

# 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\*

李秋芬<sup>1\*\*</sup> 姜娓娓<sup>1,2</sup> 刘淮德<sup>1</sup> 李晓龙<sup>1</sup> 宋娴丽<sup>3</sup> 王晓红<sup>3</sup> 邱兆星<sup>3</sup>

<sup>1</sup>中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071

<sup>2</sup>中国海洋大学海洋生命学院 青岛 266003

<sup>3</sup>山东省海水养殖研究所 青岛 266002

**摘要** 随着刺参(*Apostichopus japonicus*)人工养殖业的快速发展,刺参病害日渐突出。养殖环境微生物和理化参数作为养殖生态系统的重要组成部分,其变化规律及其相关性研究对防治刺参病害具有重要意义。本研究于2012年4月至2013年4月,对山东省即墨市刺参养殖池塘水体中4种可培养细菌(总异养菌、弧菌、硝化细菌、硫化细菌)、4项理化参数(温度、pH、盐度、溶解氧)和沉积环境中6种可培养细菌(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)、6项理化参数(温度、pH、氧化还原电位、硫化物、有机碳、总氮)的动态变化进行了监测,并分析了不同细菌类群的数量及其与沉积物中5项理化指标的相关性。结果显示:水中大多数细菌类群的周年变化呈夏季高、冬季低的趋势,与温度的变化趋势基本一致,弧菌的变化幅度较异养菌大;硝化细菌较硫化细菌高一个数量级,但变化趋势一致;水体的pH与溶解氧均在夏季高温出现最低值,与温度变化趋势相反;沉积物中异养菌数变化不大,弧菌数量在夏季和冬季出现两个高值。氮循环相关细菌的数量高于硫循环相关细菌。相关性分析结果显示,刺参养殖池塘沉积物的pH与氧化还原电位呈显著正相关( $P < 0.05$ ),二者与硫化物含量均呈极显著负相关( $P < 0.01$ )。硫化物含量与总异养菌、硫酸盐还原菌和硝化细菌均呈极显著正相关( $P < 0.01$ ),与硫化菌和硝酸盐还原菌呈显著负相关( $P < 0.05$ ),总氮含量与硝化细菌正相关性显著( $P < 0.05$ )。各类细菌数量之间也存在一定的相关性:总异养菌与硝化细菌、硫酸盐还原菌之间、硝化细菌与硫酸盐还原菌之间均存在极显著正相关性( $P < 0.01$ ),弧菌与总异养菌、硝化细菌之间存在正相关性,硝酸盐还原菌与硝化细菌之间、硫酸盐还原菌与硫化细菌之间存在负相关性。本研究表明刺参养殖池塘环境中多项理化参数和细菌数量之间相关性显著,其关系错综复杂,可为防治刺参病害提供理论依据。图6表1参29

**关键词** 刺参养殖池塘; 硫化物; 弧菌; 相关分析

CLC S917.1

## Dynamic and correlation study on culturable bacteria and physicochemical indexes in the environment of *Apostichopus japonicus* culture ponds\*

LI Qiufen<sup>1\*\*</sup>, JIANG Weiwei<sup>1,2</sup>, LIU Huaide<sup>1</sup>, LI Xiaolong<sup>1</sup>, SONG Xianli<sup>3</sup>, WANG Xiaohong<sup>3</sup> & QIU Zhaoxing<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China

<sup>2</sup>College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

<sup>3</sup>Mariculture Institute of Shandong Province, Qingdao 266002, China

**Abstract** With the rapid development of sea cucumber aquaculture, its diseases become a prominent problem. As integral parts of the *Apostichopus japonicus* culture ecosystem, microbials and physicochemical indexes have close relationship with the health of sea cucumber. Therefore, it is crucial to detect the variation regulation of physicochemical indexes and culturable bacteria in the environment of sea cucumber culture ponds. From April 2012 to April 2013, the dynamic variation of 4 culturable bacteria groups (heterotrophic bacteria, vibrios, nitrifying bacteria, sulphuric bacteria) and 4 physicochemical indexes (temperature, pH, salinity, dissolved oxygen) in water of *Apostichopus japonicus* culture ponds in Jimo, Shandong Province were monitored. Besides, the sediment was also tested for 6 culturable bacteria groups (heterotrophic bacteria, vibrios, nitrifying bacteria, nitrate-reducing bacteria, sulphuric bacteria, sulphuric-reducing) and 6 physicochemical indexes (temperature, pH, redox potential, sulfide, organic carbon, total nitrogen). Meanwhile, the correlation between different

收稿日期 Received: 2013-11-08 接受日期 Accepted: 2014-01-06

\*国家自然科学基金项目(31170113)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (31170113)

\*\*通讯作者 Corresponding author (E-mail: liqf@ysfri.ac.cn)

