

DOI: 10.20103/j.stxb.202302120238

苗航, 王惠杰, 杨起帆, 朱伟栋, 毕远新. 水动力作用对粘附剂包封铜藻受精卵附着的影响. 生态学报, 2025, 45(9): 4312-4321.

Miao H, Wang H J, Yang Q F, Zhu W D, Bi Y X. Effect of hydrodynamic action on adhesion of *Sargassum horneri* zygotes encapsulated by adhesive. Acta Ecologica Sinica, 2025, 45(9): 4312-4321.

水动力作用对粘附剂包封铜藻受精卵附着的影响

苗 航^{1,2}, 王惠杰^{1,2}, 杨起帆^{1,2}, 朱伟栋^{1,2}, 毕远新^{1,2,*}

¹ 浙江海洋大学海洋与渔业研究所, 舟山 316021

² 浙江省海洋水产研究所, 浙江省海水养殖重点实验室, 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: 由于人类活动导致浅海沉积物大量累积, 铜藻场面积逐年缩小, 底栖生物栖息地不断萎缩。为修复受损铜藻场营造栖息地, 解决铜藻受精卵粘附能力弱和成活率低的问题, 本研究基于大型海藻受精卵粘附功能, 为提高受精卵粘附移植效率, 通过室内和潮间带水动力作用冲击实验, 研究了海藻酸钠、喷涂 3% CaCl₂ 溶液的海藻酸钠和超支化聚合物粘附剂 (HBPA) 3 种材料包封下的铜藻 (*Sargassum horneri*) 受精卵附着能力。结果显示: (1) 室内: 海藻酸钠粘附剂在水动力作用 (*EI*: 3.9) 影响下平均可粘附 5d, 喷涂 3% CaCl₂ 溶液后平均粘附时间提高 2d, 受精卵附着密度分别为 14 个/cm² 和 24 个/cm²。在水动力作用 (*EI*: 8.4) 中 HBPA 可粘附 7d 以上; 受精卵附着密度最高达 14 个/cm²。(2) 潮间带: HBPA 在潮间带 3 个站点 *S*₁ (*EI*: 6.6)、*S*₂ (*EI*: 5.0)、*S*₃ (*EI*: 4.0) 包封受精卵附着中展现强韧的粘附能力, 受精卵附着密度分别达 1、14、21 个/100cm², 均高于海藻酸钠和喷涂 3% CaCl₂ 溶液的海藻酸钠组。通过室内外水动力作用实验发现, 海藻酸钠及喷涂 3% CaCl₂ 溶液固定的海藻酸钠附剂抗水流冲击性能弱于 HBPA, 无法在强海流、高波浪能条件下应用, 但作为人工粘附剂是最便捷、无公害、成本低且易获取制备的材料; HBPA 黏度大、粘附性强、溶解速率低, 潮间带移植效果好, 有望成为新型水下移植材料。本研究结果将促进更高效人工粘附剂及移植方法的研发与应用, 逐步推广高效、低成本的海藻场生态修复方法, 恢复浙江沿岸受损的海藻场生态系统, 同时也将为我国近岸岛礁区海藻场的生态修复建设和海洋碳汇提供技术支撑。

关键词: 大型海藻; 受精卵; 水动力作用; 粘附材料; 人工移植

Effect of hydrodynamic action on adhesion of *Sargassum horneri* zygotes encapsulated by adhesive

MIAO Hang^{1,2}, WANG Huijie^{1,2}, YANG Qifan^{1,2}, ZHU Weidong^{1,2}, BI Yuanxin^{1,2,*}

¹ Institute of Oceans and Fisheries, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316021, China

² Institute of Marine Fisheries of Zhejiang Province, Key Laboratory of Marine Cultivation of Zhejiang Provincial, Key Laboratory of Sustainable Utilization of Technology Research for Fishery Resource of Zhejiang Province, Zhoushan 316021, China

