

南美白对虾感染真菌毒素后的微生物菌相变化

钟萍^{1,2}, 王雅玲², 房志家², 孙力军², 周浪花², 欧阳心格²

(1. 湛江幼儿师范专科学校科学教育系, 广东湛江 524084) (2. 广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088)

摘要: 为探明在养殖过程中受 T-2 毒素、黄曲霉毒素 B1、赭曲霉毒素 A 和呕吐毒素污染的南美白对虾, 经贮藏后微生物菌相结构变化的特征, 采用食品安全国家标准 (GB 47892-2010) 对菌落总数测定的方法, 计算染毒对虾中的菌落总数, 同时从染毒的南美白对虾中分离筛选和鉴定出不同属的微生物, 并与未染毒对虾中的微生物数量、种类及其变化趋势进行比较。实验结果表明: 染毒对虾肌肉微生物种类在贮存第 1~8 d 和第 16~20 d 间, 菌落种类保持在 2~4 种和 4~7 种, 菌群总数呈先下降后上升再下降的趋势。从未染毒对虾和染毒对虾样品中共分离出 7 株菌, 经 16S rDNA 进行测序, 分别鉴定为考克氏菌属、金黄杆菌属、希瓦氏菌属、弯曲芽孢杆菌属、假单胞菌属、细杆菌属和微小杆菌属, 每株样品菌种匹配率均在 97% 以上, 其中对水产品的腐败能力较强的金黄杆菌属、希瓦氏菌属和假单胞菌属在染毒对虾中检出, 空白组只检出希瓦氏菌属。真菌毒素使对虾肌肉产生变化, 导致对虾肌肉品质下降, 从而形成适合腐败能力强细菌的生长环境, 产生新的菌种。

关键词: 南美白对虾; 微生物菌相; T-2 毒素; 黄曲霉毒素 B1; 赭曲霉毒素 A; 呕吐毒素

文章编号: 1673-9078(2020)04-179-184

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.4.024

Changes of Microflora of *Penaeus vannamei* Infected by Mycotoxins

ZHONG Ping^{1,2}, WANG Ya-ling², FANG Zhi-jia², SUN Li-jun², ZHOU Lang-hua², OUYANG Xin-ge²

(1. Department of Science Education, Zhanjiang Preschool Education College, Zhanjiang 524084, China)

(2. College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: In order to find out the characteristics of microbial phase structure of *Penaeus vannamei* which was polluted by T-2 toxin, aflatoxin B1, ochratoxin A and vomit toxin in the process of culture, the method of determining the total number of colonies in the poisoned *Penaeus vannamei* was adopted based on the national food safety standard (GB 47892-2010), and the total number of colonies in the poisoned *Penaeus vannamei* was calculated, and then isolated, screened and identified from the poisoned *Penaeus vannamei*. The number, species and change trend of microorganisms in different genera were compared with those in non poisoned prawn. The results showed that the microbial species of infected prawn muscle were kept at 2~4 and 4~7 in the first 8 days and 16-20 days of storage, respectively, and the total number of bacteria decreased first, then increased and then decreased. Seven strains of bacteria were isolated from the infected and uninfected prawns. They were identified by 16S rDNA sequencing as *Corynebacterium*, *Chrysobacterium*, *Shewanella*, *Campylobacter*, *Pseudomonas*, *Micrococcus* and *Microbacteria*. The matching rate of each strain was over 97%, among them, the strains of chrysobacterium and shewanella, which had strong corrupting ability to aquatic products, were more than 97%. Bacteria and *Pseudomonas* were detected in the infected prawn, while only *Schwarzschild* was detected in the blank group. Mycotoxins change prawn muscle, resulting in the decline of prawn muscle quality, thus forming a growth environment suitable for bacteria with strong corruption ability, and generating new strains.