bacteria groups and 5 physicochemical environmental indexes in sediment was analyzed. The result showed that the population of most bacteria groups was high in summer and low in winter, and that the variation amplitude of vibrios was bigger than that of heterotrophic bacteria. The number of nitrifying bacteria was the one order of magnitude higher than that of sulfuring bacteria, with similar variation trend. The pH and dissolved oxygen had lowest values in summer. The number of heterotrophic bacteria in sediment did not vary much, but that of vibrios showed two peaks in summer and winter. The number of nitrogen-circulation related bacteria was higher than that of sulfur circulation bacteria. According to the correlation analysis, redox potential showed a significant positive correlation with pH in the sediment ( $P < 0.05$ ), both an extremely significant negative correlation with sulfide ( $P < 0.01$ ). Sulfide showed an extreme significant positive correlation with heterotrophic bacteria, sulphurate-reducing bacteria ( $P < 0.01$ ), but a significant negative correlation with sulphurate bacteria and nitrate-reducing bacteria ( $P < 0.05$ ). The total nitrogen showed significant correlation with nitrifying bacteria ( $P < 0.05$ ). There were some significant correlations between different bacteria groups: 1) heterotrophic bacteria with nitrifying bacteria and sulphurate-reducing bacteria ( $P < 0.01$ ); 2) nitrifying bacteria positively with sulphurate-reducing bacteria ( $P < 0.01$ ); 3) vibrios positively with heterotrophic bacteria and nitrifying bacteria; 4) nitrate-reducing bacteria negatively with nitrifying bacteria; 5) sulphurate-reducing bacteria negatively with sulphurate bacteria. The study indicated the significant correlations and complex relationships between various physicochemical indexes and bacterial numbers in *Apostichopus japonicus* culture pond, which provides theory basis to further study sea cucumber diseases.

**Keywords** *Apostichopus japonicus* culture ponds; sulfide; vibrios; correlation analysis

近年来,山东省和辽宁省大力发展刺参(*Apostichopus japonicus*)养殖业,使其一跃成为中国北方沿海水产养殖的重要新兴产业之一,取得了显著的经济效益和社会效益<sup>[1]</sup>。随着人工养殖业的快速发展,规模日益壮大,刺参病害也日渐突出。刺参发病多是由于病原微生物在不良环境下或环境剧烈变化时对生物体的感染所造成的<sup>[2]</sup>。微生物作为生态系统的重要组成部分,参与整个养殖环境的物质循环和能量流动,硝化细菌、硝酸盐还原菌参与氮循环,而硫化细菌、硫酸盐还原菌则与硫元素的循环息息相关。环境中氨氮、硫化物、以及亚硝酸氮等的不断积累,会对养殖动物的生长产生影响,甚至会引发毒害<sup>[3]</sup>,同时有益菌和病原菌的优势竞争,也会影响养殖动物的健康和病害的发生<sup>[5]</sup>。因此,研究养殖环境中细菌和理化参数的动态变化,对维持养殖生态系统的平衡和病害发生的及时预警具有重要意义。目前,国内外关于对虾养殖环境中细菌生理类群数量变化以及理化参数有过很多研究<sup>[6-8]</sup>,但关于刺参养殖池塘环境系统中微生物群落结构和理化因子的变化罕见报道。

本研究通过测定刺参养殖池塘环境水体中4种细菌和沉积物中6种细菌类群的数量,同时对水体的温度、pH、盐度、溶解氧及沉积物中的温度、有机碳、总氮、硫化物、pH、氧化还原电位共10项理化指标进行监测,揭示不同生理类群细菌的动态变化规律及其与理化指标间的相关性,旨在为防治刺参病害提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验池塘

实验所用的4个刺参养殖池塘位于山东省即墨市海珍品养殖基地,每个池塘面积为2 hm<sup>2</sup>,水深1.5 m,底质多为泥质。堤坝采用石块护坡,自然纳潮换水。于2013年4月初投放一批刺参苗种,投放密度为75 000-120 000头/hm<sup>2</sup>,每年春秋两季向池塘投饵。

### 1.2 样品采集

选取青岛即墨市海珍品养殖基地作为采样点,于2012年4月至2013年4月每月定期采集4个刺参养殖池的水样和沉积物样,水样使用无菌塑料瓶采集表层水,沉积物样品使用Van Veen采泥器采集表层沉积物,每个池分别采集4个角和中央区域的水样和沉积物样品,混合后用无菌塑料瓶保存,样品低温条件下立即带回实验室,用于检测微生物的数量。

### 1.3 理化参数的测定

水温、溶解氧、盐度、氧化还原电位和pH值利用YSI 550A溶氧仪(美国YSI公司)现场测定,其它理化参数根据海洋监测规范GB17378.5-2007测定,硫化物采用碘量法测定,有机碳采用重铬酸钾氧化-还原容量法测定,总氮采用次溴酸盐氧化法测定。

### 1.4 环境中细菌数量的测定

每个刺参养殖池塘水样和沉积物样品中可培养总异养菌、弧菌、硝化细菌、硫化细菌采用平板培养计数法,梯度稀释后,分别取0.1 mL涂布于固体平板培养基上;硝酸盐还原菌和硫酸盐还原菌采用MPN法,将水样和沉积物样进行梯度稀释后,取1.0 mL接种于硝酸盐还原和硫酸盐还原液体培养基中,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mL水样或每克湿沉积物样中的细菌数<sup>[3,9]</sup>。

### 1.5 数据处理

使用Excel软件进行绘图分析,运用SPSS16.0软件进行数据处理和相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 刺参养殖池塘系统中微生物数量的动态变化规律

2.1.1 水体中细菌数量的变化规律 总异养菌和弧菌的变化:如图1所示,刺参养殖池塘水体中可培养总异养菌的变化大

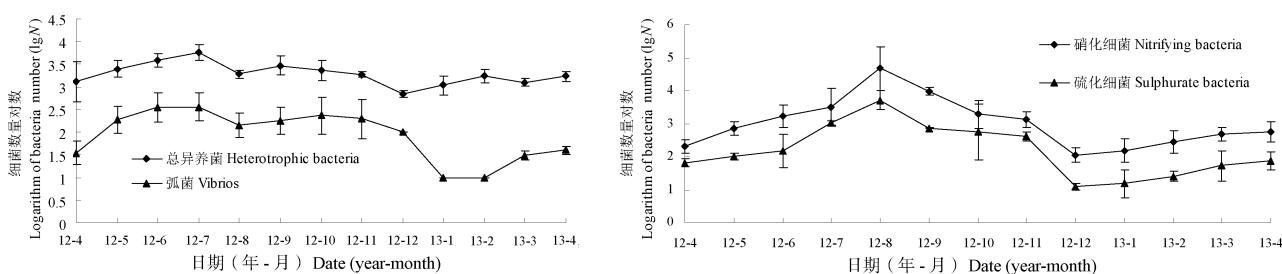


图1 水体中可培养总异养菌、弧菌、硝化细菌和硫化细菌数量的季节变化规律。

Fig. 1 Seasonal variations of culturable heterotrophic bacteria, vibrios, nitrifying bacteria and sulphur bacteria in water.

