

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15334

池塘养殖刺参腐皮综合征发病环境因素分析

费聿涛^{1,2}, 李秋芬², 张艳², 成钰^{1,2}, 李莉³, 王晓红³

1. 上海海洋大学 水产与生命学院 上海 201306;

2. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;

3. 山东省海洋生物研究院, 山东 青岛 266001

摘要: 通过对2014年7—8月山东省青岛市红岛邵哥庄(SGZ)和宿流(SL)两个社区的发生刺参腐皮综合征和未发病刺参养殖池的环境因子跟踪监测和对比, 解析发病的原因。从发病前至发病后, 分别监测了两地多个池塘水体中的4类可培养细菌(总异养菌、弧菌、硝化细菌和硫化细菌)和6项理化参数(温度、pH、盐度、溶解氧、无机氮、COD), 以及沉积环境中6类可培养细菌(总异养菌、弧菌、硝化细菌、硝酸盐还原菌、硫化细菌、硫酸盐还原菌)和4项理化参数(pH、氧化还原电位、硫化物、有机碳)。结果表明, 刺参发病时, 邵哥庄发病池(SGZ-1[#])环境中细菌数量与未发病对照池(SGZ-2[#])无显著差异, 但温度高达25.94℃, 盐度低至24.47, 均超过刺参耐受限度。水体NO₂-N含量为79.56 μg/L, 沉积物中硫化物含量为221.1 mg/g, 均高于对照池; 宿流发病池SL-南2弧菌数量(1.85×10⁴ CFU/mL)在发病当日明显升高, 高于对照池SL-北1和邵哥庄社区的发病池, 而发病池的理化指标反而好于对照池。由此推断, 邵哥庄社区的刺参发病与池塘理化指标突变有密切关系, 而宿流的刺参发病与病原菌数量激增有密切关系。因此, 应从理化指标和病害生物两方面对刺参病害进行预警及采取防治措施。

关键词: 刺参; 疾病; 池塘养殖环境; 理化因子; 可培养细菌

中图分类号: S947

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)03-0682-11

刺参(*Apostichopus japonicus*)属棘皮动物门, 具有很高的食用和药用价值。自古以来就被誉为海产八珍之首^[1]。如今刺参养殖业已成为中国北方沿海辽宁、山东、河北等地的支柱产业。但随着刺参养殖繁育技术的普及以及养殖面积的扩大, 各种病害问题随之而来, 严重制约产业的健康稳定发展^[2]。对养殖业影响最大的是各种病害, 以“腐皮综合征”危害最为严重, 死亡率在90%以上。前几年的研究多集中在刺参病原菌分离、鉴定及检测方法等方面, 对灿烂弧菌(*Vibriosp. lendidus*)、假交替单胞菌(*Pseudoalteromonas nigrifaciens*)、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)等致病菌都有报道^[3-5], Deng

等^[6]也发现腐皮综合征是由多种不同细菌引起的。

随着研究深入, 发现刺参生长和病害发生与生态环境恶化或环境剧烈变化也密切相关^[7-8]。因此, 研究池塘生态环境中细菌种群数量和理化性质的变化, 对保持良好的池塘生态环境和预警病害发生都具有重要的意义。近年来, 关于刺参池塘微生物和理化因子的周年变化以及各种理化因子对刺参生长的影响等有过很多研究^[7, 9-12]。但通过比较发病池塘与正常池塘微生物群落和理化因子差异, 分析发病原因还罕见报道。

本研究于2014年夏季跟踪监测青岛市红岛地区两个社区池塘水体和沉积物中可培养细菌以及理化参数, 通过对比分析刺参发病前与发病后

收稿日期: 2015-08-25; 修订日期: 2015-12-14.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31170113).

作者简介: 费聿涛(1989-), 男, 硕士研究生, 从事渔业环境微生物学研究. E-mail: feiyutao@vip.qq.com

通信作者: 李秋芬(1969-), 女, 博士, 研究员. E-mail: liqf@ysfri.ac.cn

菌量与理化因子差异,同时参照未发病对照池,从环境因子角度解析了导致两地刺参发病的主要原因,旨在为刺参病害的预警和防控提供理论依据。

1 实验材料与方法

1.1 实验设计及样品采集

2014年7月开始,选取山东省青岛市红岛邵哥庄社区(SGZ)和宿流社区(SL)的多个正常刺参养殖池塘进行跟踪调查。池塘为长方形土池,大小约1700 m²,水深约1.5 m,池塘底泥均为泥质,底部投石作为附着基。每年清塘,其中宿流社区池塘在海边,堤坝围海而建,底泥厚度约30 cm;邵哥庄社区池塘离海较远,人工水渠换水,底泥厚度约20 cm。邵哥庄社区刺参规格为7~9.2 g/头;宿流社区刺参规格7.7~9 g/头。

池塘水体的温度、盐度、溶解氧、pH以及沉积物的氧化还原电位于现场测定。同时,每个池塘选取四角和中心共5个采样点,均匀分布于整个池塘,每个点取底泥和水样,5个采样点所采样品混匀后分别作为一个样品,装入无菌塑料瓶和密封袋,低温条件下带回实验室。实验室中,对水样的4类可培养细菌(异养菌、弧菌、硝化细菌、硫化细菌)数量、硝酸盐、亚硝酸盐、氨氮含量及COD进行检测,对沉积物的有机碳、硫化物、6类可培养细菌(总异养菌、弧菌、硝化细菌、硫化细菌、硝酸盐还原菌和硫酸盐还原菌)数量进行检测。将所得数据进一步整理,根据已有的研究成果进行进一步分析。

1.2 测定方法

1.2.1 理化因子测定 水体温度、溶解氧、盐度、氧化还原电位和pH利用YSI 550A(YSI公司,美国)现场测定。水体理化参数测定参照海洋监测规范GB/T 12763.4-2007:化学需氧量(COD)采用碱性高锰酸钾法,亚硝酸氮采用重氮-偶氮法,硝酸氮采用锌镉还原法,氨氮采用次溴酸钠氧化法。沉积物理化参数测定参照海洋监测规范GB17378.5-2007:硫化物采用碘量法,有机碳采用重铬酸钾氧化-还原容量法。

1.2.2 细菌数量测定 水样和底泥中总异养菌、

弧菌、硝化细菌、硫化细菌用平板计数法计数。进行梯度稀释,选取适当稀释浓度,取100 μL均匀涂布于固体培养基上。底泥中硝酸盐还原菌和硫酸盐还原菌用MPN法计数,样品进行梯度稀释,取1 mL加到盛有10 mL液体培养基的试管中,28℃恒温培养,2 d后对总异养菌、弧菌进行菌落计数;7 d后对硝化细菌、硫化细菌进行菌落计数;7 d后对硝酸盐还原菌液体培养物进行硝酸盐还原试验;14 d后观察硫酸盐还原菌培养物,记录阳性反应管数,查MPN表,计算每毫升水样或每克底泥中菌量。

