

DOI: 10.12264/JFSC2024-0390

吊笼养殖刺参腐皮综合征发生期的菌群结构及其相关环境因子

王锦锦^{1,2}, 王印庚^{1,2}, 李彬^{1,2}, 荣小军^{1,2}, 廖梅杰^{1,2*}, 葛建龙^{1,2}, 陈政强³, 刘清兵⁴, 江敏棋¹

1. 海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室, 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;
2. 青岛海洋科技中心海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266237;
3. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021;
4. 青岛蓝色种业研究院, 山东 青岛 266071

摘要: 本研究针对 2023 年 11 月在福建小雷江、文岐、围江 3 个海域吊笼养殖区暴发的刺参腐皮综合征, 解析了患病个体的发病特征、菌群结构及菌群与环境因子的相关性。通过对患病组织及水样中微生物的 16S rDNA 可变区 V3~V4 区域进行高通量测序及菌群结构分析, 本研究共检测到细菌 33 门、72 纲、350 科; 各海域患病刺参体壁样品中, 位于前三的优势菌门均为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)和放线菌门(Actinobacteriota), 优势菌科有黄杆菌科(Flavobacteriaceae)、红杆菌科(Rhodobacteraceae)、肠杆菌科(Enterobacteriaceae)和微杆菌科(Microbacteriaceae)等; 在水体样品中, 位于前二的优势菌门均为变形菌门和拟杆菌门, 优势菌科有黄杆菌科、红杆菌科、放线菌科(Actinomarinaceae)和蓝细菌(unclassified_Cyanobacteriia)等。Alpha 多样性分析显示 Chao1 和 ACE 指数在不同区域的刺参体壁和水样中均表现出显著的差异性; PCoA 分析显示, 水体样品聚集在一起, 外周包围着刺参体壁样品, 表明水样菌群与海参健康具有一定的相关性。对所采集的患病组织及水体样品中科水平上 Top 20 的菌群进行相关性分析发现, 18 个菌群间有 100 对组合具有显著相关性, 且毛螺菌科(Lachnospiraceae)、颤螺菌科(Oscillospiraceae)与鼠杆菌科(Muribaculaceae)之间存在着极强的相关性, 相关性系数达到了 0.95 以上。菌群与环境因子间相关性分析显示, 化学需氧量(BOD)、汞(Hg)、锌(Zn)、镍(Ni)四种环境因子与水体和患病组织微生物的 alpha 多样性具有显著的相关性($P < 0.05$)。综合上述结果表明, 患病组织与水体中的菌群具有显著的相关性, 且环境因子对菌群结构及微生态的稳定性具有重要影响。相关研究结果将有助于为刺参腐皮综合征的防控提供科学依据, 并进一步推动刺参养殖过程中环境保护及养殖工艺的优化, 为科学养殖及病害防控提供理论依据。

关键词: 刺参; 腐皮综合征; 菌群结构; 环境因子

中图分类号: S947

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2025)05-0718-11

刺参(*Apostichopus japonicus*)又称仿刺参, 属于棘皮动物门(Echinodermata)、海参纲(Holothuroidea), 主要分布于西太平洋沿岸, 其作为一种传统的保健品, 营养价值高, 已成为我国重要的海水养殖品种之一^[1]。近年来, 随着刺参良种的产业化推广应用和养殖工艺的不断优化, 刺参养殖范围及规

模逐步增大, 同时其养殖病害问题逐渐成为产业发展的限制因子。根据现有报道, 常见的刺参病害有“腐皮综合征”^[2-4]、“肠炎病”^[5]、“化板症”^[6]、“溃烂病”^[7]、“烂胃病”^[8]等, 通过对患病刺参的病原菌分析, 常见的致病菌有恶臭假单胞菌(*Pseudomonas putida*)^[9]、溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)^[3]、灿

收稿日期: 2024-11-23; 修订日期: 2025-04-03.

基金项目: 山东省重点研发计划项目(2023CXGC010410); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2023TD29); 霞浦县政府采购项目(350921MJHDY2021002); 农业农村部东海海水健康养殖重点实验室开放课题项目(2022ESHML03).

作者简介: 王锦锦(1994-), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向为刺参遗传育种与健康养殖. E-mail: wangjinjin@ysfri.ac.cn

通信作者: 廖梅杰, 研究员, 研究方向为刺参遗传育种与健康养殖. E-mail: liaomj@ysfri.ac.cn

烂弧菌 (*Vibrio splendidus*)^[10]、假交替单胞菌 (*Pseudoalteromonas nigrifaciens*)^[4]等。其中“腐皮综合征”因其发病周期短、病症急、传染性强、短期内会导致刺参出现大规模的死亡等特征, 严重影响了刺参产量, 对产业危害巨大。近年来, 刺参吊笼养殖发展迅速, 已成为我国海参养殖的最主要的产出模式之一, 然而目前关于吊笼养殖模式下刺参腐皮综合征发生时期的环境及发病个体菌群结构解析等的相关研究较少, 仅见有刺参发病时期可培养优势菌分离的相关研究报告^[2]。因此, 本研究聚焦吊笼养殖模式下刺参病害发生时期的菌群结构特征, 分析菌群变化与环境因子相关性, 可为刺参病害防控提供科学的理论指导, 对保障该地区刺参产业可持续发展具有重要意义。

2023 年 11 月下旬, 福建东吾洋海域吊笼养殖的刺参发生了严重的化皮现象, 此次刺参“腐皮综合征”的发生, 正值福建地区刺参“北参南养”的放苗时期, 该时期刺参的健康关系到来年收获的数量及质量, 病害的发生对其产业的可持续发展影响巨大。为探究福建霞浦地区刺参“腐皮综合征”的发病特征及其发病状态下的环境及患病部位菌群变化, 本研究对福建霞浦东吾洋海域吊笼养殖区进行了流行病学调查, 并收集发病区域的水样和患病刺参体壁样品, 利用 16S 高通量测序分析解析其菌群结构变化, 并分析菌群变化与环境因子相关性, 以期对刺参“腐皮综合征”的防治、刺参生长环境的优化及健康养殖提供科学的理论依据及数据支撑。

1 材料与方法

1.1 疾病的流行病学调查与样品采集

根据养殖区发病情况, 本研究选取福建省霞浦县东吾洋海域刺参吊笼养殖集中区的患病较严重的 3 个代表性区域进行样品采集, 采样信息见表 1, 每个采样点均采集 3 个平行样品, 采集化皮海参存放于无菌自封袋中低温运送回实验室, 取化皮体壁组织保存于-80 °C 冰箱用于菌群高通量测序分析, 使用击打式采水器采集养殖区 1 m 深处水样, 低温运送回实验室后, 利用 0.22 μm 滤膜