体呈现夏高冬低的趋势，数量波动不大，变化范围为 $7.10 \times 10^2$ - $5.8 \times 10^3$  cfu/mL，最高值出现在7月份，最低值出现在12月份。水体中弧菌的变化规律不明显，变化范围在 $1.00 \times 10^1$ - $3.60 \times 10^2$  cfu/mL，最高值出现在7月份，最低值出现在1月份和2月份。

**硝化细菌和硫化细菌的变化：**如图1所示，刺参养殖池塘水体中硝化细菌和硫化细菌的变化趋势基本一致，随着温度的升降而升降，变化幅度较大。硝化细菌变化范围为 $1.08 \times 10^2$ - $6.09 \times 10^4$  cfu/mL，8月份达到最高值，最低值则出现在12月份。硫化细菌变化范围在 $1.25 \times 10^1$ - $5.11 \times 10^3$  cfu/mL，最高值出现在8月份，最低值出现在12月份，最高值和最低值相差2个数量级。

**2.1.2 沉积物中细菌数量的变化规律** **总异养菌和弧菌的变化：**如图2所示，刺参养殖池塘沉积物中可培养总异养菌的变化趋势和水体中可培养总异养菌变化趋势相似，但变化幅度不大，所有月份的可培养总异养菌数均在同一个数量级上，变化范围为 $1.16 \times 10^4$ - $9.62 \times 10^4$  cfu/g，最高值出现在7月份，最低值出现在10月份。弧菌的变化趋势与总异养菌基本相同，但变化幅度较大，在夏季和冬季出现两个高峰期，变化范围为 $1.16 \times 10^2$ - $9.01 \times 10^3$  cfu/g，最高值出现在7月份，最低值出现

在4月份。

**硝化细菌和硝酸盐还原菌的变化：**如图2所示，刺参养殖池塘沉积物中硝化细菌和硝酸盐还原菌的变化趋势相反，硝化细菌最高值出现在7月份，最低值出现在1月份。而硝酸盐还原菌的最高值出现在1月份，最低值出现在7月份。硝化细菌和硝酸盐还原菌的变化范围分别为 $4.20 \times 10^3$ - $7.48 \times 10^4$  cfu/g和 $4.80 \times 10^3$ - $5.85 \times 10^4$  cfu/g。

**硫化细菌和硫酸盐还原菌的变化：**如图2所示，刺参养殖池塘沉积物中硫化细菌和硫酸盐还原菌亦呈相反的变化趋势，且硫酸盐还原菌的变化趋势与硝酸盐还原菌的变化趋势相反，硫化细菌的数量始终高于硫酸盐还原菌的数量。硫化细菌的变化范围为 $5.50 \times 10^2$ - $4.45 \times 10^3$  cfu/g，最高值出现在12月份，最低值出现在7月份。而硫酸盐还原菌的变化范围为 $9.30 \times 10^1$ - $8.38 \times 10^2$  cfu/g，最高值出现在7月份，最低值出现在12月份。

## 2.2 刺参养殖池塘系统中理化参数的动态变化规律

**2.2.1 水体中溶解氧和盐度、pH、温度的变化** 由图3可见，刺参池塘水体中盐度波动的范围在30.5-37.6，整体波动范围较小。盐度变化主要受到雨水的影响，最低值出现在夏末秋初9月份，最高值出现在春末夏初6月份。pH的范围波动于7.35-

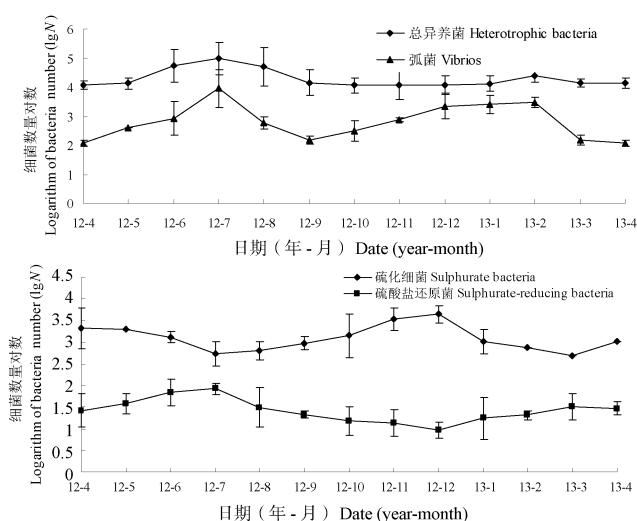
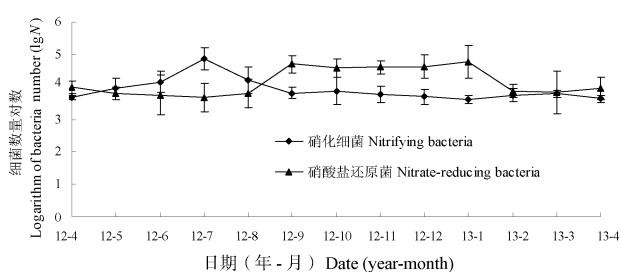


图2 沉积物中可培养总异养菌、弧菌、硝化细菌、硝酸盐还原菌、硫化细菌和硫酸盐还原菌数量的季节变化规律。

Fig. 2 Seasonal variations of culturable heterotrophic bacteria, vibrios, nitrifying bacteria, nitrate-reducing bacteria, sulphur bacteria and sulphate-reducing bacteria in sediment.