2 结果与分析

本实验于7月23日开始监测,其中邵哥庄的SGZ-1[#]于7月28日发病,池中发现多条漂浮的死参,于7月29日投加底质改良剂,选择旁边与其条件相似但未发现病参的SGZ-2[#]池塘作为对照;宿流的SL-南2池塘于7月29日发现刺参大量死亡或化皮,选择旁边条件相似未发病的SL-北1池塘作为对照池。发现病参后,投加底质改良剂,继续跟踪监测至8月11日,各项指标恢复正常。

2.1 水体中细菌数量变化

对两个社区的4个池塘水体中4类可培养细菌的检测结果进行整理,如表1所示。邵哥庄社区两个池塘:SGZ-1[#]为发病池,SGZ-2[#]为未发病对照池;宿流社区两个池塘:SL-南2为发病池,SL-北1为未发病对照池。两社区发病时间分别为7月28日与7月29日,为方便数据整理,表中将发病时间统一设定为7月28日。

2.1.1 总异养菌 水体总异养菌变化趋势如表1所示,邵哥庄社区发病池SGZ-1[#]菌量变化范围 $1.31 \times 10^4 \sim 8.50 \times 10^5$ CFU/mL,7月23日菌量出现最高值,8月11日最低,7月28日发病时菌量为 1.68×10^4 CFU/mL;未发病对照池SGZ-2[#]菌量变化范围 $6.65 \times 10^3 \sim 4.26 \times 10^4$ CFU/mL,7月28日菌量出现最高值,8月11日最低。宿流社区两池塘菌量随时间先升后降,发病池SL-南2菌量范围 $1.37 \times 10^2 \sim 1.43 \times 10^5$ CFU/mL;对照池SL-北1菌量范围 $6.40 \times 10^2 \sim 4.60 \times 10^4$ CFU/mL。两池塘都是7

月 29 日菌量出现最高值, 8 月 11 日最低, 且不同时期发病池菌量均明显高于对照池。

2.1.2 弧菌 弧菌变化如表 1 所示, 邵哥庄社区两个池塘菌量变化没有明显规律, 数量波动不大, 菌量变化不大。发病池 SGZ-1[#]菌量变化范围 $1.54 \times 10^3 \sim 3.08 \times 10^3$ CFU/mL, 对照池 SGZ-2[#]的菌量变化范围是 $1.19 \times 10^3 \sim 2.40 \times 10^3$ CFU/mL; 宿流社区两个池塘数量波动较大, 菌量最高值都出现在 7 月 29 日, 8 月 11 日最低。发病池 SL-南 2 的变化范围是 $5.50 \times 10^2 \sim 4.98 \times 10^4$ CFU/mL, 对照池 SL-北 1 的变化范围是 $2 \times 10^2 \sim 2.55 \times 10^4$ CFU/mL, 发病当天发病池和对照池中弧菌数量显著升高, 数量远超发病前和恢复正常后, 且发病时, 发病池弧菌数量高于对照池, 也高于邵哥庄社区发病池。

2.1.3 硝化菌 硝化菌变化如表 1 所示, 邵哥庄社区两个池塘菌量变化没有规律, 波动较大。发病池 SGZ-1[#]菌量变化范围 $1.28 \times 10^3 \sim 1.30 \times 10^4$ CFU/mL, 8 月 11 日菌量出现最高值, 8 月 1 日最低; 对照池

SGZ-2[#]菌量变化范围 $6.85 \times 10^2 \sim 7.25 \times 10^4$ CFU/mL, 8 月 1 日菌量出现最高值, 8 月 11 日最低。宿流社区两个池塘菌量变化趋势相同, 都是先升再降, 发病池 SL-南 2 菌量变化范围 $1.06 \times 10^3 \sim 5.8 \times 10^4$ CFU/mL; 对照池 SL-北 1 菌量变化范围 $3.85 \times 10^2 \sim 1.81 \times 10^4$ CFU/mL, 7 月 29 日菌量出现最高值, 8 月 11 日最低, 且同一时间发病池高于对照池, 但无明显差异。

2.1.4 硫化菌 硫化菌变化如表 1 所示: 邵哥庄社区两个养殖池塘菌量都有一定波动, 发病池 SGZ-1[#]菌量没有明显的变化规律, 菌量变化范围 $1.70 \times 10^2 \sim 2.57 \times 10^3$ CFU/mL; 对照池 SGZ-2[#]菌量变化范围是 $1.35 \times 10^2 \sim 4.80 \times 10^3$ CFU/mL。宿流社区两池塘菌量变化趋势大致相同, 7 月 29 日菌量出现最高值, 8 月 11 日最低, SL-南 2 菌量变化范围 $30 \sim 1.69 \times 10^4$ CFU/mL, SL-北 1 菌量变化范围 $45 \sim 5.20 \times 10^3$ CFU/mL, 发病池的菌量要稍稍高于对照池, 且发病当天两个池塘菌量高于发病前和恢复正常后。

表 1 水体中细菌数量变化
Tab. 1 Bacterium population changes in water

日期 date	总异养菌 heterotrophic bacteria				弧菌 vibrio				硝化菌 nitrifying bacteria				硫化菌 sulphuring bacteria			
	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1
7-23	850000	10500	11000	1200	1540	1380	700	300	1400	15000	1500	600	240	4800	891	333
7-28	16800	42600	143000	46000	1580	1190	49800	25500	1830	2480	58000	18100	2575	210	16900	5200
8-01	16200	18900	12200	1080	3080	2400	5650	250	1280	72500	3500	830	170	185	1125	65
8-11	13100	6650	1370	640	2685	1290	550	205	13000	685	1065	385	1180	135	30	45

注: SGZ-1[#], SGZ-2[#]分别表示山东省青岛市红岛邵哥庄社区(SGZ)发生刺参腐皮综合征和未发病池塘; SL-南 2, SL-北 1 分别表示红岛宿流社区(SL)发病及未发病池塘。

Note: SGZ-1[#] and SGZ-2[#] represent the diseased pond and the non-diseased pond in Shaogezhuang community in Hongdao, Qingdao, Shandong Province; SL-南 2 and SL-北 1 represent the diseased pond and the non-diseased pond in Suliu community in Hongdao, Qingdao, Shandong Province.