进行抽滤, 每个滤膜的抽滤水量为 400 mL 将滤膜保存于-80 °C 冰箱用于菌群高通量测序分析。

表 1 采样信息
Tab. 1 Sampling information

样品类型 sample type	编号 identification number	采样地点 sampling site
小雷江-海参 XLJ-sea cucumber	SXLJ	小雷江海域 Xiaoleijiang sea area (26°37'59.8"N, 119°55'57.0"E)
文岐-海参 WQ-sea cucumber	SWQ	文岐海域 Wenqi sea area (26°43'43.9"N, 119°58'22.0"E)
围江-海参 WJ-sea cucumber	SWJ	围江海域 Weijiang sea area (26°43'43.9"N, 119°58'22.0"E)
小雷江-水 XLJ-water	WXLJ	小雷江海域 Xiaoleijiang sea area (26°37'59.8"N, 119°55'57.0"E)
文岐-水 WQ-water	WWQ	文岐海域 Wenqi sea area (26°43'43.9"N, 119°58'22.0"E)
围江-水 WJ-water	WWJ	围江海域 Weijiang sea area (26°43'43.9"N, 119°58'22.0"E)

1.2 环境因子测量

利用 YSI EXO 进行养殖区溶解氧(DO)的测量, 并采集水深 1 m 处水样, 参考 GB 17378.4—2007 方法进行水体样品中化学需氧量(BOD)、氨氮(NH₃-N)、亚硝酸盐氮(NO₂-N)、无机氮(IN)、活性磷酸盐(PO₄³⁻)、汞(Hg)、镉(Cr)、砷(As)、铜(Cu)、锌(Zn)、硒(Se)、镍(Ni)的含量测定。

1.3 菌群结构分析

采用 E.Z.N.A. Soil DNA 试剂盒(Omega Biotek)提取所采集样品的 DNA, 使用 16S rDNA 的 V3~V4 区特异引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAG GCAGCA-3')和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTC TAAT-3')进行 PCR 扩增, PCR 产物回收构建测序文库, 利用百迈客生物科技有限公司的 Illumina HiSeq 平台对所构建的文库进行高通量测序, 对原始数据进行拼接、过滤、去除嵌合体等最终获得有效序列。使用 Usearch V10.0 软件, 以 Reads 在 97.0%的相似度水平下, 对序列进行聚类以获得分类操作单元(OTUs, optical transform units)。采用 RDP classifier 软件进行物种分类, 分类阈值选择 0.8, 低于该阈值的分类结果划归为 unclassified 一类, 采用 Mothur V1.30 软件对样品序列进行多样性分析。采用 QIIME2 (<https://qiime2.org/org/>) 进行 alpha 多样性分析, 计算 ACE 指数、Chao1 指

数、Shannon 指数和 Simpson 指数。基于百迈克云平台的数据分析软件(<https://international.biocloud.net/zh/dashboard>), 进行主成分分析(principal coordinates analysis, PCoA)。在科水平上, 根据各个物种在各个样品中的丰度以及变化情况, 对丰度为前 20 的菌群进行斯皮尔曼(Spearman)秩相关分析, 并筛选相关性大于 0.1 且 P 值小于 0.05 的数据构建相关性网络图。在基于环境因子与物种、alpha 指数间相关性、Mantel 分析基础上, 利用 R 语言绘制热图与网络组合图。

1.4 数据分析

使用 Excel 2020 软件进行数据汇总与整理, 结果使用平均值 \pm 标准差表示, 使用 SPSS 23.0 进行样本的组间差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 流行病学调查

流行病学调查发现感染对象为 2023 年 11 月中上旬从北方地区新购入的大规格刺参苗种, 苗种体长 6~12 cm, 体重 20~50 g, 在苗种放到网笼中 5~20 d 后, 刺参出现化皮现象, 截止到 11 月 24 日采样时, 所调查海域发病率已达 5%。发病个体的主要症状有附着力差、个体萎缩、摄食量少、体表皮肤溃烂, 严重者溃烂面不断扩大进而导致刺参死亡, 结合前期研究报道, 将该病确诊为“腐皮综合征”^[3]。



图 1 患腐皮综合征的海参样本

↗表示化皮部位。

Fig. 1 Sea cucumber individual with skin ulcer syndrome

↗ shows skin ulcer location.

2.2 高通量测序结果分析

2.2.1 不同样品菌群序列丰度 对所采集的 18 个样品进行高通量测序分析, 各样品获得的有效序

列为 43117~73274 条, 有效序列占比为 53.91%~91.54%。对 Reads 在 97.0%的相似度水平下进行聚类分析共获得 719~1150 个分类操作单元(OTU), 各类型样本的 OTU 数量分别为 SWJ 825 个、SWQ 719 个、SXLJ 991 个、WWJ 1150 个、WWQ 1029 个、WXLJ 903 个; 各类型样品 OTU 数量从高到低为 WWJ>WWQ>SXLJ>WXLJ>SWJ>SWQ。分别利用 3 个地点获得的病参体壁组织和水样 OTU 构建 Venn 图, 结果显示在养殖水体样品中共获得 1301 个 OTU, 其中 3 个组共有的 OTU 有 538 个, WWJ 组、WWQ 组、WXLJ 组特有的 OTU 数和占比分别为 266 (20.45%)、39 (3.00%)、63 (4.84%); 海参体壁样品中共获得 1115 个 OTU, 其中 3 个组共有的 OTU 有 581 个, SWJ 组、SWQ 组、SXLJ 组特有的 OTU 数分别为 56 (5.02%)、45 (4.04%)、175 (15.70%)。

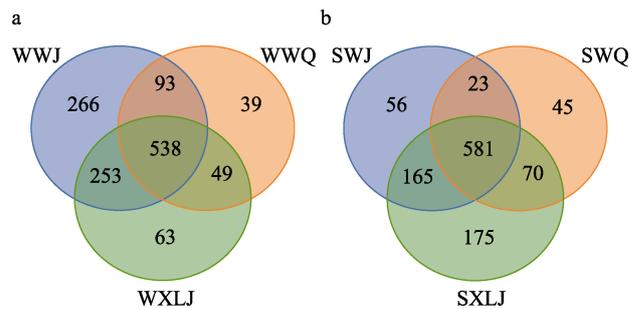


图 2 刺参化皮体壁组织和水体样品 Venn 图

a. 水体样品; b. 海参体壁样品。

Fig. 2 Venn diagram of rotted body wall of sea cucumber with ulcer syndrome and environmental samples
a. Water samples; b. Body wall of sea cucumber.

2.2.2 刺参体壁及水体样品菌群结构特征 通过对 3 个海域采集的刺参化皮体壁组织和水样共 6 组 18 个样品进行菌群结构特征分析发现, 18 个样品检测到的细菌归属于 33 门、72 纲、194 目、350 科、586 属、625 种。在门水平上, 选择丰度最高的 10 个菌群构建相对丰度柱状图, 结果见图 3a, 在三个地区的刺参体壁样品中, 位于前 3 的优势菌门均为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)和放线菌门(Actinobacteriota), 其中变形菌门的相对丰度占据绝对优势, 在各区域的样品中相对丰度均在 50%以上; 在三个地区的水体样品中, 位于前二的优势菌门均为变形菌门和拟杆菌门。

