

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20240123001

http://www.yykxjz.cn/

朱晓彤, 荣小军, 李彬, 王印庚, 葛建龙, 廖梅杰, 王锦锦, 吴岩强, 赵欣涛, 施国军. 国家级大连刺参原种场核心区生态环境质量和微生物群落结构周年变化及其相关性分析. 渔业科学进展, 2025, 46(1): 01-14

ZHU X T, RONG X J, LI B, WANG Y G, GE J L, LIAO M J, WANG J J, WU Y Q, ZHAO X T, SHI G J. Annual changes in the ecological environment and microbial community structure and their correlation analyses in the core area of Dalian national sea cucumber stock field of China. Progress in Fishery Sciences, 2025, 46(1): 01-14

# 国家级大连刺参原种场核心区生态环境质量和微生物群落结构周年变化及其相关性分析\*

朱晓彤<sup>1,2</sup> 荣小军<sup>2</sup> 李彬<sup>2</sup> 王印庚<sup>2</sup> 葛建龙<sup>2</sup> 廖梅杰<sup>2①</sup>  
王锦锦<sup>2</sup> 吴岩强<sup>3</sup> 赵欣涛<sup>3</sup> 施国军<sup>4</sup>

(1. 大连海洋大学 辽宁 大连 116023;

2. 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;

3. 大连棒棰岛海产股份有限公司 辽宁 大连 116699;

4. 东营市河口区科学技术局 山东 东营 257200)

**摘要** 水产原种是良种培育的种质基础和保护生物多样性的核心,为全面掌握我国首家国家级刺参(*Apostichopus japonicus*)原种场核心保种区状况,本研究于2022年7月至2023年5月对该核心保种区的水环境、沉积物环境进行了周年检测,同时利用高通量测序方法分析了海水和沉积物微生物群落结构周年变化,进一步完成生态环境因子与微生物群落结构相关性分析。结果显示,海水水质良好,除春季活性磷酸盐,夏、秋、冬季铅元素和秋季镍元素含量符合II类水质标准外,其他水质指标均符合I类水质标准,保种区水体属于贫营养级;沉积物中除了秋季铬元素含量未达到I类沉积物标准外,其他全部指标均符合I类沉积物标准,表明保种区生态环境保护良好。对海水和沉积物四季微生物群落结构分析结果显示,核心区水体共获得3796个OTUs,4个季节水体中的Shannon指数在 $5.90\pm 0.04\sim 6.84\pm 0.01$ 之间,秋季最高,夏季最低;沉积物中共获得4151个OTUs,四个季节沉积物的Shannon指数在 $6.06\pm 1.44\sim 7.88\pm 0.22$ 之间,夏季最高,春季最低。PcoA分析显示,水体和沉积物在四季的菌群结构存在差异,且水体的菌群结构受季节影响变化相对于沉积物而言更为显著。对不同季节的水体和沉积物菌群LEfSe分析结果显示,在不同季节的水体和沉积物样品中分别筛选到73和66个显著差异菌群( $P<0.05$ ),其中冬季沉积物中的代表性差异菌群包含弧菌科(Vibrionaceae)、冷单胞菌科(Psychromonadaceae),需要警惕冬季弧菌对刺参健康的潜在威胁。环境因子与菌群结构的相关性分析结果表明,温度、pH、盐度是影响水体菌群结构的主要环境因子,有机碳、硫化物、重金属(铜、铅)是影响沉积物菌群结构的主要环境因子。上述研究结果为评估保种核心区生态环境、解析其风险因子和影响因素提供支撑,为我国刺参原种的高效保种提供科学依据。

**关键词** 刺参;原种场核心区;生态环境质量;微生物群落结构周年变化;相关性分析

**中图分类号** S966.9 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2025)01-0001-14

\*山东省农业良种工程重大课题(2023LZGC019)、中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2020TD40)和青岛市重点研发计划(22-3-3-hygg-1-hy)共同资助。朱晓彤, Email: 2517388569@qq.com

①通信作者:廖梅杰,研究员, Email: liaomj@ysfri.ac.cn

收稿日期:2024-01-23,收修改稿日期:2024-01-31

仿刺参(*Apostichopus japonicus*)又名刺参, 具有重要的食用和药用价值, 是我国第五次海水养殖浪潮的代表性物种(廖梅杰等, 2021)。种业是水产养殖业发展的“芯片”, 是渔业战略性、基础性产业(Zheng *et al.*, 2023; 李长江等, 2023)。原种刺参作为良种刺参培育的种质基础和保护生物多样性的核心, 是水产业行业发展的基石。根据世界自然保护联盟的数据, 近30~50年以来, 受人工捕捞的影响, 野生刺参的生物资源量在日本下降了30%, 在韩国下降了40%, 在俄罗斯下降了80%, 在中国下降了95%以上, 刺参已被世界自然保护联盟收录到濒危物种红色名录的濒危 Endangered (EN)等级(杨红生等, 2020)。此外, 受涉海工程、过度捕捞、栖息地环境污染、人工增殖苗种播放等影响, 原种栖息地减少、种质混杂、种群遗传结构被破坏等问题突出, 给生物多样性和生态平衡造成严重威胁(Ru *et al.*, 2019; 丁君等, 2020)。因此, 刺参原种保护及其相关基础研究工作迫在眉睫。建立国家级原种场是水产科种质资源保护的有效措施之一(李成林等, 2022), 目前我国已建有3个国家级刺参原种场, 其中国家级大连刺参原种场是我国最早获批的国家级刺参原种场, 拥有333.33 hm<sup>2</sup>原种核心保护区、1.2×10<sup>4</sup> m<sup>3</sup>的原种苗种育苗水体和1 000 hm<sup>2</sup>底播增殖海域, 通过多年保护, 原种场核心区刺参种群数量由建场初期的25万头增加至100多万头, 为我国刺参产业可持续发展奠定了基础, 该国家级原种场的建设和维护有效支撑了我国原种刺参的保存和保护。但是传统的保种效果局限于种质数量的单一因子来评估, 科学性相对不足。历史资料检索只查询到该保种场建设初期的环境评估数据, 近几年未开展核心区域的生态环境质量评估工作, 同时, 近年来随着水域环境的变化, 水体和沉积物微生物等背景调查空白, 对核心区域保种的风险评估不足, 对保种科学性的指导不全。因此, 本研究以我国首个国家级刺参原种场核心区为研究对象, 开展该区域海水和沉积物生态环境周年变化及评估, 并开展微生物群落结构周年变化检测, 进一步解析微生物群落结构与生态环境因子相关性分析, 相关结果为评估保种核心区生态环境、解析其风险因子和影响因素提供支撑, 为我国刺参原种的高效保种提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集及方法

国家级大连刺参原种场的刺参原种保护核心区覆盖蛋坨岛附近的333.33 hm<sup>2</sup>海域, 采样位点位于核心区

海域, 坐标为(39°10′00.6″N, 122°10′51.4″E), 采样时间为自2022年夏季至2023年春季, 分别于2022年7月6日、2022年10月25日、2023年1月12日和2023年5月10日进行夏、秋、冬、春四季样品采集。按照《国家海洋调查规范》海洋生物调查中规定的方法采集样品, 包括表层至表层下15 cm沉积物和底层海水, 每次采集3个平行样品。所采集的水样和沉积物样品低温运送到实验室。用于菌群结构分析的海水经0.22 μm 无菌醋酸纤维素滤膜抽滤, 将抽滤的滤膜和采集的沉积物样品置于-80℃冰箱冷冻保存。

### 1.2 环境因子周年变化与分析

利用美国YSI EXO2水质检测仪现场测定采样点海水的温度、酸碱度、盐度、溶解氧、叶绿素 $a$ 、藻红蛋白等水质指标。参照《海水水质标准》(GB 3097-1997)评价所测定的海水化学需氧量、生化需氧量、无机氮、活性磷酸盐、重金属等指标。化学需氧量的测定采用重铬酸盐法(HJ 828-2017), 生化需氧量的测定采用稀释与接种法(HJ 505-2009), 硝酸盐氮的测定采用紫外分光光度法(HJ/T 346-2007), 氨氮的测定采用纳氏试剂分光光度法(HJ 535-2009)。

水体富营养化状况用富营养化指数( $E$ )评价, 对应的富营养化程度参照《近岸海域环境监测技术规范》(HJ442.1-2020)进行划分。计算公式为:

$$E = \text{COD} \times \text{DIN} \times \text{PO}_4\text{-P} \times 10^6 / 4500$$

式中, COD、DIN 和 PO<sub>4</sub>-P 分别为化学需氧量、无机氮和活性磷酸盐的含量, 单位为 mg/L。

参照《海洋沉积物质量》(GB 18668-2002)标准评价沉积物油类、硫化物、有机碳、铜、铅、锌、镉、铬、砷、总汞等指标。沉积物中油类含量的检测采用气相色谱法(HJ 1021-2019), 重金属(铜、铅、锌、镉、铬、砷)含量的测定方法为水提取-电感耦合等离子体质谱法(HJ 803-2016)。

### 1.3 环境菌群结构分析

采用 E.Z.N.A. Soil DNA 试剂盒(Omega)提取滤膜和沉积物中的基因组 DNA, 使用细菌 16S rDNA V3~V4 区特异引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行 PCR 扩增, 对 PCR 产物进行回收并构建测序文库, 基于 Illumina NovaSeq 测序平台, 对所构建的小片段文库进行测序。对原始测序序列进行质控, 首先使用 Trimmomatic v0.33 软件, 对测序得到的 Raw Reads 进行过滤, 然后使用 cutadapt 1.9.1 软件进行引物序列的识别与去除, 得到不包含引物序列的

Clean Reads; 使用 Usearch v10 软件, 通过 overlap 对每个样品的 Clean Reads 进行拼接, 然后根据不同区域的长度范围对拼接后数据进行长度过滤; 使用 UCHIME v4.2 软件, 鉴定并去除嵌合体序列, 得到最终有效数据。

