

doi: 10.7541/2021.2020.233

基于孢子粘附功能的大型海藻生态修复技术研究

毕远新 苗航 王惠杰 杨起帆

(浙江省海洋水产研究所, 浙江省海洋渔业资源可持续利用技术研究重点实验室, 舟山 316021)

摘要: 为实现大型海藻人工移植高效、节约和可持续性, 研究基于大型海藻孢子的粘附特性, 于2020年4月, 初选了几种食品添加剂作为粘附剂, 与铜藻(*Sargassum horneri*)孢子混合后, 通过室内外涂覆实验观察孢子附着、萌发和生长情况, 筛选出最优的粘附剂, 并通过铜藻孢子低温保存实验研究解决延长海藻人工移植周期问题。结果表明: (1)海藻酸钠是一种较好的海藻孢子粘附剂, 由其制成的铜藻孢子黏液, 黏度越大、数量越多对孢子的保护作用越强, 可有效阻碍水流冲刷与稀释的影响, 增强孢子的附着几率, 铜藻孢子黏液潮下带涂抹实验的孢子移植成活密度可达278 ind./m², 但在潮间带喷涂实验中仅在受波浪和水流影响小的位点获得了较好的移植效果; (2)铜藻孢子低温保存实验延长了海藻孢子的移植周期, 铜藻受精卵经低温[(7±3)°C]保存23d后仍具备附着能力, 但需结合粘附剂的使用才能确保孢子在水流扰动条件下实现有效附着; (3)孢子黏液技术可广泛应用于大型海藻孢子的人工育苗与移植, 主要包括室内均匀喷涂技术、水面喷洒移植技术、潮间带喷涂技术、潮下带涂抹技术和人工鱼礁或藻礁喷涂移植技术等。研究为大型海藻移植提供了一个全新的思路, 有望在粘附剂开发、喷涂方法及设备研究上获得突破起到促进作用, 并为我国海藻场的生态修复研究及大型海藻人工移植技术的推广提供科学依据。

关键词: 大型海藻; 铜藻; 孢子黏液; 粘附剂; 人工移植

中图分类号: Q178.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2022)02-0160-08



海藻场是近岸硬质底上生长的大型海藻和其他海洋生物群落共同构成的海洋生态系统。由于受海水富营养化、渔业捕捞、工程建设和全球气候变化等多种因素影响, 世界范围内近岸海域海藻场数量逐年减少^[1,2]。基于全世界范围内海藻场资源衰退或消失的现状, 针对海藻场资源保护与修复的各项研究工作也逐步展开。随着对大型海藻生态修复基础研究工作的逐步深入, 一些生态修复方法也逐渐被采用。可在无硬质底附着基的海区通过移植人工藻礁新建海藻场, 或在有硬质底附着基且海藻场已退化和消失的海区, 通过移植成藻或种苗进行海藻场的恢复和重建工作, 如泼洒孢子水、固定孢子袋、藻礁绑缚苗绳投放及移植附苗礁块等方法进行修复。日本早在1945年就已开展了人工海藻场的研究, 并针对近岸海藻场资源衰退的现象开展大规模的海藻场资源调查活动, 并成功营造

了多处人工海藻场^[3]。为了解决沿岸白化现象, 韩国自1997年开展了海藻场修复技术基础研究工作, 2002—2007年间海藻场造成面积达到了4.35 km², 计划到2030年海藻场造成面积达到350 km²^[4]。我国早在20世纪50年代就已开展了中国沿海大型海藻分布调查研究工作, 但针对海藻场资源退化原因及其生态修复的研究工作相对滞后。近年来, 我国通过对海藻场分布机制的调查研究, 发现了海藻场衰退的一些原因, 并开展了海藻场生态修复研究工作, 已取得了良好的修复效果。如在浙江南麂岛针对铜藻场生态修复开展了大量基础调查研究工作, 获得了许多宝贵经验^[5]; 在浙江枸杞岛开展的铜藻场修复工作, 取得了示范性研究成果^[6]; 及在雷州半岛开展的3种马尾藻(*Scagassum* spp.)生态修复工作, 构建了人工马尾藻海藻场^[7]。虽然国内外的学者在海藻场生态修复建设中取得了一些成果, 但针对已

收稿日期: 2020-10-20; **修订日期:** 2021-01-25

基金项目: 浙江省科技厅项目(LGN18C030003和577767901); 舟山市科技局项目(2022C31054)资助 [Supported by the Zhejiang Provincial Science Technology Department of China (LGN18C030003 and 577767901); Bureau of Science and Technology of Zhoushan (2022C31054)]

通信作者: 毕远新(1975—), 男, 博士, 高级工程师; 主要从事大型海藻生态修复研究。E-mail: byx369@163.com

衰退或消失的海藻场资源,在现有大型海藻栖息地生境未得到有效改善的情况下,大面积地修复海藻场是一项既艰巨又耗费时间和资金的工作,一些已有的海藻场生态修复措施可能并不具备长期、有效和可持续的发展策略。因此,如何实施节约、有效和可持续的修复策略则是藻场生态修复工作者研究的热点和前沿。