在科水平上, 选择丰度最高的 10 个菌群构建相对丰度图, 结果见图 3b, 各样品在科水平上的菌群结构存在更高的差异性与多样性, 黄杆菌科(Flavobacteriaceae)、红杆菌科(Rhodobacteraceae)、肠杆菌科(Enterobacteriaceae)、微杆菌科(Microbacteriaceae)、放线菌科(Actinomarinaceae)、蓝细菌门的 unclassified_Cyanobacteria 以及 EF100_94H03 为本研究得到的优势菌科。刺参体壁组织样品中, SXLJ 组中黄杆菌科(11.95%)、红杆菌科(11.28%)和肠杆菌科(5.87%)为主要优势菌群, SWQ 组中黄

杆菌科(16.38%)、EF100_94H03 (41.93%)和红杆菌科(7.32%)为主要优势菌群, SWJ 组中红杆菌科(14.03%)、肠杆菌科(21.82%)和微杆菌科(6.65%)为主要优势菌群; 水体样品中, WXLJ 组中黄杆菌科(15.57%)、红杆菌科(7.92%)和放线菌科(4.64%)为主要优势菌群, WWQ 组中黄杆菌科(16.23%)、EF100_94H03 (22.24%)和红杆菌科(6.37%)为主要优势菌群, WWJ 组中黄杆菌科(7.26%)、红杆菌科(14.68%)和蓝细菌门的 unclassified_Cyanobacteria (4.66%)为主要优势菌群。

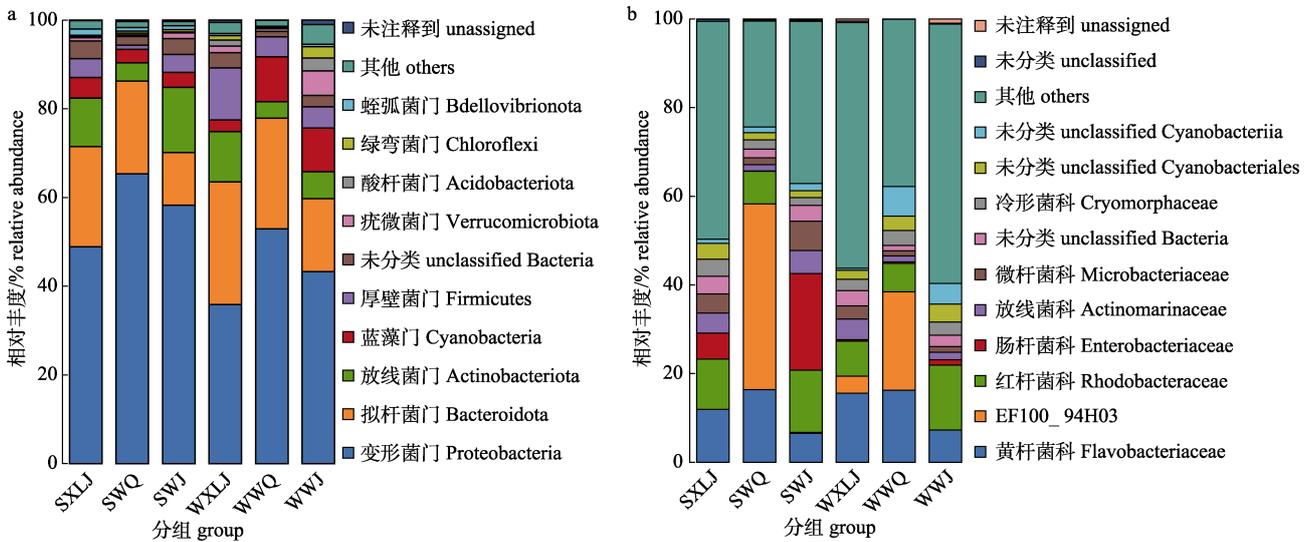


图 3 在门水平(a)和科水平(b)上的刺参化皮体壁组织和水样菌群相对丰度

SXLJ: 小雷江海参体壁, SWQ: 文岐海参体壁, SWJ: 围江海参体壁, WXLJ: 小雷江水样, WWQ: 文岐水样, WWJ: 围江水样.

Fig. 3 Relative abundance of bacterial communities from samples of sea cucumber rotted body wall tissue and water samples at phylum level (a) and family level (b)

SXLJ: the body wall of the sea cucumber in Xiaoleijiang, SWQ: the body wall of the sea cucumber in Wenqi,

SWJ: the body wall of the sea cucumber in Weijiang, WXLJ: the water samples in Xiaoleijiang,

WWQ: the water samples in Wenqi, WWJ: the water samples in Weijiang.

2.2.3 刺参体壁及水样菌群多样性 对 6 组样品所获得菌群的 alpha 多样性指数 (Alpha diversity index) 分析结果见表 2, 6 个组的菌群丰富度以 ACE 指数和 Chao1 指数衡量, ACE 指数为 248.08~929.19, Chao1 指数为 177.00~935.26, 其中 WWQ 的菌群丰富度显著高于 WWJ 和 WXLJ ($P < 0.05$), SWQ 的菌群丰富度显著低于 SWJ 和 SXLJ ($P < 0.05$). 在菌群多样性方面(以 Shannon 指数衡量), 6 个组的菌群多样性为 4.23~7.80, 各组之间无显著差异($P > 0.05$). 6 个组

的 Simpson 指数为 0.69~0.98, 各组之间无显著差异($P > 0.05$).

为进一步探究 6 组样本间微生物群落相似性, 在 OTU 水平上, 对各地区的水体样品和刺参体壁样品的微生物群落进行主成分分析(PCA) (图 4), 其中, PC1 的贡献率为 70.64%, PC2 的贡献率为 11.24%, 总贡献率为 81.88%. 将 6 组样品按样品类型为依据分为 2 个大组(海参 S 和水体 W), 在 95% 置信度条件下分别添加置信椭圆。图中显示, 样本呈现出较好聚类趋势, 水样居于中间, 被海参

表 2 刺参化皮体壁组织样品及水样中菌群的 alpha 多样性指数

Tab. 2 Alpha diversity index of bacterial communities from sea cucumber rotted body wall and water samples

n=3; $\bar{x}\pm SD$

样品类型 sample type	编号 identification number	ACE 指数 index of ACE	Chao1 指数 index of Chao1	Simpson 指数 index of Simpson	Shannon 指数 index of Shannon
小雷江-海参 XLJ-sea cucumber	SXLJ	576.40±9.94 ^{ab}	595.37±26.77 ^{ab}	0.95±0.03	6.56±0.18
文岐-海参 WQ-sea cucumber	SWQ	306.66±58.58 ^c	231.75±54.75 ^c	0.91±0.07	5.45±1.22
围江-海参 WJ-sea cucumber	SWJ	592.30±85.12 ^{ab}	599.47±87.18 ^{ab}	0.84±0.15	5.98±0.27
小雷江-水 XLJ-water	WXLJ	333.11±14.62 ^{bc}	342.96±29.04 ^{bc}	0.96±0.03	6.58±0.58
文岐-水 WQ-water	WWQ	786.75±142.44 ^a	789.99±145.27 ^a	0.86±0.16	6.84±0.96
围江-水 WJ-water	WWJ	421.69±71.28 ^{bc}	426.76±76.01 ^{bc}	0.97±0.01	6.76±0.63

注: 同列数值后不同字母表示处理间差异达到显著水平($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference at 0.05 confidence level.