使用 Usearch (V10.0)软件对 Reads 在 97.0%的相似度水平下进行聚类、获得操作分类单元(OTU)。并根据 Feature 序列的组成得到其物种分类, 以 Silva.138 为参考数据库使用朴素贝叶斯分类器对特征序列进行分类学注释, 可得到每个特征序列对应的物种分类信息, 再利用 R 语言的 python2 绘制成样品科水平下的群落结构图。采用 Mothur (V1.30)软件对样品序列进行多样性分析, 统计了各样品的 ACE、Chao1、Shannon 及 Simpson 指数; 使用 QIIME 软件进行 Beta 多样性(beta diversity)分析, 比较不同样品在物种多样性方面存在的相似程度。在物种分类学组成层面, 利用 python2 软件对组间差异显著性进行分析, 进一步衡量不同样本(组)间的物种丰度组成差异, 在不同组间寻找具有统计学差异的 Biomarker, 筛选条件为  $P < 0.05$ 。基于 OTU 聚类和环境因子信息, 使用 R 语言 vegan 包 envfit 函数以多元回归的方式拟

合环境因子至 RDA/CCA 排序轴中, 获取环境因子的重要性, 主要用来反映菌群或样品与环境因子之间的关系。

#### 1.4 数据处理方法

运用 SPSS 20.0 软件对水体和沉积物周年菌群多样性指数进行显著性差异分析, 结果以平均值 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD)表示。  $P < 0.05$  表示差异显著,  $P > 0.05$  表示差异不显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 保种核心区海域水质周年变化

对国家级大连刺参原种场的刺参原种保护核心区四季水体指标检测结果见表 1。保种核心区周年温度变化在(1.97 $\pm$ 0.02~20.72 $\pm$ 0.02)  $^{\circ}\text{C}$  之间, 溶解氧在(8.03 $\pm$ 0.03~11.66 $\pm$ 0.01) mg/L 之间, pH 为 8.14 $\pm$ 0.01~8.34 $\pm$ 0.03, 海水盐度周年变化范围为 29.98 $\pm$ 0.02~31.37 $\pm$ 0.02。其中, 溶解氧、pH 和盐度 3 项指标均在冬季达到最大值; 叶绿素 *a* 周年变化区间为(0.59 $\pm$ 0.01~1.71 $\pm$ 0.02)  $\mu\text{g/L}$ , 化学需氧量和生化需氧量变化范围分别为(0.71 $\pm$ 0.03~1.16 $\pm$ 0.02) mg/L 和

表 1 国家级大连刺参原种场核心区水质周年变化检测结果( $n=3$ )

Tab.1 Annual change test results of water quality in the core area of Dalian national sea cucumber stock field of China ( $n=3$ )

| 检测指标 Detection metrics                                 | 春季 Spring         | 夏季 Summer        | 秋季 Autumn        | 冬季 Winter         |
|--|-------------------|------------------|------------------|-------------------|
| 温度 T/ $^{\circ}\text{C}$                               | 11.59 $\pm$ 0.02  | 20.72 $\pm$ 0.02 | 15.81 $\pm$ 0.03 | 1.97 $\pm$ 0.02   |
| 溶解氧 DO/(mg/L)  | 8.80 $\pm$ 0.03   | 8.48 $\pm$ 0.02  | 8.03 $\pm$ 0.03  | 11.66 $\pm$ 0.01  |
| 酸碱度 pH   | 8.14 $\pm$ 0.01   | 8.18 $\pm$ 0.02  | 8.18 $\pm$ 0.02  | 8.34 $\pm$ 0.03   |
| 盐度 Sal   | 29.98 $\pm$ 0.02  | 30.37 $\pm$ 0.03 | 31.08 $\pm$ 0.01 | 31.37 $\pm$ 0.02  |
| 叶绿素 <i>a</i> Chl- <i>a</i> /( $\mu\text{g/L}$ )        | 0.94 $\pm$ 0.02   | 1.71 $\pm$ 0.02  | 0.59 $\pm$ 0.01  | 1.22 $\pm$ 0.03   |
| 化学需氧量 COD/(mg/L)                                       | 0.71 $\pm$ 0.03   | 1.16 $\pm$ 0.02  | 1.04 $\pm$ 0.02  | 0.87 $\pm$ 0.02   |
| 生化需氧量 BOD/(mg/L)                                       | 0.63 $\pm$ 0.03   | 0.73 $\pm$ 0.02  | 0.55 $\pm$ 0.03  | 0.62 $\pm$ 0.02   |
| 无机氮 DIN/( $\mu\text{g/L}$ )                            | 135.07 $\pm$ 0.03 | 65.37 $\pm$ 0.03 | 96.78 $\pm$ 0.01 | 158.24 $\pm$ 0.02 |
| 活性磷酸盐 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ /( $\mu\text{g/L}$ ) | 17.38 $\pm$ 0.01  | 5.92 $\pm$ 0.02  | 7.36 $\pm$ 0.02  | 14.20 $\pm$ 0.02  |
| 石油类 Oil/( $\mu\text{g/L}$ )                            | 10.50 $\pm$ 0.01  | 15.80 $\pm$ 0.03 | 17.61 $\pm$ 0.03 | 24.51 $\pm$ 0.03  |
| 硫化物 S/( $\mu\text{g/L}$ )                              | 0.20 $\pm$ 0.01   | 0.20 $\pm$ 0.03  | 0.20 $\pm$ 0.00  | 0.20 $\pm$ 0.01   |
| 氰化物 CN/( $\mu\text{g/L}$ )                             | 0.50 $\pm$ 0.01   | 0.50 $\pm$ 0.03  | 0.50 $\pm$ 0.02  | 0.50 $\pm$ 0.01   |
| 挥发酚 PhEt/( $\mu\text{g/L}$ )                           | 1.11 $\pm$ 0.02   | 6.40 $\pm$ 0.02  | 1.10 $\pm$ 0.03  | 1.10 $\pm$ 0.02   |
| 铜 Cu/( $\mu\text{g/L}$ )                               | 2.32 $\pm$ 0.03   | 4.61 $\pm$ 0.03  | 1.82 $\pm$ 0.02  | 2.87 $\pm$ 0.02   |
| 铅 Pb/( $\mu\text{g/L}$ )                               | 0.80 $\pm$ 0.03   | 1.15 $\pm$ 0.01  | 1.21 $\pm$ 0.07  | 1.43 $\pm$ 0.03   |
| 锌 Zn/( $\mu\text{g/L}$ )                               | 6.39 $\pm$ 0.02   | 4.16 $\pm$ 0.02  | 2.82 $\pm$ 0.01  | 7.20 $\pm$ 0.02   |
| 镉 Cd/( $\mu\text{g/L}$ )                               | 0.18 $\pm$ 0.02   | 0.48 $\pm$ 0.02  | 0.07 $\pm$ 0.01  | 0.16 $\pm$ 0.02   |
| 铬 Cr/( $\mu\text{g/L}$ )                               | 0.59 $\pm$ 0.02   | 1.53 $\pm$ 0.03  | 0.74 $\pm$ 0.03  | 0.62 $\pm$ 0.02   |
| 砷 As/( $\mu\text{g/L}$ )                               | 1.95 $\pm$ 0.01   | 2.80 $\pm$ 0.03  | 2.31 $\pm$ 0.02  | 2.03 $\pm$ 0.01   |
| 镍 Ni/( $\mu\text{g/L}$ )                               | 4.68 $\pm$ 0.01   | 0.65 $\pm$ 0.02  | 5.04 $\pm$ 0.02  | 4.75 $\pm$ 0.02   |
| 富营养化指数 Eutrophication index                            | 0.37              | 0.10             | 0.16             | 0.43              |

( $0.55\pm 0.03\sim 0.73\pm 0.02$ ) mg/L, 这3项指标均在夏季达到最高值; 无机氮在冬季含量最高, 为( $158.24\pm 0.02$ )  $\mu\text{g/L}$ ; 活性磷酸盐在春季出现峰值, 为( $17.38\pm 0.01$ )  $\mu\text{g/L}$ ; 石油类物质周年变化为( $10.50\pm 0.01\sim 24.51\pm 0.03$ )  $\mu\text{g/L}$ , 在冬季最高; 硫化物、氰化物在核心区四季均保持稳定; 挥发酚的变化在( $1.10\pm 0.03\sim 6.40\pm 0.02$ )  $\mu\text{g/L}$ , 夏季含量最高。重金属铜、镉、铬、砷在夏季含量最高, 分别为( $4.61\pm 0.03$ )、( $0.48\pm 0.02$ )、( $1.53\pm 0.03$ )和( $2.80\pm 0.03$ )  $\mu\text{g/L}$ ; 铅、锌在冬季含量最高为( $1.43\pm 0.03$ )  $\mu\text{g/L}$ 和( $7.20\pm 0.02$ )  $\mu\text{g/L}$ 。参照《近岸海域环境监测技术规范》(HJ442.1-2020)营养化指数计算公式得到四季的  $E$  值为  $0.10\sim 0.43$ , 显示核心区水体均属于贫营养级。

按照《海水水质标准》(GB 3097-1997)进行相应指标评价显示, 溶解氧、化学需氧量、生化需氧量、无机氮、油类、氰化物、硫化物、铜、锌、镉等在全年都达到 I 类水质标准; 活性磷酸盐在春季符合 II 类水质标准, 其余季节达到 I 类国家海水水质标准。金属铅在夏季、秋季和冬季符合 II 类标准, 春季符合 I 类标准。重金属镍在秋季符合 II 类水质标准, 在春季、夏季、冬季符合 I 类国家标准。