Key words: *Penaeus vannamei*; microbial flora; T-2 toxin; aflatoxin B1; ochratoxin A; deoxynivalenol

引文格式:

钟萍, 王雅玲, 房志家, 等. 南美白对虾感染真菌毒素后的微生物菌相变化研究[J]. 现代食品科技, 2020, 36(4): 179-184

ZHONG Ping, WANG Ya-ling, FANG Zhi-jia, et al. Changes of microflora of *Penaeus vannamei* infected with mycotoxins [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(4): 179-184

收稿日期: 2019-10-11

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31371777); 湛江幼儿师范专科学校青年项目 (ZJYZQN201802)

作者简介: 钟萍 (1981-) 女, 硕士, 讲师, 研究方向: 食品安全分析与检测

通讯作者: 王雅玲 (1965-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 真菌毒素与水产品质量安全; 共同通讯作者: 孙力军 (1965-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 水产品有害微生物控制

南美白对虾, 又名凡纳滨对虾, 因其营养丰富, 味道鲜美, 生长快速, 抵抗疾病能力强等特点, 成为目前世界上养殖对虾的三大虾种之一^[1,2]。近年来我国食品安全问题层出不穷, 引发人们的关注, 而虾类的食品的主要安全问题则是来源于养殖期间的微生物。有研究表明南美白对虾与其他硬骨鱼类和甲壳类动物相比较, 对真菌毒素更加具有耐受性, 这说明在南美白对虾体内更加容易蓄积^[3]。真菌毒素是真菌在饲料或食品里生长而产生的代谢产物, 毒素在对虾体内的残留和富集, 对人类和动物的健康都存在危害^[4], 其中常见的主要有 T-2 毒素、黄曲霉毒素 B1 (Aflatoxin B1, AF B1)、赭曲霉毒素 A (Ochratoxin A, OTA) 和呕吐毒素 (Deoxynivalenol, DON) 等。

目前, 国内外对于以上四种真菌毒素的各项理化 and 生化指标在南美白对虾中产生的影响研究较多。如代喆^[5]对 T-2 毒素诱导凡纳滨对虾肌肉品质典型性状的变化规律的研究; 王静^[6]对饲料中黄曲霉毒素 B1 对凡纳滨对虾生化指标及肝胰腺显微结构的影响的研究; Bintvihok^[7]等研究 AF B1 可损伤对虾的肝胰腺, 使血淋巴的正常生化指标发生改变等。但在对染毒实验动物体内微生物指标的影响研究则比较少, 因此研究 T-2 毒素、AF B1、OTA 和 DON 这四种真菌毒素染毒后的南美白对虾贮藏中微生物, 了解对虾微生物总数以及菌相结构, 为更加全面了解真菌毒素对南美白对虾品质产生的影响提供一种新思维。

本实验主要通过对比 T-2 毒素、AF B1、OTA 和 DON 四种真菌毒素染毒后, 在 -20 °C 条件下贮藏 4、8、12、16、20 d 的南美白对虾中的菌落总数变化, 通过分离鉴定, 探究染毒对虾中微生物菌相的变化, 进一步研究真菌毒素对南美白对虾品质危害程度, 为控制真菌毒素污染水产品提供依据。

1 材料与方

1.1 材料与试剂

凡纳滨对虾: 购自湛江东海岛广东海洋大学养殖基地; 牛肉粉 3.0 g;

营养琼脂培养基 (NA): 蛋白胨 10.0 g, 氯化钠 5.0 g, 琼脂 15.0 g, H₂O 1000 mL; PCR 扩增试剂: 缓冲液 2×MightyAmp Buffer Ver.2、上引物 F8 (5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')、下引物 R1492 (5'-CGGCTACCTTGTTACGAC-3')、DNA 聚合酶 MightyAmp DNA Polymerase; 均购于宝生物工程 (大连) 有限公司; 革兰氏染色试剂盒; 双蒸水: 实验室制备。

1.2 仪器与设备

Universal Hood II 紫外分析仪, 美国 BIO-RAD 科技有限公司; WD-9403F 紫外分析仪, 北京市六一仪器厂; BBO 型电泳仪, 美国 BIO-RAD 科技有限公司; T-1 型 PCR 仪, 德国艾本德公司; L1100A 生物显微镜, 广州粤显光学仪器有限公司; LDZX-50KBS 立式压力蒸汽灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; SPX-250B-Z 型生化培养箱, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂。

1.3 方法

1.3.1 20 d 蓄积染毒法

将购买的南美白对虾随机挑选体质健康、个体大小均一的 (5±0.5 g), 按照每组 40 尾 (设 3 个平行) 随机分配到养殖箱中。以 4 d 为一个周期, 每种真菌毒素按照 4 d 换一种剂量的饲料喂养, 饲养饲料分别是 0.2 LD₅₀、0.3 LD₅₀、0.45 LD₅₀、0.675 LD₅₀、1.0125 LD₅₀ 五种按一定比例增加染毒剂量饲料 (见表 1)。4 d 为一个周期解剖一次, 取对虾肌肉组织于 -20 °C 保存 20 d。