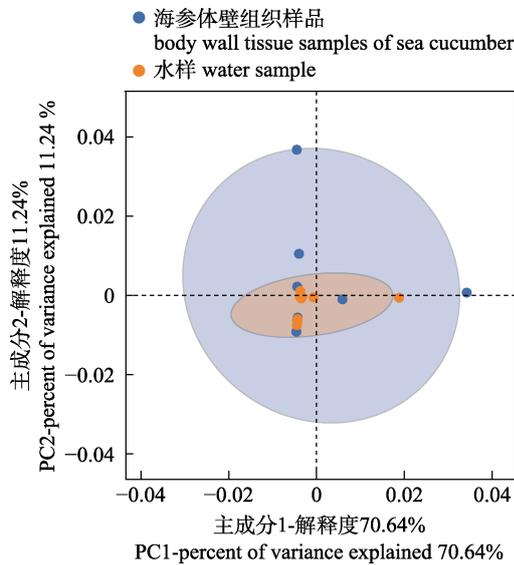


图 4 海参化皮体壁组织及水样中菌群 PCoA 分析结果

Fig. 4 PCoA analysis result of bacterial communities from samples of rotted sea cucumber body wall tissue and water samples

样品的置信椭圆完全包裹,说明 3 个区域水的群落结构相似性较高,而不同海域刺参化皮组织之间群落结构差异较大,进一步说明腐皮综合征患病组织群落的复杂性。

2.2.4 刺参体壁及水样菌群相关性 在科水平上对 6 组样品中丰度为前 20 的菌群进行相关性比较筛选后得到 18 个具有显著相关性的菌群(图 5),这 18 个菌群来自 5 个门,分别为厚壁菌门、变形菌门、蓝藻门、拟杆菌门、放线菌门。将不同菌群两两组合进行相关性分析,在 153 种组合中,有

72 对菌群之间存在显著正相关($P<0.05$),相关性系数大于 0.59; 28 对菌群之间存在显著负相关($P<0.05$),相关性系数小于-0.59。其中颤螺菌科(Oscillospiraceae)与毛螺菌科(Lachnospiraceae)存在极强的相关性,相关性系数达到了 0.97; 鼠杆菌科(Muribaculaceae)与毛螺菌科存在极强的相关性,相关性系数达到了 0.97; 颤螺菌科与鼠杆菌科存在极强的相关性,相关性系数达到了 0.95。

2.2.5 刺参体壁及水样菌群与环境因子相关性 对三个采样点的养殖区水样进行检测,获得水质指标检测结果(表 3),参照“GB 3097—1997 海水水质标准”的相关规定进行比较发现,所调查海域的铜、硒和镍的含量超出第二类水质(水产养殖用水)的标准。将检测结果进行菌群物种多样性、环境因子、alpha 多样性指数间的关联分析,获取物种与环境因子的关联特征,得到物种与环境因子、alpha 指数间的相关性分析图(图 6),图中显示在右上角环境因子的相关性热图中,DO 与 $\text{NH}_3\text{-N}/\text{NO}_2\text{-N}/\text{IN}/\text{PO}_4^{3-}/\text{As}/\text{Cu}/\text{Se}$ 之间, BOD 与 Zn 之间, Hg 与 Zn 之间, Zn 与 Ni 之间存在显著的负相关($P<0.05$); 而 BOD 与 Hg 之间, $\text{NH}_3\text{-N}$ 与 $\text{Se}/\text{Cu}/\text{As}/\text{PO}_4^{3-}/\text{IN}/\text{NO}_2\text{-N}$ 之间, $\text{NO}_2\text{-N}$ 与 $\text{Se}/\text{Cu}/\text{As}/\text{PO}_4^{3-}/\text{IN}$ 之间, IN 与 $\text{Se}/\text{Cu}/\text{As}/\text{PO}_4^{3-}$ 之间, PO_4^{3-} 与 $\text{Se}/\text{Cu}/\text{As}$ 之间, Cr 与 Ni 之间, As 与 Se/Cu , Cu 与 Se 之间存在显著的正相关($P<0.05$)。在左下角物种、alpha 指数与环境因子的网络关系中,

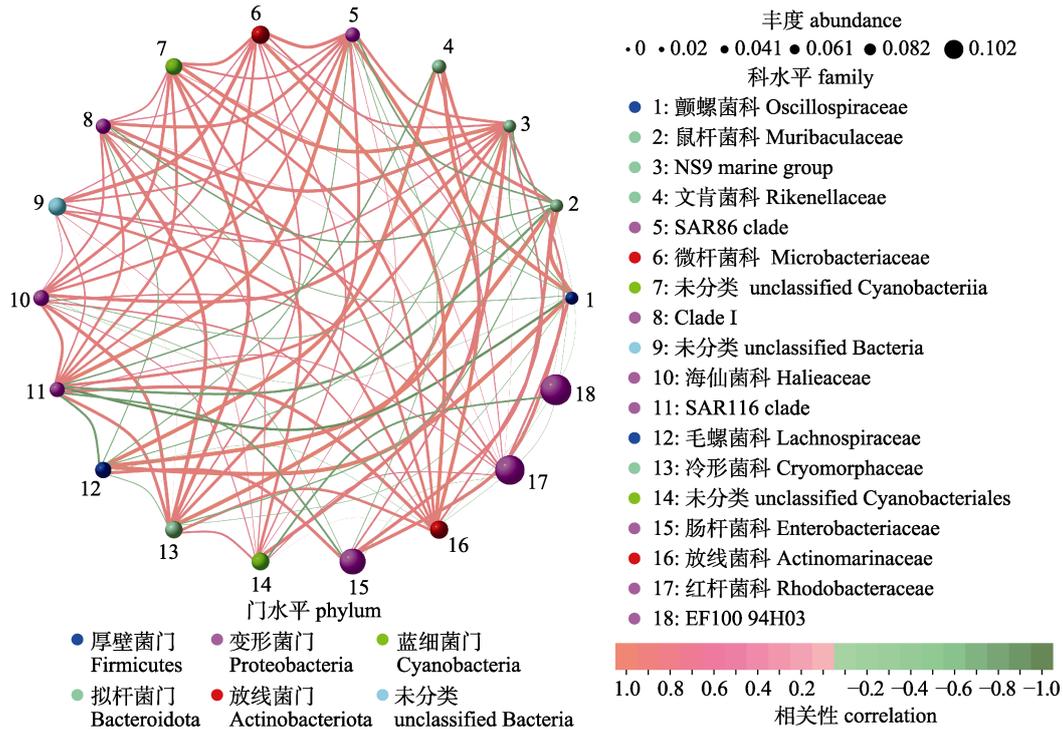


图 5 科水平各刺参腐皮病相关菌群相关性网络图

圆圈及数字代表科水平菌群, 圆圈大小代表菌群平均丰度大小, 圆圈颜色代表所属的门; 线条代表两菌群间相关性, 线的粗细代表相关性的强弱, 线的颜色: 红色代表正相关, 绿色代表负相关。

Fig. 5 Correlation network map of bacterial communities related to sea cucumber ulcer syndrome at family level. The circles and numbers represent the bacterial communities of the family level, the size of the circles represents the average abundance of the bacterial communities, and the color of the circles represents the phylum to which they belong; The line represents the correlation between the two bacterial communities, the thickness of the line represents the strength of the correlation, and the color of the line: red represents the positive correlation, green represents the negative correlation.