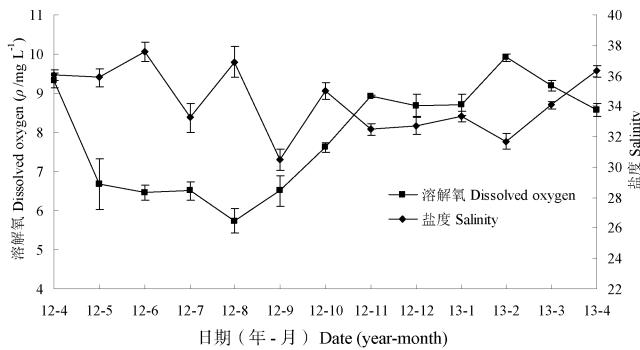


图3 水体中溶解氧、盐度、温度和pH的周年变化规律.

Fig. 3 Annual variations of dissolved oxygen, salinity, temperature and pH in water.

8.31, 7月和2月出现低值, 溶解氧的含量波动于5.7-9.31 mg/L范围内, 低值也出现在7、8月份, 与水温的变化趋势相反, 溶解氧与盐度、水温、气压等因素均有关, 其中主要受到水温的影响.

**2.2.2 沉积物中pH和氧化还原电位的变化** 如图4所示, 刺参养殖池塘沉积物中周年pH波动于7.10-7.61, 最低值出现在7月份, 之后逐渐升高, 在1月份出现最高值. 氧化还原电位波动于-42.18--65.06 mV, 变化趋势与pH变化趋势相同, 最低值同样出现在7月份, 此时沉积物处于较高的还原态.

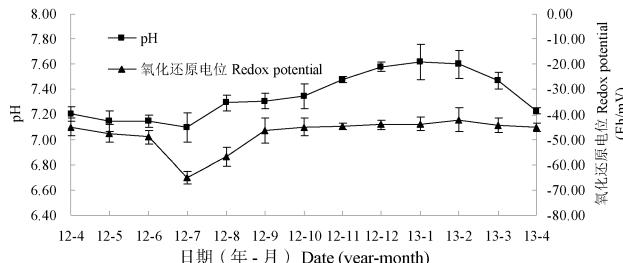


图4 沉积物中pH和氧化还原电位的周年变化规律.

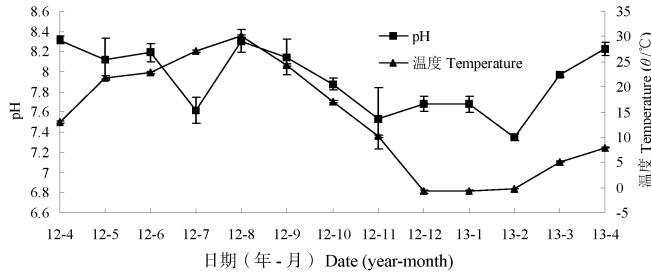
Fig. 4 Annual variations of pH and redox potential in sediment.

**2.2.3 沉积物中温度和硫化物的变化** 刺参养殖池塘沉积物中硫化物的变化范围在36.9-89.7 mg/kg, 平均值为53.7 mg/kg, 夏季和秋季较高, 7月份出现最高值, 说明在温度较高时, 微生物活动旺盛, 沉积物中缺氧, 硫化物容易形成. 硫化物的周年变化趋势和沉积物中pH和Eh变化趋势相反 (图5).

**2.2.4 沉积物中有机碳、总氮的变化** 刺参养殖池塘沉积物中有机碳含量波动范围为0.27%-0.43%, 有机碳含量波动变化不明显, 最低值出现在3月份, 最高值出现在8月份. 沉积物中总氮含量总体呈现夏、秋季高, 冬、春季低的趋势, 这与杨永川等人的研究<sup>[10]</sup>一致, 总氮波动于53.46-137.25 mg/kg. 最低值出现在4月份, 最高值出现在7月份 (图6).

### 2.3 刺参养殖池塘沉积物中各理化参数和细菌数量的相关性分析

将各理化参数与各类细菌数量进行相关性分析, 结果表明, 刺参养殖池塘沉积物的pH和氧化还原电位呈显著正相关, 二者与硫化物含量均呈极显著负相关. 有机碳含量与总氮含量存在正相关性, 但相关性不显著, 硫化物含量与总



异养菌、硫酸盐还原菌和硝化细菌呈极显著正相关, 与硫化菌和硝酸盐还原菌呈显著负相关性, 总氮含量与硝化细菌存在显著正相关性. 各类细菌数量之间也存在一定的相关性, 总异养菌与硝化细菌和硫酸盐还原菌之间、硝化细菌与硫酸盐还原菌存在极显著正相关性, 弧菌与总异养菌和硝化菌之间存在正相关性, 硝酸盐还原菌与硝化菌之间、硫酸盐还原菌与硫化菌之间存在负相关性等 (表1).