表 1 饲料染毒剂量表

Table 1 The toxin dosages of feed

染毒剂量比例	T-2 毒素(mg/kg)	AF B1(mg/kg)	OTA(mg/kg)	DON(mg/kg)
0.2 LD ₅₀	4.8	1.2	1.78	6
0.3 LD ₅₀	7.2	1.8	2.67	9
0.45 LD ₅₀	10.8	2.7	4.005	13.15
0.675 LD ₅₀	16.2	4.05	6.008	20.25
1.0125 LD ₅₀	24.3	6.075	9.011	30.375

1.3.2 染毒南美白对虾肌肉中微生物的样品制备

取备用的对虾肌肉, 采用传统的样品处理方法进行处理, 得到 10⁻¹、10⁻²、10⁻³ 的样品匀液。在三个稀释度中分别取 0.5 mL 样品稀释液倾注于平板中, 每个

稀释度做两个平行, 然后及时倒入 15~20 mL 冷却至 45 °C 的 NA 培养基中, 混合均匀, 待琼脂凝固后将平板倒置, 置于 32 °C 环境下培养 48 h。采用平板计数法计算菌落数量^[8]。

1.3.3 染毒南美白对虾肌肉中微生物的培养、分离和纯化

在 1.3.2 步骤中的三个稀释度里分别取 0.1 mL 样品稀释液注入有营养琼脂培养基的平板中,于 32 °C 培养 48 h,观察并记录菌落形态特征。然后用接种环挑取营养琼脂培养基上菌落形态不同的微生物进行划线分离,置于 37 °C 培养 24 h,得到单个菌落后,置于 4 °C 的冰箱中保藏备用。

1.3.4 南美白对虾肌肉中微生物的鉴定

1.3.4.1 形态特征鉴定方法

将 1.3.3 步骤中分离纯化并保藏的单菌落,于 37 °C 培养 24 h,用接种环挑取单菌落进行革兰氏染色,用电子显微镜于 100 倍油镜下观察细菌的革兰氏染色情况以及细菌形状,并参考《伯杰细菌鉴定手册》进行形态学描述。

1.3.4.2 目标菌的 DNA 扩增

将目标菌的菌株划线接种于营养琼脂培养基中,在 37 °C 的环境下培养 24 h,分离得到单菌落。在微离心管中依次加入 12.9 μ L 双蒸水,15.0 μ L 缓冲液, F8(5'-GAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 R1492(5'-CGGCTACCTTGTACGAC-3')作为上下引物各 0.75 μ L 和 0.6 μ L DNA 聚合酶。最后用洁净的移液枪枪头挑取营养琼脂平板上微量的单菌落作为 DNA 模板,混匀于加入试剂的微离心管中,设置 PCR 扩增条件(见表 2),后放入 PCR 扩增仪中进行 DNA 扩增,循环 40 次^[9]。

表 2 PCR 扩增条件表

Table 2 PCR amplification condition table		
步骤	温度/°C	时间/s
预变性	98	120
变性	98	10
退火	58	15
延伸	68	90

1.3.4.3 目标菌 DNA 的电泳

PCR 扩增结束后,取 2 μ L 目标菌 DNA 与 1 μ L 核酸染料混合,点样于凝胶孔上,设置电泳仪条件为电压 121 V,进行 30 min 电泳,观察目标菌 DNA 的电泳条带。

1.3.4.4 目标菌的鉴定

将 DNA 扩增成功的 7 株菌种送检于上海生物工程进行 16S rDNA 测序,得到目标菌的序列,在 Ezbiocloud 中进行序列匹配,得到与目标菌 DNA 相似度高的可能菌种,选取匹配度在 97% 以上的可信菌种序列,利用 MEGA 6.0 的 Neighbor Joining 法建立系统

发育树,并进行 1000 次 Bootstraps 检验,分析出目标菌可能所属的菌属。

1.4 数据统计分析

每个实验做 3 个平行,取其平均值,实验数据表示为“ $\bar{x} \pm s$ ”的形式, $p < 0.05$ 表示显著差异。采用 Microsoft excel 2016 和 Origin 8.0 软件对数据处理和作图。