2.2 沉积物中细菌数量变化

2.2.1 总异养菌 沉积物中总异养菌变化如表 2 所示, 邵哥庄社区发病池 SGZ-1[#]菌量变化范围是 $7.40 \times 10^3 \sim 3.30 \times 10^5$ CFU/mL, 7 月 23 日出现最高值, 8 月 1 日最低; 对照池 SGZ-2[#]变化范围 $7.20 \times 10^3 \sim 6.80 \times 10^4$ CFU/mL, 7 月 28 日出现最高值, 8 月 1 日最低, 与发病池无明显差异。宿流社区发病池 SL-南 2 菌量变化范围是 $4.50 \times 10^4 \sim 2.13 \times 10^5$ CFU/mL, 发病时高于邵哥庄发病池, 对照池 SL-北 1 菌量

变化范围是 $7 \times 10^3 \sim 1.66 \times 10^4$ CFU/mL, 菌量波动不大, 低于发病池。

2.2.2 弧菌 沉积物中弧菌变化如表 2 所示, 4 个池塘菌量波动都较大, 尤其是宿流社区发病池塘。邵哥庄社区发病池 SGZ-1[#]菌量变化范围是 $0 \sim 10^3$ CFU/mL; 对照池 SGZ-2[#]的变化范围是 $1 \times 10^2 \sim 1.60 \times 10^3$ CFU/mL, 发病前期发病池弧菌量甚至稍低于对照池; 宿流社区发病池 SL-南 2 菌量变化范围是 $5.50 \times 10^2 \sim 1.85 \times 10^4$ CFU/mL, 最高值出

现在 7 月 29 日, 最低值出现在 8 月 11 日, 对照池 SL-北 1 变化范围是 $1.0 \times 10^2 \sim 2.3 \times 10^3$ CFU/mL, 最高值出现在 7 月 29 日, 最低值出现在 8 月 1 日, 发病时的弧菌量明显低于发病池。

2.2.3 硝化菌 沉积物中硝化菌变化如表 2 所示, 邵哥庄社区发病池 SGZ-1[#]和对照池 SGZ-2[#]菌量波动较大。发病池 SGZ-1[#]菌量变化范围是 $2.90 \times 10^3 \sim 1.09 \times 10^7$ CFU/mL, 最高值出现在 7 月 28 日, 其余时间菌量较低; 对照池 SGZ-2[#]菌量变化范围是 $2.50 \times 10^3 \sim 7.60 \times 10^5$ CFU/mL, 最高值出现在 7 月 23 日。宿流社区两池的菌量波动不大, 无明显差异, 发病池 SL-南 2 菌量变化范围是 $1.16 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ CFU/mL, 7 月 29 日出现最高值, 8 月 1 日最低, 对照池 SL-北 1 变化范围是 $6 \times 10^3 \sim 3.70 \times 10^5$ CFU/mL, 7 月 29 日出现最高值, 最低值出现在 8 月 1 日。

2.2.4 硫化菌 沉积物中硫化菌变化如表 2 所示, 邵哥庄社区发病池 SGZ-1 菌量变化范围是 $2 \sim 1.88 \times 10^4$ CFU/mL, 7 月 28 日发病当日出现最高值, 最低值出现在 8 月 1 日施加底质改良剂后; 对照池 SGZ-2[#]菌量变化范围是 $4 \sim 3 \times 10^5$ CFU /mL, 最高值出现在 7 月 23 日, 最低值也出现在 8 月 1 日, 两个池塘菌量波动剧烈。宿流社区发病池 SL-南 2 在发病时, 菌量突然增高, 随后降低, 对照池

SL-北 1 菌量先升后降, 波动较小。

2.2.5 硫酸盐还原菌 沉积物中硫酸盐还原菌变化如表 2 所示, 邵哥庄社区两池塘和宿流发病池的菌量变化没有明显的规律, 菌量波动都非常大。邵哥庄社区发病池 SGZ-1[#]菌量变化范围是 $3.60 \sim 1.10 \times 10^4$ CFU/mL, 对照池 SGZ-2[#]菌量变化范围是 $3 \sim 1.10 \times 10^4$ CFU/mL。宿流社区发病池 SL-南 2 菌量变化范围是 $2 \sim 1.10 \times 10^4$ CFU/mL, 8 月 11 日出现最高值、8 月 1 日最低, 对照池 SL-北 1 的变化范围是 $30 \sim 4.30 \times 10^2$ CFU/mL, 8 月 1 日出现最高值, 8 月 11 日出现最低值, 发病当日菌量要低于发病池 SL-南 2。

2.2.6 硝酸盐还原菌 沉积物中硝酸盐还原菌变化如表 2 所示, 4 个池塘菌量波动都较大。邵哥庄发病池 SGZ-1[#]菌量变化范围是 $7.50 \times 10^3 \sim 1.10 \times 10^6$ CFU/mL, 7 月 28 日出现最高值、最低值出现在 7 月 23 日发病前; 对照池 SGZ-2[#]菌量变化范围是 $4.30 \times 10^4 \sim 4.60 \times 10^5$ CFU/mL, 在 7 月 23 日和 7 月 28 日出现最高值、8 月 11 日最低, 且 7 月 28 日菌量要低于发病池。宿流社区发病池 SL-南 2 的菌量变化范围是 $4.30 \times 10^4 \sim 1.10 \times 10^6$ CFU/mL; 对照池 SL-北 1 菌量变化范围是 $3 \times 10^3 \sim 1.10 \times 10^6$ CFU/mL, 发病池与对照池的无明显差异。

表 2 沉积物中细菌数量变化
Tab. 2 Bacterium population changes in sediment

日期 date	总异养菌 heterotrophic bacteria				弧菌 vibrio				硝化菌 nitrifying bacteria			
	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1
7-23	330000	11600	4870	10000	0	1400	750	500	15800	760000	20000	7000
7-28	44000	68000	45000	12700	900	1600	18500	2300	10900000	5700	46000	37000
8-01	7400	7200	213000	7000	1000	100	1900	100	2900	2500	11600	6000
8-11	13450	16200	143000	16650	50	650	550	350	11000	6600	50000	8250
日期 date	硫化菌 sulphuring bacteria				硫酸盐还原菌 sulphurate-reducing bacteria				硝酸盐还原菌 nitrate-reducing bacteria			
	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1
7-23	100	300000	400	500	43	15	10	28	7500	460000	55000	5700
7-28	18850	7200	40500	1900	3.6	7.4	92	36	1100000	460000	11000	31000
8-01	2	4	250	3000	15	3	2	430	64000	120000	93000	64000
8-11	3	150	300	100	11000	11000	11000	30	9200	43000	43000	3000

注: SGZ-1[#], SGZ-2[#]分别表示山东省青岛市红岛邵哥庄社区(SGZ)发生刺参腐皮综合征和未发病池塘; SL-南 2, SL-北 1 分别表示红岛宿流社区(SL)发病及未发病池塘。

Note: SGZ-1[#] and SGZ-2[#] represent the diseased pond and the non-diseased pond in Shaogezhuang community in Hongdao, Qingdao, Shandong Province; SL-南 2 and SL-北 1 represent the diseased pond and the non-diseased pond in Suli community in Hongdao, Qingdao, Shandong Province.

