菌对南美白对虾贮藏末期腐败发挥重要作用。

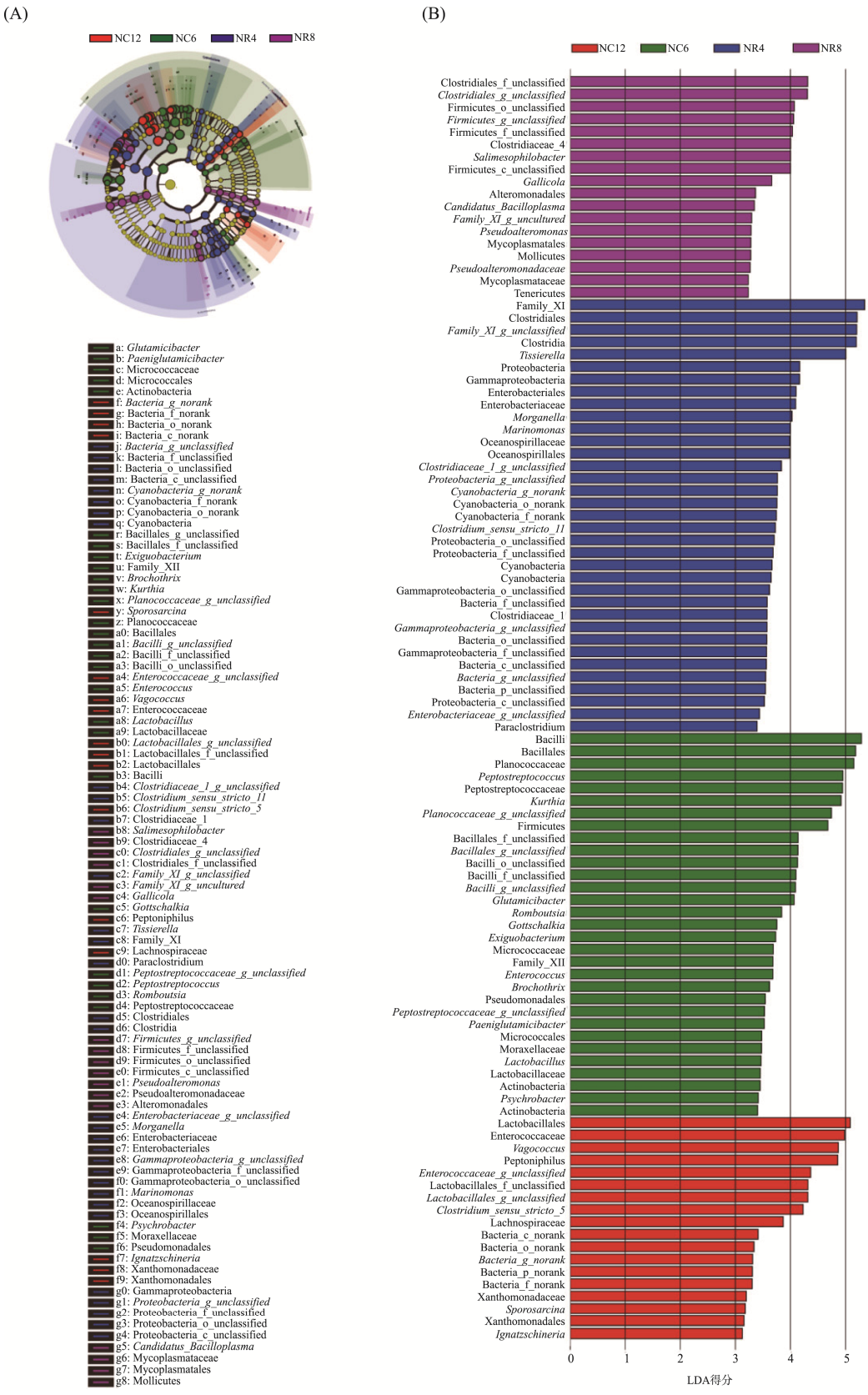
库尔特氏菌是一种需氧的革兰氏阳性菌, 最初是从永久冻土的马加丹猛犸肠内容物和胃中分离出来[14]。此外, 从肉类、肉制品和变质食品以及某些家畜的粪便也分离出来多株库尔特氏菌, 并且被鉴定为病原体[15–16]。NR8 组库尔特氏菌的相对丰度为 4.33%, NC12 组仅为 0.71%, 说明冷藏末期该菌的相对丰度远低于室温贮藏末期的相对丰度。嗜肽菌属在 NR8 组相对丰度略有降低(3.80%), 相比之下, 冷藏组则是从 NC6 组的 9.24%提高到 NC12 组的 17.34%。据报道嗜肽菌主要分离自人类临床样本(如血液感染、粪便、尿液)[17], 目前还未见在腐败水产品中报道该菌, 推测可能与本研究所购南美白对虾售卖的环境等因素有关。消化链球菌一般是厌氧型, 该菌能高效分解含硫氨基酸, 产生腐败气味物质(尤其是硫化氢)[18]。与 NR4 组相比, NR8 组消化链球菌的相对丰度上升到 26.60%, 提高了 8 倍多。而冷藏条件下, NC6 组消化链球菌属的相对丰度从 20.29%降至 NC12 组的 10.95%。上述结果表明, 冷藏处理可显著降低库尔特氏菌属和消化链球菌属的相对丰度, 有效抑制了南美白对虾部分腐败菌生长。