基于移植藻类的生理和生态学固有特性,研发出解决不利因子作用影响的高效和低成本生态修复方法就显得尤为重要,这也是应对海洋生态环境变化条件下修复海藻场所首选的应对措施。例如:马尾藻属种类在有性繁殖过程中,卵子挂托后受精,受精卵外周将被附黏性外衣,发育到一定时期脱离生殖托附着在附着基质上,附着可分为粘附和抓附2个过程,受精卵在脱离生殖托后首先是通过黏性作用,粘在附着基质上(粘附),同时黏性物质渗入到复杂的附着基质结构中增强粘附牢度,再通过假根丝伸入到基质结构中抓牢附着基质(抓附),附着后萌发成幼孢子体,最终发育成假根固着在附着基质上营固着生活^[8]。然而,在大型海藻孢子初始着床的生态过程中有大量孢子无法成功附着在附着基质上,主要是受到波浪和海流作用使孢子在未发育好时提前脱离生殖托,此时孢子外被黏液的粘附功能不强及孢子附着丝发育也不完全,致使孢子无法牢固地附着在附着基质上,或在波浪和水流的作用下使孢子无法接触到附着基质,最终由于悬浮时间过长导致孢子逐渐失去黏附活力^[9]。海藻孢子在海水中悬浮的时间还与其生物学固有特性有关,例如孢子的大小、密度、在海水中的沉降速率及孢子的粘附能力等^[10-12]。即使海藻孢子能够快速沉降在岩礁基质上,也可能因岩礁基质上的沉积物或附生生物的影响阻碍孢子附着和生长^[13],这些不利因素都将导致海藻孢子能够成功附着的几率减小,难以营固着生活。

因此,可根据马尾藻孢子附着时的粘附特性,人工收集孢子(受精卵),再混合具有一定黏性的物质(以下简称粘附剂),获得孢子混合黏液(以下简称孢子黏液),在附着基(人工或自然)上通过人工涂抹孢子黏液的方法进行大型海藻移植,以获得最佳的移植效果。而选用何种粘附剂则较难确定,通过人工提取海藻繁殖时孢子外被黏液的方法又较繁琐,且提取数量也有限,难以规模化用于大型海藻人工移植,且所选粘附剂应具备容易获取、黏度较高、不污染海洋环境和不影响孢子附着生长等特性。因此,一些常见的食品添加剂类粘附剂成为本研究的考察对象,而从海藻中提取出的海藻酸钠作为一

种添加剂现被广泛使用,海藻酸钠亲水性强、对环境无害、易获取,溶于海水后能够形成黏稠溶液,如果不影响海藻孢子附着生长可能是一种更契合海藻孢子粘附特性而使用的粘附剂。

本研究初选了几种食品添加剂作为粘附剂,与铜藻孢子混合后,通过涂覆实验观察孢子附着及生长情况,筛选出最佳粘附剂;其次,再通过现场实验将孢子黏液涂覆在附着基质上,观察海藻孢子移植效果;最后,还通过铜藻孢子保存实验研究拟解决延长海藻人工移植周期问题。本研究拟构建一种节约、高效和可持续的大型海藻孢子人工移植技术体系,且采用粘附剂作为大型海藻孢子移植材料的方法在国内研究中未见报道。本研究结果将为我国海藻场的生态修复研究及大型海藻人工移植技术的推广提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 室内附着实验

室内附着实验在浙江省舟山市嵊山镇室内养殖水池进行,全部实验于2020年4月11日开始,6月10日结束。实验养殖海水通过潜水泵抽送至室内,经400目过滤袋和多层过滤棉过滤后注入水池内;实验期间水温维持在14.5—20.9℃,盐度范围为30.1—32.6,室内光照采用日光灯作为光源,光照强度为(550±50) lx,日照时长为12 L:12 D。室内实验铜藻孢子的附着基为厚度4.5 mm的15 cm×15 cm正方形实验板,材质为无石棉添加的纤维增强水泥加压板。铜藻孢子来源于嵊山和枸杞海域贻贝筏架和底栖已挂托的受精卵,经漂洗振荡后用200目滤网收集到的孢子水。所选黏附剂先与海水混合,经搅拌器搅拌均匀后再与孢子水均匀混合,制成实验所需的各种粘附剂孢子黏液,孢子黏液黏度值通过黏度计(力辰NDJ-8S)测量,可通过添加海水或粘附剂来调整孢子黏液的黏度值。

黏性物质初步筛选和涂覆方法选择 选取6种食品添加剂[聚丙烯酸钠($C_3H_3NaO_2$)_n、黄原胶 $C_{35}H_{49}O_{29}$ 、结冷胶(生物技术级)、海藻酸钠($C_6H_7O_6Na$)_n、羧甲基纤维素钠($C_6+2yH_7+x+2yO_2+x+3yNa$)_n和瓜儿豆胶 $C_{10}H_{14}N_5Na_2O_{12}P_3$]作为粘附剂进行水溶性实验。初步分析6种粘附剂溶于海水12h后的黏度,并进行水下涂覆实验检验其粘附性(观察粘附剂在水中是否容易被涂覆在试验块上),然后从中筛选出3种粘附性较好的粘附剂制成铜藻孢子黏液。其次,将各粘附剂分别配制成50 mL海水溶液,再分别定量加入12 mL上述收集的铜藻孢子水制成孢子黏液,孢子黏液的孢子浓度约为3900 ind./

mL, 黏度控制在10000 mPa·s左右。最后, 将每种62 mL的孢子黏液均匀刷涂在6个正方形实验板上, 刷涂厚度约为0.46 mm(刷涂厚度通过刷涂的黏液体积除以刷涂面积计算得出), 再放入水池中培养, 7d后观察铜藻孢子的附着生长情况并在显微镜下计数。计数方法是在每个方块内随机选取5个1 cm的样方计数, 取均值作为铜藻孢子的附着率。根据上述结果最终筛选出附着效果最好的1种粘附剂(海藻酸钠)作为后续实验材料。