## 2.2 保种核心区海域沉积物周年变化

国家级大连刺参原种场原种保护核心区不同季节沉积物质量检测结果见表 2。沉积物中石油类含量为( $3.02\pm 0.03\sim 140.03\pm 0.06$ ) mg/kg, 硫化物含量为( $23.90\pm 0.03\sim 88.80\pm 0.05$ ) mg/kg, 均在冬季为最低值, 春季达到最高值。沉积物中有机碳含量在秋季最低, 为( $0.26\pm 0.00$ )%, 在夏季最高, 为( $0.61\pm 0.02$ )%。对照《海洋沉积物质量》(GB 18668-2002)标准, 核心区沉积物石油类、硫化物、有机碳 3 个指标均符合 I 类沉积物标准。沉积物的重金属指标检测结果表明, 沉积物中除了秋季铬元素含量未达

到 I 类沉积物标准外, 其他全部指标均符合 I 类沉积物标准。

## 2.3 保种核心区水体和沉积物菌群结构分析

对原种场核心区 4 个季节 12 个水体样本进行高通量测序和数据质控, 样品获得有效序列为 73 574~88 668 条, 按照 97%以上相似性聚类成 OTU 分类, 共获得 3 796 个 OTUs, 归属于 21 门、39 纲、112 目、196 科、305 属。在春季、夏季、秋季和冬季的水体中分别获取 1 027 个、580 个、1 059 个、1 130 个 OTUs, 夏季微生物种类显著低于春季、秋季和冬季。构建 4 个季节水体菌群的 Venn 图(图 1a), 4 个季节共有 OTU 数目 453 个, 分别占相应季节检出 OTU 数目的 44.11%、78.10%、42.78%、40.09%。4 个季节沉积物样品获得的有效序列 73 996~84 481 条, 共获得 4 151 个 OTUs, 归属于 23 门、47 纲、123 目、199 科、293 属。在春季、夏季、秋季和冬季的沉积物中分别有 1 125 个、989 个、960 个和 1 077 个 OTUs, 春季的特有 OTU 数目明显高于其他 3 个季节, 说明在春季的特有微生物种类较多, 其次是冬季、夏季, 秋季最少。

根据测序所获得的 OTU 分类及其丰度信息, 对水体和沉积物样本的 Alpha 多样性分析结果见表 3。水体中的 ACE 指数在  $597.18\pm 104.35\sim 1\ 008.01\pm 27.92$  之间, Chao1 指数在  $548.68\pm 65.82\sim 1\ 016.98\pm 28.84$  之间, Simpson 指数在  $0.97\pm 0.00\sim 0.98\pm 0.00$  之间, Shannon 指数在  $5.90\pm 0.04\sim 6.84\pm 0.01$  之间。结果表明, 冬季 ACE 指数和 Chao1 指数高于春季、夏季、秋季, 说明冬季物种丰富度最高; Simpson 指数和 Shannon 指数秋季最高, 说明秋季微生物物种多样性最高。沉积物 ACE 指数在  $916.21\pm 18.98\sim 1\ 015.36\pm 63.62$  之间, Chao1 指数在  $928.73\pm 16.89\sim 1\ 042.09\pm 43.03$  之间, Simpson 指数在  $0.90\pm 0.08\sim 0.99\pm 0.00$  之间, Shannon 指数在  $6.06\pm 1.44\sim 7.88\pm 0.22$  之间。春季的 ACE 指数

表 2 国家级大连刺参原种场核心区沉积物周年变化检测结果( $n=3$ )

Tab.2 Annual change test results of sediments quality in the core area of Dalian national sea cucumber stock field of China farm ( $n=3$ )

| 检测指标 Detection metrics | 春季 Spring        | 夏季 Summer        | 秋季 Autumn        | 冬季 Winter        |
|------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 油类 Oils/(mg/kg)        | $140.03\pm 0.06$ | $52.91\pm 0.03$  | $66.70\pm 0.03$  | $3.02\pm 0.03$   |
| 硫化物 S/(mg/kg)          | $88.80\pm 0.05$  | $73.91\pm 0.05$  | $48.29\pm 0.02$  | $23.90\pm 0.03$  |
| 有机碳 TOC/%              | $0.54\pm 0.04$   | $0.61\pm 0.02$   | $0.26\pm 0.00$   | $0.47\pm 0.00$   |
| 铜 Cu/(mg/kg)           | $11.60\pm 0.02$  | $13.00\pm 0.01$  | $13.51\pm 0.04$  | $13.31\pm 0.03$  |
| 铅 Pb/(mg/kg)           | $16.00\pm 0.04$  | $14.30\pm 0.03$  | $17.70\pm 0.05$  | $16.81\pm 0.03$  |
| 锌 Zn/(mg/kg)           | $22.60\pm 0.03$  | $42.30\pm 0.03$  | $43.40\pm 0.03$  | $48.53\pm 0.05$  |
| 镉 Cd/(mg/kg)           | $0.15\pm 0.00$   | $0.11\pm 0.00$   | $0.08\pm 0.00$   | $0.10\pm 0.02$   |
| 铬 Cr/(mg/kg)           | $35.41\pm 0.03$  | $31.70\pm 0.05$  | $80.22\pm 0.04$  | $35.30\pm 0.04$  |
| 砷 As/(mg/kg)           | $6.47\pm 0.03$   | $5.64\pm 0.03$   | $5.82\pm 0.05$   | $6.52\pm 0.04$   |
| 总汞 T-Hg/(mg/kg)        | $0.014\pm 0.003$ | $0.013\pm 0.004$ | $0.079\pm 0.003$ | $0.033\pm 0.004$ |

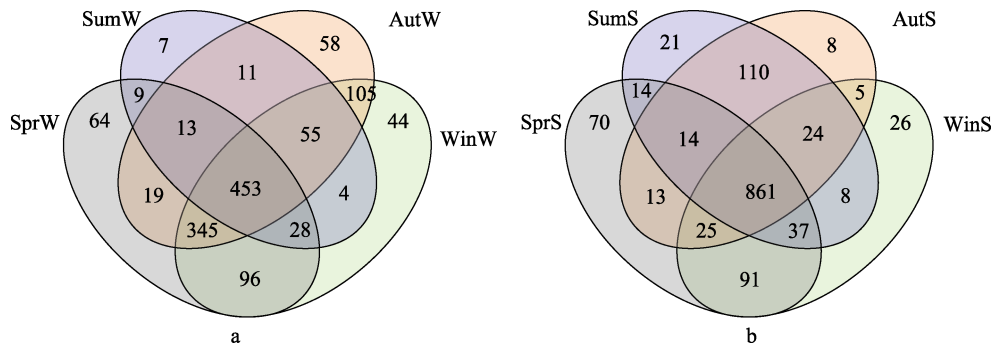


图 1 核心区不同季节水体(a)、沉积物(b)样品 Venn 图

Fig.1 Venn diagram of water (a) and sediments (b) in the core area in different seasons  
Win、Aut、Sum 和 Spr 分别表示冬、秋、夏、春，W 表示水体菌群，S 表示沉积物菌群。下同。  
Win: Winter, Aut: Autumn, Sum: Summer, Spr: Spring, W: Flora in water, S: Flora in sediment. The same below.

表 3 原种场核心区水体、沉积物样品 Alpha 多样性分析

Tab.3 Analysis of Alpha diversity of water and sediments samples in the core area of the stock field

| 样品<br>Sample    | 季节<br>Season | OTU 数目<br>OTU number      | ACE 指数<br>ACE index         | Chao1 指数<br>Chao1 index     | 辛普森指数<br>Simpson index | 香农指数<br>Shannon index  |
|-----------------|--------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------|------------------------|
| 水体<br>Water     | 春季 Spring    | 814.67±27.54 <sup>c</sup> | 949.64±28.28 <sup>a</sup>   | 937.67±34.08 <sup>b</sup>   | 0.97±0.00 <sup>b</sup> | 6.30±0.09 <sup>c</sup> |
|                 | 夏季 Summer    | 432.67±23.97 <sup>d</sup> | 597.18±104.35 <sup>b</sup>  | 548.68±65.82 <sup>c</sup>   | 0.97±0.00 <sup>c</sup> | 5.90±0.04 <sup>d</sup> |
|                 | 秋季 Autumn    | 858.00±10.58 <sup>b</sup> | 961.97±4.00 <sup>a</sup>    | 952.84±8.37 <sup>ab</sup>   | 0.98±0.00 <sup>a</sup> | 6.84±0.01 <sup>a</sup> |
|                 | 冬季 Winter    | 934.67±18.04 <sup>a</sup> | 1 008.01±27.92 <sup>a</sup> | 1 016.98±28.84 <sup>a</sup> | 0.97±0.00 <sup>b</sup> | 6.56±0.02 <sup>b</sup> |
| 沉积物<br>Sediment | 春季 Spring    | 958.00±83.00 <sup>a</sup> | 1 015.36±63.62 <sup>a</sup> | 1 030.87±65.48 <sup>a</sup> | 0.90±0.08 <sup>a</sup> | 6.06±1.44 <sup>b</sup> |
|                 | 夏季 Summer    | 924.33±5.51 <sup>a</sup>  | 950.05±10.72 <sup>ab</sup>  | 977.82±16.80 <sup>ab</sup>  | 0.99±0.00 <sup>a</sup> | 7.88±0.22 <sup>a</sup> |
|                 | 秋季 Autumn    | 890.67±15.37 <sup>a</sup> | 916.21±18.98 <sup>b</sup>   | 928.73±16.89 <sup>b</sup>   | 0.99±0.00 <sup>a</sup> | 7.80±0.13 <sup>a</sup> |
|                 | 冬季 Winter    | 976.00±20.66 <sup>a</sup> | 1 011.40±25.61 <sup>b</sup> | 1 042.09±43.03 <sup>a</sup> | 0.99±0.00 <sup>a</sup> | 7.55±0.14 <sup>a</sup> |

注：不同上标字母表示在核心区不同季节之间差异显著(P<0.05)。

Note: The superscript letters indicate significant differences between seasons in the core area (P<0.05).