2.3 水体中理化因子变化

2.3.1 现场测定理化参数 池塘水体温度变化如表 3 所示, 邵哥庄社区养殖池塘温度变化范围是 25.94~28.24℃。7 月 28 日前表层稍低于底层, 其后表层高于底层; 宿流社区刺参养殖池温度的变化范围是 26.12~28.49℃, 8 月 1 日存在温度明显跃层。

池塘水体盐度变化如表 3 所示, 邵哥庄社区

养殖池塘盐度的变化范围是 24.47~31.00, 波动较大, 7 月 28 日盐度骤降, 发病池 SGZ-1[#]降至 24.47, 此后基本低于 26, 未发病对照池盐度也降低, 但高于 26, 表底层存在一定的盐度跃层。宿流社区池塘的盐度变化范围是 26.06~28.90, 较邵哥庄社区池塘盐度高, 表底层存在一定的盐度跃层, 但梯度小于邵哥庄社区养殖池塘。

表 3 现场测定水体理化因子变化
Tab. 3 Physical-chemical index changes in water during spot detection

日期 date	温度 temperature				温度 temperature			
	SGZ-1 [#] 表层 surface	SGZ-1 [#] 底层 bottom	SGZ-2 [#] 表层 surface	SGZ-2 [#] 底层 bottom	SI-南 2 表层 surface	SL-南 2 底层 bottom	SL-北 1 表层 surface	SL-北 1 底层 bottom
7-23	28.23	28.24	28.18	28.21	27.33	27.41	27.39	27.5
7-28	26.21	26.34	26.32	26.50	26.30	26.19	26.56	26.53
8-1	27.51	27.45	27.91	27.67	28.24	27.88	28.49	26.50
8-11	25.97	25.94	26.15	25.97	26.70	26.20	27.09	26.09
日期 date	盐度 salinity				盐度 salinity			
	SGZ-1 [#] 表层 surface	SGZ-1 [#] 底层 bottom	SGZ-2 [#] 表层 surface	SGZ-2 [#] 底层 bottom	SI-南 2 表层 surface	SL-南 2 底层 bottom	SL-北 1 表层 surface	SL-北 1 底层 bottom
7-23	31	31	30.84	30.92	28.71	29	28.84	28.92
7-28	24.44	24.5	25.79	26.41	26.49	26.51	26.09	26.63
8-1	24.36	24.69	25.86	26.07	26.61	26.63	26.97	27.25
8-11	25.57	26.04	26.09	26.12	28.64	28.9	29.13	29.13
日期 date	溶氧 dissolved oxygen				溶氧 dissolved oxygen			
	SGZ-1 [#] 表层 surface	SGZ-1 [#] 底层 bottom	SGZ-2 [#] 表层 surface	SGZ-2 [#] 底层 bottom	SI-南 2 表层 surface	SL-南 2 底层 bottom	SL-北 1 表层 surface	SL-北 1 底层 bottom
7-23	3.45	3.34	4.58	4.32	8.52	8.92	8.54	8.71
7-28	5.53	4.61	9.06	7.41	9.22	8.84	10.11	10.86
8-1	6.52	5.93	6.54	6.77	4.95	5	7.54	2.67
8-11	4.50	3.37	5.67	5.56	6.03	4.87	10.9	8.14
日期 date	pH				pH			
	SGZ-1 [#] 表层 surface	SGZ-1 [#] 底层 bottom	SGZ-2 [#] 表层 surface	SGZ-2 [#] 底层 bottom	SI-南 2 表层 surface	SL-南 2 底层 bottom	SL-北 1 表层 surface	SL-北 1 底层 bottom
7-23	8.44	8.44	8.34	8.34	8.54	8.46	8.44	8.39
7-28	8.27	8.19	8.53	8.38	8.77	8.73	8.93	8.78
8-1	8.57	8.65	8.57	8.62	8.58	8.62	8.86	8.52
8-11	8.21	8.10	8.33	8.30	8.09	7.99	8.45	8.30

注: SGZ-1[#], SGZ-2[#]分别表示山东省青岛市红岛邵哥庄社区(SGZ)发生刺参腐皮综合征和未发病池塘; SL-南 2, SL-北 1 分别表示红岛宿流社区(SL)发病及未发病池塘。

Note: SGZ-1[#] and SGZ-2[#] represent the diseased pond and the non-diseased pond in Shaogezhuang community in Hongdao, Qingdao, Shandong Province; SL-南 2 and SL-北 1 represent the diseased pond and the non-diseased pond in Suliu community in Hongdao, Qingdao, Shandong Province.

池塘水体溶解氧变化如表 3 所示, 邵哥庄社区养殖池塘溶氧变化范围是 3.37~9.06, 发病池低于对照池。7 月 28 日发病时发病池仅为 4.61, 底层溶氧要低于表层; 宿流社区养殖池塘溶氧的变化范围是 2.67~10.90, 除 8 月 1 日北 1 池外, 均在正常范围内。7 月 29 日发病时发病池溶解氧并不比对照池低。

池塘水体 pH 变化如表 3 所示, 邵哥庄社区养殖池塘水体 pH 变化范围是 8.04~8.75, 发病池 SGZ-1[#] 低于对照池 SGZ-2[#], 表层高于底层。7 月 28 日发病池塘水体 pH 处于正常范围内, 8 月 1 日, 发病池与对照池 pH 有明显升高, 达到 8.6 左右, 8 月 11 日水体 pH 恢复到正常范围内, 但发病池 pH 低于对照池, 表层低于底层, 而对照池表层底 pH 大致相同; 宿流社区养殖池塘水体 pH 的变化范围是 7.99~8.93, 在刺参发病当天 pH 达到最大值, 对照池 SL-北 1 高于发病池 SL-南 2, 7 月 29 日 pH 升高的原因可能与前几天大量降雨有关。

2.3.2 实验室测定理化参数 池塘水体 NO₂-N 含量如表 4 所示: 邵哥庄社区池塘 NO₂-N 含量总体来看一直升高。发病池 SGZ-1[#] 含量高于对照池 SGZ-2[#], 发病池 SGZ-1[#] 变化范围 15.23~109.16 μg/L, 7 月 28 日含量达到 79.56 μg/L, 对照池 SGZ-2[#] 变

化范围是 14.65~51.97 μg/L; 宿流社区两池塘变化趋势大致相同, 含量差异不大。SL-南 2 变化范围 0.98~30.92 μg/L, SL 北 1 变化范围 5.33~7.25 μg/L。

池塘水体 NO₃-N 变化趋势如表 4 所示。邵哥庄社区两池变化趋势大致相同, 发病池 SGZ-1[#] 变化范围是 188.70~550.20 μg/L, 最低值出现 8 月 1 日, 最高值出现在 8 月 11 日; 对照池 SGZ-2[#] 变化范围是 105.60~386.90 μg/L, 最低值出现在 8 月 1 日, 最高值则出现在 7 月 23 日。宿流社区两池的变化趋势相同, 都是先升高再降低, 最高值都出现在 7 月 29 日, 8 月 1 日出现最低值, 发病池 SL-南 2 变化幅度大于对照池。