采用2种铜藻孢子黏液的涂覆方法: (1)用毛刷均匀地将孢子黏液刷涂在方形实验块上; (2)采用世匠电动喷漆枪(型号C11718, 功率1000 W), 选用2.5 mm的喷嘴, 黏度控制在6500 mPa·s左右, 将孢子黏液喷涂在实验板上。采用同一种铜藻孢子黏液分别刷涂和喷涂在实验块上, 反复将2种实验块浸入水池中拿出。结果显示, 喷涂铜藻孢子黏液的粘附力明显优于刷涂, 孢子黏液刷涂和喷涂在实验块上的铜藻附着和萌发效果均较好, 但由于采用喷涂方法的铜藻孢子计数较困难, 因此, 后续的室内实验均采用刷涂方法, 室外潮间带孢子黏液涂覆均采用喷涂方法。

刷涂黏度实验 用海藻酸钠作为粘附剂, 与铜藻孢子水混合制成孢子黏液。共设计4组黏度, 在每组正方形实验板上分别刷涂黏度为2000、10000、50000和100000 mPa·s的孢子黏液, 每组5个实验板, 经计数刷涂到每个板上的铜藻孢子数约为3600 ind., 观察附着生长情况。

刷涂厚度实验 实验用海藻酸钠作为粘附剂, 与铜藻孢子水混合制成孢子黏液, 黏度控制在10000 mPa·s左右。共设计3组厚度, 厚度越大对应添加的粘附剂越多, 在正方形实验板上分别刷涂5、10和15 mL的孢子黏液, 对应到实验板上的厚度分别为0.22、0.44和0.66 mm, 每组6个实验板, 经计数刷涂到每个板上的铜藻孢子数约为39000 ind., 观察附着生长情况。

1.2 现场移植实验

潮间带低潮区的铜藻移植实验在大潮期间的最低潮位进行。制作海藻酸钠铜藻孢子黏液(黏度在6500 mPa·s左右), 用保温箱(4℃)运至潮间带移植区, 选取3个不同位点(位点间距在50 m左右), 每个位点设置3个样方框(样方间距1 m, 样方大小30 cm×30 cm), 铲除样方内附着生物, 将孢子黏液喷涂在样方内的岩礁基质上, 30d后观察附着生长情况。潮下带区域通过潜水方法选取2个位点(位点间距在200 m左右), 每个位点设置3个样方框(样方间距1 m, 样方大小30 cm×30 cm), 铲除样方内附着生物,

将孢子黏液(黏度在200000 mPa·s左右)装入塑封袋中带到水下, 通过挤出方式用手涂抹在样方框内的岩礁基质上, 90d后观察附着生长情况。

1.3 铜藻孢子保存实验

为有效延长铜藻孢子的人工移植周期, 采用了3种较简单的方法保存收集到的铜藻孢子: (1)将收集到的铜藻孢子水冷冻在-18℃的冰柜中, 50d后取出喷洒在实验板上观察铜藻孢子是否能附着萌发; (2)将铜藻孢子水放在冷柜中低温保存, 温度控制在(7±3)℃, 光照控制在(550±50) lx, 每天取出一些喷洒在实验板上观察铜藻孢子是否能附着萌发, 并记录铜藻孢子能够附着萌发的低温保存时间; (3)将海藻酸钠铜藻孢子黏液(黏度10000 mPa·s左右)放置在冷柜中低温保存, 温度控制在(7±3)℃, 光照控制在(550±50) lx, 每天取出一些刷涂在实验板上观察铜藻孢子是否具能附着萌发, 并记录铜藻孢子能够附着萌发的低温保存时间。

1.4 数据处理

使用SPSS13.0软件, 采用单因素方差(One-way ANOVA)对上述实验的数据进行统计分析, 以 $P < 0.05$ 表示组间差异显著, 以 $P < 0.01$ 表示组间差异极显著, 描述性统计值采用平均值±标准误(mean±SE)表示。

2 结果

2.1 粘附剂筛选结果

聚丙烯酸钠溶于海水后黏度大, 但黏性溶液在海水中进行涂覆实验时难以粘附在实验块上, 黏性溶液在海水中的亲和力差; 黄原胶溶于海水放置12h后黏度减小, 稳定性较差; 结冷胶溶于海水后黏度较小, 不适合进行现场涂覆实验。因此, 上述3种试剂不适用于作孢子粘附剂。比较而言, 海藻酸钠、羧甲基纤维素钠和瓜儿豆胶作为粘附剂溶于海水后表现出较好的粘附性。因此, 筛选这3种粘附剂制成铜藻孢子黏液, 观察铜藻孢子附着生长情况。