高于夏季、秋季和冬季，说明春季的微生物种类丰富度最高，Chao1 指数在秋季最低，说明秋季的沉积物中检出的物种较少。多样性指数从高到低依次为夏季、秋季、冬季、春季，说明春季的微生物多样性最低，夏季最高。

基于 binary-jaccard 算法在 OTU 水平上构建的 PCoA 主坐标分析、UPGMA 聚类分析结果见图 2。由水体样品间的 PCoA 分析结果(图 2a)可以看出，第 1 主坐标(PCoA1)的贡献率为 48.21%，第 2 主坐标(PCoA2)的贡献率为 20.37%，总贡献率为 68.58%。各组内样品均较好地聚集，说明采样具有较好的生物学重复，春、夏、秋、冬 4 个季节各自单独成为一支且距离较远，说明核心区水体菌群季节性变化显著。由沉积物样品间的 PCoA 分析结果(图 2b)可以看出，第 1 主坐标(PCoA1)的贡献率为 54.58%，第 2 主坐标(PCoA2)的贡献率为 16.71%，总贡献率为 71.29%。结果表明，春季、夏季、秋季、冬季各自聚成一支，但夏季、秋季距离较近，说明二者的菌群结构相似性

较高。对不同季节的水体和沉积物汇总后进行 PCoA 分析(图 2c)，第 1、2 主坐标的贡献率分别为 54.66% 和 14.95%，总贡献率为 69.91%。结果显示，水体和沉积物样品距离较远，表明不同样品类型之间的菌群结构差异显著；4 个季节的水体样品之间的菌群结构呈现良好的季节性变化，而沉积物样品之间的距离较近，菌群结构相对于水体而言较为相似。根据所构建的聚类分析图(图 2d)也可以看出，水体和沉积物菌群季节性明显，样本之间的菌群结构差异显著。

在科水平上菌群分类，选取丰度前 10 的种类分别绘制水体和沉积物菌群相对丰度堆积柱形图(见图 3)。海水中富集到的优势菌科有 SAR86\_clade、未分类蓝菌科(unclassified\_Cyanobacteria)、未分类的细菌(unclassified\_Bacteria)、红杆菌科(Rhodobacteraceae)、黄杆菌科(Flavobacteriaceae)、SAR116\_clade 等(图 3a)。4 个季节各自相对丰度前三的优势菌科差异较大。其中，红杆菌科是春季、夏季和冬季第一大优势菌科，其相对丰度分别为 14.64%、18.89%、15.31%，

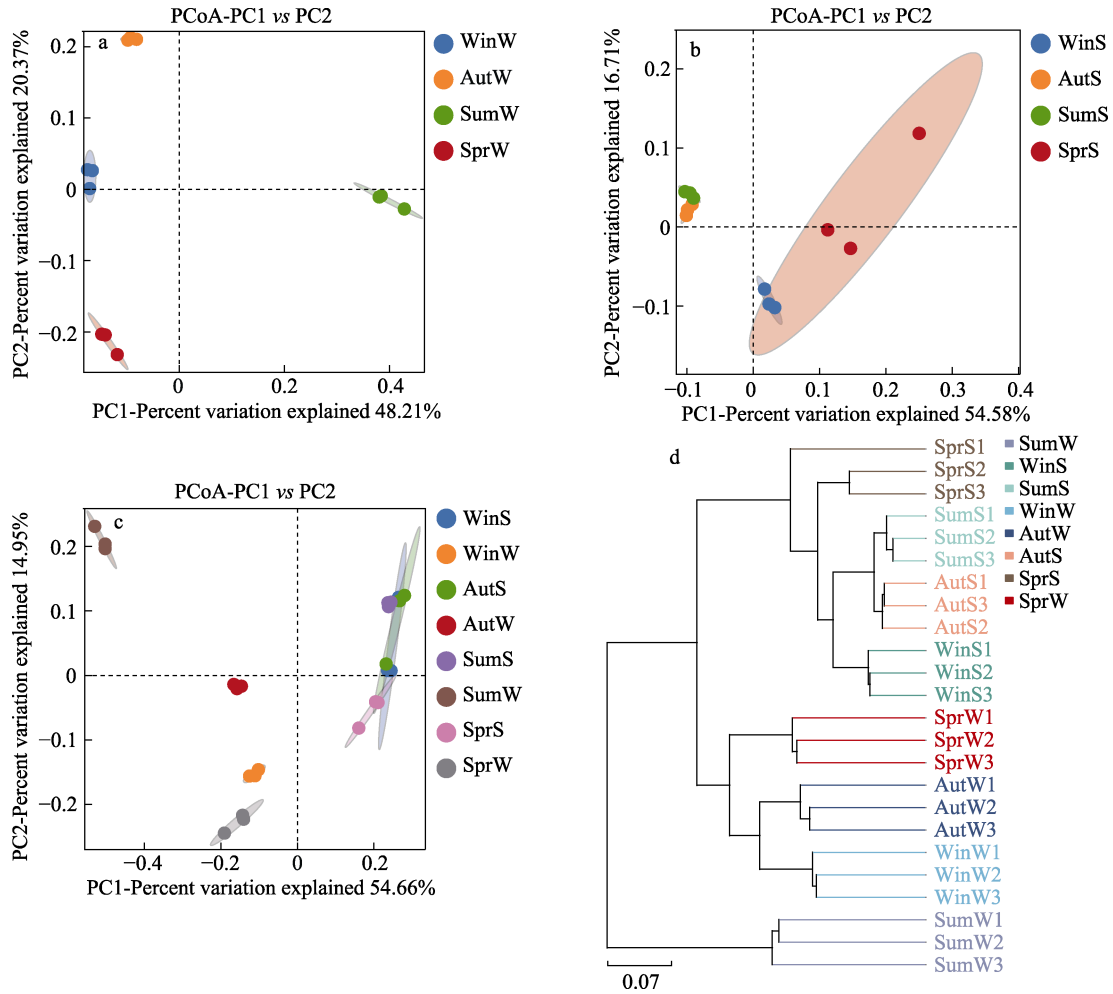


图 2 核心区海水和沉积物菌群结构相关性分析图

Fig.2 Correlation analysis map of the structure of water and sediment flora in the core area

a: 不同季节水体菌群的 PCoA 分析图; b: 不同季节沉积物菌群的 PCoA 分析图;  
c: 水体和沉积物菌群的 PCoA 分析图; d: 水体和沉积物菌群聚类分析。

a: PCoA analysis diagram of water flora in different seasons; b: PCoA analysis diagram of sediment flora in different seasons;  
c: PCoA analysis diagram of flora in water and sediment; d: Cluster analysis of flora in water and sediment.

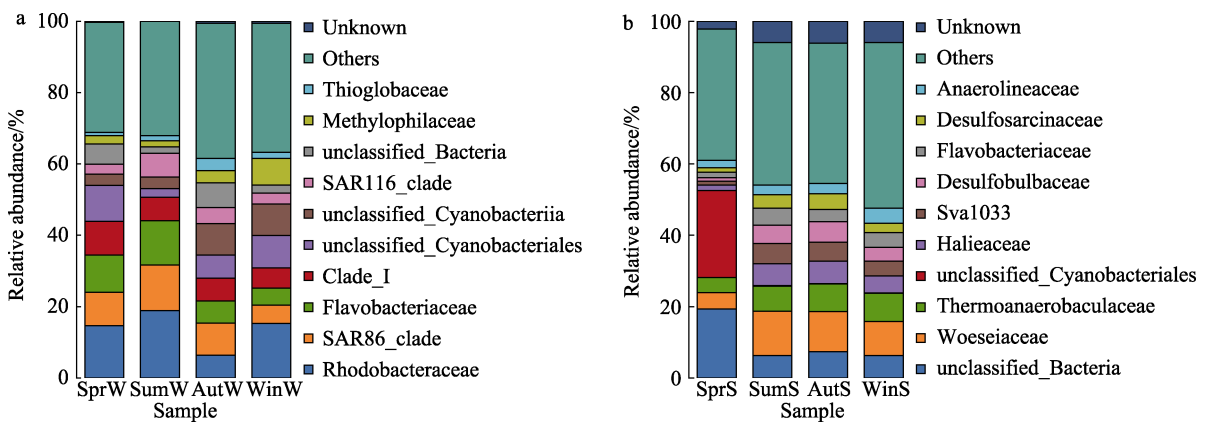


图 3 基于科水平的不同季节水体菌群(a)和沉积物菌群(b)相对丰度堆积柱形图

Fig.3 Column chart of relative abundance accumulation of water flora (a) and sediment flora (b) in different seasons based on family level

夏季 SAR86\_clade 的相对丰度最高(12.80%), 未分类的细菌在秋季的丰度最高(6.98%), 黄杆菌科在春季和夏季的丰度高于秋季和冬季。沉积物所富集的优势菌科在 4 个季节也具有显著差异, 在春季前三大优势菌科为未分类的蓝菌目(unclassified\_Cyanobacteriales)、未分类的细菌、伍斯氏菌科(Woeseiaceae), 三者的相对丰度总和达到 48.27%; 而其余 3 个季节的前三大优势菌科一致, 分别为伍斯氏菌科、嗜热厌氧菌科(Thermoanaerobaculaceae)、未分类的细菌, 其中伍斯氏菌科的相对丰度由高到低依次为夏季(12.38%)、秋季(11.26%)、冬季(9.47%); 嗜热厌氧菌科在冬季相对丰度最高(7.96%), 夏季最低(7.02%); 未分类的细菌则是在秋季最高(7.37%), 夏季最低(6.31%)。此外, 沉积物中富集到的优势菌科还有 Sva1033、脱硫叶菌科(Desulfobulbaceae)、黄杆菌科、脱硫叠球菌科(Desulfosarcinaceae)等。

基于物种分类结果对不同季节水体样本和沉积物样本分别进行 LEfSe 分析, 并构建差异菌群物种信息树状图, 在 LDA 判别值大于 4.0 的判定标准下, 筛选在不同组中存在显著差异( $P < 0.05$ )的菌群。不同季节海水中显著差异的菌群共 73 个(图 4、图 5)。变形菌门(Proteobacteria)在 4 个季节中都存在差异菌群, 如嗜甲基菌科(Methylophilaceae)隶属于冬季的代表性差异菌, 硫珠菌科(Thioglobaceae)隶属于秋季的差异菌, SAR86\_clade、噬甲基菌科(Methylophagaceae)、SAR116\_clade、红杆菌科隶属于夏季的差异菌群, SAR92\_clade 是春季水体的差异菌属。此外, 春季显著性差异菌群主要集中在蓝菌门(Cyanobacteria)和拟