2.5　LEfSe-LDA 分析不同贮藏条件下南美白对虾腐败菌的显著差异菌

NR4、NR8、NC6 和 NC12 组差异菌(LDA>3.0)如图 4 所示, 在贮藏中期, 在门水平上, 差异显著菌为变形菌门、厚壁菌门、蓝藻门(Cyanobacteria)和未分类细菌门(Bacteria_p_unclassified)。在属水平上, NR4 有 11 个显著差异菌, 分别是厚壁菌门的 XI 科未分类属和迪氏菌、狭义梭菌 11(*Clostridium_sensu_stricto*_11)和未分类梭菌属(Clostridiaceae_1_g_unclassified)。变形菌门的未分类肠杆菌(Enterobacteriaceae_g_unclassified)和摩根菌(*Morganella*)、γ-变形菌纲未分类属(Gammaproteobacteria_g_ unclassified)、海单胞菌(*Marinomonas*)、变形菌门未分类属(Proteobacteria_g_unclassified), 以及未分类细菌(Bacteria_g_unclassified)和未分类蓝细菌(Cyanobacteria_g_norank)。

NC6 组 15 个差异显著的菌分别为放线菌门(Actinobacteria)的类谷氨酸杆菌(*Paeniglutamicibacter*)和谷氨酸杆菌(*Glutamicibacter*)。厚壁菌门的未芽孢杆菌目未分类属(Bacillales_g_unclassified)和迪氏菌、微小杆菌属(*Exiguobacterium*)、热死环丝菌属(*Brochothrix*)、库尔特氏菌属和未分类球菌(Planococcaceae_g_unclassified)、未分类芽孢杆菌(Bacilli_g_unclassified)、肠球菌(*Enterococcus*)、乳杆菌(*Lactobacillus*)、戈特沙尔克氏菌(*Gottschalkia*)、罗氏菌(*Romboutsia*)、消化链球菌和未分类消化链球菌(Peptostreptococcaceae_g_unclassified)和嗜冷杆菌(*Psychrobacter*)。此外, 嗜冷杆菌属可将 NC6 组与其他组别区分开来(P<0.05)。嗜冷杆菌属于同一嗜盐单胞菌科(Psychromonadaceae), 该科的主要存在于海洋、海冰或盐水环境。嗜冷菌是导致冷冻海产品腐败的细菌之一[19]。热死环丝菌属包含两种非致病性菌: 热死环丝菌(*Brochothrix thermosphacta*)与田野环丝菌(*Brochothrix campestris*)。热死环丝菌是兼性厌氧菌, 低温条件下在低氧环境及真空包装的冷冻肉类和鱼类表面生长, 被认为是肉类和海产品气调贮藏的主要腐败微生物[20]。