实验结果表明: 由3种粘附剂制成的铜藻孢子黏液刷涂在实验块上后, 均有较强的粘附力, 在刷涂厚度小和黏度较高的条件下, 将实验块垂直竖放于水池中也不会产生明显的孢子黏液滑脱的现象, 水池内培养3d后铜藻孢子大多能够附着, 且附着较为牢固, 7d后可萌发成株高为1 mm左右的铜藻幼孢子体, 粘附剂也逐渐被海水稀释。3种粘附剂配制成的铜藻孢子黏液在实验块上的幼孢子体平均附着密度以海藻酸钠为最大(图1), 与羧甲基纤维素钠差异不显著, 但二者都显著高于瓜儿豆胶的附

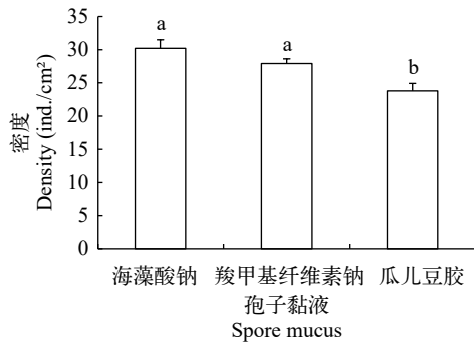


图1 3种孢子黏液的附着密度

Fig. 1 Adhesive density of three spore mucus

不同小写字母代表3种孢子黏液的附着密度组间差异显著 ($P < 0.05$), 下同

Different small letters mean significant difference among adhesive density of three spore mucus at 0.05 level, the same applies below

着密度 ($P < 0.05$)。海藻酸钠本是从海藻中提取出的天然多糖, 且制备成海藻孢子黏液后粘附性较好, 因此, 本研究后续实验均选用海藻酸钠作为粘附剂。

2.2 刷涂黏度和厚度实验结果

由海藻酸钠制成的铜藻孢子黏液随着黏度的增加, 附着萌发后的幼孢子体附着密度越大(图2), 其中, 100000 mPa·s黏度组铜藻幼孢子体附着密度最大, 明显高于50000 mPa·s黏度组, 且极显著 ($P < 0.01$) 高于10000和2000 mPa·s黏度组, 说明孢子黏液的黏度越大对铜藻孢子的附着萌发越有利。由于当海藻酸钠铜藻孢子黏液黏度超过200000 mPa·s时, 孢子黏液的混合和刷涂会出现不均匀的状况, 对实验结果影响较大, 因此未设置更高的黏度进行实验分析, 但黏度超过200000 mPa·s时, 铜藻孢子的附着萌发效果较好。

由海藻酸钠制成的铜藻孢子黏液随着刷涂厚度的增加, 铜藻幼孢子体的附着密度越大(图3), 其中, 0.66 mm厚度组铜藻幼孢子体附着密度最大, 且极显著 ($P < 0.01$) 高于0.44和0.22 mm厚度组, 说明刷

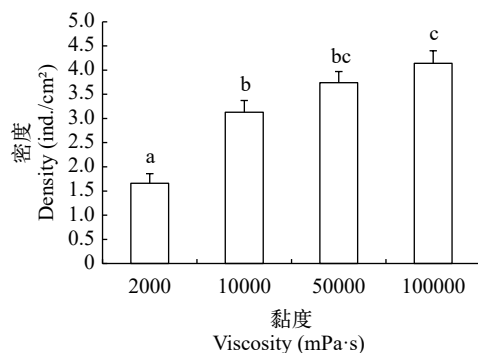


图2 不同黏度孢子黏液的附着密度

Fig. 2 Adhesive density of different viscosity spore mucus

涂厚度越大对铜藻孢子的附着萌发越有利。当海藻酸钠铜藻孢子黏液的黏度为10000 mPa·s左右时, 刷涂厚度约超过0.66 mm时, 会出现铜藻孢子黏液流淌出附着实验板的情况, 因此未设置更高厚度进行实验分析。但通过测试观察发现, 使用更高黏度的海藻酸钠铜藻孢子黏液, 刷涂厚度超过0.66 mm时铜藻孢子也能够附着萌发。

2.3 现场移植实验

采用喷涂方法(图4)在潮间带移植铜藻孢子的附着萌发和生长与移植位点受波浪和水流影响的程度相关, 其中2个受波浪和水流影响大的移植位点未发现铜藻幼苗。但在影响小的移植位点的其中一个样方内铜藻孢子附着萌发率较高(图5), 此

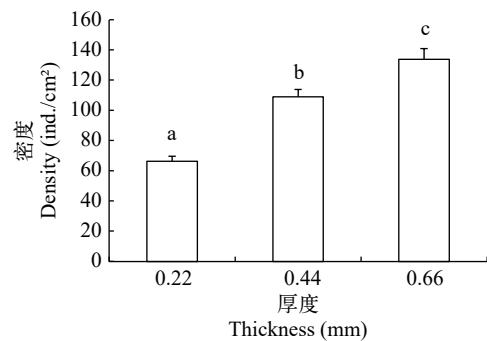


图3 不同厚度孢子黏液的附着密度

Fig. 3 Adhesive density of different thickness spore mucus



图4 潮间带孢子黏液的喷涂方法

Fig. 4 Spraying method of spore mucus in the intertidal zone



图5 潮间带喷涂孢子黏液的生长情况

Fig. 5 Growth of spray spore mucus in the intertidal zone

样方内铜藻幼苗附着密度大且较均匀, 平均株高在 2 cm 左右, 最大株高可达 4 cm 左右, 而移植位点内另外 2 个样方内的铜藻幼苗附着呈斑块状不均匀分布, 其中铜藻幼苗密度高且均匀的附着基面趋于水平, 而另外 2 个附着基面有不同程度的倾斜。