杆菌门(Bacteroidota), 代表性差异菌分别以蓝菌目和番红花科(Crocinitomicaceae)为主; 夏季代表性差异菌门集中在拟杆菌门, 其代表性差异菌有 NS9\_marine\_group、黄杆菌科; 秋季代表性差异菌门主要集中在放线菌门(Actinobacteriota), 放线菌目(Actinomarinales)是其代表性的差异菌; 蓝菌门是冬季显著富集的差异菌门, 蓝菌目是其代表性差异菌。共有不同分类水平的 66 个菌群在沉积物中存在显著差异(图 6、图 7), 变形菌门在夏季、秋季和冬季都存在差异性菌群, 在冬季的代表性差异菌有弧菌科(Vibrionaceae)、Psychromonadaceae, 秋季的代表性差异菌为 Halieaceae, 夏季的代表性差异菌是 Woeseia。此外, 春季的显著性优势菌群集中在蓝菌门、放线菌门, 其代表性差异菌有未分类的蓝菌目、链霉菌科(Streptomycetaceae); 夏季的显著性优势菌群集中在脱硫菌门(Desulfobacterota)、拟杆菌门, 其代表性差异菌分别为 Sva1033、Flavobacteriaceae; 秋季的差异性菌门为脱硫菌门, 代表性差异菌为脱硫叠球菌科; 厚壁菌门(Firmicutes)只在冬季存在显著差异性菌群, Paenisporosarcina 是其代表性差异菌。

### 2.4 水体、沉积物菌群结构特征与环境因子相关性分析

对不同季节采集的水体样本的菌群结构和所测得的水质因子进行相关性分析的结果见图 8。RDA 分析结果显示, 4 个季节的样品分别位于第一、三、四象限, 并且样本之间无重叠(图 8a)。环境因子和原点的连线长度显示, 温度、盐度、pH 是影响水体菌群结构的主

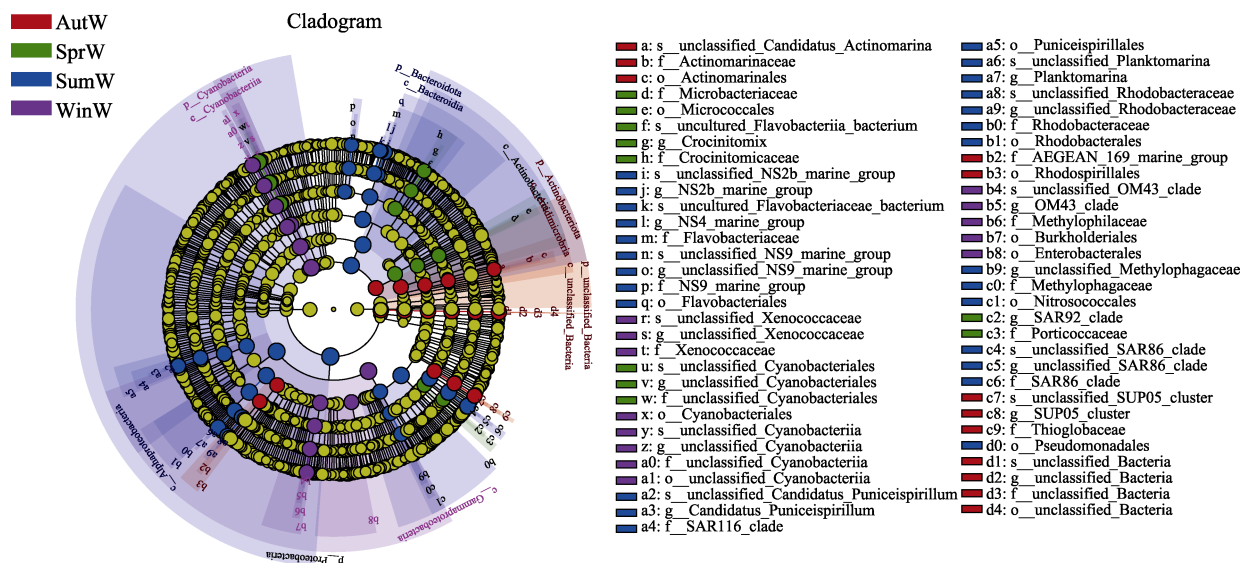


图 4 不同季节水体菌群 LEfSe 分析环形树状图  
Fig.4 Circular tree chart of water flora in different seasons

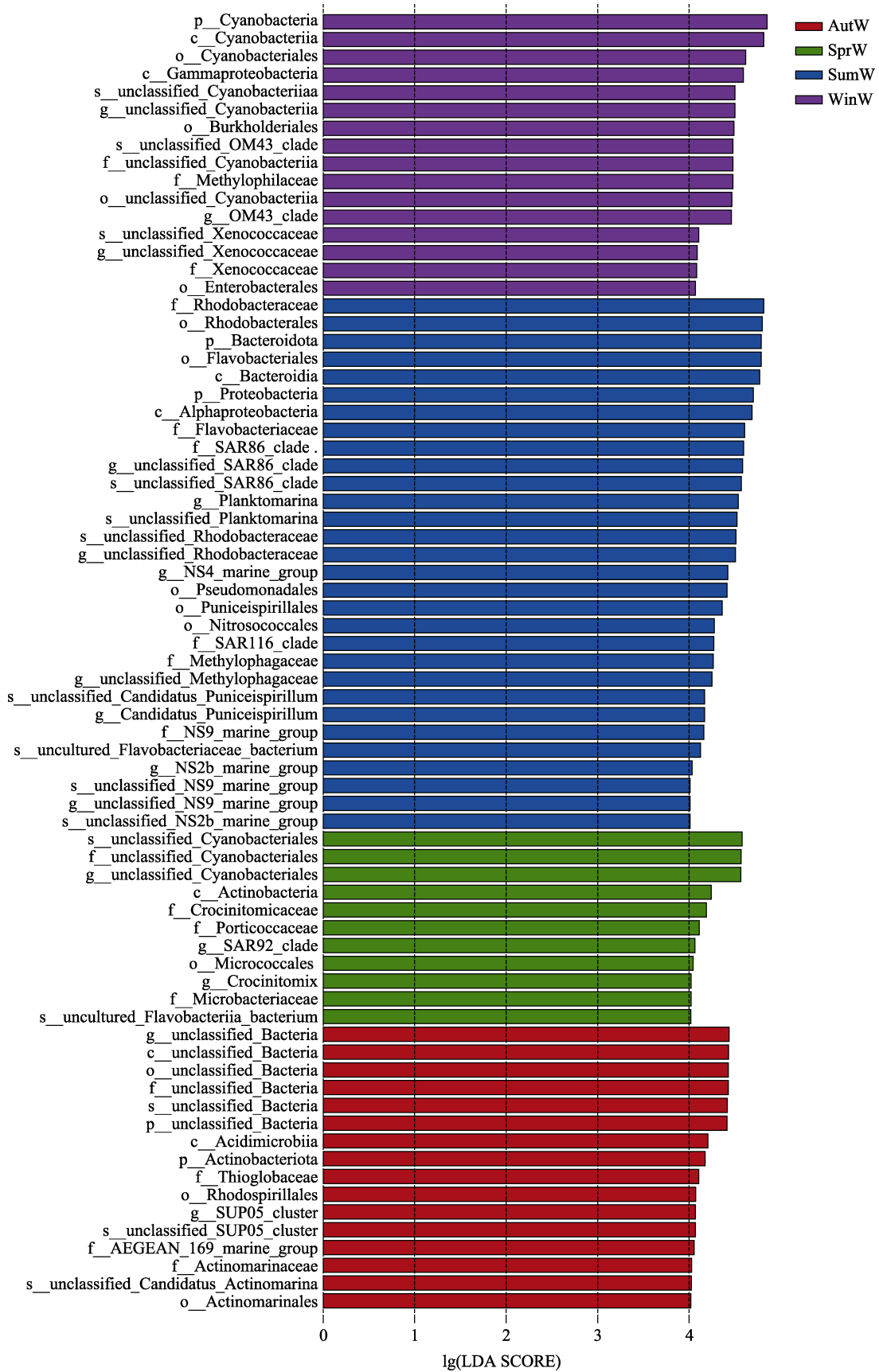


图 5 不同季节水体菌群 LEfSe 分析柱状图

Fig.5 LEfSe analysis bar chart of water flora in different seasons



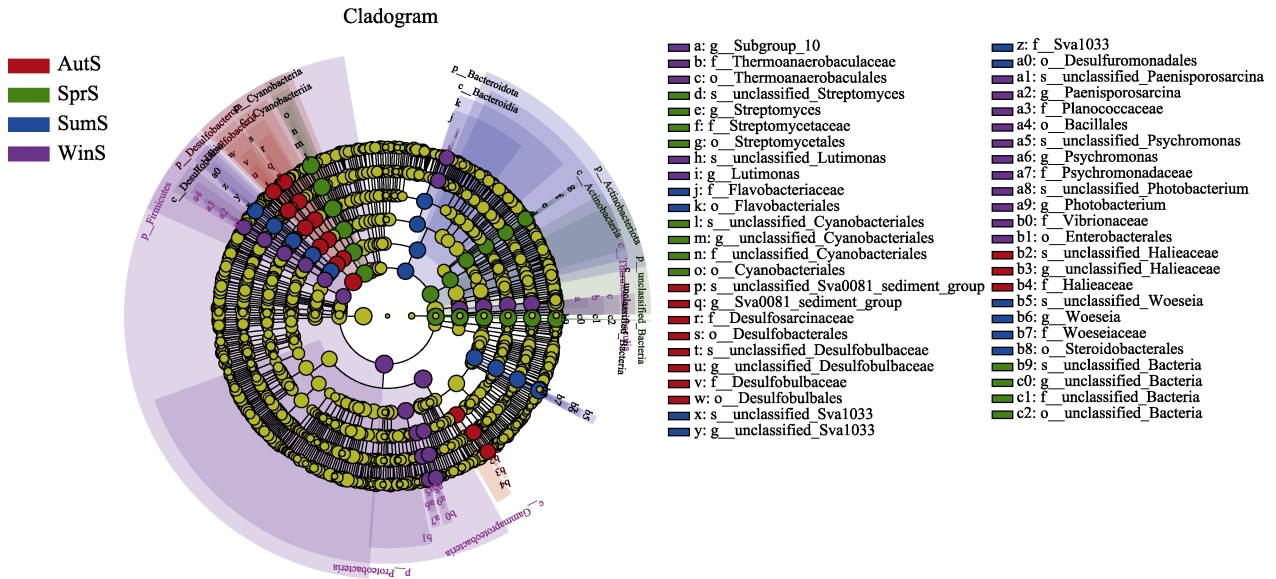


图 6 不同季节沉积物菌群 LefSe 分析环形树状图  
 Fig.6 Circular tree chart of sediment flora in different seasons