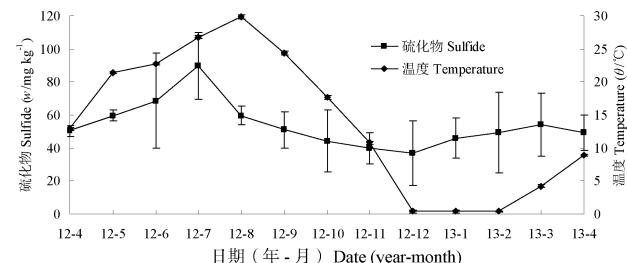


图5 沉积物中硫化物和温度的周年变化规律.

Fig. 5 Annual variations of sulfide and temperature in sediment.

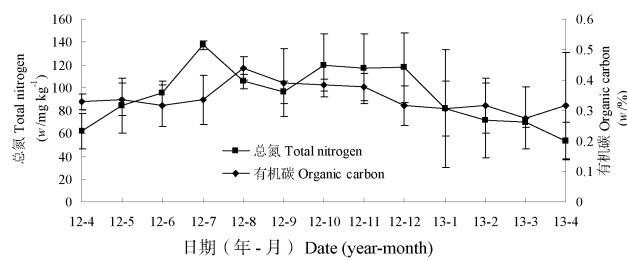


图6 沉积物中有机碳和总氮的周年变化规律.

Fig. 6 Annual variations of organic carbon and total nitrogen in sediment.

## 3 讨论

### 3.1 刺参养殖环境中理化参数和微生物群落的季节变化

水体和沉积物中理化参数对刺参养殖的影响不容忽视, 表层沉积物是刺参的生长栖息地, 其中的硫化物、有机碳、总氮、总磷等物质的含量以及水体的pH、溶解氧、温度、盐度等理化指标与刺参的生存生长息息相关, 某些理化参数突变甚至是导致刺参发病的关键因子. 沉积物中的有机

质、硫化物还是导致养殖环境老化的主要因素<sup>[11]</sup>,其含量必然对养殖刺参产生巨大影响。微生物群落对刺参养殖的作用也是至关重要的,总异养菌作为分解者能降解沉积物中各种类型的有机物,而其本身又是水生生物的营养源<sup>[12]</sup>,在刺参养殖系统中发挥着重要作用。硝化细菌、硫化细菌、硝酸盐还原菌和硫酸盐还原菌在刺参养殖系统中具有各自的生理功能,分解有机物,释放能量,对生态系统平衡发挥着一定的作用。弧菌中的一些种类是水生动物的致病菌,因此环境系统中弧菌数量将会直接影响着水生动物的健康程度。在即墨刺参养殖池塘沉积物中弧菌的两个高峰期,也是刺参的高发病期,表明弧菌的数量和刺参病害之间存在某些内在联系。因此,及时有效地对刺参养殖系统中的理化参数和微生物群落进行监测,能够在一定程度上预防刺参病害的发生,从而促进刺参养殖业的健康发展。

比较水体和沉积物中各细菌间的周年变化规律发现,沉积物中细菌的数量一般大于同期海水1~2个数量级。沉积物中微生物的数量变化受到多种因素的影响,如沉积物温度<sup>[13]</sup>、有机碳含量<sup>[14-15]</sup>、沉积物中氧化还原条件<sup>[16]</sup>等。刺参的活动代谢物以及长期海水中有机物的沉降导致沉积物中有机物含量增加,成为了细菌的天然培养基,促进了细菌的繁殖,使得沉积物中细菌数量处于较高水平。沉积物中可培养总异养菌的周年变化规律表现出夏季较高、冬季较低的变

化趋势,这是在一定范围内细菌的新陈代谢速率与温度成正比,夏季温度较高,新陈代谢速率加快,数量出现较高的水平<sup>[17]</sup>,这与牛宇峰<sup>[18]</sup>、李彬等<sup>[19]</sup>的研究一致,但沉积物中弧菌的变化趋势与牛宇峰的研究<sup>[18]</sup>存在一定的差异,这可能是由于采样地点和采样时间不同所致。水体中硫化细菌和硝化细菌变化趋势基本一致,随着温度升高,细菌繁殖速率加快,从而使得细菌变化趋势呈现先升后降的趋势。硫化细菌处于最高值时,硫酸盐还原菌处于最低值,表明硫化细菌和硫酸盐还原菌的生长相互抑制,由图2可知,沉积物中硫化细菌和硫酸盐还原菌变化趋势相反,硝化细菌和硝酸盐还原菌变化趋势亦相反,相关性分析也显示二者呈显著负相关( $P < 0.05$ ) (表1),与朱增炎等的研究<sup>[20]</sup>一致。厌氧菌的生长与沉积物的氧化还原状态密切相关,高度还原状态有利于厌氧菌的繁殖。同时,发现硝酸盐还原菌与硫酸盐还原菌的变化趋势相反,呈极显著负相关,这是由于在厌氧条件下,硝酸盐还原菌在基质(有机物)利用和能量利用上优于硫酸盐还原菌,并且有些种类同样可以利用硫化物作为能源,抑制硫酸盐还原菌的生长,二者出现极显著负相关( $P < 0.01$ )<sup>[21]</sup>。同时发现,沉积物中弧菌的数量在夏季和冬季出现两个高峰期,而水体中弧菌数量并不呈现这种变化规律,冬季和夏季也是刺参容易发病的高峰期,说明刺参发病和沉积物中的弧菌数量可能存在一定的相关性。

表1 刺参养殖池塘沉积物中理化参数和微生物数量的相关性系数

Table 1 Correlation coefficient between physicochemical indexes and bacteria in the sediment of *Apostichopus japonicus* culture ponds