Abstract: Owing to the accumulation of sediment in shallow seas caused by human activities, the coverage area of copper algae fields has been progressively diminishing, resulting in a continuous reduction of benthic habitats. To mitigate this issue, it is imperative to restore the degraded copper algae fields and establish suitable habitats. To address the issues of inadequate adhesion function and low survival rates of *Sargassum horneri* zygotes. Based on the adhesive function of zygotes of macroalgae, in order to improve the efficiency of zygotes adhesion and transplantation, the hydrodynamic action impact experiments were carried out indoors and in intertidal zone. The adhesion ability of *Sargassum horneri* zygotes encapsulated by sodium alginate, sodium alginate with 3% CaCl₂ solution and Hyperhyperbolic Polymer Aradhesuve (HBPA) was studied. The result showed that: (1) Indoors zone: under the influence of hydrodynamic action (*EI*: 3.9), sodium alginate adhesive

基金项目: 浙江省科技厅基础公益项目 (LTGS24C030002); 浙江省科技厅重点研发项目 (2023C03120); 舟山市科技计划项目 (2022C31054)

收稿日期: 2023-02-12; **网络出版日期:** 2025-03-04

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: byx369@163.com

could adhere for 5 days on average, and the average adhesion time increased for 2 days after spraying 3% CaCl_2 solution, and the attachment density of zygotes was 14 ind./ cm^2 and 24 ind./ cm^2 respectively. HBPA can adhere for more than 7 days in hydrodynamic action ($EI:8.4$). The highest attachment density of zygotes is 14 ind./ cm^2 . (2) Intertidal zone: HBPA showed strong adhesion ability in three sites of intertidal zone $S_1(EI:6.6)$, $S_2(EI:5.0)$ and $S_3(EI:4.0)$ to encapsulate zygote, and the attachment density of zygotes reached 1, 14 and 21 ind./100 cm^2 respectively, which were higher than those groups of sodium alginate and the sodium alginate sprayed with 3% CaCl_2 solution. Through indoor and outdoor hydrodynamic action experiments, it is found that the resistance of sodium alginate and sodium alginate additive fixed by spraying 3% CaCl_2 solution are weaker than that of HBPA, so it cannot be applied under the conditions of strong current and high wave energy, but it is the most convenient, pollution-free, low-cost and easy-to-obtain materials as artificial adhesives. HBPA has high viscosity, strong adhesion, low dissolution rate and good intertidal transplantation effect, and is expected to become a new underwater transplantation material. The research results will provide technical support for the ecological restoration and protection of large-scale seaweed field. The findings of this study will facilitate the development and application of more efficient artificial adhesion agents and transplantation techniques, thereby promoting cost-effective and efficient methods for the ecological restoration of algal fields. This will aid in restoring the damaged algal ecosystems along the coast of Zhejiang and provide essential technical support for ecological restoration projects and marine carbon sequestration efforts in coastal islands and reefs throughout China.

Key Words: macroalgae; zygotes; hydrodynamic action; adhesive material; artificial transplantation

铜藻 (*Sargassum horneri*) 是构成浅海岩礁区底栖生物栖息地的重要生物种群。近年来, 由于人类活动影响加剧海洋污染, 近岸岩礁区底部沉积物不断累积, 底栖生物栖息地铜藻场面积不断萎缩, 生物多样性大幅减少。为修复受损铜藻场营造栖息地, 解决铜藻受精卵粘附能力弱和成活率低的问题将是关键。已有研究表明, 将细胞包封在凝胶液或凝胶球内已成为固定细胞, 提高成活率最广泛的技术, 包封技术益于微藻、酵母等单细胞或细菌的存活和生长^[1], 细胞被包封在凝胶中能提高其生长速率, 也能有效进行培养管理。包封技术目前应用在生物反应器中固定活细胞或死细胞, 及固定植物原生质体进行微繁殖和产生单克隆抗体, 及包封动物细胞植入人工器官中等。Zeeb 等^[2]报道了海藻酸钠包封微藻生长, 此类研究中目前海藻酸钠黏液及凝胶球是在微藻类固化中应用最频繁的技术^[3], 黏液及凝胶状海藻酸钠可对小球藻、团藻、衣藻等微藻及少数褐藻类海藻受精卵进行包封固定^[4-5]。许多原核细胞如微藻 (蓝藻), 都可使用甘油或以海藻酸钠为主的天然多糖包封固定储存且使其保持活性^[6]。虽然包封技术在单细胞原核生物和真核生物中取得成功, 但包封大型海藻受精卵在实际海况的水动力作用下是否能高效附着生长, 是包封技术、海藻受精卵移植及海藻场生态修复中亟待解决的重大技术问题。