要因子。核心区水体中的环境因子和优势菌科分布关系图(图 8b)显示, SAR86\_clade、SAR116\_clade、Flavobacteriaceae、Clade\_I、Rhodobacteraceae、Thioglobaceae、unclassified Bacteria 与温度呈正相关; unclassified\_Cyanobacteria、嗜甲基菌科、unclassified\_Cyanobacteriale 与 pH、盐度呈正相关,与温度呈负相关。

原种场核心区 4 个季节的沉积物样本和沉积物相关监测指标结果的 RDA 结果显示(图 9a), 不同季节的沉积物样品分散在不同的位置, 说明, 影响不同季节的沉积物菌群结构的环境因子不同。有机碳、硫化物、重金属(铜、铅)是影响不同季节沉积物菌群的主要环境因子。RDA 结果中, 样本中的优势菌科的分布和环境因子关系图显示(图 9b), unclassified\_Archaea 与铅呈正相关, unclassified\_Aenigmarchaeota、uncultured\_archaeon、unclassified\_Woeseearchaeales、unclassified\_Deep\_Sea\_Euryarchaeotic\_Group\_DSEG 与铅呈负相关, 与有机碳、硫化物、铜呈正相关。

### 3 讨论

保护刺参原种种质资源和遗传多样性, 就是保护我国刺参基因库, 同时, 原种刺参作为良种刺参培育的种质基础, 也为下一步培育优良品种提供了基础材料。辽宁沿海是我国刺参最重要的自然分布区之一(廖玉麟, 1997), 解析原种场保种核心区的环境因子将为刺参原种的科学保种提供支撑。水体环境因子结果显示, 核心区环境总体良好, 说明保种核心区生态

环境保持良好。富营养化指数评价结果显示, 该海域均为贫营养级, 与千里岩海域国家级水产种质资源保护区、靖海湾松江鲈鱼种质资源保护区等测定结果一致(姜向阳等, 2021; 滕瑶等, 2018)。沉积物中绝大多数指标全年均符合 I 类标准, 仅重金属铬在秋季符合 II 类国家标准。水体和沉积物之间的环境因子息息相关, 沉积物对水体中的重金属具有吸附作用, 以降低水体污染, 同时, 当水条件发生变化时, 吸附在底质中的重金属重新释放在水体中, 会形成“二次污染”(杜青等, 1996), 沉积物重金属铬在秋季超过 I 类标准可能是发挥了其吸附重金属的作用。刺参以沉积物为食, 秋季是刺参摄食高峰期, 环境中重金属过多也会造成刺参内部组织重金属含量过多(叶洪等, 2019; Li *et al.*, 2016)。因此, 需要密切关注该元素是否会对原种刺参的生理活动等产生影响。此外, 沉积物中油类在春季达到峰值[(140.03±0.06) mg/kg], 虽然含量符合 I 类标准, 但由于海参对油类敏感, 且春季是海参摄食活动的高峰期, 需要密切关注该指标变化。综上, 核心保种区海域水体、沉积物环境良好, 有利于原种刺参资源量的增长。

刺参营底栖生活, 以摄食海底沉积物为主, 因此, 水体和沉积物的环境菌群的结构对刺参生理健康具有重要影响(刘艳霞等, 2023; 裴泓霖等, 2023; 谭八梅等, 2021)。鉴于目前缺乏保种核心区细菌群落组成相关信息, 本研究在评估了其生态环境条件的基础上, 对核心区群落结构组成及其周年变化进行解析。随着高通量测序技术的发展, 基于 16S rDNA 高通量测序的菌群结构解析已成为目前开展相关研究的主流技

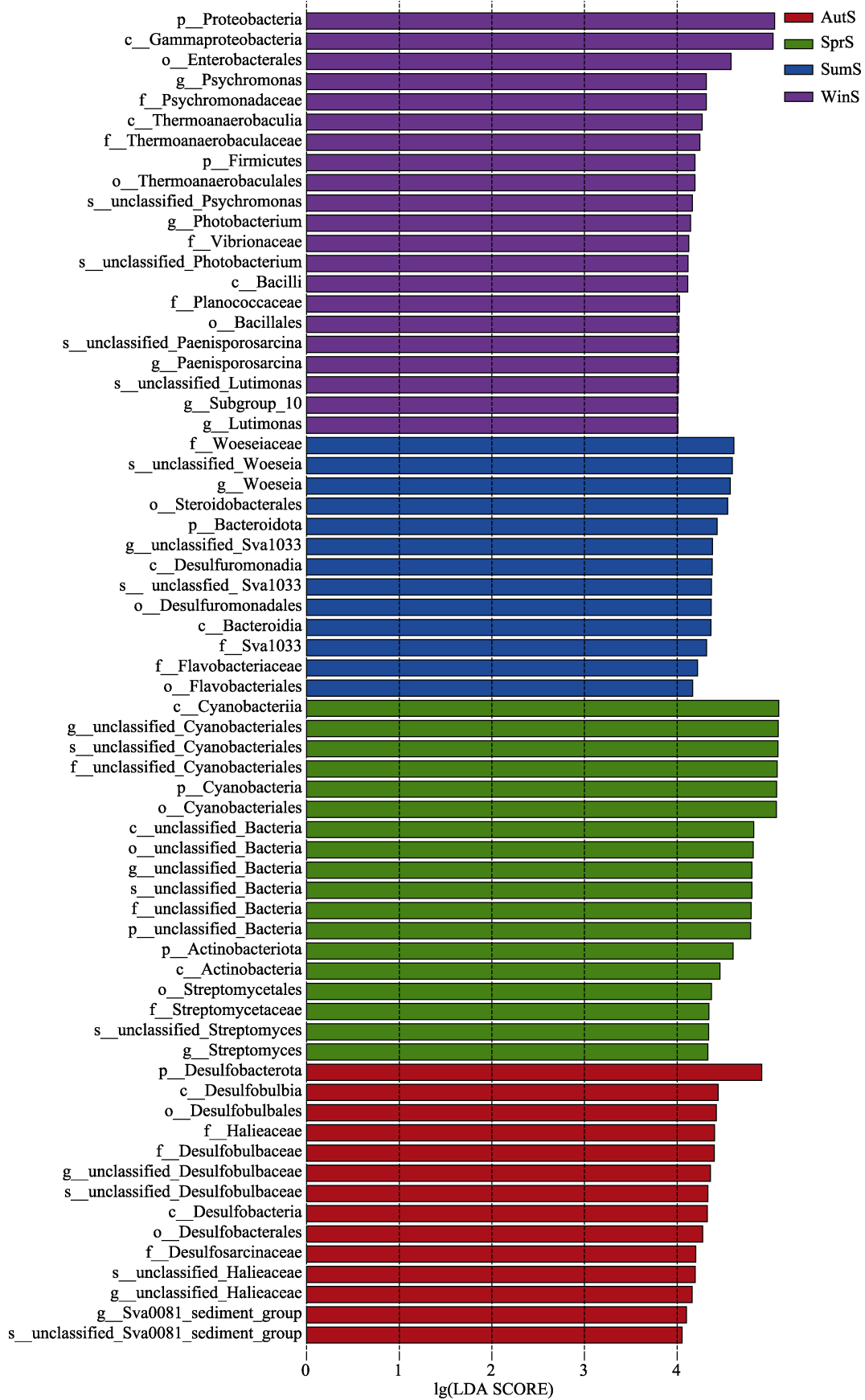


图 7 不同季节沉积物菌群 LEfSe 分析柱状图

Fig.7 LEfSe analysis bar chart of sediment flora in different seasons

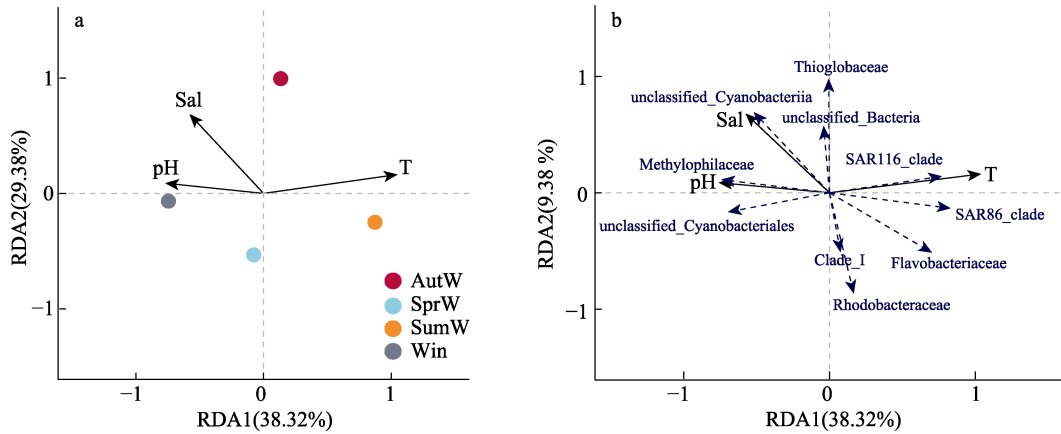


图 8 基于 RDA 的水体样品与环境因子(a)及菌群与环境因子间关系分布图(b)