2 结果与分析

2.1 四种真菌毒素染毒的对虾低温贮存后菌落总数变化分析

根据国标中菌落总数的计算方式,对四种毒素染毒后的对虾中的菌落总数进行统计,然后与空白组进行对比。由图 1 可以看出,未染毒的空白组对虾在低温-20 °C 贮藏 20 d 的菌落总数变化不大,而经四种毒素染毒后对虾中的微生物菌落总数明显低于空白组对虾,差异显著($p < 0.05$),随着贮藏时间的延长和染毒剂量的增加,菌落数量总体呈先下降后上升再下降的趋势。这是因为四种真菌毒素均能抑制对虾中微生物的生长,且对细菌细胞产生了毒害作用^[10-13];当染毒剂量大于 1 mg/kg 时,对虾肌肉中的肌纤维间隙在不断变大的同时会发生断裂,导致肌纤维结构变得松散,肌肉破坏造成蛋白质等营养物质发生分解,有利于微生物的生长^[14],故菌落数量先下降后升高。但随着毒素剂量的继续增大,高剂量毒素对对虾肌肉组织结构、氨基酸含量、蛋白组成、脂肪酸含量等影响,直接导致微生物营养变化,是微生物总数出现下降的原因之一。

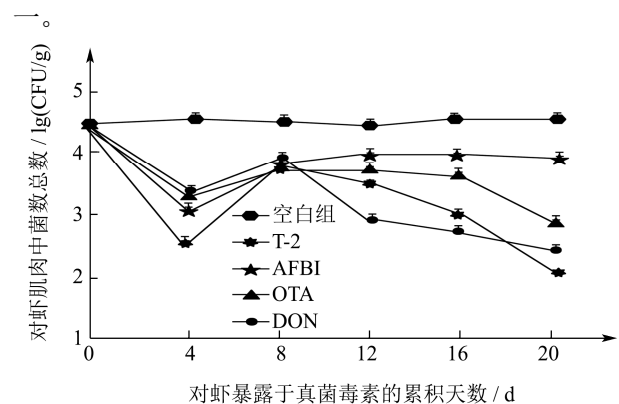


图 1 四种真菌毒素污染的对虾肌肉在贮存过程中微生物总数的变化曲线

Fig.1 The change curve of microflora in the muscle of *Penaeus vannamei* infected by four fungal toxins during storage

2.2 四种真菌毒素染毒的对虾中优势菌分离株的形态特征分析

通过观察培养后的菌落形态, 根据菌落形状、颜色、透明度、湿润度等进行筛选。初步发现染毒对虾和空白组对虾样品中分别含有 7 种和 3 种菌。从中挑选出 7 株典型形状菌落进行革兰氏染色以及镜检, 参考《伯杰细菌鉴定手册》的形态学进行描述。由图 2 可见, 从染毒对虾和空白组对虾样品中一共分离出来 7 种菌, S1 菌为球状, 菌落形态为圆形, 表面不透明

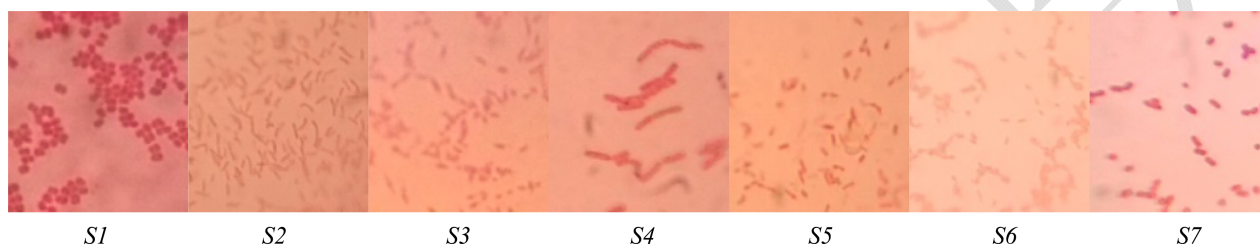


图 2 四种真菌毒素染毒的对虾中的优势分离株的形态学特征

Fig.2 Morphological characteristics of the dominant bacteria in *Penaeus vannamei* infected with four toxins