表 3 不同刺参腐皮病暴发区域水样检测结果

Tab. 3 Results of water samples from different areas with sea cucumber ulcer syndrome outbreak

检测指标 detection indicator	单位 unit	小雷江 XLJ	文岐 WQ	围江 WJ
溶解氧 DO	mg/L	5.730	7.300	8.750
化学需氧量 BOD	mg/L	0.600	0.280	0.880
氨氮 NH ₃ -N	mg/L	0.010	0.005	0.004
亚硝酸盐氮 NO ₂ -N	mg/L	0.136	0.059	0.036
无机氮 IN	mg/L	0.233	0.108	0.063
活性磷酸盐 PO ₄ ³⁻	mg/L	0.104	0.047	0.036
汞 Hg	μg/L	0.045	0.038	0.051
铬 Cr	μg/L	22.600	7.430	15.000
砷 As	μg/L	53.100	28.500	20.700
铜 Cu	μg/L	214.000*	127.000*	64.400*
锌 Zn	μg/L	15.200	28.500	13.200
硒 Se	μg/L	223.000*	115.000*	89.800*
镍 Ni	μg/L	18.200*	3.280	14.500*

注: *表示根据 GB 3097—1997 海水水质标准规定, 超出第二类水质(水产养殖用水)标准。

Note: * denotes the value of corresponding indicator exceeding the upper threshold of the second type of water quality (aquaculture water), according to GB 3097—1997 seawater water quality standards.

Shannon 指数与 BOD/Hg/Zn/Ni 之间, Simpson 指数与 Zn/Ni 之间, Chao1 指数与 Zn/Ni 之间存在显著的相关性($P < 0.05$), 与其他环境因子之间的相关性不显著($P > 0.05$), 且物种种类与环境因子间无显著相关性($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 刺参体壁及环境菌群特征分析

张东升等^[11]和费聿涛等^[12]通过对刺参养殖环境的可培养菌丰度统计结果表明, 患病刺参组织中及养殖环境微生物丰度会显著上升, 这表明环境微生物丰度过高会影响养殖动物健康。本研究中, alpha 多样性分析显示, Chao1 和 ACE 指数在不同区域的刺参体壁和水样中均表现出显著的差异性, 其中文岐地区的刺参体壁样品显著低于小雷江和围江, 而文岐地区的水样却显著高于小雷江和围江, 结合 PCoA 分析结果, 水体样品聚集在一起

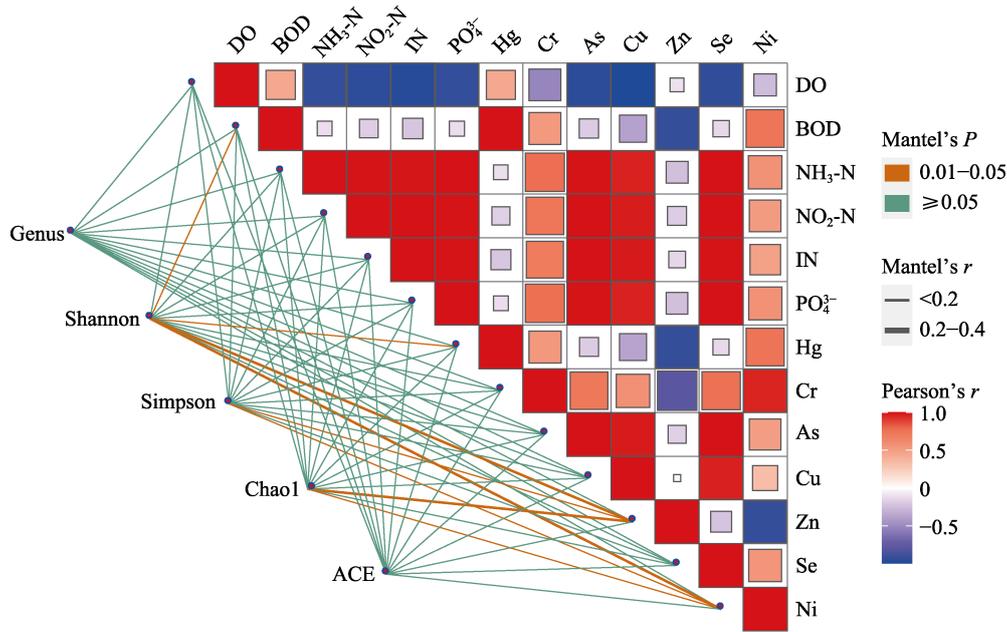


图 6 刺参腐皮综合征发生水域菌群种类与环境因子、alpha 指数相关性分析图

图可分为 3 部分: (1)图例: Mantel's P 为环境因子与物种和 alpha 指数的 Mantel 分析的 P 值; Mantel's r 为环境因子与物种和 alpha 指数的 Mantel 分析的 r 值; Pearson's r 为环境因子与物种和 alpha 指数相关性系数; (2)右上角热图: 环境因子与环境因子间相关性, 红色和蓝色分别表示正相关和负相关, 热图块的大小与相关性 r 的大小一致; (3)左下角网络图: 物种、alpha 指数与环境因子的网络关系, 线的颜色与图例中 Mantel's P 一致, 线的粗细与图例中 Mantel's r 一致。

Fig. 6 Correlation analysis diagram of bacteria species, environmental factors and alpha indices in the area of sea cucumber ulcer syndrome outbreak

The figure can be divided into three parts: (1) Legend: Mantel's P is the P value of environmental factors and species and alpha indices from Mantel analysis; Mantel's r is the r value of environmental factors and species and alpha indices from Mantel analysis; Pearson's r is the correlation coefficients between environmental factors, species and alpha indices. (2) Upper right heat map: correlation between environmental factors and environmental factors, heat map color red and blue indicate positive correlation and negative correlation, respectively, the size of heat map block is consistent with the size of correlation coefficient r . (3) Network diagram in the lower left corner: the network relationship between species, alpha indices and environmental factors. The color of lines is consistent with Mantel's P in the legend, and the thickness of lines is consistent with Mantel's r in the legend.