指标 Index	温度 Temperature	pH	Eh	硫化物 Sulfide	有机碳 Organic carbon	总氮 Total nitrogen	异养菌 Heterotrophic bacteria	弧菌 Vibrios	硝化 细菌 Nitrifying bacteria	硝酸盐 还原菌 Nitrate-reducing bacteria	硫化 细菌 Sulphurate-reducing bacteria	硫酸盐 还原菌 Sulphurate-reducing bacteria
温度 Temperature	1											
pH		-0.811**										
Eh		-0.724**	0.596*	1								
硫化物 Sulfide		0.642*	-0.702**	-0.855*	1							
有机碳 Organic carbon		0.662*	-0.214	-0.344	-0.020	1						
总氮 Total nitrogen		0.418	0.078	-0.555*	0.262	0.475	1					
异养菌 Heterotrophic bacteria		0.571*	-0.458	-0.850**	0.862**	0.153	0.398	1				
弧菌 Vibrios		-0.101	0.251	-0.417	0.342	-0.110	0.551	0.541	1			
硝化细菌 Nitrifying bacteria		0.702**	-0.587*	-0.951**	0.905**	0.243	0.621*	0.888**	0.494	1		
硝酸盐还原菌 Nitrate-reducing bacteria		-0.343	0.566*	-0.478	-0.701**	-0.200	0.245	-0.620*	-0.018	-0.515	1	
硫化细菌 Sulphurate-reducing bacteria		-0.243	0.161	-0.425	-0.565*	0.036	0.170	-0.526	-0.051	-0.419	0.486	1
硫酸盐还原 菌 Sulphurate-reducing bacteria		0.599**	-0.771 *	-0.686**	0.937**	-0.131	-0.016	0.760**	0.099	0.736**	-0.802**	-0.569*
												1

\*代表相关性显著( $P < 0.05$ ); \*\*代表相关性极显著( $P < 0.01$ )。

\*Means significant correlation ( $P < 0.05$ ); \*\*means highly significant correlation ( $P < 0.01$ ).

### 3.2 微生物数量与理化参数间的关系

沉积物中的总氮含量与硝化细菌显著正相关,与硝酸盐还原菌、弧菌、总异养菌等也具有极高的相关性。沉积物中的氮源主要存在有机氮、硝酸氮、亚硝酸氮、氨氮4种形式,它们为其中的细菌生存生长提供必需的氮源,促进了微生物的大量繁殖。

相关性分析显示,沉积物中有机碳含量与其中可培养异养菌的数量变化相关性并不显著,这可能是由于沉积物环境有机质的含量很充足,对可培养异养菌的生长不是限制因子,这与Moriarty对虾池沉积物中细菌生物量与有机质关系的研究<sup>[22]</sup>一致。沉积物中的可培养总异养菌受到沉积物温度、有机碳、营养盐、小型底栖动物等多种因素的影响,相关性分析显示总异养菌与沉积物温度呈显著正相关( $P < 0.05$ ),表明沉积物可培养总异养菌与温度的关系最为密切,这与陈碧鹃等的研究<sup>[23]</sup>一致。

观察比较沉积物中各细菌的周年变化(图2)和沉积物中硫化物的周年变化(图5),发现沉积物中硫化物与总异养菌、硝化细菌、硫酸盐还原菌变化趋势一致,与硫化细菌、硝酸盐还原菌变化趋势相反,相关性分析发现,硫化物含量与总异养菌、硝化细菌、硝酸盐还原菌呈极显著正相关,与硝酸盐还原菌呈极显著负相关,与硫化细菌呈显著负相关。这是因为沉积物中硫化物主要来源于还原性细菌对沉积物中有机质氧化的同时对 $\text{SO}_4^{2-}$ 的还原<sup>[24]</sup>,细菌的数量会在一定程度上影响沉积物中硫化物的含量,底泥中有机物经细菌分解产生硫化物,夏季微生物数量特别是硫酸盐还原菌的数量增多,活动加快,有机质分解加快,增加了沉积物中 $\text{H}_2\text{S}$ 等硫化物的含量,所以在夏季出现最高值。同时,水温升高,硫化物含量增多,溶解氧降低,沉积物环境处于厌氧状态,从而抑制了硫化细菌等好氧性生物的生长。另外,底泥的温度、池塘中刺参的投放密度、海水中的悬浮颗粒物等也都会影响到硫化物的含量<sup>[25]</sup>。

### 3.3 沉积物中理化参数间的关系

比较刺参养殖池塘沉积物中的硫化物周年变化图(图5)和pH、氧化还原电位周年变化图(图4)可知,表层沉积物中氧化还原电位的变化趋势与硫化物的变化趋势相反,和沉积物中pH的变化趋势一致,相关性分析表明,氧化还原电位与硫化物呈极显著负相关,与pH呈显著正相关,这与宋金明等人<sup>[26]</sup>和吴金浩等人<sup>[24]</sup>的研究结果一致。在夏季温度较高,微生物的活性加强,分解沉积物中有机质,氧化还原电位降低,同时还原性细菌对沉积物中硫酸根离子还原生成 $\text{H}_2\text{S}$ ,硫化物积累导致沉积物环境还原性升高,pH降低,Eh降低。沉积物中氧化还原电位的变化并不是受单一因素的影响,是由多种因素共同决定的,表层沉积物暴露于底层海水中,两者之间存在充分的物质交换,因此表层沉积物中Eh的分布同样与上覆水体的性质密切相关<sup>[27]</sup>,比较图3和图4发现,水体中溶解氧和沉积物中氧化还原电位变化趋势一致,表明上覆海水中的溶解氧含量也在一定程度上影响着表层沉积物的Eh,这同样与吴金浩等人的研究<sup>[24]</sup>一致。

本研究中刺参养殖池塘沉积物中有机碳含量为0.27%~0.43%,低于王岩等人关于虾与罗非鱼混养海水围隔底泥中有机碳含量的报道<sup>[28]</sup>,这可能是由于刺参主要以沉积物中的