2.3 四种真菌毒素染毒的对虾中优势菌分离株的鉴定

对分离纯化后得到的 7 株菌通过单菌落法, 使用 PCR 仪扩增得到 DNA, 将得到的样品送到上海生工, 进行 16S rDNA 测序鉴定。将得到样品菌种 DNA 序列在 EZBILCLOUD 上进行序列匹配, 每株样品菌种得到 1~2 株匹配率在 97%以上为有效、可信菌株序列

呈亮黄色, 边缘光滑整齐, 湿润易被接种环挑起; S2 为细杆状, 菌落凸起湿润呈圆形, 淡橙色半透明状, 边缘整齐; S3 为细杆状, 菌落凸起湿润呈圆形, 乳白色较透明, 边缘整齐; S4 为长杆状, 菌落平坦湿润呈圆形, 白色不透明, 边缘整齐; S5 为短杆状, 菌落扁平干燥不规则, 表面黄色不透明, 边缘呈锯齿状; S6 为杆状, 菌落凸起湿润呈圆形, 淡黄色半透明, 边缘整齐; S7 为短杆状, 菌落湿润呈圆形, 橘红色不透明, 边缘整齐; 其中 S2、S3 和 S5 为革兰氏阴性菌, S1、S4、S6 和 S7 为革兰氏阳性菌。

(见表 3)。通过 MEGA 6.0 的 Neighbor Joining 法建立系统发育树, 由图 3 可知, S1 与考克氏菌属(*Kocuria* sp.) 同属一个分支, 亲缘性较近, 鉴定为考克氏菌属, S2 鉴定为金黄杆菌属 (*Chryseobacterium* sp.), S3 为希瓦氏菌属 (*Shewanella* sp.), S4 为弯曲芽孢杆菌属 (*Bacillus flexus* sp.), S5 为假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.), S6 为细杆菌属 (*Microbacterium* sp.), S7 为微小杆菌 (*Exiguobacterium* sp.)。

表 3 微生物序列对比情况表

Table 3 Table of comparison of microbial sequences

编号	菌种名	菌属	相似性/%
S1	<i>Kocuria salsicia</i>	考克氏菌属	98.11
	<i>Kocuria rhizophila</i>		97.69
S2	<i>Chryseobacterium gambrimi</i>	金黄杆菌属	97.91
S3	<i>Shewanella haliotis</i>	希瓦氏菌属	98.30
	<i>Shewanella algae</i>		97.68
S4	<i>Bacillus flexus</i>	弯曲芽孢杆菌属	97.87
S5	<i>Pseudomonas orgzihabitans</i>	假单胞菌属	98.60
	<i>Pseudomonas psychrotolerans</i>		98.60
S6	<i>Microbacterium paraoxydans</i>	细杆菌属	98.92
	<i>Microbacterium saperdae</i>		98.63
S7	<i>Exiguobacterium indicum</i>	微小杆菌属	98.62
	<i>Exiguobacterium enclense</i>		98.60

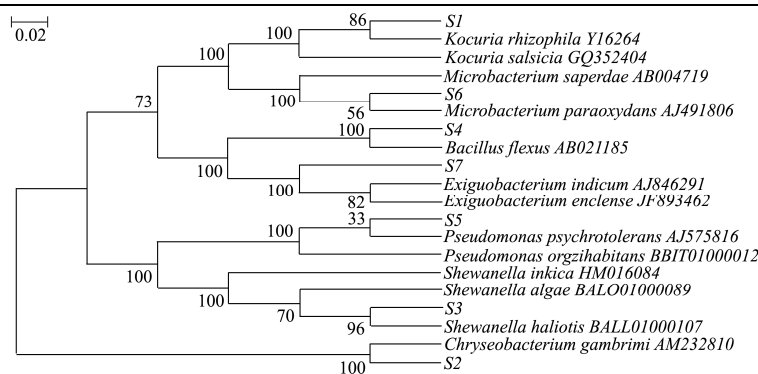


图3 四种真菌毒素染毒的对虾中优势菌分离株的系统发育树

Fig.3 Phylogenetic tree of dominant strains of *Penaeus vannamei* infected with four toxins