近年来, 黏液及凝胶状海藻酸钠在大型海藻受精卵附着生长、室外移植及海藻场修复中作为辅助粘附被应用^[7]。2017 年 Jung S M 等^[8]收集石莼 (*Ulva intestinalis*)、裙带菜 (*Undaria pinnatifida*)、穴昆布 (*Ecklonia cava*) 受精卵, 使用海藻酸钠粘附剂对比有无包封对受精卵生长的影响, 其研究证明海藻酸钠包封受精卵比未包封的在生长速率上具有优势; 2018 年 Jung S M 等^[9]使用无肋马尾藻 (*Sargassum fulvellum*) 在潮间带进行受精卵包封移植研究, 结果显示移植中包封的受精卵在生长密度和植株高度上比未包封的有显著优势, 说明海藻酸钠粘附剂在辅助大型海藻受精卵移植生长中具有成效。2020 年毕远新等^[10]使用海藻酸钠包封铜藻 (*Sargassum horneri*) 受精卵进行室内附着生长和潮下带移植实验, 研究证明海藻酸钠粘附剂高黏度和高涂抹厚度能使铜藻受精卵附着数量提高。已有研究中, 使用海藻酸钠粘附剂进行大型海藻移植普遍缺乏对水动力作用影响的考量, 目前仅日本 Kamohara S 等^[11]使用沙砾混合海藻酸钠粘附剂包封受精卵在室内水槽进行水动力作用冲刷实验及潮下带移植, 沙子的混合使粘附剂延迟溶解和提高稳定性及抗流能力。潮间带、潮下带移植及海藻场修复应用中水动力作用影响因素不可避免的对粘附剂及包封的受精卵产生影响^[12], 限制受精

卵有效附着^[13]。因此,大型海藻受精卵移植中强粘附性的人工粘附剂是至关重要且亟待攻克的技术壁垒,寻求强粘附性的人工粘附剂是本研究的重难点。

基于移植中粘附剂、受精卵受水动力作用影响研究的不足,本实验将着重水动力作用对粘附剂及其包封的铜藻受精卵附着的探究,并寻求黏性大、抗流性能强的粘附剂。本实验选取海藻酸钠、喷涂 3%CaCl₂溶液的海藻酸钠和超支化聚合物粘附剂(HBPA)3种材料分别包封铜藻受精卵,在室内通过涂覆在砖块基质上用不同功率潜水泵冲击粘附剂,筛选耐水流冲击和使铜藻受精卵附着数量高的粘附剂;随后将3种包封受精卵的粘附剂涂覆在砖块上移植到潮间带不同波浪强度区域进行实验,检验粘附剂在不同水动力作用强度下抗冲击能力,筛选最适宜室外移植的粘附剂。最终包封技术将应用在潮间带自然岩礁的涂覆移植和人工鱼、藻礁的潮下带移植。本研究将为浙江沿岸铜藻场生态修复和大型海藻基于受精卵阶段的水下移植提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 室内实验

1.1.1 受精卵收集

在浙江舟山枸杞岛后头湾(30°43'42"N, 122°47'0"E)贻贝养殖筏架采集成熟铜藻雌雄植株,迅速运往室内,放入养殖池充气培养,待卵受精挂托后取出,在水桶中漂洗震荡使受精卵从生殖托上脱落,使用18和30目筛网过滤水中杂质,200目筛网收集受精卵,将清除杂质收集到的受精卵放置到添加过滤海水的烧杯中,制成受精卵海水溶液(下称:受精卵液)。