外周包围着刺参体壁样品, 表明水样菌群与海参健康具有相关性^[13-15]。对刺参体壁及水样中的菌群结构特征进行分析, 结果显示, 水体样品中在门水平上排名前三的微生物主要来自变形菌门、拟杆菌门和放线菌门, 这与林志萍等^[16]对刺参患病池塘环境样品的菌群结构特征的研究结果一致; 患病样品中在门水平上排名第二的微生物主要来自变形菌门和拟杆菌门, 这与 Arjona 等^[17]对患有腐皮综合征的海参进行菌群分析的结果一致。此外, Jia 等^[18]在分析不同季节的海参肠道菌群时发现, 在肠道菌群中变形菌门的丰度高于拟杆菌门和蓝藻门, 处于最高水平。拟杆菌门包含拟杆菌纲、黄杆菌纲及鞘脂杆菌纲等的相关菌群, 其中大部分细菌是自然界中重要的分解者, 它们能促进环境中的碳循环, 在分解动植物残骸和动物排

泄物等方面发挥着关键作用^[19-21]。变形菌门中则含有较多有害菌群如弧菌、立克次体、大肠杆菌、假交替单胞菌等, 这些菌群在生物体内及环境中长期存在, 在环境条件改变导致其丰度过高或生物体免疫力降低时会对生物体的健康产生危害^[22-25]。

本研究分析发现, 科水平上刺参体壁及水样的优势菌群主要有黄杆菌科、红杆菌科和肠杆菌科。黄杆菌科和红杆菌科是生物体及环境中的常见优势菌群^[26-27], 而肠杆菌科则常在病害暴发时的生物体及环境中出现, 其中肠杆菌科中的埃希氏菌属(*Escherichia*)、爱德华氏菌属(*Edwardsiella*)、沙门氏菌属(*Salmonella*)、肠杆菌属(*Enterobacter*)等为常见的致病菌^[28-29]。因此, 在研究刺参腐皮综合征发病机制过程中, 除了关注重要致病原的丰度, 还需要从菌群结构变化综合考虑分析。

3.2 菌群间相关性分析

本研究通过构建科水平上的菌群间的相关性网络图, 对所研究样品中科水平上 Top 20 的菌群进行相关性分析发现, 18 个菌群的 306 种组合中, 具有显著相关性的菌群就有 100 对, 该结果表明环境微生物之间有较强的关联性, 单株菌发生显著变化, 就会引起生态平衡的变化^[30-31]。因此, 在刺参“北参南养”“东参西养”等的过程中, 应重点关注苗种的健康问题, 并对各个批次的苗种做好健康检查, 谨防苗种携带潜在致病菌从而对当地微生态环境带来影响, 破坏菌群稳定进一步危及当地养殖生物的健康。此外, 本研究还发现颤螺菌科与毛螺菌科, 鼠杆菌科与毛螺菌科, 颤螺菌科与鼠杆菌科两两之间存在着极强的相关性, 相关性系数达到了 0.95 以上。颤螺菌科广泛存在于生物体肠道中, 可以分解复杂碳水化合物并产生短链脂肪酸, 因此近年来被认为是下一代益生菌的候选者^[32]。毛螺菌科广泛分布于生物体的肠道中, 对有机物的分解具有一定的作用, 常作为生物体健康的标志物^[33]。鼠杆菌科可以进行丁酸合成, 从而有助于生物体的营养吸收与肠道健康^[34]。上述结果表明, 颤螺菌科、鼠杆菌科与毛螺菌科之间共同作用, 形成极强的相关性, 其丰度及结构的稳定性将对生物体的健康具有重要作用, 因此, 在生物体健康监测的过程中, 应重点关注这三种菌群的丰度变化。

3.3 菌群与环境因子间相关性分析

本研究通过构建物种、环境因子及 alpha 指数的相关性分析图, 以福建霞浦刺参养殖的三个水域为一个生态系统, 进行其中多种因子的相关性分析, 结果显示, 在所研究的 13 种环境因子中, BOD/Hg/Zn/Ni 四种环境因子与微生物的 alpha 多样性具有显著的相关性($P < 0.05$), 而 13 种环境因子间也各自有显著的相关性($P < 0.05$)。BOD 是影响水环境及生物体健康生长的重要因素, 同时也会影响水环境中菌群的菌落结构, 因为氧气会通过影响微生物的代谢活动而进一步影响其分布^[35]。锌作为生物体中参与生长与代谢的一种重要的微量元素, 其适量添加可以促进生物体免疫力的提高, 从而有助于其健康成长, 其对微生物的影响

也有类似的作用, 有研究表明在饲料中添加适量的锌(94.46 mg/kg)可以促进生物体肠道中有益菌的生长并抑制有害菌的生长, 但过量的锌则会导致生物体出现锌中毒并破坏微生物菌群结构的稳定^[36]。Hg 和 Ni 作为重金属的典型代表, 随着其金属单体及化合物在日常生活和工业领域的广泛应用, 水环境中也逐渐检出了一定的含量, 相关研究表明, Hg 和 Ni 会影响微生物的生存从而进一步影响菌群结构, 并且其可以在养殖生物体内积累, 达到一定浓度后影响生物体健康^[37-38]。通过与“GB 3097—1997 海水水质标准”的相关规定进行比较分析发现, 所调研区域水体中的铜、硒和镍存在超标现象, 因此, 要加大对水域环境的保护力度, 减少日常生活、养殖活动及工业活动中的重金属等物质流入水体中, 从而维护水环境菌群稳态, 保证水产养殖生物的健康生长。

4 结论

本研究表明, 福建霞浦吊笼养殖区刺参所患疾病为“腐皮综合征”, 菌群分析及菌群与环境因子相关性分析结果表明, 体壁菌群与水样菌群具有密切的相关性, 腐皮综合征发病部位是由黄杆菌科、红杆菌科和肠杆菌科等的多种菌群共同作用的结果, BOD/Hg/Zn/Ni 四种环境因子与微生物菌群多样性显著相关, 此外, 颤螺菌科与毛螺菌科, 鼠杆菌科与毛螺菌科, 颤螺菌科与鼠杆菌科等多种菌群之间都具有显著相关性。为保障刺参养殖业的健康可持续发展, 应倡导环境保护与健康投喂, 以保障生态系统的稳定及菌群结构的稳定, 从而达到养殖环境保护与养殖个体健康成长的双赢效果, 进而实现刺参产业的持续稳定发展。本研究将为福建霞浦吊笼养殖区腐皮综合征的防控及近海养殖生态环境的稳定及可持续发展提供科学的理论依据。

参考文献:

- [1] Zhu W J, Wang L Z, Ding H Y, et al. Sea cucumber industry status and quality control measures in China[J]. Chinese Fishery Quality and Standards, 2012, 2(4): 57-60. [朱文嘉, 王联珠, 丁海燕, 等. 我国海参产业现状及质量控制对策[J]. 中国渔业质量与标准, 2012, 2(4): 57-60.]