Fig.8 The distribution diagram of the relationship between water samples and environmental factors (a) and between flora and environmental factors (b) based on RDA

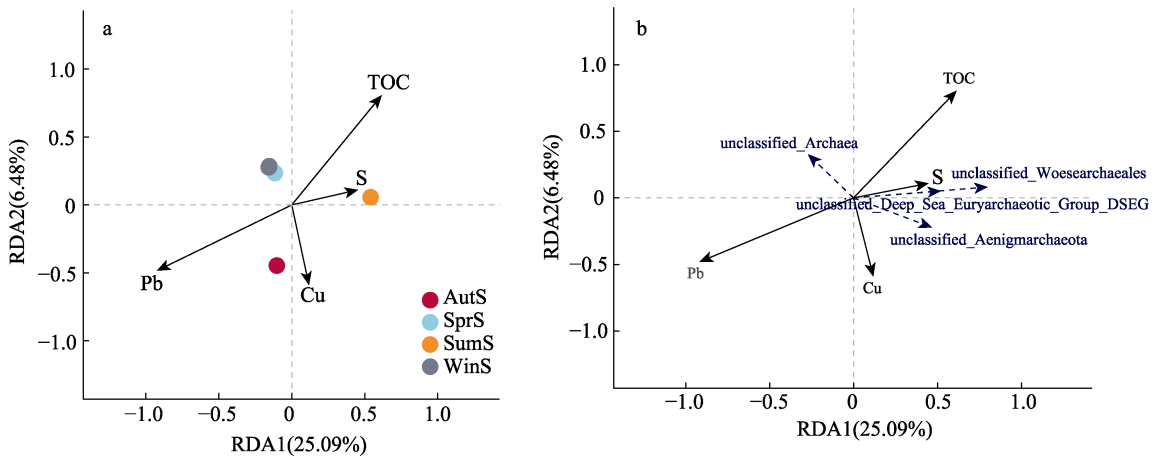


图 9 基于 RDA 的沉积物样品与环境因子(a)及菌群与环境因子间关系分布图(b)

Fig.9 The distribution diagram of the relationship between sediment samples and environmental factors (a) and between flora and environmental factors based on RDA (b)

术(Caporaso *et al.*, 2012; Jiang *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2022)。通过科水平的菌群结构可以看出, 水体中的优势菌科有红杆菌科、黄杆菌科等, 红杆菌科隶属于 $\alpha$ -变形菌(Dogs *et al.*, 2017), 其是水产生物肠道的核心菌群, 被确认是新型的抗逆防病的益生菌, 可以将有机物作为碳源进行异养代谢反应, 对降低水体中的化学需氧量有一定的作用(李亚峰等, 2019)。黄杆菌作为拟杆菌门的重要分支, 以直接附着和外源酶攻击藻类细胞的方式分解有机物, 对海水中的水华现象起着重要的监督作用(Hahnke *et al.*, 2013), 这些优势菌科的存在对保持核心区优良水质起到关键作用。沉积物中的优势菌科有伍斯氏菌科、嗜热厌氧菌科、黄杆菌科; 很多研究表明, 伍斯氏菌科可能参与了全球碳循环, 可能对沉积物中碳固定有重要贡献(Dyksma *et al.*, 2016; Hoffmann *et al.*, 2020)。运用脂肪酸标记法可分析刺参食物源, 刺参主要摄食底泥中的藻类、原生动物、细

菌等, 且食物来源受季节变化影响明显(何翠等, 2015)。研究发现, 刺参夏眠期间, 食物中细菌占比较高, 认为底质中有机质在噬纤维菌-黄杆菌类作用下降解腐烂, 在刺参夏眼前期可能将有机碎屑和细菌一同摄入(高菲等, 2010)。黄杆菌科在核心区夏季的相对丰度为 4.78%, 且高于其他季节, 与刺参夏眠之前的食物源有密切关系。值得注意的是, 在不同季节沉积物样品的 LEfSe 分析研究发现, 变形菌门在冬季的代表性差异菌有弧菌, 弧菌是刺参养殖过程中的主要病原菌, 如溶藻弧菌(*Vibrio algaelyticus*)、塔式弧菌(*V. tubiashii*)、哈维氏弧菌(*V. harveyi*)、副溶血弧菌(*V. parahaemolyticus*)(李晓宇等, 2022; 杨求华等, 2014; 王印庚等, 2012; Lv *et al.*, 2019), 鉴于秋冬季是海参摄食活动的高峰期, 在后期原种场应定时开展这类病原菌的监测, 保障原种刺参的健康。

菌群生长繁殖离不开环境中的有机物和无机物,

其群落构成对环境因子较为敏感(Amabebe *et al.*, 2020)。本研究完成了原种场核心区海水和沉积物菌群结构与对应的环境因子的相关性分析(RDA)。对海水菌群结构和对应的环境因子进行相关性分析,筛选出影响水体菌群结构的主要因子:温度、盐度和pH。盐度作为水产养殖的重要环境因素之一,对水体微生物的新陈代谢有一定影响,会影响微生物多样性和丰富度(Jackson *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2023),倪蒙等(2019)研究调查了不同盐度的罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)养殖池塘,结果表明,高盐度组的物种丰富度和多样性高于低盐度组。本研究结果中的盐度在冬季最高,可能是物种丰富度和多样性高于其他3个季节的原因之一。对沉积物菌群结构和对应的环境因子进行相关性分析,筛选出影响不同季节沉积物菌群的主要环境因子:有机碳、硫化物和重金属铜、铅。Ram等(1982)研究表明,微生物主要通过碳循环获取能量,有机碳作为碳源之一,能在一定程度上反映微生物状况,有机碳含量高,更适于微生物的生长繁殖,沉积物中有机碳含量在夏季最高,可能影响了夏季沉积物微生物多样性。

#### 4 结论

本研究解析了保种核心区海域周年水体、沉积物的环境指标,运用高通量测序方法分析了海水、沉积物的菌群结构。结果表明,该海域环境良好,有利于原种繁殖生长,在冬季存在刺参潜在病原菌弧菌,提示需要密切关注潜在病原。本研究为原种保护和良种培育提供了基础数据。

#### 参 考 文 献

- AMABEBE E, ROBERT F O, AGBALALAH T, *et al.* Microbial dysbiosis-induced obesity role of gut microbiota in homeostasis of energy metabolism. *British Journal of Nutrition*, 2020, 123(10): 1127–1137
- CAPORASO J G, LAUBER C L, WALTERS W A, *et al.* Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *The ISME Journal*, 2012, 6(8): 1621–1624
- DING J, CHANG Y Q. Research progress in conservation and utilization of economic echinoderm: A review. *Journal of Dalian Ocean University*, 2020, 35(5): 645–656 [丁君, 常亚青. 经济棘皮动物种质资源保护与利用研究进展. 大连海洋大学学报, 2020, 35(5): 645–656]
- DOGS M, WEMHEUER B, WOLTER L, *et al.* *Rhodobacteraceae* on the marine brown alga *Fucus spiralis* are abundant and show physiological adaptation to an epiphytic lifestyle. *Systematic and Applied Microbiology*, 2017, 40(6): 370–382
- DU Q, WEN X H, LI L L, *et al.* Adsorption behaviors of the natural sediment on heavy metals. *Environmental Chemistry*, 1996(3): 199–206 [杜青, 文湘华, 李莉莉, 等. 天然水体沉积物对重金属离子的吸附特性. 环境化学, 1996(3): 199–206]
- DYKSMA S, BISCHOF K, FUCHS B M, *et al.* Ubiquitous Gammaproteobacteria dominate dark carbon fixation in coastal sediments. *The ISME Journal*, 2016, 10(8): 1939–1953
- GAO F, XU Q, YANG H S. Seasonal variations of food sources in *Apostichopus japonicus* indicated by fatty acid biomarkers analysis. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(5): 760–767 [高菲, 许强, 杨红生. 运用脂肪酸标志法分析刺参食物来源的季节变化. 水产学报, 2010, 34(5): 760–767]
- HAHNKE R L, HARDER J. Phylogenetic diversity of *Flavobacteria* isolated from the North Sea on solid media. *Systematic and Applied Microbiology*, 2013, 36(7): 497–504
- HE C, TIAN X L, ZHANG C, *et al.* A comparative study on food sources for sea cucumber *Apostichopus japonicus* in soil pond and rock pond. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2015(2): 105–112 [何翠, 田相利, 张乘, 等. 土质和岩礁养殖池塘刺参食物来源比较研究. 海洋湖沼通报, 2015(2): 105–112]
- HOFFMANN K, Bienhold C, Buttigieg P L, *et al.* Diversity and metabolism of *Woeseiales* bacteria, global members of marine sediment communities. *The ISME Journal*, 2020, 14(4): 1042–1056
- JACKSON C R, VALLAIRE S C. Effects of salinity and nutrients on microbial assemblages in Louisiana wetland sediments. *Wetlands*, 2009, 29(1): 277–287
- JIANG C X, HOU X L, GAO X N, *et al.* The 16S rDNA high-throughput sequencing correlation analysis of milk and gut microbial communities in mastitis Holstein cows. *BMC Microbiology*, 2023, 23(1): 180
- JIANG X Y, YU G L, SONG X K, *et al.* Survey and Evaluation of the Qianliyan National Aquatic Germplasm Reserve. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, 42(5): 1–7 [姜向阳, 于广磊, 宋秀凯, 等. 千里岩海域国家级水产种质资源保护区现状调查与评价. 渔业科学进展, 2021, 42(5): 1–7]
- LI C J, WANG J G, KE M. Present situation and suggestions on the development of aquatic seed industry in China. *Aquaculture*, 2023, 44(7): 76–80 [李长江, 王进国, 柯森. 我国水产种业发展现状与建议. 水产养殖, 2023, 44(7): 76–80]
- LI C L, ZHAO B, YAO L L. Research on high-quality development of *Apostichopus japonicus* industry. *Marine Economy in China*, 2022, 7(2): 13–23 [李成林, 赵斌, 姚琳琳. 刺参种业高质量发展对策研究. 中国海洋经济, 2022, 7(2): 13–23]
- LI L, TIAN X, YU X, *et al.* Effects of acute and chronic heavy metal (Cu, Cd, and Zn) exposure on sea cucumbers