1.1.2 制备粘附剂和包封受精卵

选取海藻酸钠(阿拉丁生化)和超支化聚合物粘附剂(HBPA,天津大学刘文广教授团队提供)进行实验。将海藻酸钠与海水(水温(20±2.5)℃,盐度30±2)混合倒入破壁机(Midea, MJ—WBL8005P)中制备4%海藻酸钠粘附剂;用海水和无水氯化钙(纯度:96.0%;阿拉丁生化)制备3%CaCl₂溶液装入喷雾壶中;HBPA(20℃,黏度为3.2×10⁵mpa·s)解冻使用。每块实验砖使用20g海藻酸钠粘附剂与1mL受精卵液,混合搅拌刷涂在砖上;在涂抹海藻酸钠粘附剂基础上每砖喷涂约3mL 3%CaCl₂溶液^[14];HBPA粘附材料在每块实验砖上涂抹1.5g,涂抹后在其表面均匀涂覆1mL受精卵液。

1.1.3 流速实验

实验使用功率6W(500L/h),15W(1000L/h),23W(1500L/h),55W(2000L/h),85W(3000L/h)五种潜水泵(森森水族牌,型号为XQP-500、XQP-1000、XQP-1500、HQB-3000、HQB-3500)冲击粘附剂包封的受精卵;根据功率大小将潜水泵分成五组,每组并排5个(图1)。使用砖块(13×12cm²)作为基质(下称:实验砖)。实验用水经过滤棉筛滤和沉淀后注入池中;实验期间光暗周期14L:10D^[15],光强(2500±500)Lux;水温(20±3)℃。



图1 潜水泵及封闭水道(部分)

Fig.1 Submersible pump and closed water channel(part)

海藻酸钠粘附剂包封受精卵的水动力作用实验:将混合包封受精卵的海藻酸钠粘附剂均匀涂抹在实验砖

上(20g/132cm²),静置 30min 放入水池,潜水泵出水口相距 50cm,冲击 7d 后记录附着数量。每 24h 记录粘附剂剩余面积。受精卵液浓度为 2.1×10^4 个/mL。

喷涂 3% CaCl₂ 溶液的海藻酸钠粘附剂包封受精卵的水动力作用实验:将粘附剂涂抹在砖上后喷涂 3% CaCl₂ 溶液,静置 30min,待粘附剂固化后放入水池浸泡 24h,随后使用潜水泵冲击。每 24h 记录粘附剂剩余面积,7d 后记录附着数量。受精卵液浓度同上。

HBPA 包封受精卵的水动力作用实验:HBPA 均匀涂抹在实验砖上(1.5g/132cm²),静置 5min 使其酒精等物质挥发,随后将受精卵涂抹在材料表层,受精卵液浓度为 7.8×10^4 个/mL,放入水池冲击 7d 取出计数,每 24h 记录剩余面积。

1.2 室外(潮间带)移植实验

室外实验于 2022 年 5 月在浙江舟山枸杞岛潮间带(30°43'51"N, 122°47'20"E)大潮期间最低潮位进行;根据风浪大小选取 3 个(S₁、S₂、S₃)水深 1.5m 的站点。在室内将 4mL 铜藻受精卵液(浓度: 4.2×10^4 个/mL)与 50g 4%海藻酸钠粘附剂混合涂抹在实验砖(24×13cm)上,共 6 块,其中 3 块喷涂 3%CaCl₂ 溶液使;每砖涂抹 3g HBPA 后静置 5min 再均匀喷洒 4mL 受精卵液,共 3 块。随后用保温箱(4±2)℃将实验砖运至潮间带站点,根据材料不同分成 3 组每组 3 块投放在站点,30d 后取回观察附着情况、测量株高并计数。