2.4 四种真菌毒素染毒的对虾肌肉中优势菌的变化特征分析

表4 对虾样品中的细菌种类

Table 4 Bacterial species in the samples of *Penaeus vannamei*

样品	染毒剂量/(mg/kg)	种类
空白组	0	S3, S4, S6
T-2	4.8	S2, S6, S7
	7.2	S1, S2, S3, S6, S7
	10.8	S1, S3, S4, S6
	16.2	S1, S2, S6
	24.3	S2, S6
AF B1	1.2	S2, S3, S4
	1.8	S1, S2, S3, S4, S5
	2.7	S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7
	4.05	S2, S3, S4, S6, S7
	6.075	S2, S3, S5, S6
OTA	1.78	S2, S4, S6
	2.67	S2, S3, S4, S6
	4.005	S1, S2, S4, S6, S7
	6.008	S2, S3, S4, S7
	9.011	S2, S3, S4, S7
DON	6	S1, S3, S4, S6
	9	S1, S2, S3, S4, S6
	13.15	S1, S2, S3, S4
	20.25	S1, S3, S4
	30.375	S1, S3, S4, S6

经与未染毒的空白组对虾相比, 经过四种真菌毒素染毒后的对虾, 其优势菌的种类和数量都发生了变化, 均出现新的微生物种类。染毒对虾肌肉微生物种类在第8 d前和第16~20 d间不仅菌落总数有所减少, 而且种类也较少, 保持在2~4种; 而第8~16 d微生物种类则较多, 维持在4~7种。这种变化说明不同的真

菌毒素对对虾肌肉中微生物的毒害作用不同, 使对虾肌肉成分改变, 为微生物种类的生长提供有利条件, 导致新的微生物种类出现。对虾样品中的细菌种类见表4所示。

3 讨论

在所有的实验样品中共分离出的7株菌中, 对水产品的腐败影响较强的分别是金黄色杆菌属(S2)、希瓦氏菌属(S3)和假单胞菌属(S5), 它们是冷链流通中高水分蛋白食品的耐冷特定腐败菌, 能在低温代谢蛋白质等营养物质使水产品腐败。结合表4分析, 在未染毒对虾中, 发现只有希瓦氏菌属腐败能力较强。在T-2毒素、OTA和DON染毒对虾中, 均发现金黄杆菌属和希瓦氏菌属, 而在AF B1染毒对虾中, 1.8 mg/kg、2.7 mg/kg、6.075 mg/kg均分离出3种腐败能力较强的微生物, 1.2 mg/kg、4.05 mg/kg分离出2种, 从整体上比空白组和其他3种毒素组所分离出来的腐败能力较强的菌群种类较多, 且腐败能力较强的假单胞菌只在AF B1染毒对虾中分离得出。说明四种真菌毒素在部分剂量条件下使对虾肌肉产生相应的变化, 导致对虾肌肉品质下降, 从而形成适合腐败能力强细菌的生长环境, 其中AF B1对对虾体内腐败产生的影响更大, 这种影响不仅与细胞内过氧化物的大量生成和抗氧化酶活性下降有关, 而且还与其细胞DNA损伤等, 引起细胞凋亡有关。

4 结论

通过对染毒后南美白对虾的菌相结构研究表明, 南美白对虾肌肉在-20℃贮藏20 d的细菌总数变化不大, 而经T-2毒素、AF B1、OTA和DON染毒后的对虾中的微生物均比未染毒的对虾中少, 说明四种真菌毒素均对微生物产生抑制效应及毒害作用。与未染毒对虾比较, 不同剂量的四种真菌毒素均产生了新的微生物种类; 空白组对虾只产生一种腐败能力强的希

瓦氏菌属, T-2 毒素、OT A 和 DON 染毒对虾中则发现金黄杆菌属和希瓦氏菌属两种, 而在 AF B1 染毒对虾中分离出 3 种腐败能力较强的微生物, 因此控制真菌毒素对水产品的污染具有重要意义。另外, 由于虾肉品质受到不同的腐败菌相或贮藏条件的影响较大, 所以要进一步深入探明真菌毒素对对虾的危害程度, 还需从感染真菌后毒素在虾肉中的残留情况研究, 这些工作我们将在后续的研究中继续进行。