在贮藏末期, 在门水平上, 差异显著菌为变形菌门、厚壁菌门、软壁菌门(Tenericutes)。在属水平上, NR8 有 7 个菌属有显著性差异(LDA>3.0), 分别是厚壁菌门的嗜盐厌食杆菌属(*Salimesophilobacter*)、梭菌目未分类属(Clostridiales_g_unclassified)、XI 科未培养菌(Family_XI_g_uncultured)和鸡栖菌属(*Gallicola*)、厚壁菌门未分类属(Firmicutes_g_unclassified)和变形菌门的假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)、软壁菌门的暂定杆菌质体属(*Candidatus Bacilloplasma*)。其中, 假交替单胞菌属具有较高的 LDA 值(>3), 假交替单胞菌属是一类需氧、异养、不产孢子、具有鞭毛的革兰氏阴性菌。该菌属广泛分布于海洋生态系统中, 研究表明, 其菌株能够分泌多种胞外活性物质, 包括抗菌裂解物、抗生素、抗真菌物质、胞外酶及胞外多糖[21], 这些物质在海洋-陆地生物循环中发挥重要作用, 且具有良好的应用前景[22]。假单胞菌也与海产品



注: (A)差异物种注释分支图; (B)差异物种 LDA 得分图。

图 4 LEfSe_LDA 分析不同贮藏条件下南美白对虾显著差异菌

Fig.4 Lefse_LDA analysis of significantly differentially abundant bacteria in *Litopenaeus vannamei* under different storage conditions

的腐败变质有关，如荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)作为海产品中一种特定腐败细菌，能够感染鱼类和贝类等食物，使肉表面变得黏稠，形成难闻的气味，最终导致食物变质[23]。KATRIEN 等[24]报道假交替单胞菌可通过分解脂质和水解氨基酸和蛋白质，产生大量挥发性化合物，如硫化物、丙酮、氨和乙醇等，可能是褐虾腐败过程中产生异味的原因。此外，假交替单胞菌属还有抗菌特性，如: 分解以及降解多氯联苯[25–26]，释放蛋白水解酶等抗菌物质，通过转移水解囊泡来破坏弧菌[27]。

NC12 组中 7 个差异显著菌分别为厚壁菌门的芽孢八叠球菌属(*Sporosarcina*)、漫游球菌属和肠球菌科未分类属(Enterococcaceae_g_unclassified)、乳杆菌目未分类属(Lactobacillales_g_unclassified)、狭义梭菌 5 (*Clostridium_sensu_stricto*_5)、未分类细菌(Bacteria_g_norank)和变形菌门的伊氏菌(*Ignatzschineria*)。某些芽孢八叠球菌属的菌株与冷藏水产制品腐败有关，这些菌通过改变细胞膜脂肪酸组成(增加不饱和脂肪酸比例)来适应低温环境，在后续冷藏过程中萌发、增殖，导致产品变质[28]。狭义梭菌属的产丁酸梭菌能形成耐热芽孢，在巴氏杀菌的奶酪中仍能存活，在后期发酵中代谢乳酸产生大量气体，形成不良风味，引起乳制品腐败[29]。

2.6　基于 KEGG 分析不同贮藏条件下南美白对虾腐败菌的功能差异性

本研究比较了室温及冷藏下贮藏中期和末期南美白对虾腐败菌的功能差异性，结果发现在贮藏中期，NR4 和 NC6 共有 46 个显著差异功能，其中冷藏组上调 25 个功能，室温组仅上调 20 个。此外，与室温处理相比，冷藏处理显著促进了以下超级通路的活性: *L*-赖氨酸生物合成 I (*L*-lysine biosynthesis I)、NAD 生物合成 I(由天冬氨酸介导)[NAD biosynthesis I (from aspartate)]、脂肪酸延伸(饱和型)(fatty acid elongation-saturated)、*L*-精氨酸生物合成(*L*-arginine biosynthesis)、*L*-赖氨酸、*L*-苏氨酸和 *L*-蛋氨酸生物合成超级通路 I (superpathway of *L*-lysine, *L*-threonine and *L*-methionine biosynthesis I)、谷氨酸血红素生物合成超级通路(superpathay of heme biosynthesis from glutamate)、香叶醇二磷酸生物合成超级通路 II(经 MEP 途径)[superpathway of geranylgeranyl diphosphate biosynthesis II (via MEP)]以及 *L*-精氨酸生物合成 II(乙酰循环)[*L*-arginine biosynthesis II (acetyl cycle)]。相比之下，部分功能如嘧啶脱氧核糖核苷酸从头合成超级通路(大肠杆菌)[superpathway of pyrimidine deoxyribonucleotides de novo biosynthesis (*E. coli*)]、嘌呤核苷酸从头合成超级通路 I (superpathway of purine nucleotides de novo biosynthesis)、肌苷-5'-磷酸生物合成 I (inosine-5'-phosphate biosynthesis I)、腺苷核糖核苷酸从头合成(adenosine ribonucleotides de novo biosynthesis)、嘧啶脱氧核糖核苷补救(pyrimidine deoxyribonucleosides salvage)以及腺苷核苷酸从头合成超级通路 I (superpathway ofadenosine nucleotides de novo biosynthesis I)的活性有所下降(图 5)。