1.3 水动力作用测量

水在外力影响下产生表层运动^[16],所引起的波浪作用对近岸潮间带生物群间接和直接水动力作用效应被归为“波浪暴露(Wave exposure)^[17–20]或暴波强度(Exposure intensity)^[21]”。本实验中水动力作用强度将用暴波指数表示。使用石膏块法测量潜水泵和室外站点暴波强度^[21–22],通过计算石膏损失量得到潜水泵和站点受水动力作用影响的相对值。暴波强度指数计算公式为:

$$EI = W_1 \times T_2 / W_2 \times T_1$$

式中 EI 为暴波指数(无量纲); W_1 为石膏块放置在现场的质量损失(g); W_2 为石膏块放置在静水的质量损失(g); T_1 为现场放置石膏块的时间(h); T_2 为静水放置石膏块的时间(h)。

1.4 数据处理

使用 SPSS Statistics 26 软件采用单因素方差(One-way ANOVA)和多重比较(LSD)对上述实验数据进行统计分析,以 $P < 0.05$ 表征差异显著, $P < 0.01$ 表征差异极显著;使用 Origin 2021 软件制描述性统计图,描述性统计值使用平均值±标准误差(mean±SE)表示。铜藻受精卵附着的观察计数和拍摄图片,分别使用 Nikon-SMZ645 显微镜和 Phenix XSP-02-640X 显微镜。

2 结果

2.1 室内水动力作用实验结果

经过 7d 室内水流冲击后,海藻酸钠粘附剂、喷涂 3%CaCl₂ 溶液的海藻酸钠粘附剂和 HBPA 材料包封下铜藻受精卵附着密度和粘附剂剩余面积均存在不同程度的差异(图 2),具体实验结果如下。

2.1.1 海藻酸钠粘附剂实验结果

经 7d 冲击后,受精卵附着密度均低于 20 个/cm²;其中暴波指数最低($EI:3.9$)的 6W 组冲击下密度最高为 13.84 个/cm²,极显著($P < 0.01$)高于 23W、55W、85W 组;暴波指数最高($EI:8.4$)的 85W 组的受精卵附着密度仅 0.36 个/cm²。静水(对照组)中密度达 80.6 个/cm²。结果表明,水动力作用越小对受精卵附着越有利。粘附剂面积损失中,24h 未到 85W 组的粘附剂剩余为 0,除 6W 组外其余组剩余面积均低于 50%;3d 时 55W 组剩余面积为 0cm²,6W 组面积下降迅速;5d 时仅 6W 组平均剩余 7.55cm²,其余组均为 0;7d 时实验砖上的粘附剂全部被冲散(图 3)。对照组的粘附剂从第 5d 开始加速溶解,7d 内平均损失 17.45cm², (13 ± 1) d 后完全溶解(随后进行附着量记录)。