参考文献

- [1] 杨胜平, 谢晶, 钱韻芳. 基于 16SrRNA 的高通量测序和 DGGE 法对比新鲜与 4 °C 贮藏腐败的凡纳滨对虾微生物菌群变化[J]. 中国食品学报, 2018, 18(9): 24-27
YANG Sheng-ping, XIE Jing, QIAN Yun-fang. Comparative analysis of microbial communities of fresh and spoiled Pacific white shrimp stored at 4 °C by 16s rRNA-based pyrosequencing and DGGE [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(9): 24-27
- [2] 李秀秀, 曾维伟, 陆兆新, 等. 鲫鱼贮藏过程中微生物菌相 PCR-DGGE 分析及其防腐保鲜[J]. 食品科学, 2017, 38(5): 274-280
LI Xiu-xiu, ZENG Wei-wei, LU Zhao-xin, et al. PCR-DGGE analysis of microbial community composition and preservation of crucian carp during storage [J]. Food Science, 2017, 38(5): 274-280
- [3] 施琦, 杨嘉丽, 王雅玲, 等. 液相色谱-串联质谱法测定虾饲料中 7 种真菌毒素[J]. 分析测试学报, 2019, 38(3): 334-338
SHI Qi, YANG Jia-li, WANG Ya-ling, et al. Determination of 7 mycotoxins in shrimp feed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2019, 38(3): 334-338
- [4] 林旭东, 郭儒岳, 康孟利, 等. 流化冰结合静压式挤压技术对冰藏大黄鱼菌相变化的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(13): 287-291
LIN Xu-dong, GUO Ru-yue, KANG Meng-li, et al. Effect of slurry ice storage combined with high hydrostatic pressure treatment on the microflora analysis of refrigerated *Pseudosciaena crocea* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(13): 287-291
- [5] 代喆. T-2 毒素诱导凡纳滨对虾肌肉品质典型性状的变化规律[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2013
DAI Zhe. Regulation of *Litopenaeus vannamei* muscle quota effected by T-2 toxin [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2013
- [6] 王静. 饲料中黄曲霉毒素 B1 对凡纳滨对虾生长、生化指标及肝胰腺显微结构的影响[D]. 保定: 河北农业大学, 2014
WANG Jing. Toxic effects of aflatoxin B1 on growth performance, biochemical and hepatopancreas microstructure of *Litopenaeus vannamei* [D]. Baoding: Hebei Agricultural University, 2014
- [7] Bintvihok A, Ponpornpisit A, Tangtrongpiros J, et al. Aflatoxin contamination in Shrimp feed and effects of aflatoxin addition to feed on shrimp production [J]. Journal of Food Protection, 2003, 66: 882-885
- [8] GB 4789.2-2010, 食品安全国家标准, 食品微生物学检验: 菌落总数测定[S]
GB 4789.2-2010, National standards for food safety, Food microbiology test: Detection of aerobic bacterial count [S]
- [9] 吴海虹, 孙芝兰, 张新笑, 等. 不同包装方式下冷鲜青虾的菌群多样性分析[J]. 食品科学, 2019, 40(3): 260-267
WU Hai-hong, SUN Zhi-lan, ZHANG Xin-xiao, et al. Microbial community diversity analysis of chilled prawn (*Macrobrachium nipponense*) with different packaging treatments [J]. Food Science, 2019, 40(3): 260-267
- [10] 陈东杰, 李向阳, 张玉华, 等. 不同包装条件下冷却肉品质变化及腐败菌相研究[J]. 食品工业科技, 2017, 13: 281-285
CHEN Dong-jie, LI Xiang-yang, ZHANG Yu-hua, et al. Effect of different packaging on the quality and dominant spoilage bacteria of chill pork during storage [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 13: 281-285
- [11] 蓝蔚青, 张皖君, 谢晶, 等. 气调包装对鲳鱼冷藏期间主要生物多样性的影响[J]. 中国食品学报, 2017, 17(2): 152-159
LAN Wei-qing, ZHANG Wan-Jun, XIE Jing, et al. Effect of modified atmosphere packaging (MAP) on the microbial diversity changes of pomfret (*Pampus argenteus*) during chilled storage [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(2): 152-159
- [12] 吴燕燕, 钱茜茜, 朱小静, 等. 气调包装的调理啤酒鲈鱼片在微冻贮藏过程中的微生物群落多样性分析[J]. 食品科学, 2019, 40(3): 233-239
WU Yan-yan, QIAN Xi-xi, ZHU Xiao-jing, et al. Microbial community diversity analysis of prepared sea bass fillet (*Lateolabrax japonicus*) with beer during partially frozen storage under modified atmosphere packaging [J]. Food Science, 2019, 40(3): 233-239

(下转第 315 页)