潮下带区域通过潜水方法涂抹铜藻孢子的 2 个位点, 6 个样方内均有铜藻幼苗附着, 且附着密度较稀疏(图 6), 但平均每个样方内铜藻幼苗附着密度可达 25 株, 平均株高在 13 cm 左右。



图 6 潮下带涂抹孢子黏液的生长情况

Fig. 6 Growth of daub spore mucus in subtidal zone

2.4 铜藻孢子保存实验结果

铜藻孢子水冷冻在 -18°C 的冰柜中存放 50d 取出后已不具备附着能力。铜藻孢子在 $(7\pm 3)^{\circ}\text{C}$ 的低温保存过程中仍能够缓慢生长, 其中, 到第 11 天时附着丝长度约为 0.5 cm 左右, 到第 19 天取出时铜藻幼孢子体有部分已发霉, 但仍有少量幼孢子体可附着萌发, 到第 24 天时取出已不具备附着能力。混合海藻酸钠的铜藻孢子黏液在低温保存 12d 后取出已不具备附着能力。

3 讨论

3.1 粘附剂的作用

自然海域铜藻的繁殖能力较强, 株高在 70 cm 的铜藻能够繁殖约 98 万个孢子^[14]。虽然繁殖出如此巨大的孢子数, 但能够成功附着到岩礁基质的孢子数却极少。其可能原因为: 一方面岩礁基质上沉积物和附生生物会阻碍孢子接触到岩礁基质, 另一方面自然排放的铜藻孢子外被黏液本身黏度较小, 且黏液量相对较少, 孢子在沉降的过程中又被水流稀释掉一部分黏液, 达到岩礁基质时可能已失去粘附能力, 或粘附强度较弱被水流带离附着基质导致其粘附能力进一步减弱^[15], 若 48h 内孢子不能粘附在附着基质上, 则失去粘附能力难以再抓牢附着基实现固着^[8]。本文的研究结果表明, 海藻酸钠作为粘附剂对铜藻孢子的附着起着积极作用, 孢子

黏液的黏度越高、涂抹数量越多和喷涂方法(经风压喷在附着基上粘附性更强)等都对铜藻孢子的附着有利, 说明粘附剂在海水中对已粘在附着基上的铜藻孢子起到保护作用, 防止水流的外力干扰和稀释作用, 粘附剂能够保护孢子在被水流冲离附着基之前靠自身的附着丝生长抓牢附着基质, 这是铜藻孢子能够有效附着的关键环节, 我们可利用铜藻孢子的粘附特性通过人为干预进行移植。而高黏度的孢子黏液及涂抹厚度越大可能会阻碍铜藻孢子附着及萌发, 黏度高可能会阻碍铜藻孢子生长, 涂抹厚度大可能会影响长度仅为 200 μm 的铜藻孢子附着丝接触到附着基质, 这些制约影响尚待研究确认, 但在本实验中粘附剂黏度大、数量多的粘附作用显然占据主导地位。

3.2 粘附剂优选及移植方法优化

本研究所筛选出的海藻酸钠粘附剂因源于海藻, 可能对海藻孢子附着和萌发生长更有利。铜藻孢子黏液水下涂覆实验的孢子移植成活密度达到了 278 ind./ m^2 , 而相同海域自然附着的铜藻幼苗最高平均密度仅为 221 ind./ m^2 ^[16]。因此, 铜藻孢子黏液水下涂覆方法基本能够满足人工移植的要求。但在受波浪和水流影响较大的潮间带区域移植时效果并不理想, 由于喷涂后粘附能力不强, 导致粘附的铜藻孢子在波浪和水流作用下脱离附着基。因此, 针对海藻酸钠粘附剂, 更有利于海藻孢子粘附的移植方法和移植工具有待优化和提升, 本实验中孢子黏液喷涂的粘附效果就明显好于刷涂。在粘附剂的筛选方面, 一些能够快速粘附、防止水流冲刷和稀释、不影响海藻孢子附着萌发的天然粘附剂材料将成为首选。通过对粘附剂优选、移植方法和移植工具的提升等方面的深入研究, 我们期待在大型海藻移植的高效性方面取得突破性进展。

3.3 孢子黏液在海藻场修复中的应用

海藻场的人工修复工作较困难, 尤其是在修复效果的可持续性方面, 因目前的海藻栖息地多已被破坏, 如海水透明度降低海藻生长缓慢^[17]、沉积物覆盖岩礁基质海藻孢子难以附着^[18]、海藻分布水深上移易受风浪移除影响^[19]等。我们可利用海藻孢子具有粘附性的特点通过添加粘附剂来强化其粘附功能, 使孢子快速粘附在附着基质上降低水流影响。有研究表明, 种子遇水分泌黏液是植物的属性之一, 黏液繁殖体的黏液功能可在黏液湿润时发挥作用^[20], 虽然在学术界对黏液繁殖体的生态学意义并未达成共识, 但将黏液繁殖体作为降低位移机制的看法较为普遍^[21]。可以看出, 在大型海藻人工移植生态过程中附着牢固概念或稳定性问题至关