池塘水体 NH₄-N 变化如表 4 所示。邵哥庄社区发病池 SGZ-1[#] 变化范围是 13.63~48.97 μg/L, 8 月 1 日出现最低值, 8 月 11 日出现最高值。对照池 SGZ-2[#] 变化范围是 5.79~66.84 μg/L, 最低值出现在 7 月 28 日、最高值出现在 7 月 23 日。宿流社区发病池 SL-南 2 变化范围是 3.59~42.03 μg/L, 最低值出现在 7 月 29 日, 最高值出现在 8 月 11 日。对照池 SL-北 1 变化范围则是 8.40~45.71 μg/L, 最低值出现在 8 月 1 日, 最高值出现在 7 月 29 日, 都在水产养殖水质正常范围内波动。

表 4 实验室测定水体理化因子变化

Tab. 4 Physical-chemical index changes in water during laboratory detection

日期 date	NO ₂ -N				NO ₃ -N			
	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1
7.23	15.23	17.23	6.22	8.05	262.51	386.94	70.05	18.16
7.28	79.56	14.65	7.22	10.85	281.14	195.92	220.34	27.07
8.1	62.46	31.9	0.98	5.33	188.76	105.62	13.19	0.55
8.11	109.16	51.97	30.92	7.25	550.23	191.16	142.55	10.05
日期 date	NH ₄ -N				COD			
	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1
7.23	25.03	66.84	20.11	31.13	2.62	2.87	2.50	4.01
7.28	16.10	5.79	3.59	45.71	2.54	1.73	3.80	3.15
8.1	13.63	12.32	6.14	8.40	4.69	2.74	4.20	5.49
8.11	48.97	49.32	42.03	34.19	2.62	3.19	1.98	3.03

注: SGZ-1[#], SGZ-2[#] 分别表示山东省青岛市红岛邵哥庄社区(SGZ)发生刺参腐皮综合征和未发病池塘; SL-南 2, SL-北 1 分别表示红岛宿流社区(SL)发病及未发病池塘。

Note: SGZ-1[#] and SGZ-2[#] represent the diseased pond and the non-diseased pond in Shaogezhuang community in Hongdao, Qingdao, Shandong Province; SL-南 2 and SL-北 1 represent the diseased pond and the non-diseased pond in Suli community in Hongdao, Qingdao, Shandong Province.

池塘水体 COD 变化如表 4 所示。邵哥庄社区两池 COD 变化趋势相差较大, 在 7 月 28 日和 8 月 1 日, SGZ-1[#]明显高于 SGZ-2[#]。对照池 SGZ-2[#], 最低值出现在 7 月 28 日, 最高值出现在 8 月 11 日, 变化幅度小。宿流社区两池塘变化趋势相同, 差异不大, 最低值都是出现在 8 月 11 日, 最高值都在 8 月 1 日。

2.4 沉积物中理化参数变化

沉积物氧化还原电位如表 5 所示: 两处池塘均为负值, 说明底质处于还原状态。邵哥庄社区两池塘变化趋势相同, 波动比较大, 最低值都出现在 7 月 28 日, 最高值都在 7 月 23 日; 宿流社区两池塘的变化趋势差异大, 发病池波动较小, 最高值出现在 8 月 1 日, 最低值出现在 8 月 11 日, 对照池波动较大, 并且呈递增的趋势, 最低值出现在 7 月 29 日, 最低值出现在 8 月 11 日。

沉积物中硫化物变化如表 5 所示。邵哥庄社区发病池 SGZ-1[#]变化范围是 172.5~221.10 mg/g, 波动不大; 对照池 SGZ-2[#]变化范围是 22~90.3 mg/g,

含量比发病池低很多。宿流社区发病池 SL-南 2 变化范围是 41~119 mg/g, 最高值出现在 8 月 1 日, 最低值出现在 7 月 29 日; 对照池 SL-北 1 变化范围是 44~176 mg/g, 最高值出现在 8 月 11 日, 最低值在 7 月 29 日, 同一时间对照池硫化物含量高于发病池。对 SL-南 2 发病网箱中同样采集沉积物进行硫化物测定, 含量为 75~150 mg/g。

沉积物中有机碳变化如表 5 所示。邵哥庄社区发病池 SGZ-1[#]变化范围在 0.81%~1.36%; 对照池 SGZ-2[#]变化范围是 0.65%~1.20%。宿流社区两池塘有机碳含量比较稳定, 发病池 SL-南 2 含量要略微高于对照池 SL-北 1, SL-南 2 变化范围是 1.29%~1.4%, SL-北 1 变化范围是 1.06%~1.26%。

沉积物中 pH 变化如表 5 所示, 邵哥庄社区两池塘 SGZ-1[#]与 SGZ-2[#]的 pH 都在 7 月 28 日发病时达到最大值, 其余 3 天则比较稳定。宿流社区两池塘 pH 也比较稳定, 发病池与对照池都没有明显的波动, 且两个池塘 pH 相差不大。

表 5 池塘沉积物中理化参数变化
Tab. 5 Physical-chemical index changes in sediment

日期 date	氧化还原电位 redox potential				硫化物 sulfide				有机碳 organic carbon				pH			
	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1	SGZ-1 [#]	SGZ-2 [#]	SL-南 2	SL-北 1
7-23	-29.28	-20	-46	-40	221.1	64.46	52.68	55.55	1.36	0.65	1.3	1.16	7.46	7.35	8	8.3
7-28	-160.20	-161.60	-56.10	-132.90	220.20	90.35	41.35	44.44	1.04	0.78	1.40	1.14	9.73	9.78	7.96	8.98
8-01	-55.20	-42.80	-84.20	-53.50	211.37	64.74	119.77	151.75	0.81	0.68	1.33	1.26	7.96	7.74	8.44	7.92
8-11	-29.62	-38.1	-36.17	-29.6	172.51	21.90	87.79	176.12	0.95	1.20	1.29	1.06	7.49	7.65	7.61	7.50

注: SGZ-1[#], SGZ-2[#]分别表示山东省青岛市红岛邵哥庄社区(SGZ)发生刺参腐皮综合征和未发病池塘; SL-南 2, SL-北 1 分别表示红岛宿流社区(SL)发病及未发病池塘。

Note: SGZ-1[#] and SGZ-2[#] represent the diseased pond and the non-diseased pond in Shaogezhuang community in Hongdao, Qingdao, Shandong Province; SL-南 2 and SL-北 1 represent the diseased pond and the non-diseased pond in Suli community in Hongdao, Qingdao, Shandong Province.