贮藏中期优势菌为更有效地竞争资源，占据生长优势，通过吸收营养物质促进生长，具体表现为蛋白质和遗传物质合成有关通路显著上调。相较于室温处理组，冷藏下部分核苷酸合成活性有所下降。核苷酸是生物体内关键的生物分子，主要参与遗传信息传递、能量代谢、细胞信号传导等过程，对生命活动至关重要。其中 DNA 中的脱氧核苷酸储存遗传信息，DNA 通过复制将遗传信息传递给子代。RNA 中的核苷酸则参与蛋白质合成，通过转录和翻译指导蛋白质合成[30]。由此可知，冷藏处理有助于抑制遗传物质与蛋白质的合成，从而抑制南美白对虾中前期的腐败。

在贮藏末期, NR8 和 NC12 有 60 项功能存在显著差异，其中冷藏组上调了 40 项功能，而室温组增加 20 项。与室温处理相比，冷藏处理促进了 5-氨基咪唑核糖核苷酸生物合成 II (5-aminoimidazole ribonucleotide biosynthesis II)、5-氨基咪唑核糖核苷酸生物合成超级通路(superpathway of 5-aminoimidazole ribonucleotide biosynthesis)、腺苷核苷酸从头合成超级通路 I、肌苷-5'-磷酸生物合成 I、嘧啶脱氧核糖核苷补救、嘧啶核碱基补救超级通路(superpathway of pyrimidine nucleobases salvage)、腺苷核苷酸从头合成超级通路 III (adenine and adenosine salvage III)以及腺苷核糖核苷酸从头合成等通路的活性。上述大量遗传物质合成途径在 NC12 组上调，表明在冷藏末期优势菌需要大量合成 DNA 等遗传物质以应对不利环境条件，修复由环境压力(温度、pH 等)引起的 DNA 损伤。此外, *L*-赖氨酸生物合成 VI (*L*-lysine biosynthesis VI)、*L*-赖氨酸生物合成 III (*L*-lysine biosynthesis III)、*L*-异亮氨酸生物合成 IV (*L*-isoleucine biosynthesis IV)、*L*-丙氨酸生物合成超级通路(superpathway of *L*-alanine biosynthesis)和 *L*-谷氨酸降解 V(通过羟基戊二酸途径)[*L*-glutamate degradation V (via hydroxyglutarate)]等通路在 NC12 组中显著上调，说明冷藏末期优势菌对一些氨基酸合成和降解有特定需求。NC12 组中 UDP-N-乙酰胞壁酰-五肽生物合成 I(含内消旋-二氨基庚二酸)[UDP-N-acetylmuramoyl- pentapeptide biosynthesis I (meso-diaminopimelate containing)]、UDP-N-乙酰胞壁酰-五肽生物合成 II(含赖氨酸)[UDP-N-acetylmuramoyl-pentapeptide biosynthesis II (lysine-containing)]、肽聚糖生物合成 I(含内消旋-二氨基庚二酸)[peptidoglycan biosynthesis I (meso-diaminopimelate containing)]和肽聚糖生物合成 III(分枝杆菌)[peptidoglycan biosynthesis III (mycobacteria)]显著上调(图 6)。上述肽聚糖生物合成相关通路表达水平显著上调，说明在冷藏末期南美白对虾优势腐败菌在面对低温环境压力时，通过细胞壁强化机制，提

高其生存能力和适应性。

与 NC12 组类似, NR8 组氨基酸合成途径, 如: *L*-异亮氨酸生物合成(*L*-isoleucine biosynthesis II)、天冬氨酸超级通路(aspartate superpathway)、*L*-赖氨酸、*L*-苏氨酸和 *L*-蛋氨酸生物合成超级通路 I、甲羟戊酸代谢超级通路(superpathway of chorismate metabolism)、*L*-蛋氨酸生物合成(转硫作用)超级通路 [superpathway of *L*-methionine biosynthesis (transsulfuration)] 、*L*-组氨酸生物合成途径(*L*-histidine biosynthesis)及 *L*-蛋氨酸生物合成 I (*L*-methionine biosynthesis I)功能也显著上调, 其中组氨酸和赖氨酸是生成生物胺的前体氨基酸, 说明 NR8 组优势腐败菌对氨基酸需求更大, 主要用于生成组胺、腐胺等腐败代谢物。