重要。通过喷洒孢子黏液的方法增强了孢子接触到附着基质时的粘附能力,其粘附效果将明显好于直接泼洒孢子水^[22]或悬挂孢子袋进行的藻场修复,实际上孢子黏液喷洒也可考虑增加沉性材料使孢子快速沉降,以减少沉降过程中的黏液损失;而绑缚苗绳的移植方式,藻体易在外力作用下发生折断而脱离苗绳,即使能够发育成熟也难以形成补充群体;室内人工附苗于石块上再进行海区投放的方法,石块小难以解决其稳定性问题,石块大则实施成本较高^[23];在岩礁基质上钻孔移植附藻礁块^[24]、或是在海藻根部包裹环氧树脂固定在孔洞中^[25]及在潮间带通过使用速凝水泥^[26]等移植大型海藻的方法成本较高且实施较困难。因此,考虑到海藻场栖息地的生态现状,并保障海藻场修复的可持续性,移植方法和移植海藻种类的选择在海藻场生态修复中起到关键作用。例如:以营养繁殖为主且多年生的瓦氏马尾藻(*S. vachellianum*)可作为浙江省藻场建设的优选藻种,有研究表明瓦氏马尾藻具有耐沉积物、耐低光照的特性^[27],经前期移植监测,人工藻礁上附苗移植的瓦氏马尾藻的生命周期已达9年之久。因此,可利用瓦氏马尾藻的生长特性,制作出瓦氏马尾藻孢子黏液,经喷涂到人工藻礁或人工鱼礁上投放到移植海区,或通过潜水涂抹瓦氏马尾藻孢子黏液到自然基质上,采用人工涂抹或喷涂的方式还可有效解决岩礁基质上沉积物和附着生物覆盖影响孢子附着的作用,可达到海藻场修复的可持续生态效果。另外,采用孢子黏液的方法对海藻室内人工育苗也具有积极作用,目前常采用喷洒的方法将人工收集的孢子水均匀喷洒在育苗器上^[5],而采用电动喷漆枪喷涂孢子黏液的方法在孢子附着率、均匀度和高效性等方面则更具优势。

3.4 孢子保存技术的应用

在大型大藻人工移植过程中,海藻的繁殖期常与人工移植期不同步,即使是同一种海藻在不同地理位置的繁殖时间也存在较大差异。为满足大规模的海藻移植需求,海藻简易保存技术的研究具有重要作用,尤其对海藻有性繁殖后期(受精卵和幼孢子体时期)需进行深入研究^[28]。现有的大型海藻低温保存技术研究主要集中在海带(*Laminaria japonica*)^[29]、条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)^[30]和裙带菜(*Undaria pinnatifida*)^[31]等经济海藻上,而用于移植修复的马尾藻类受精卵和幼孢子阶段低温保存技术的研究相对较少^[32]。相关研究表明,羊栖菜(*Sargassum fusiforme*)的生殖托在5℃下可以保存30d,其代谢活性、细胞相对活力及配子释放能力均较好^[28]。本研究受实验设计及条件限制,对铜藻

受精卵时期的低温保存研究过于简单,低温保存温度存在一定波动,低温冷冻保存也未经保护处理,实验结果可能存在一定偏差,但研究发现铜藻受精卵经低温(7±3)℃保存23d后仍具备附着能力,这是一个较积极的信号。如何在简易条件下获得数量多、且保存时间长的大型海藻受精卵和幼孢子体还需深入研究,以期为大型海藻人工移植提供技术支撑。

4 结论

基于海藻孢子粘附功能的粘附剂的运用对孢子附着与萌发起到至关重要的作用。本文的研究主要获得如下结论:(1)海藻酸钠作为粘附剂制成的铜藻孢子黏液,黏度越大、数量越多对孢子的保护作用越强,有效阻碍了水流冲刷与稀释的影响,增强了孢子附着几率;(2)低温保存技术可延长海藻孢子的移植周期,但需结合粘附剂的使用才能确保孢子在水流扰动条件下实现有效附着;(3)孢子黏液技术可广泛应用于大型海藻孢子的人工育苗与移植,主要包括室内孢子黏液均匀喷涂技术、水面喷洒孢子黏液移植技术、潮间带喷涂孢子黏液技术、潮下带孢子黏液涂抹技术和人工鱼礁或藻礁喷涂孢子黏液移植技术等。本研究为大型海藻移植提供了一个全新的思路,有望在粘附剂开发、喷涂方法及设备研究上取得突破起到促进作用。

参考文献:

- [1] Airolidi L. The effects of sedimentation on rocky coast assemblages [J]. *Oceanography and Marine Biology*, 2003, 41: 161-236.
- [2] Bi Y X, Feng M P, Zhang Y Z, et al. Spatial distribution patterns of *Sargassum horneri* in the coastal waters of the Ma'an Archipelago [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(4): 309-375.
- [3] Zhang S Y, Sun H C. Research progress on seaweed bed ecosystem and its engineering [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(7): 1647-1653. [章守宇, 孙宏超. 海藻场生态系统及其工程学研究进展 [J]. 应用生态学报, 2007, 18(7): 1647-1653.]
- [4] Yang B R, Chen Y. Oceanic Pasture in Korea [M]. Beijing: China Ocean Press, 2014: 44-51. [杨宝瑞, 陈勇. 韩国海洋牧场建设与研究 [M]. 北京: 海洋出版社, 2014: 44-51.]
- [5] Sun J Z, Pang S J, Chen W D, et al. In situ ecological studies of the subtidal brown alga *Sargassum horneri* at Nanji Island of China [J]. *South China Fisheries Science*, 2008, 4(3): 58-63. [孙建璋, 逢少军, 陈万东. 中国南麂列岛铜藻 *Sargassum horneri* 实地生态学的初步研究 [J]. 南方水产, 2008, 4(3): 58-63.]