3 讨论

3.1 邵哥庄池塘刺参发病环境因素分析

监测结果表明, 邵哥庄养殖池塘水体菌量变化没有明显的规律, 尤其是弧菌, 在 7 月 28 日出现刺参死亡当天, 发病池 SGZ-1[#]病原菌数量与对照池无明显差异, 低于发病前和恢复正常后。对比邵哥庄社区两个池塘沉积物中 6 类可培养细菌

数量, SGZ-1[#]发病池与对照池 SGZ-2[#]没有明显差异。发病时, 发病池弧菌与总异养菌的菌量不比对照池高。SGZ-1[#]池塘沉积物中硫化菌与硫酸盐还原菌的菌量变化呈负相关, 与硝化细菌呈正相关, 这与李秋芬等^[7]的研究结果一致。硫酸盐还原菌是严格的厌氧菌^[13], 厌氧菌生长与沉积物的氧化还原状态和水中溶氧情况密切相关, SGZ-1[#]沉积物的低氧化还原电位表征的高度还原状态有

利于厌氧菌繁殖生长。硝酸盐还原菌的菌量要高于硫酸盐还原菌,可能是硝酸盐还原菌在有机物的利用上优于硫酸盐还原菌,并且有些种类还可以利用硫化物作为能源^[7, 13],减少了硫酸盐还原菌的能量来源,间接抑制硫酸盐还原菌生长。

非特异性免疫对刺参抵抗致病菌有重要作用,溶菌酶和超氧化物歧化酶是刺参非特异性免疫的重要组成部分,温度超过 18℃时,两种酶的活性会降低^[14]。袁秀堂等^[15]研究表明,刺参体液的等渗点最接近 31.5,盐度低于 27 或高于 36 会引起耗氧率和排氨率升高,调节渗透压而耗能增加;王吉桥等^[16-17]认为幼参适宜生长的盐度是 30~33,盐度 22 时,刺参出现负增长,而且盐度骤降也可引起血清溶菌酶(LSZ)和超氧化物歧化酶(SOD)活性降低。根据调查结果,邵哥庄社区池塘的温度范围是 25.94~28.24℃,并且 SGZ-1[#]在 7 月 28 日,盐度降到 24.4,且持续多日低盐度,超出刺参耐受性限度^[18]。因此,过高的温度和过低的盐度可能是该池刺参发病死亡的主要原因之一。这与杨宁等^[14]的研究结果相似。溶解氧、pH 虽也都出现较大波动,但都在刺参可承受范围之内,不会对刺参健康有直接影响^[18-19]。氨氮含量低于 0.1 mg/L,没有对海参造成太大的影响^[16]。

SGZ-1[#]的 COD 在出现漂参当天要高于对照池 SGZ-2[#],COD 本身反映了水体受到还原性物质污染的程度^[20]和池塘水体中有机物含量^[21],间接反映了池塘生态环境状态的优劣。SGZ-1[#]在 7 月 28 日出现部分刺参死亡现象,残体留在水中被分解,使水体中的有机物含量增加,在 8 月 1 日 COD 达到最大值,发病前和恢复正常后的 COD 值与对照池的差别不大。

陈勇等^[19]研究发现,亚硝酸盐是影响水质的关键因素之一,很低浓度就可对养殖生物产生致死效应。本研究中,发病池 SGZ-1[#]池塘亚硝酸盐在 7 月 23 日后直至 8 月 11 日池塘恢复正常之前,都高于对照池塘,且在 7 月 29 日亚硝酸盐含量骤增,浓度增大近 3 倍。两池所纳海水来自同一片海域,SGZ-2[#]的亚硝酸盐含量比较稳定,说明海域中亚硝酸盐含量较少且波动小。而 SGZ-1[#]发

病池刺参,长期适应低浓度亚硝酸盐海水,海水中骤然升高的亚硝酸盐可能也是引起死亡的重要原因之一。

发病池 SGZ-1[#]硫化物总体要高于对照池 SGZ-2[#],尤其是 7 月 28 日池塘发病之前。原因可能是去年该池清淤不彻底,底部有大量淤泥,沉积环境老化^[22]。池塘中硫化物对养殖对象的血液和鳃有害^[23],与血液中血红蛋白结合产生疏血红蛋白而降低氧气携带能力,对鳃也有很强的腐蚀作用。池塘中高浓度硫化物也可能是引发死亡的原因之一。

由此可以认为,SGZ-1[#]发病池在发病期间水温持续过高,超出刺参耐受限度,同时降雨使盐度骤降,低于刺参耐受限度;水中 NO₂-N 的含量以及沉积物中的硫化物含量偏高,对刺参产生毒害作用。刺参夏眠期间抵抗力弱,而这些理化性质发生改变使池塘生态环境恶化^[24],这可能是 SGZ-1[#]发病池刺参在病原菌的菌量没有剧烈变化的条件下,池塘出现刺参死亡的主要原因。因此,对此类刺参病害的防治,应密切监控养殖理化环境因子,除改良底质环境外,还要控制进水时间,避免低盐水进入池塘,必要时及时排出淡水,同时应采取措施降低高温对池塘刺参的影响。

3.2 宿流池塘刺参发病原因分析

监测结果表明,宿流社区发病池 SL-南 2 池塘水体中 4 类可培养细菌菌量和对照池 SL-北 1 的变化趋势大致相同,都是在 7 月 29 日发病当天,菌量达到最高值。但发病池菌量高于对照池和邵哥庄两个池塘,也高于发病前和恢复正常后,弧菌菌量高达 4.98×10^4 CFU/mL。而弧菌中有诸多致病菌,含量过高容易引起养殖对象发病造成死亡^[25-26]。本研究从发病刺参病灶处分离回接感染证实的病原菌,经鉴定是副溶血弧菌、溶藻弧菌、灿烂弧菌等几种弧菌(另文发表),这些菌也有其他学者作为刺参病原菌报道^[3, 27-29],与 Deng 等^[6]的“腐皮综合征”是由多种不同细菌引起的研究结果一致。本研究也同时检测到该发病池的赤潮藻中肋骨条藻含量达到 10^7 cells/L,高于对照池 2 个数量级,是否与此次刺参发病有关系,还有待

进一步研究。

SL-南 2 池塘沉积物中弧菌菌量在 7 月 29 日与 8 月 1 日高于对照池。我们同时也对发病最重的发病池 SL-南 2 中的刺参养殖网箱进行取样调查。测得其中弧菌菌量在 7 月 29 日发病当天高达 3.6×10^5 CFU/mL, 超过对照池 SL-北 1 和发病池 SL-南 2。说明环境中弧菌是引起病害的主要原因^[3, 6, 25-26]。

从宿流社区两个池塘现场测得的温度、盐度、溶解氧和 pH 整体来看, 发病池较对照池要稳定。发病池 SL-南 2 COD 和 $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量低于对照池, 说明池塘理化环境还算良好。发病池 SL-南 2 和对照池 SL-北 1 沉积物中硫化物和有机碳含量并没有显著的差异。