有机质、泥沙、某些微生物和原生动物为食,并可将残余饵料及粪便等作为营养源再次被利用,从而降低了刺参养殖池塘沉积物中有机碳的含量<sup>[29]</sup>。

从本研究的监测结果看,刺参养殖池塘的微生物和理化指标均在正常范围内波动,所以养殖刺参也生长良好,没有出现病害泛滥情况。今后将对刺参养殖病害池塘中可培养微生物和各理化指标的关系作进一步的研究,并与本结果进行比较,以期对刺参病害进行预警和防治。

### 参考文献 [References]

- 1 王印庚, 荣小军. 我国刺参养殖存在的主要问题与疾病综合防治技术要点[J]. 齐鲁渔业, 2004, 21 (10): 29-31 [Wang YG, Rong XJ. Primary problems in the culture of *Apostichopus japonicus* Selenka and techniques of disease prevention [J]. Shandong Fish, 2004, 21 (10): 29-31]
- 2 隋锡林, 邓欢. 刺参池塘养殖的病害及防治对策[J]. 水产科学, 2004, 23 (6): 22-23 [Sui XL, Deng H. Diseases and prevention of *Apostichopus japonicus* in ponds [J]. Fish Sci, 2004, 23 (6): 22-23]
- 3 刘洪展, 郑风荣, 孙修勤, 唐学玺, 董双林. 氨氮胁迫对刺参几种免疫酶活性的影响[J]. 海洋科学, 2012, 36 (8): 47-52 [Liu HZ, Zheng FR, Sun XQ, Tang XX, Dong SL. Effect of exposure to ammonia nitrogen stress on immune enzyme of holothurian *Apostichopus japonicus* [J]. Mar Sci, 2012, 36 (8): 47-52]
- 4 贾俊涛, 吕艳, 李筠. 对虾围隔生态系底泥中细菌数量动态研究[J]. 动物医学进展, 2003, 24 (4): 76-78 [Jia JT, Lu Y, Li J. The quantity dynamics of bacteria in the sediment of shrimp pond [J]. Prog Vet Med, 2003, 24 (4): 76-78]
- 5 李秋芬, 曲克明, 陈碧鹃, 孙修涛, 李健, 赵法箴, 袁有宪. 老化虾池生态系中几类主要细菌的季节变化特征[J]. 海洋水产研究, 2002, 23 (2): 12-18 [Li QF, Qu KM, Chen BJ, Sui JT, Li J, Zhao FZ, Yuan YX. Seasonal variations of some main bacterial groups in the ecosystem of old shrimp ponds [J]. Mar Fish Res, 2002, 23 (2): 12-18]
- 6 王文兴, 叶孝经, 牟敦彩, 宋庆云, 刘福源, 张建中. 青岛太平角和即墨丰城沿海对虾养殖场异养菌群和条件致病菌的研究[J]. 黄渤海海洋, 1983, 1 (2): 68-78 [Wang WX, Ye XJ, Mou DC, Song QY, Liu FY, Zhang JZ. Studies on opportunistic pathogens and bacterial flora in the shrimp-rearing water environment [J]. J Oceannogr Huanghai Bohai Seas, 1983, 1 (2): 68-78]
- 7 马悦欣, 李君丰, 陈营, 邢殿楼, 姜彬. 中国对虾养成期虾池水体和底质及虾体异养菌和弧菌含量的变化. 中国水产科学, 1995, 2 (3): 15-21 [Ma YX, Li JF, Chen Y, Xing DL, Jiang B. The number variation of heterotrophic bacteria and vibrios in the each part of cultured shrimp bodies, growout pond water and mud during the growth. J Fish Sci China, 1995, 2 (3): 15-21]
- 8 Janakiram, P, Jayasree, L, Madhavi, R. Bacterial abundance in modified extensive and semi-intensive shrimp culture ponds of *Penaeus monodon*. Indian J Mar Sci, 2000, 29: 319-323
- 9 朱永艳, 郑传波, 李言涛, 黄彦良. 海泥中硫酸盐还原菌数量变化对主要腐蚀环境因子的影响[J]. 海洋科学, 2006, 30 (11): 37-40 [Zhu YY, Zheng CB, Li YT, Huang YL. The change in corrosion parameter with