- [6] Zhang S Y, Bi Y X, Wu Z L. Spatial distribution pattern of *Sargassum horneri* around Gouqi Island, Shengsi, China [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, **37**(6): 884-893. [章守宇, 毕远新, 吴祖立. 枸杞岛铜藻空间分布格局初探 [J]. 水产学报, 2013, **37**(6): 884-893.]
- [7] Qu Y K. The growth, reproduction and artificial seaweeds beds construction of three species of *Sargassum* [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2015: 20-34. [曲元凯. 三种马尾藻的生长繁殖和人工藻场的构建 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2015: 20-34.]
- [8] Vreeland V, Grotkopp E, Espinosa S, *et al.* The pattern of cell wall adhesive formation by *Fucus zygotes* [J]. *Hydrobiologia*, 1993, **260/261**(1): 485-491.
- [9] Stevens C L, Taylor D I, Delaux S, *et al.* Characterisation of wave-influenced macroalgal propagule settlement [J]. *Journal of Marine Systems*, 2008, **74**(1-2): 96-107.
- [10] Taylor D I, Schiel D R. Wave-related mortality in propagules of habitat-forming algae from different exposures in southern New Zealand: the importance of "stickability" [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2003, **290**(2): 229-245.
- [11] Schiel D R. Rivets or bolts? When single species count in the function of temperate rocky reef communities [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2006, **338**(2): 233-252.
- [12] Taylor D, Delaux S, Stevens C. Settlement rates of macroalgal propagules: Cross-species comparisons in a turbulent environment [J]. *Limnology and Oceanography-Methods*, 2010, **55**(1): 66-76.
- [13] Bi Y X, Zhang S Y, Wu Z L. Effects of sediment on the early settlement stage of *Sargassum horneri* on rocky subtidal reefs [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, **24**(5): 1439-1445. [毕远新, 章守宇, 吴祖立. 沉积物对潮下带岩礁上铜藻早期定居阶段的影响 [J]. 应用生态学报, 2013, **24**(5): 1439-1445.]
- [14] Sun J Z, Zhuang D G, Chen W D, *et al.* Studies on sexual reproduction and seedling production of the brown alga *Sargassum horneri* [J]. *South China Fisheries Science*, 2008, **4**(2): 6-14. [孙建璋, 庄定根, 陈万东, 等. 铜藻 *Sargassum horneri* 繁殖生物学及种苗培育研究 [J]. 南方水产科学, 2008, **4**(2): 6-14.]
- [15] Gordon R, Brawley S H. Effects of water motion on propagule release from algae with complex life histories [J]. *Marine Biology*, 2004, **145**(1): 21-29.
- [16] Bi Y X, Zhang S Y, Wu Z L. Seasonal variations of *Sargassum horneri* distribution around Gouqi Island of East China [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2013, **32**(5): 1255-1259. [毕远新, 章守宇, 吴祖立. 枸杞岛铜藻种群分布的季节变化 [J]. 生态学杂志, 2013, **32**(5): 1255-1259.]
- [17] Geange S W, Powell A, Clemens-Seely K, *et al.* Sediment load and timing of sedimentation affect spore establishment in *Macrocystis pyrifera* and *Undaria pinnatifida* [J]. *Marine Biology*, 2014(161): 1583-1592.
- [18] Bi Y X, Feng M P, Jiang R J, *et al.* The effects of sediment on *Sargassum horneri* in the early life stages on rocky subtidal reefs [J]. *Aquatic Botany*, 2016, **132**(7): 17-23.
- [19] Bi Y X, Wang W D. Effects of wind wave on distribution pattern of *Sargassum horneri* around Gouqi Island [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, **35**(6): 1595-1600. [毕远新, 王伟定. 风浪对枸杞岛铜藻(*Sargassum horneri*)分布格局的影响 [J]. 生态学杂志, 2016, **35**(6): 1595-1600.]
- [20] Liu Z M, Yan Q L, Luo Y M, *et al.* Screening on myxosperry of 124 species occurring on the sandy habitats of Western Horqin Steppe [J]. *Journal of Desert Research*, 2005, **25**(5): 716-721. [刘志民, 闫巧玲, 骆勇明, 等. 科尔沁沙地124种天然植物粘液繁殖体的甄别 [J]. 中国沙漠, 2005, **25**(5): 716-721.]
- [21] Huang Z, Gutterman Y, Hu Z. Seed germination in *Artemisia sphaerocephala* I the structure and function of the mucilaginous achene [J]. *Acta Phytocologica Sinica*, 2001, **25**(1): 22-28.
- [22] Zheng H Y, Rao D Z, Chen G F, *et al.* Consideration on protective exploitation of *Sargassum horneri* (Turn.) Ag resource around Nanji Islands [J]. *Modern Fisheries Information*, 2008, **23**(10): 25-26. [郑海羽, 饶道专, 陈高峰, 等. 保护性开发南麂列岛铜藻 *Sargassum horneri* (Turn.) Ag. 资源的思考 [J]. 现代渔业信息, 2008, **23**(10): 25-26.]
- [23] Sun J Z, Zhuang D G, Wang T G, *et al.* Design and primary enforcement of *Sargassum horneri* ground establishment around Nanji Islands [J]. *Modern Fisheries Information*, 2009, **24**(7): 25-28. [孙建璋, 庄定根, 王铁杆, 等. 南麂列岛铜藻场建设设计与初步实施 [J]. 现代渔业信息, 2009, **24**(7): 25-28.]
- [24] Bi Y X, Zhang S Y, Wang W D, *et al.* Vertical distribution pattern of *Sargassum horneri* and its relationship with environmental factors around Gouqi Island [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, **34**(17): 4931-4937. [毕远新, 章守宇, 王伟定, 等. 枸杞岛铜藻垂直分布格局及成因分析 [J]. 生态学报, 2014, **34**(17): 4931-4937.]
- [25] Susini M L, Mangialajo L, Thibaut T, *et al.* Development of a transplantation technique of *Cystoseira amentacea* var. *stricta* and *Cystoseira compressa* [J]. *Hydrobiologia*, 2007, **580**(1): 241-244.
- [26] Jia C. The proliferation and colonization of *Sargassum naozhouense* based on the artificial breeding [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2012: 19-25. [贾桢. 基于人工育苗的硇洲马尾藻增殖与移殖 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2012: 19-25.]
- [27] Zhang Y Z, Bi Y X, Wang W D, *et al.* Spatial distribution patterns of *Sargassum vachellianum* in coastal waters of northern Zhejiang typical islands [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(5): 1114-1121. [张亚洲, 毕远新, 王伟定, 等. 浙北近岸典型岛礁瓦氏马尾藻空间分