- (*Apostichopus japonicus*). BioMed Research International, 2016(11): 4532697
- 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. 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. 水产科学, 2022, 41(5): 759–768]
- LI Y F, LI X G, SHAN L B, *et al.* Influence of different fillers on the treatment effect and flora diversity of AA-MBBR systems. Industrial Water Treatment, 2019, 39(1): 73–77 [李亚峰, 李旭光, 单连斌, 等. 不同填料对 AA-MBBR 系统处理效果及菌群多样性影响. 工业水处理, 2019, 39(1): 73–77]
- LIAO M J, WANG Y G, LI B, *et al.* Present status and existing problem for sea cucumber culture industry in China and discussion on its countermeasures (continued). Scientific Fish Farming, 2021(2): 24–25 [廖梅杰, 王印庚, 李彬, 等. 我国海参养殖产业现状、存在问题及对策探讨(上). 科学养鱼, 2021, (2): 24–25]
- LIAO Y L. Zoology of China: Echinodermata, Holothuroidea. Beijing: Science Press, 1977 [廖玉麟. 中国动物志: 棘皮动物门, 海参纲. 北京: 科学出版社, 1997]
- LIU Y X, ZHANG J J, ZHOU Y Q, *et al.* Characteristics and correlation analysis of bacterial community structure in the gut of *Apostichopus japonicus* and culture water in suspension cages from north China. Progress in Fishery Sciences, 2023, 44(6): 190–202 [刘艳霞, 张靖婧, 周叶青, 等. 北方吊笼养殖刺参肠道及其养殖环境菌群结构特征及其相关性分析. 渔业科学进展, 2023, 44(6): 190–202]
- LV Z M, GUO M, LI C H, *et al.* Divergent proteomics response of *Apostichopus japonicus* suffering from skin ulceration syndrome and pathogen infection. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, 2019, 30: 196–205
- NI M, GAO Q, YUAN J L, *et al.* Effect of salinity on the water quality and microbial community structure of the water for young *Macrobrachium rosenbergii* rearing. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2019, 41(5): 976–985 [倪蒙, 高强, 原居林, 等. 不同盐度罗氏沼虾育苗水体水质及微生物群落结构研究. 江西农业大学学报, 2019, 41(5): 976–985]
- PEI H L, TAN B M, WANG L, *et al.* Composition of the bacterial community in the sediment of ponds for culturing sea cucumber (*Apostichopus japonicus*): Influence of environmental factors during ice-melting period. Progress in Fishery Sciences, 2023, 44(4): 121–13 [裴泓霖, 谭八梅, 王萃, 等. 冻融期刺参养殖池塘沉积物菌群结构特征及其影响因素. 渔业科学进展, 2023, 44(4): 121–134]
- RAM N M, ZUR O, AVNIMELECH Y. Microbial changes occurring at the sediment-water interface in an intensively stocked and fed fish pond. Aquaculture, 1982, 27(1): 63–72
- RU X S, ZHANG L B, LI X N, *et al.* Development strategies for the sea cucumber industry in China. Journal of Oceanology and Limnology, 2019, 37(1): 300–312
- TAN B M, WANG L, PEI H L, *et al.* The seasonal structural and functional characteristics of bacterial community in *Apostichopus japonicus* culture pond water. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(3): 77–88 [谭八梅, 王萃, 裴泓霖, 等. 不同季节刺参养殖池塘水体菌群结构与功能特征研究. 渔业科学进展, 2021, 42(3): 77–88]
- TENG Y, CHEN B J, XIA B, *et al.* Ecological environment quality analysis and evaluation of *Trachidermus fasciatus* Heckel in Jinghai Bay national germ plasm resource area. Progress in Fishery Sciences, 2018, 39(2): 34–41 [滕瑶, 陈碧鹃, 夏斌, 等. 靖海湾松江鲈鱼种质资源保护区生态环境质量分析与评价. 渔业科学进展, 2018, 39(2): 34–41]
- 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. 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. 渔业科学进展, 2012, 33(6): 81–86]
- YANG H S, SUN J C, RU X S, *et al.* Current advances and technological prospects of the sea cucumber seed industry in China. Marine Sciences, 2020, 44(7): 2–9 [杨红生, 孙景春, 茹小尚, 等. 我国刺参种业态势分析与技术创新展望. 海洋科学, 2020, 44(7): 2–9]
- YANG Q H, GE H, FANG L P, *et al.* Identification of *Vibrio tubiashii* isolated from diseased pond-cultured sea cucumbers (*Apostichopus japonicus*). South China Fisheries Science, 2014, 10(4): 45–51 [杨求华, 葛辉, 方旅平, 等. 池塘养殖刺参病原菌塔式弧菌的分离与鉴定. 南方水产科学, 2014, 10(4): 45–51]
- YE H, ZHU P L, ZHONG M S, *et al.* Concentration and assessment of the heavy metals in the culture sea cucumber from Fujian coastal waters. Journal of Fisheries Research, 2019, 41(3): 234–240 [叶洪, 朱品玲, 钟茂生, 等. 福建海域养殖海参重金属含量分析及评价. 渔业研究, 2019, 41(3): 234–240]
- ZHANG J S, LIU G H, WEI Q, *et al.* Regional discrepancy of microbial community structure in activated sludge system from Chinese WWTPs based on high-throughput 16S rDNA sequencing. Science of the Total Environment, 2022, 818: 151751
- ZHANG S H, YAN L, CAO J H, *et al.* Salinity significantly affects methane oxidation and methanotrophic community in Inner Mongolia lake sediments. Frontiers in Microbiology, 2023, 13: 1067017
- ZHENG H, WANG C, CHEN J Y, *et al.* Policy evolution and analysis of characteristics and values of China's marine seed industry development under the food security strategy. Marine Policy, 2023, 155: 105681

## Annual Changes in the Ecological Environment and Microbial Community Structure and Their Correlation Analyses in the Core Area of Dalian National Sea Cucumber Stock Field of China

ZHU Xiaotong<sup>1,2</sup>, RONG Xiaojun<sup>2</sup>, LI Bin<sup>2</sup>, WANG Yingeng<sup>2</sup>, GE Jianlong<sup>2</sup>, LIAO Meijie<sup>2①</sup>,  
WANG Jinjin<sup>2</sup>, WU Yanqiang<sup>3</sup>, ZHAO Xintao<sup>3</sup>, SHI Guojun<sup>4</sup>

(1. Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 2. State Key Laboratory of Mariculture Biobreeding and Sustainable Goods, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

3. Dalian Bangchuidao Seafood Co, Ltd, Dalian 116699, China;

4. Bureau of Science and Technology of Hekou District, Dongying 257200, China)

**Abstract** Aquatic stock is the basis of cultivation of good strains and the core of biodiversity conservation. To comprehensively grasp of the core Breed Conservation area of China's first national sea cucumber native species farm, this study conducted an annual survey of the water body and sediment environment of the core breed conservation area from July 2022 to May 2023. Simultaneously, the annual change in microbial community structure in seawater and sediment was analyzed using high-throughput sequencing, and the correlation between ecological environment quality and microbial community structure was further completed. The results showed that the water quality of seawater was good, except for the reactive phosphate content in spring and the lead content in summer, autumn, and winter, which reached the water quality standard of Class II and the heavy metal nickel, which met the water quality standard of Class II in autumn. All other water quality indices met the water quality standard of Class I and the water body of the Breed Conservation area belongs to the poor trophic level. In the sediments, except for the chromium content in autumn which did not reach the standard of Class I, all other indices met the standard of Class I, indicating that the ecological environment of the core area is good. The results of microbial community structure analysis of seawater and sediments in four seasons showed that 3 796 OTUs were obtained in the water body of the core area and the Shannon index of the water body in the four seasons ranged from  $5.90\pm 0.04$  to  $6.84\pm 0.01$ , with the highest in autumn and the lowest in summer; 4 151 OTUs were obtained in the sediment, and the Shannon index of the sediment in the four seasons was between  $6.06\pm 1.44$  and  $7.88\pm 0.22$ , with the highest in summer and the lowest in spring. PcoA showed that the microbial community structure of the water body and sediments differed in the four seasons and the microbial community structure of the water body varied more by seasonal influences than that of sediments. The results of LEfSe analyses of water and sediment flora in different seasons showed that 73 and 66 significantly different bacteria were screened in water and sediment samples in different seasons, respectively ( $P<0.05$ ), among which the representative bacteria in the winter sediment contained Vibrionaceae and Psychromonadaceae, which highlights the potential threat of vibrio to the health of sea cucumber in winter. The correlation analysis between environmental factors and microbial community structure showed that temperature, pH, and salinity were the major environmental factors affecting the microbial community structure in the water body, whereas organic carbon, sulfide, heavy metal copper, and lead were the chief environmental factors affecting the microbial community structure in the sediments. These results provide support for assessing the ecological environment of the core area for Breed Conservation, analyzing its risk factors and influencing factors, and providing scientific basis for the efficient preservation of the native sea cucumber in China.

**Key words** *Apostichopus japonicus*; Core area of the natural farm; Ecological environmental quality; Annual changes in microbial community structure; Correlation analysis

① Corresponding author: LIAO Meijie, Email: liaomj@ysfri.ac.cn