- SRB growth in sea mud. *Mar Sci*, 2006, **30** (11): 37-40]
- 10 陈永川, 汤利, 张德刚, 李杰, 周军, 管锡鹏. 漕池沉积物总氮的时空变化特征研究[J]. 2007, 土壤, **39** (6): 879-883 [Chen YC, Tang L, Zhang DG, Li J, Zhou J, Guan XP. Spatial and temporal dynamic variation of nitrogen in sediment of Dianchi Lake [J]. 2007, *Soils*, **39** (6): 879-883]
- 11 何国民, 卢婉媚, 刘豫广, 林茵茵, 梁小云. 海湾网箱渔场老化特征分析[J]. 中国水产科学, 1997, **14** (5): 76-80 [Hong GM, Lu WX, Liu YG, Lin YY, Liang XY. Analysing on the degradational characteristics of caged fish culture of a bay [J]. *J Fish Sci China*, 1997, **14** (5): 76-80]
- 12 薛超波, 王国良, 金珊, 陆彤霞. 海洋滩涂沉积物环境中几类主要细菌的动态分布[J]. 中国微生物学杂志, 2007, **19** (5): 426-428 [Xue CB, Wang GL, Jin S, Lu TX. The dynamic distribution of some main bacteria in the marine shoalmud [J]. *Chin J Microbiol*, 2007, **19** (5): 426-428]
- 13 DeFlaun MF, Mayer LM. Relationship between bacteria and grain surfaces in intertidal sediments [J]. *Limnol Oceanogr*, 1983, **28**: 873-881
- 14 Baker JH. Relationship between microbial activity of stream sediments, determined by three different methods, and abiotic variables [J]. *Microb Ecol*, 1986, **12**: 193-203
- 15 Dale NG. Bacteria in intertidal sediments: factors related to their distribution [J]. *Limnol Oceanogr*, 1974, **19**: 508-518
- 16 Jones JG. Activities of aerobic and anaerobic bacteria in lake sediment and their effect on the column [M]. London: London Academic Press, 1982. 107-145
- 17 姚雪梅, 王红勇, 邢少雷, 何晓阳. 不同水温和水质理化因子对糙海参摄食、生长影响研究[J]. 水产科学, 2007, **26** (5): 292-295 [Yao XM, Wang HY, Xing SL, He XY. The effects of temperature and water quality on feeding and growth of *Holothuria scabra* [J]. *Fish Sci*, 2007, **26** (5): 292-295]
- 18 牛宇峰. 刺参养殖池塘异养菌数量变动及区系组成的初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009 [Niu YF. The Primary studies on the bacteria flora in sea cucumber ponds [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009]
- 19 李彬, 荣小军, 廖梅杰, 陈贵平, 张正, 王印庚, 薛太山. 冬季刺参养殖环境与肠道内细菌菌群的研究[J]. 海洋科学, 2010, **34** (4): 64-69 [Li B, Rong XJ, Liao MJ, Chen GP, Zhang Z, Wang YG, Xue TS. Bacteria community in the intestine and culture environment of *Apostichopus japonicus* in winter [J]. *Mar Sci*, 2010, **34** (4): 64-69]
- 20 朱增炎, 李成保, 赵安珍. 培育土壤中硫化细菌和硫酸盐还原菌的消长特征初探[J]. 环境科学, 1992, **11** (5): 33-38 [Zhu ZY, Li CB, Zhao AZ. Preliminary study on characteristics of growth-decline of sulfur-oxidizing and sulfur-reducing bacteria in incubated soils [J]. *Environ Chem*, 1992, **11** (5): 33-38]
- 21 敦蕾娜日. 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 [Ao LNR. Technology research of denitrification inhibition sulfate reducing bacterium [D]. Haerbin: Harbin Institute of Technology, 2006]
- 22 Moriarty DJW. Bacterial productivity in ponds used for culture of Penaeid Prawn [J]. *Microb Ecol*, 1986, **12**: 259-269
- 23 陈碧鹃, 李秋芬, 陈聚法, 马绍赛, 崔毅, 辛福言. 乳山湾东流区细菌数量的分布及与环境因子关系的研究[J]. 海洋水产研究, 1997, **18** (2): 79-85 [Chen BJ, Li QF, Chen JF, Ma SS, Cui Y, Xin FY. Study on the relationships between bacteria and environmental factors in the east valley of Rushan bay [J]. *Mar Fish Res*, 1997, **18** (2): 79-85]
- 24 吴金浩, 刘桂英, 王年斌, 徐雪梅, 宋伦. 辽东湾北部海域表层沉积物氧化还原电位及其主要影响因素[J]. 沉积学报, 2012, **30** (2): 333-339 [Wu JH, Liu GY, Wang NB, Xu XM, Song L. The Eh in surface sediments in the northern of Liaodong Bay and its main influencing factors [J]. *Acta Sedimentol Sin*, 2012, **30** (2): 333-339]
- 25 杨庆宵, 蒋岳文, 张昕阳, 杨屹. 虾塘残饵腐解对养殖环境影响的研究[J]. 海洋环境科学, 1999, **18** (3): 11-15 [Yang QX, Jiang YW, Zhang XY, Yang Y. Study on the effect of the bait in a shrimp-pond on the maricultural environmental [J]. *Mar Environ Sci*, 1999, **18** (3): 11-15]
- 26 宋金明, 李延, 朱仲斌. Eh和海洋沉积物氧化还原环境的关系[J]. 海洋通报, 1990, **9** (4): 33-39 [Song JM, Li Y, Zhu ZB. Relationship between Eh value and redox environment in marine sediments [J]. *Mar Sci Bull*, 1990, **9** (4): 33-39]
- 27 黄薇文, 张经, 杨作升. 黄河口地区沉积物中若干地球化学参数及地球化学环境[J]. 山东海洋学报, 1985, **15** (2): 112-120 [Hang WW, Zhang J, Yang ZS. The geochemical parameters and environment of sediments from the Yellow River estuary [J]. *J Shandong Coll Oceanol*, 1985, **15** (2): 112-120]
- 28 王岩, 齐振雄. 不同养殖方式对海水实验围隔底泥中氮、磷和有机碳含量的影响[J]. 海洋科学, 1999, **4** (4): 1-3 [Wang Y, Qi ZX. Effects of culture models on concentration of nitrogen, phosphorus and organic carbon in bottom soil from sea water experimental enclosures [J]. *Mar Environ Sci*, 1999, **4** (4): 1-3]
- 29 杨红生, 王健, 周毅, 张涛, 王萍, 何义朝, 张福绥. 烟台浅海区不同养殖系统养殖效果的比较[J]. 水产学报, 2000, **24** (2): 140-145 [Yang HS, Wang J, Zhou Y, Zhang T, Wang P, He YC, Zhang FS. Comparison of efficiencies of different culture systems in the shallow sea along Yantai [J]. *J Fish China*, 2000, **24** (2): 140-145]