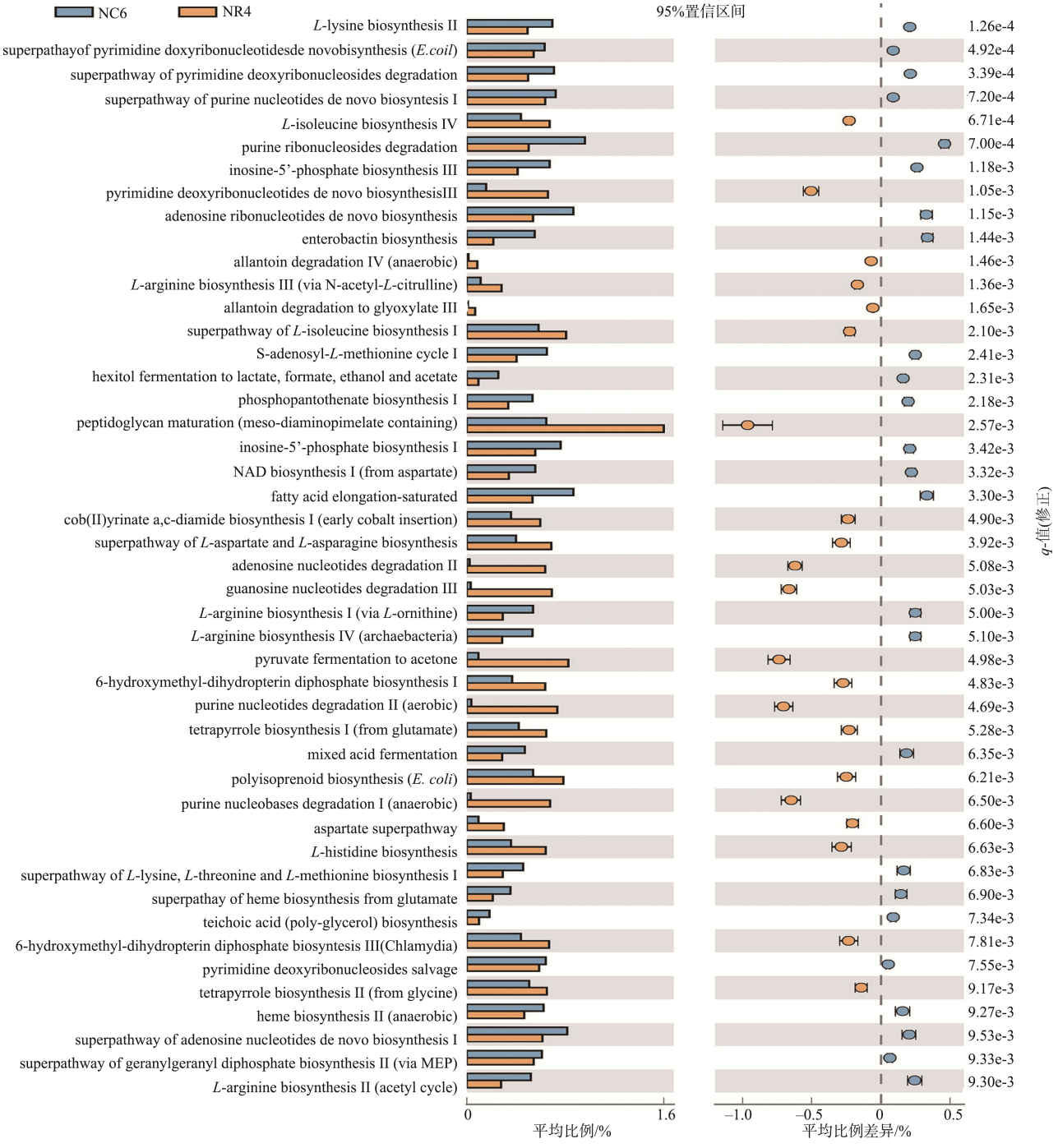


图 5 贮藏中期室温及冷藏南美白对虾腐败菌功能差异比较

Fig.5 Comparison of the functional differences of spoilage bacteria between room temperature and refrigerated *Litopenaeus vannamei* at the mid-storage