- 布格局分析 [J]. 水生生物学报, 2019, **43**(5): 1114-1121.]
- [28] Zhou D H, Gao K S. Preservation methods for isolated receptacles of *Hizikia fusiform* at low and ultra-low temperatures [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, **34**(6): 755-761. [邹定辉, 高坤山. 羊栖菜离体生殖托低温超低温的保存 [J]. 水产学报, 2010, **34**(6): 755-761.]
- [29] Zhang Q S, Cong Y Z, Qu S C, *et al.* A simple and highly efficient method for the cryopreservation of *Laminaria japonica* (Phaeophyceae) germplasm [J]. *European Journal of Phycology*, 2007, **42**(2): 209-213.
- [30] Chen G Y. Preservation of carpospores of laver in liquid nitrogen [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1989, **13**(4): 356-359. [陈国宜. 条斑紫菜果孢子的液氮保存 [J]. 水产学报, 1989, **13**(4): 356-359.]
- [31] Ginsburger-Vogel T, Arbault S, Perez R. Ultrastructural study of the effect of freezing- thawing on the gametophyte of the brown alga *Undaria pinnatifida* [J]. *Aquaculture*, 1992, **106**(2): 171-181.
- [32] Zhang Y R, Li D P, Yu Z S. Principles and methods on the cryopreservation of macroalgae germplasm [J]. *Marine Sciences*, 2009, **33**(7): 107-112. [张玉荣, 李大鹏, 于子山. 大型海藻种质保存的原理和方法 [J]. 海洋科学, 2009, **33**(7): 107-112.]

STUDY ON ECOLOGICAL RESTORATION TECHNOLOGY OF MACROALGAE BASED ON SPORE ADHESION FUNCTION

BI Yuan-Xin, MIAO Hang, WANG Hui-Jie and YANG Qi-Fan

(Key Laboratory of Sustainable Utilization of Technology Research for Fishery Resource of Zhejiang Province, Marine Fisheries Research Institute of Zhejiang Province, Zhoushan 316021, China)

Abstract: To find an effective, economical and sustainable way of macroalgae artificial transplantation, a study based on the adhesive properties of spore tested several food additives in April, 2020. These adhesive mixtures were mixed with *S. horneri* spore and applied on the reef both inside and outside the laboratory. After observing the attachment, germination and growth situation of spore, the optimal adhesive was picked out. Meanwhile, the study of low temperature preservation of macroalgae spore extended the cycle of macroalgae artificial transplantation. Our results showed that: (1) algin[(C₆H₇O₆N_a)_n] was a better adhesive. Higher viscosity and higher volume guaranteed better protection against current and dilution, which helps to better attachment of spore. Adhesive mixture of *S. horneri* spore applied on the reef survived well in subtidal zone, with a survival density of 278 ind./m². However, only those sites with less exposure to wave and current had a good effect of transplantation in the intertidal zone. (2) Low temperature preservation of macroalgae spore prolonged the cycle of macroalgae artificial transplantation. Zygote of *S. horneri* preserved at (7±3)°C still have adhesive ability after 23 days. This adhesion had a better result against current scour. (3) The spore mucus technology can be widely used in macroalgae spore artificial breeding and transplantation. This technology covered lab spore mucus uniform spray skill, water surface spore mucus spray transplantation skill, tidal zone spore mucus uniform spray skill, subtidal zone spore mucus daub skill, and artificial reefs or algal reefs spore mucus uniform spray transplantation skill. The research provided a new way to transplant macroalgae, and will contribute to the development of adhesive exploit, spray method and facilities.

Key words: Macroalgae; *Sargassum horneri*; Spore mucus; Adhesive; Artificial transplant