- [2] Wang L L, Yang Q H, Li H Y, et al. Isolation and identification of *Photobacterium damsela* causing disease in cultured *Apostichopus japonicus* in southern China[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, 29(12): 1800-1811. [王丽莉, 杨求华, 李慧耀, 等. 南移仿刺参美人鱼发光杆菌病原分离鉴定与药敏分析[J]. 中国水产科学, 2022, 29(12): 1800-1811.]
- [3] Li X Y, Feng L J, Xu L, et al. Isolation, identification and characteristics of pathogen from sea cucumber *Apostichopus japonicus* with skin ulceration syndrome[J]. Fisheries Science, 2022, 41(5): 759-768. [李晓宇, 冯丽娟, 徐乐, 等. 刺参腐皮综合征病原菌的分离鉴定及特性分析[J]. 水产科学, 2022, 41(5): 759-768.]
- [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“腐皮综合征”病原及其感染源分析[J]. 中国水产科学, 2006, 13(4): 610-616.]
- [5] Pang H J, Liao M J, Li B, et al. Etiology and treatment of enteritis disease in cultured juveniles of *Apostichopus japonicus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(3): 188-197. [逢慧娟, 廖梅杰, 李彬, 等. 刺参(*Apostichopus japonicus*)保苗期“肠炎病”及其治疗方法[J]. 渔业科学进展, 2017, 38(3): 188-197.]
- [6] Wang Y G, Guo W L, Rong X J, et al. Isolation and identification of a pathogenic bacterium associated with off-plate syndrome from *Apostichopus japonicus* cultured in Liaoning Province[J]. Progress in Fishery Sciences, 2012, 33(6): 81-86. [王印庚, 郭伟丽, 荣小军, 等. 养殖刺参“化板症”病原菌的分离与鉴定[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(6): 81-86.]
- [7] Ma Y X, Xu G R, Chang Y Q, et al. Bacterial pathogens of skin ulceration disease in cultured sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) juveniles[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2006, 21(1): 13-18. [马悦欣, 徐高蓉, 常亚青, 等. 大连地区刺参幼参溃烂病细菌性病原的初步研究[J]. 大连水产学院学报, 2006, 21(1): 13-18.]
- [8] Wang Y G, Sun S F, Rong X J. Stomach ulcer disease in auricularia of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) and its etiological identification[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(6): 908-916. [王印庚, 孙素凤, 荣小军. 仿刺参幼体烂胃病及其致病原鉴定[J]. 中国水产科学, 2006, 13(6): 908-916.]
- [9] Huang H W, Wang Y G, Chen X, et al. Isolation and identification of cultured *Apostichopus japonicus* pathogen associated with skin ulcer syndrome in old ponds[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(9): 1460-1468. [黄华伟, 王印庚, 陈霞, 等. 老化参池刺参腐皮综合征致病原的分离与鉴定[J]. 水产学报, 2010, 34(9): 1460-1468.]
- [10] 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. 养殖刺参腐皮综合征病原菌的分离与鉴定[J]. 水产学报, 2006, 30(1): 118-123.]
- [11] Zhang D S, Wang Z F, Zhou W. Effects of Jet Water Mixer on physicochemical parameters and bacterial abundance in *Apostichopus japonicus* pond[J]. South China Fisheries Science, 2021, 17(6): 85-92. [张东升, 王祖峰, 周玮. 养水机对刺参池塘理化参数和细菌丰度的影响[J]. 南方水产科学, 2021, 17(6): 85-92.]
- [12] Fei Y T, Li Q F, Zhang Y, et al. Environmental factors causing skin ulcer syndrome occurrence in pond-cultured *Apostichopus japonicus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(3): 682-692. [费丰涛, 李秋芬, 张艳, 等. 池塘养殖刺参腐皮综合征发病环境因素分析[J]. 中国水产科学, 2016, 23(3): 682-692.]
- [13] Adedire D E, Jimoh A O, Kashim-Bello Z, et al. Microbiome diversity analysis of the bacterial community in Idah River, Kogi State, Nigeria[J]. Advances in Microbiology, 2022, 12(5): 343-362.
- [14] Zhou R J, Wang H, Wei D D, et al. Bacterial and eukaryotic community interactions might contribute to shrimp culture pond soil ecosystem at different culture stages[J]. Soil Ecology Letters, 2022, 4(2): 119-130.
- [15] Zhang Y Y, Han Z R, Sun J F, et al. Effects of infection with *Shewanella algae* on the microbial communities and expression of related functional genes in the intestine of *Cynoglossus semilaevis*[J]. Journal of Southern Agriculture, 2019, 50(10): 2300-2307. [张燕玉, 韩卓然, 孙敬锋, 等. 海藻希瓦氏菌感染对半滑舌鳎肠道菌群结构及相关功能基因表达的影响[J]. 南方农业学报, 2019, 50(10): 2300-2307.]
- [16] Lin Z P, Zhou Y Q, Zhang J J, et al. The structural and functional characterization of bacterial community in sediments of diseased area of *Apostichopus japonicus* culture pond[J]. Chinese Journal of Ecology, 2023, 42(8): 1936-1943. [林志萍, 周叶青, 张靖婧, 等. 刺参养殖池塘患病区域沉积物菌群结构与功能特征[J]. 生态学杂志, 2023, 42(8): 1936-1943.]
- [17] Arjona-Cambranes K A, Olvera-Novoa M A, Cerqueda-García D, et al. Characterization of microbiota and histology of cultured sea cucumber *Isostichopus badionotus* juveniles during an outbreak of skin ulceration syndrome[J]. PLoS One, 2024, 19(5): e0303480.
- [18] Jia C H, Wang Y H, Zheng B J, et al. Comparative analysis of gut bacterial community composition in two tropical economic sea cucumbers under different seasons of artificial