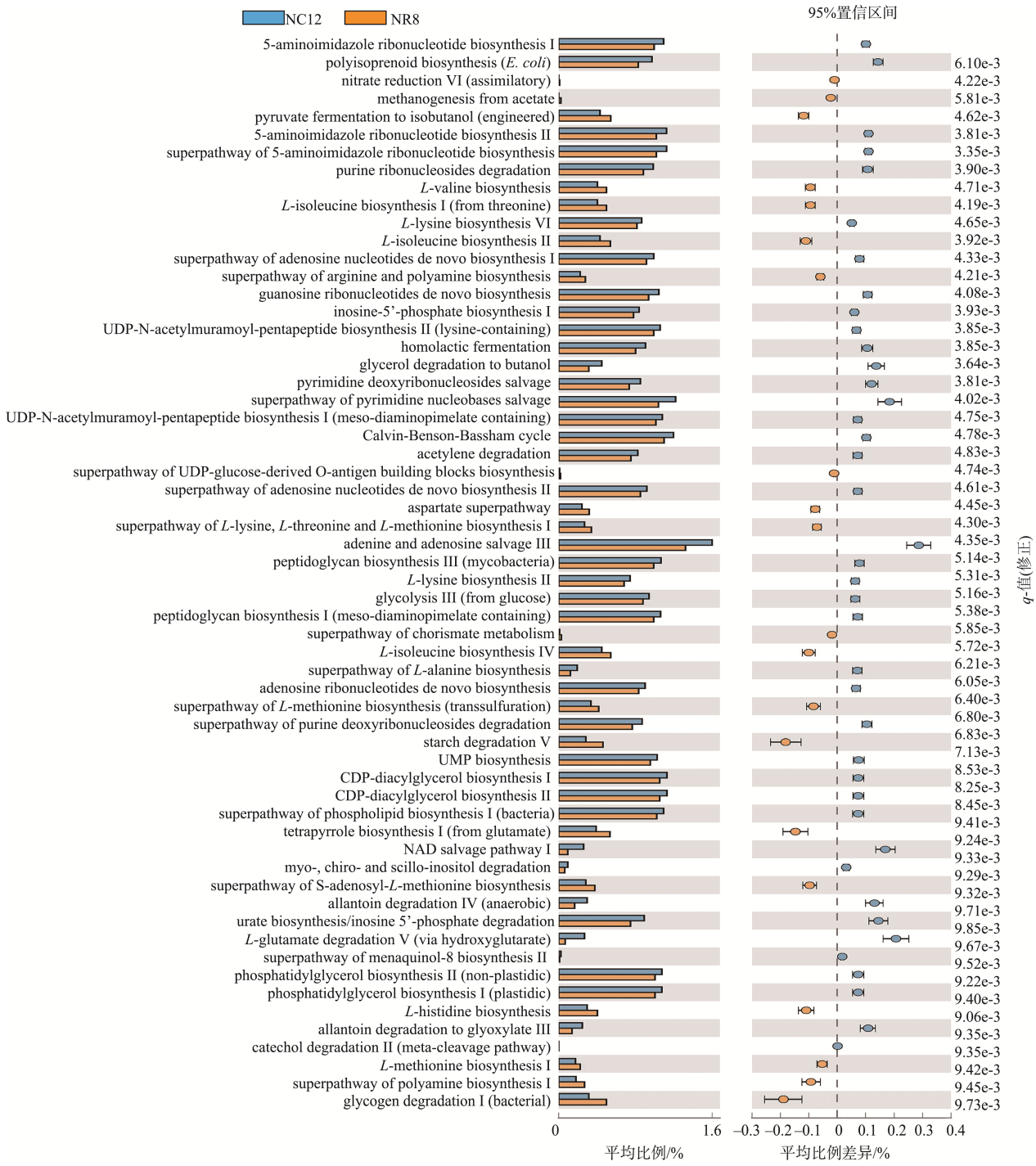


图 6　贮藏末期室温及冷藏南美白对虾腐败菌功能差异比较

Fig.6　Comparison of the functional differences of spoilage bacteria between room temperature and refrigerated *Litopenaeus vannamei* at the end of storage