由此可以认为, 宿流刺参发病池塘 SL-南 2 在夏季高温季节, 刺参夏眠对外界环境的抵抗力降低, 在池塘理化环境良好的情况下, 因水中致病微生物大量滋生, 引发刺参病害。因此, 对此类刺参发病的防控除了改善理化环境外, 还应从致病生物控制方面进行预警及采取措施。

4 结论

本研究对两个发病的池塘进行连续监测结果表明, 邵哥庄 SGZ-1[#]池塘漂参时池塘理化环境变化较大, 持续高温, 盐度骤降, 水中亚硝酸盐含量, 池塘底部硫化物含量增加, 理化因素的改变是该社区刺参池塘发病的主要原因, 与致病菌数量没有太大关系。而宿流 SL-南 2 水中致病菌浓度明显升高, 理化因子与对照池无明显差别, 因此该池塘刺参发病主要与病原菌大量繁殖有关。因此, 对夏季刺参发病原因应客观分析, 应从理化指标和病害生物两方面对刺参病害进行预警及采取防治措施。

参考文献:

- [1] Ai H X, Yu J J, Zheng F L, et al. Isolation and control of pathogen bacteria LNUB415 that caused "Skin Ulcer Syndrome" on spinous sea cucumber (*Apostichopus japonicus*)[J]. Journal of Microbiology, 2012, 32(2): 68-72.[艾海新, 于晶晶, 郑方亮, 等. 刺参“腐皮综合症”致病菌 LNUB415 的分离及防治的初步研究[J]. 微生物学杂志, 2012, 32(2): 68-72.]
- [2] Wang Y G, Zhang F P, Li S Z, et al. Detection of *Vibrio* sp. lendidus causing skin ulcer syndrome of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) with DNA probes[J]. Journal of Fisheries of China, 2009, 33(1): 119-125.[王印庚, 张凤萍, 李胜忠, 等. 刺参腐皮综合征病原灿烂弧菌检测探针的制备及应用[J]. 水产学报, 2009, 33(1): 119-125.]
- [3] Yang J L, Zhou L, Sheng X Z, et al. Identification and biological characteristics of pathogen RH2 associated with skin ulceration of cultured *Apostichopus japonicus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2007, 31(4): 504-511.[杨嘉龙, 周丽, 绳秀珍, 等. 养殖刺参溃疡病病原菌 RH2 的鉴定及其生物学特性分析[J]. 水产学报, 2007, 31(4): 504-511.]
- [4] Wang Y G, Fang B, Zhang C Y, et al. Etiology of skin ulcer syndrome in cultured juveniles of *Apostichopus japonicus* and analysis of reservoir of the pathogens[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(4): 610-616.[王印庚, 方波, 张春云, 等. 养殖刺参保苗期重大疾病“腐皮综合症”病原及其感染源分析[J]. 中国水产科学, 2006, 13(4): 610-616.]
- [5] Zhang C Y, Wang Y G, Rong X J. Isolation and identification of causative pathogen for skin ulcerative syndrome in *Apostichopus japonicus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 30(1): 118-123.[张春云, 王印庚, 荣小军. 养殖刺参腐皮综合症病原菌的分离与鉴定[J]. 水产学报, 2006, 30(1): 118-123.]
- [6] Deng H, He C B, Zhou Z C, et al. Isolation and pathogenicity of pathogens from skin ulceration disease and viscera ejection syndrome of the sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. Aquaculture, 2009, 287(29): 18-27.
- [7] Li Q F, Jiang W W, Liu H D, et al. Dynamic and correlation study on culturable bacteria and physicochemical indexes in the environment of *Apostichopus japonicus* culture ponds[J]. 2014, 20(3): 544-550.[李秋芬, 姜娓娓, 刘淮德, 等. 刺参 (*Apostichopus japonicus*) 养殖环境中可培养细菌与理化参数的动态及其相关性分析[J]. 应用与环境生物学报, 2014, 20(3): 544-550.]
- [8] Becker P, Gillanb D, Lanterbecq D, et al. The skin ulceration disease in cultivated juveniles of *Holothuria scabra* (Holothuridae, Echinodermata)[J]. Aquaculture, 2004, 242(1-4): 13-30.
- [9] Yan F J, Tian X L, Dong S L, et al. Seasonal variation of functional diversity of aquatic microbial community in *Apostichopus japonicus* cultural pond[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25(5): 1499-1505. [闫法军, 田相利, 董双林, 等. 刺参养殖池塘水体微生物群落功能多样性的季节变化[J]. 应用生态学报, 2014, 25(5): 1499-1505.]
- [10] Yan F J, Tian X L, Dong S L, et al. Seasonal variation of