- environment[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(8): 4573.
- [19] Ren H W, Tian Y F, Lu J X, et al. Characteristics of bacterial community structure in the sediment of rural black and odorous water bodies[J]. Environmental Science, 2023, 44(11): 6205-6214. [任宏伟, 田彦芳, 路金霞, 等. 农村黑臭水体沉积物细菌群落结构特征[J]. 环境科学, 2023, 44(11): 6205-6214.]
- [20] O'Sullivan L A, Weightman A J, Fry J C. New degenerate *Cytophaga-Flexibacter-Bacteroides*-specific 16S ribosomal DNA-targeted oligonucleotide probes reveal high bacterial diversity in River Taff Epilithon[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(1): 201-210.
- [21] Cottrell M T, Kirchman D L. Natural assemblages of marine proteobacteria and members of the *Cytophaga-Flavobacter* cluster consuming low- and high-molecular-weight dissolved organic matter[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(4): 1692-1697.
- [22] Lu T Y, Wang C Y, Guo M, et al. Effects of dietary *Vibrio* sp. 33 on growth, innate immunity, gut microbiota profile and disease resistance against *Vibrio splendidus* of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. Developmental and Comparative Immunology, 2024, 150: 105081.
- [23] Riley L W. Distinguishing pathovars from nonpathovars: *Escherichia coli*[J]. Microbiology Spectrum, 2020, 8(4): 1-23.
- [24] Qi R R, Tang S L, Cui L B, et al. Histopathological observation of disease of Rickettsia-like organism in *Tilapia (Oreochromis niloticus)*[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2016, 29(3): 21-24. [戚瑞荣, 唐绍林, 崔龙波, 等. 罗非鱼类立克次氏体病的组织病理学观察[J]. 水产学杂志, 2016, 29(3): 21-24.]
- [25] Qiao Y, Shen H, Wan X H, et al. Identification and virulence gene analysis of a *Pseudoalteromonas* strain isolated from diseased *Acanthopagrus schlegelii*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2015, 43(4): 229-233. [乔毅, 沈辉, 万夕和, 等. 1 株黑鲷致病性假交替单胞菌的鉴定及毒力基因分析[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4): 229-233.]
- [26] Lu Z. Bacterial component analysis of the gut of *Apostichopus japonicus* cultured in Dalian, Yantai and Fujian[J]. Journal of Fisheries Research, 2019, 41(3): 187-194. [陆振. 福建与山东、辽宁养殖仿刺参肠道菌群结构的差异分析[J]. 渔业研究, 2019, 41(3): 187-194.]
- [27] Quan Z J, Gao P P, Zhang Y, et al. Bacterial community and function in the intestinal tracts of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) at different temperatures[J]. Chinese Journal of Ecology, 2019, 38(9): 2756-2764. [全紫娇, 高萍萍, 张杨, 等. 不同温度下刺参肠道菌群结构与功能[J]. 生态学杂志, 2019, 38(9): 2756-2764.]
- [28] Ma Z B, Pang H, Xu W L, et al. Epidemiological investigation of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from yellow-feathered broiler in Guangdong Province[J]. Chinese Journal of Veterinary Medicine, 2023, 59(4): 19-26. [马振报, 庞虹, 许娃丽, 等. 广东地区黄羽肉鸡肠杆菌中碳青霉烯耐药基因的流行病学调查[J]. 中国兽医杂志, 2023, 59(4): 19-26.]
- [29] Zhang X, Zhou L, Cai M, et al. Metagenomics-based analysis of microbial community structure and function composition in aquaculture pond for Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Progress in Fishery Sciences, 2024, 45(4): 112-124. [张旭, 周丽, 蔡敏, 等. 基于宏基因组学的中华绒螯蟹养殖池塘水体微生物群落结构和功能组成分析[J]. 渔业科学进展, 2024, 45(4): 112-124.]
- [30] Faust K, Raes J. Microbial interactions: From networks to models[J]. Nature Reviews Microbiology, 2012, 10(8): 538-550.
- [31] Kéfi S, Miele V, Wieters E A, et al. How structured is the entangled bank? The surprisingly simple organization of multiplex ecological networks leads to increased persistence and resilience[J]. PLoS Biology, 2016, 14(8): e1002527.
- [32] Yang J P, Li Y N, Wen Z Q, et al. Oscillospira-a candidate for the next-generation probiotics[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1987783.
- [33] Song A K, Li Y B, Wang W, et al. Revealing the effect of sea buckthorn oil, fish oil and structured lipid on intestinal microbiota, colonic short chain fatty acid composition and serum lipid profiles *in vivo*[J]. Natural Products and Bioprospecting, 2024, 14(5): Article No.41.
- [34] Wang D F, Zhang L, Liang P, et al. Effects of seaweeds enzymatic hydrolysates on intestinal microflora structure and short chain fatty acids synthesis of *Larimichthys crocea* cultured *in vitro*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2023, 35(10): 6560-6573. [王登峰, 张露, 梁萍, 等. 海藻酶解物对体外培养大黄鱼肠道菌群结构和短链脂肪酸合成的影响[J]. 动物营养学报, 2023, 35(10): 6560-6573.]
- [35] Wu J, Yang H, Pancost R D, et al. Variations in dissolved O₂ in a Chinese lake drive changes in microbial communities and impact sedimentary GDGT distributions[J]. Chemical Geology, 2021, 579: 120348.
- [36] He S Q, Li R M, Yang Q H, et al. Effects of dietary zinc on growth, serum non-specific immune indexes, disease resistance and intestinal flora structure in juvenile *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(10): 1726-1739. [何树青, 李日美, 杨奇慧, 等. 锌对凡纳滨对虾生长、非特异性免疫指标、抗病力及肠道菌群结构的影响[J]. 水产学报, 2021, 45(10): 1726-1739.]
- [37] Chen Q Y, Wu T S, Li Z T, et al. The effect of nickel exposure on murine immune response and intestinal microflora[J]. Chinese Preventive Medicine, 2018, 19(8): 573-578. [陈清

玉, 吴天遂, 李知同, 等. 饮水镍暴露对小鼠免疫功能和肠道菌群影响的实验研究[J]. 中国预防医学杂志, 2018, 19(8): 573-578.]

[38] Wang W J, Ming H X, Chen Q R, et al. Effects of inorganic nitrogen and heavy metals on anaerobic ammonification bac-

teria in sediments in different regions of Bohai Sea[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2024, 55(5): 1150-1162. [王文静, 明红霞, 陈泉睿, 等. 无机氮和重金属对渤海不同区域沉积物中厌氧氨氧化菌的影响差异[J]. 海洋与湖沼, 2024, 55(5): 1150-1162.]

Correlation analysis of bacterial structure and environmental factors under the skin ulcer syndrome outbreak of cultured *Apostichopus japonicus* in cage aquaculture system

WANG Jinjin^{1,2}, WANG Yingeng^{1,2}, LI Bin^{1,2}, RONG Xiaojun^{1,2}, LIAO Meijie^{1,2*}, GE Jianlong^{1,2}, CHEN Zhengqiang³, LIU Qingbing⁴, JIANG Minqi¹

1. State Key Laboratory of Mariculture Biobreeding and Sustainable Goods, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao Marine Science and Technology Center, Qingdao 266237, China;
3. College of Fisheries, Jimei University, Xiamen 361021, China;
4. Qingdao Institute of Blue Seed Industry, Qingdao 266071, China

Abstract: In this study, skin ulcer syndrome (SUS) broke out in three cage culture areas of *Apostichopus japonicus* in Xiaoleijiang, Wenqi and Weijiangcounty of Fujian Province in November 2023. The study analyzed the pathogenesis, bacterial structure, and correlations between bacterial and environmental factors, based on high-throughput sequencing of the 16S rDNA V3–V4 variable region of microorganisms from sampled tissues of *A. japonicus* diagnosed with SUS and surrounding water samples. The bacterial community structure analysis results showed that the detected bacteria belonged to 33 phyla, 72 classes, and 350 families. The top three dominant phyla were Proteobacteria, Bacteroidota, and Actinobacteriota. The dominant bacterial families included Flavobacteriaceae, Rhodobacteraceae, Enterobacteriaceae, and Microbacteriaceae, etc. In the water samples, Proteobacteria and Bacteroidota were the two dominant phyla, and the dominant bacterial families consisted of Flavobacteriaceae, Erythrobacteriaceae, Actinomarinaceae, and unclassified Cyanobacteria. Alpha diversity analysis showed that Chao1 and ACE indices exhibited significant differences between the body wall and water samples of *A. japonicus* from different regions. PCoA analysis indicated that water samples clustered together, surrounding the body wall samples, suggesting that the water bacterial was associated with the health of sea cucumbers. Correlation analysis of the top 20 microflora at the family level in the diseased tissue and water samples revealed that 100 pairs of 18 microflora had significant correlations, with the correlation coefficients between Trichospirillaceae, Spirillaceae, and Muribaculaceae exceeding 0.95. Correlation analysis between microbial flora and environmental factors indicated that environmental factors BOD/Hg/Zn/Ni were significantly correlated with microbial alpha diversity ($P < 0.05$) of diseased tissues and water samples. The results above indicated that the diseased tissues had certain association with the flora in the water, and the environmental factors had considerable effects on the structure of the flora and the stability of the microecology. This study provided some scientific basis for the prevention and control of *A. japonicus* skin ulcer syndrome, while supporting the preservation of culture environment and the optimization of the culture process for sea cucumber.

Key words: *Apostichopus japonicus*; skin ulcer syndrome; bacterial community structure; environmental factor

Corresponding author: LIAO Meijie. E-mail: liaomj@ysfri.ac.cn