3　结　论

室温和冷藏下贮藏中期和末期的南美白对虾在菌群结构上差异明显，其中室温下 XI 科未分类属是贮藏中期和末期最主要优势菌(相对丰度>25%)，另一种优势菌迪氏菌的相对丰度从室温贮藏中期的 19.97%降到贮藏末期的5.95%，而消化链球菌在室温贮藏末期的相对丰度达到26.60%，成为主要优势菌。冷藏下消化链球菌和库尔特氏菌的相对丰度在冷藏末期下降明显，但漫游球菌(22.86%)、嗜肽菌(17.34%)、X1 科未分类属菌(12.04%)和迪氏菌(10.11%)成为冷藏末期优势菌。南美白对虾腐败菌在贮藏中期主要通过增强营养物质吸收，加大蛋白质和遗

传物质合成来促进生长。而在贮藏末期，优势菌通过氨基酸合成和分解、遗传物质修复及细胞壁强化等途径来适应更严苛的环境以确保存活。后续研究将聚焦南美白对虾特定优势腐败菌的分离鉴定，开发针对不同优势腐败菌的高效抑菌剂，延长不同贮藏条件下南美白对虾的保质期。

参考文献

[1] 王琳, 舒婷, 邹小雨, 等. 冷藏鱿鱼优势腐败菌的分离鉴定及致腐性研究[J]. 食品科技, 2025, 50(4): 164–171.
WANG L, SHU T, ZOU XY, *et al.* Isolation, identification, and putrefactive property of specific spoilage organisms in refrigerated squid [J]. Food Science and Technology, 2025, 50(4): 164–171.

[2] JIA SL, LI Y, ZHUANG S, *et al*. Biochemical changes induced by dominant bacteria in chill-stored silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and GC-IMS identification of volatile organic compounds [J]. Food Microbiology, 2019, 84: 103248.

[3] XIE Y, ZHANG J, ZHANG PP, *et al.* Improving the microbiological safety and quality of aquatic products using nonthermal processing [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2024, 23(3): e13368.

[4] 李娜, 谢晶, 梅俊. 水产品优势腐败菌及致腐潜能综述[J]. 中国食品学报, 2024, 24(1): 407–417.
LI N, XIE J, MEI J. Review on dominant spoilage organism and spoilage potential of aquatic products [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(1): 407–417.

[5] 赵海鹏, 谢晶, 严文蓉. 南美白对虾冷藏过程中的细菌分离、初步鉴定及菌相分析[J]. 江苏农业学报, 2011, 27(1): 164–168.
ZHAO HP, XIE J, YAN WR. Isolation and identification of bacteria in *Penaeus vannammei* during cold storage and analysis of composition of microorganism [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2011, 27(1): 164–168.

[6] DON S, XAVIER KAM, DEVI ST, *et al*. Identification of potential spoilage bacteria in farmed shrimp (*Litopenaeus vannamei*): Application of relative rate of spoilage models in shelf life-prediction [J]. LWT - Food Science and Technology, 2018, 97: 295–301.

[7] SONG R, XUE Y, JIA Z, *et al.* Integration of intestinal microbiota and metabonomics to elucidate different alleviation impacts of non-saponification and saponification astaxanthin pre-treatment on paracetamol-induced oxidative stress in rats [J]. Food & Function, 2022, 13(4): 1860–1880.

[8] GU L, ZHU QY, ZOU XY, *et al.* Antibacterial effect of shrimp by-products hydrolysate on specific spoilage organisms of squid [J]. Molecules, 2023, 28(10): 4105.

[9] BYERLEY LO, SAMUELSON D, BLANCHARD E, *et al*. Changes in the gut microbial communities following addition of walnuts to the diet [J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2017, 48: 94–102.

[10] WANG XM, YANG YH, HUYCKE MM. Risks associated with enterococci as probiotics [J]. Food Research International, 2019, 129: 108788.

[11] HARMS C, SCHLEICHER A, COLLINS MD, *et al. Tissierella creatinophila* sp. nov., a gram-positive, anaerobic, non-spore-forming, creatinine-fermenting organism [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1998, 48(3): 983–993.

[12] 郑勤琴, 段纲, 项勋, 等. 漫游球菌研究进展[J]. 中兽医医药杂志, 2017, 36(5): 27–30.
ZHENG QQ, DUAN G, XIANG X, *et al.* Research progress on *Vagococcus* [J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine, 2017, 36(5): 27–30.