- functional diversity of microbial communities in sediment and shelter of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) cultural ponds[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(11): 2996–3006. [闫法军, 田相利, 董双林, 等. 刺参池塘底质微生物群落功能多样性的季节变化[J]. *生态学报*, 2014, 34(11): 2996–3006.]
- [11] Yang H S, Yuan X T, Zhou Y, et al. Effects of body size and water temperature on food consumption and growth in the sea cucumber *Apostichopus japonicus*(Selenka) with special reference to aestivation[J]. *Aquac Res*, 2005, 36(11): 1085–1092.
- [12] Wang G H, Pan L Q, Ding Y G. Effects of ammonia exposure on physical health parameters of *Apostichopus japonicus*[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2015, 33(2): 90–96. [王国辉, 潘鲁青, 丁原刚. 氨氮胁迫对刺参生理健康指标的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2015, 33(2): 90–96.]
- [13] Ao L N R. Technology research of denitrification inhibition sulfate reducing bacterium[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2006. [敖蕾娜日. 反硝化作用抑制硫酸盐还原菌活性的技术研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2006.]
- [14] Yang N, Wang W Q, Jiang L X, et al. Effects of water temperature on activities of digestive enzymes and immune enzymes in *Apostichopus japonicus*[J]. *Marine Sciences*, 2014, 38(11): 56–59. [杨宁, 王文琪, 姜令绪, 等. 水温对刺参消化酶和免疫酶活力的影响[J]. *海洋科学*, 2014, 38(11): 56–59.]
- [15] Yuan X T, Yang H S, Zhou Y, et al. Salinity effect on respiration and excretion of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (selenka)[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2006, 37(4): 348–354. [袁秀堂, 杨红生, 周毅, 等. 盐度对刺参 (*Apostichopus japonicus*)呼吸和排泄的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2006, 37(4): 348–354.]
- [16] Wang J Q, Zhang X C, Jiang Y S, et al. Effects of abrupt decline in salinity on growth, immunity and histological structure of respiratory trees in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2009, 24(5): 387–392. [王吉桥, 张筱樾, 姜玉声, 等. 盐度骤降对幼仿刺参生长、免疫指标及呼吸树组织结构的影响[J]. *大连水产学院学报*, 2009, 24(5): 387–392.]
- [17] Wang J Q, Zhang X C, Jiang Y S, et al. Growth and survival of larval and juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* exposed to abrupt decline salinity[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2009, 24(suppl): 139–146. [王吉桥, 张筱樾, 姜玉声, 等. 盐度骤降对不同发育阶段仿刺参存活和生长的影响[J]. *大连水产学院学报*, 2009, 24(增刊): 139–146.]
- [18] Dong Y W, Dong S L, Ji T T. Effect of different thermal regimes on growth and physiological performance of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* Selenka[J]. *Aquaculture*, 2008, 275(1–4): 329–334.
- [19] Chen Y, Gao F, Liu G S, et al. The effects of temperature, salinity and light cycle on the growth and behavior of *Apostichopus japonicus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(5): 687–691. [陈勇, 高峰, 刘国山, 等. 温度、盐度和光照周期对刺参生长及行为的影响[J]. *水产学报*, 2007, 31(5): 687–691.]
- [20] Zhang Y L, Yang L Y, Qin B Q, et al. Spatial distribution of COD and the correlations with other parameters in the northern region of lake Taihu[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(6): 1457–1462. [张运林, 杨龙元, 秦伯强, 等. 太湖北部湖区 COD 浓度空间分布及与其它要素的相关性研究[J]. *环境科学*, 2008, 29(6): 1457–1462.]
- [21] Shen Y C, Xiong B X, Ye F L, et al. Relationship of bacterial density to its environmental factors in higher-place ponds of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Marine Sciences*, 2006, 30(7): 33–37. [申玉春, 熊邦喜, 叶富良, 等. 凡纳滨对虾高位池细菌数量变化及其与水环境因子的关系[J]. *海洋科学*, 2006, 30(7): 33–37.]
- [22] He G M, Lu W X, Liu Y G, et al. Analysing on the degradational characteristics of caged fish culture of a bay[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1997, 4(5): 77–81. [何国民, 卢婉嫔, 刘豫广, 等. 海湾网箱渔场老化特征分析[J]. *中国水产科学*, 1997, 4(5): 77–81.]
- [23] Peng B. The variation of sulfide in culture ponds of binhal saltern and relationship between sulfide and other factors[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2008, 26(3): 155–160. [彭斌. 滨海盐场养殖池塘底质硫化物的变化及其与其它因子的关系[J]. *海洋湖沼通报*, 2008, 26(3): 155–160.]
- [24] Li X L. Study on changes of bacterial community in sediment environment of normal and diseased *Apostichopus japonicus* culture ponds[D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2014. [李晓龙. 正常和发病刺参养殖池塘沉积环境中细菌群落变化的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2014.]
- [25] Wu H B, Pan J P. Progress in studies of *Vibriosis* in aquaculture[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2001, 8(1): 89–93. [吴后波, 潘金培. 弧菌属细菌及其所致海水养殖动物疾病[J]. *中国水产科学*, 2001, 8(1): 89–93.]
- [26] Adeleye A, Enyinnia N, Rita N, et al. Antimicrobial susceptibility of potentially pathogenic halophilic vibrios species isolated from seafood in Lagos, Nigeria[J]. *Afr J Biotechnol*, 2008, 7(20): 3791–3794.
- [27] Zhang X J, Liang L G, Yan B L, et al. Detection of patho-

- genic *Vibrio parahaemolyticus* isolated from aquatic animals by duplex PCR[J]. Marine Sciences, 2010, 34(10): 7–12.[张晓君, 梁利国, 阎斌伦, 等. 水产动物致病性副溶血弧菌双重 PCR 检测方法的研究[J]. 海洋科学, 2010, 34(10): 7–12.]
- [28] George M R, John K R, Iyappan T, et al. Genetic heterogeneity among *Vibrio alginolyticus* isolated from shrimp farms by PCR fingerprinting[J]. Lett Appl Microbiol, 2005, 40(5): 369–372.
- [29] Gómez-León J, Villamil L, Lemos M L, et al. Isolation of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio splendidus* from aquacultured carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) larvae associated with mass mortalities[J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(1): 98–104.

Environmental factors causing skin ulcer syndrome occurrence in pond-cultured *Apostichopus japonicus*

FEI Yutao^{1,2}, LI Qiufen², ZHANG Yan², CHENG Yu^{1,2}, LI Li³, WANG Xiaohong³

1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Key Laboratory for Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture; Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
3. Marine Biology Institute of Shandong Province, Qingdao 266001, China

Abstract: The relationships between skin ulcer syndrome occurrence in the sea cucumber, *Apostichopus japonicus*, and environmental factors were analyzed by comparing the environmental indices in ponds containing diseased and non-diseased sea cucumber in two communities of Shaogezhuang (SGZ) and Suliu (SL) in Hongdao, Qingdao, Shandong Province. Between July 23, before any disease occurred, and August 11, we detected 4 cultivable bacterial groups (heterotrophic bacteria, vibrios, nitrifying bacteria, and sulfurring bacteria) and measured 7 physical-chemical indices (temperature, pH, salinity, dissolved oxygen, inorganic nitrogen, and chemical oxygen demand) in the pond water and detected 6 bacterial groups (heterotrophic bacteria, vibrios, nitrifying bacteria, sulphuring bacteria, sulphurate-reducing bacteria, nitrate-reducing bacteria) and measured four physical-chemical indices (pH, redox potential, content of sulfide, and organic carbon) in the pond sediments. The number of bacterial groups in the diseased pond SGZ-1[#] did not differ significantly from those in the non-diseased pond SGZ-2[#] on the day that disease occurred, whereas the temperature was higher (25.94 °C) and the salinity was lower (24.47). Furthermore, concentration of the nitrite (79.56 µg/L) in pond water and the sulfide (221.1 mg/g) in the sediment were higher in the diseased pond SGZ-1[#], exceeding the tolerance thresholds of the sea cucumber. The number of vibrio species in the diseased pond SL-S2[#] of the Suliu community was significantly higher (1.85×10⁴ CFU/mL) than that in the non-diseased pond SL-N2[#] on the day that disease occurred, and was also higher than the number in the diseased pond SGZ-1[#] in the Shaogezhuang community. The physical-chemical indices in pond SL-S2[#] was much better than those in pond SL-N2[#]. Therefore, we infer that the disease that occurred in the sea cucumbers in Shaogezhuang was closely related to the large sudden changes in the physical-chemical indices of the water and poor sediment conditions, whereas the disease in the sea cucumbers in Suliu was closely related to the proliferation of pathogenic bacteria in the environment. Therefore, the factors associated with disease must be analyzed in individual outbreaks, be they pathogenic organisms or physical-chemical factors, and the appropriate strategies used for disease control.

Key words: *Apostichopus japonicus*; disease; pond-culture environment; physical-chemical indices; cultivable bacterial group

Corresponding author: LI Qiufen. E-mail: liqf@ysfri.ac.cn