[13] 廖鄂, 杨贝, 李涵, 等. 冷藏黄鳝菌落演替规律及特定腐败菌致腐能力分析[J]. 食品科学, 2025, 46(8): 114–123.
LIAO E, YANG B, LI H, *et al*. Microbial succession pattern and spoilage potential of specific spoilage bacteria in refrigerated *Monopterus albus* [J]. Food Science, 2025, 46(8): 114–123.

[14] GOEN AE, SILVERWOOD T, UNDERRINE A, *et al*. Draft genome sequence of the psychrotolerant bacterium *Kurthia sibirica* ATCC 49154 T [J]. Microbiology Resource Announcements, 2018, 7(5): e00841–18.

[15] HOLZAPFEL WH. Culture media for non-sporulating gram-positive food spoilage bacteria [J]. International Journal of Food Microbiology, 1992, 17(2): 113–133.

[16] KÖVESDI V, STERCZ B, ONGRÁDI J. *Kurthia gibsonii* as a sexually transmitted zoonosis: From a neglected condition during World War II to a recent warning for sexually transmitted disease units [J]. Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases and AIDS, 2016, 37(1): 68–71.

[17] BROWN K, CHURCH D, LYNCH T, *et al.* Bloodstream infections due to *Peptoniphilus* spp.: Report of 15 cases [J]. Clinical Microbiology and Infection, 2014, 20(11): O857–O860.

[18] SEBASTIAN F. Infectious diseases in obstetrics and gynecology [M]. (5th ed.). London: CRC Press, 2003: 736.

[19] PARLAPANI FF, SYROPOULOU F, TSIARTSAFIS A, *et al*. HRM analysis as a tool to facilitate identification of bacteria from mussels during storage at 4 °C [J]. Food Microbiology, 2020, 85: 103304.

[20] ILLIKOUD N, ROSSERO A, CHAUVET R, *et al.* Genotypic and phenotypic characterization of the food spoilage bacterium *Brochothrix thermosphacta* [J]. Food Microbiology, 2019, 81: 22–31.

[21] BOWMAN JP. Bioactive compound synthetic capacity and ecological significance of marine bacterial genus *Pseudoalteromonas* [J]. Marine Drugs, 2007, 5(4): 220–241.

[22] MINGYANG Z, XIU-LAN C, HUILIN Z, *et al*. Diversity of both the cultivable protease-producing bacteria and their extracellular proteases in the sediments of the South China Sea [J]. Microbial Ecology, 2009, 58(3): 582–590.

[23] CONGNAN C, CHEN J, WU XC, *et al*. Screening inhibitor to prevent the psychrotrophic growth of *Pseudomonas fluorescens* by using molecular simulation [J]. Food Control, 2021, 134: 108557.

[24] KATRIEN B, BERT N, MATC H, *et al*. Volatile compounds associated with *Psychrobacter* spp. and *Pseudoalteromonas* spp., the dominant microbiota of brown shrimp (*Crangon crangon*) during aerobic storage [J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 166(3): 487–493.

[25] MICHAUD L, DI MARCO G, BRUNI V, *et al.* Biodegradative potential and characterization of psychrotolerant polychlorinated biphenyl-degrading marine bacteria isolated from a coastal station in the Terra Nova Bay (Ross Sea, Antarctica) [J]. Marine Pollution Bulletin, 2007, 54(11): 1754–1761.

[26] CARRIE JD, RAFAEL AG, KALMOKOFF M, *et al*. *Pseudoalteromonas* bacteria are capable of degrading paralytic shellfish toxins [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(21): 6919–6923.

[27] GARY PR, MICHHAEL AW, DAVID SN, *et al.* Mechanisms for *Pseudoalteromonas* piscicida-induced killing of *Vibrios* and other bacterial pathogens [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2017, 83(11): e00175–17.

[28] TSUDA K, NAGANO H, ANDO A, *et al.* Isolation and characterization of psychrotolerant endospore-forming *Sporosarcina* species associated with minced fish meat (*surimi*) [J]. International Journal of Food Microbiology, 2015, 199: 15–22.

[29] BRÄDLE J, DOMIG KJ, KNEIFEL W. Relevance and analysis of butyric acid producing clostridia in milk and cheese [J]. Food Control, 2016, 67: 96–113.

[30] CRICK F. Central dogma of molecular biology [J]. Nature, 1970, 227(5258): 561–563.

(责任编辑：韩晓红 曹岱琳)