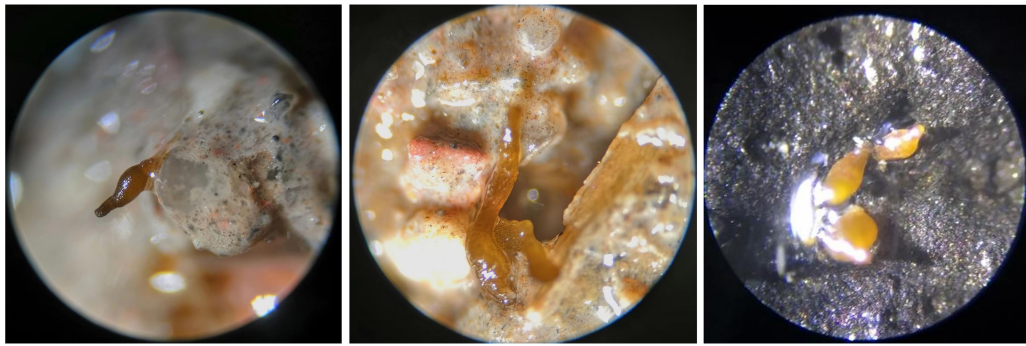


图 2 不同材料包封下铜藻受精卵的生长

Fig.2 Grow of *Sargassum h. zygotes* encapsulated with different materials

从左往右依次是,海藻酸钠粘附剂包封;喷涂 3%CaCl₂溶液的海藻酸钠粘附剂包封;HBPA;超支化聚合物粘附剂包封

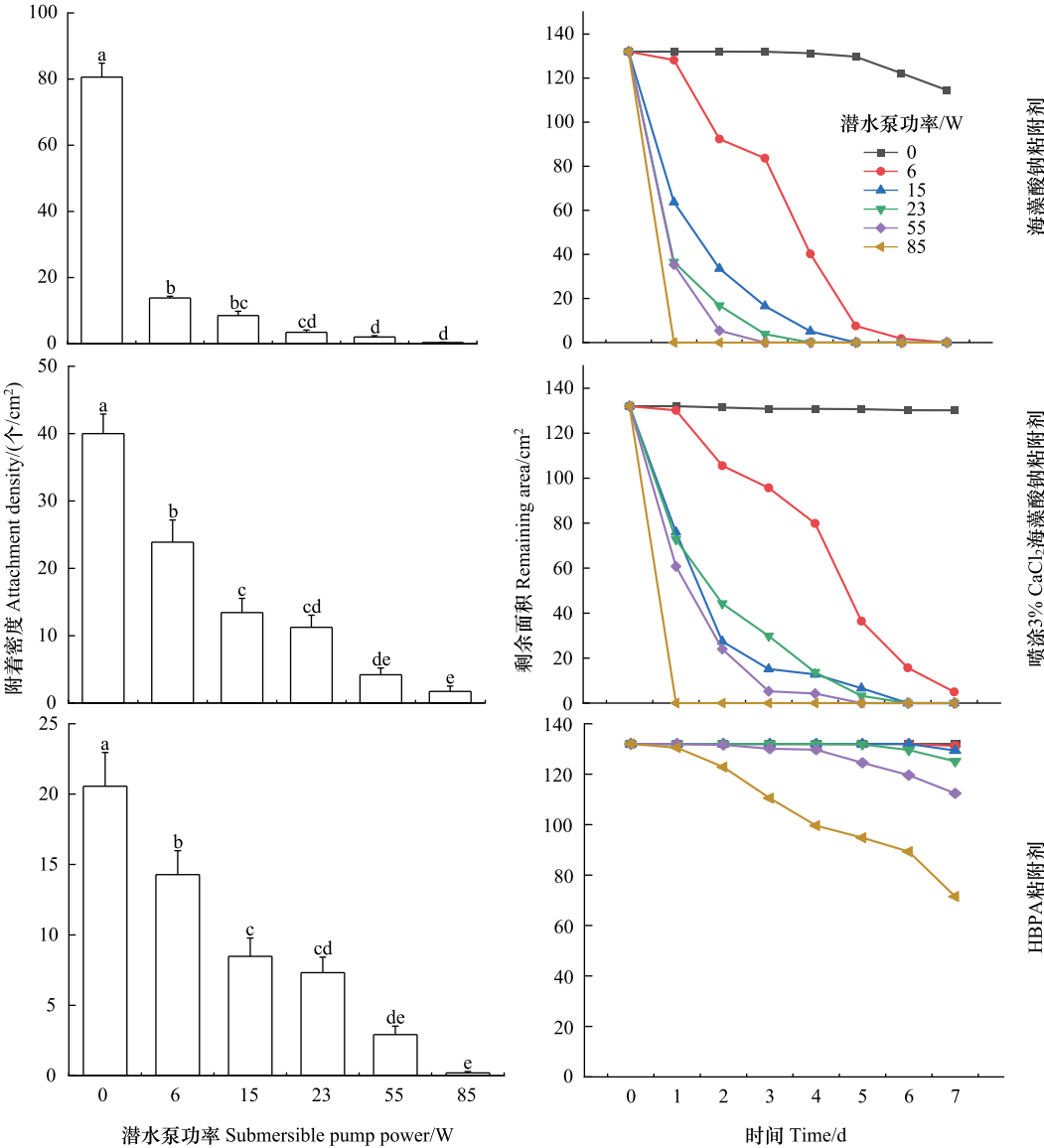


图 3 不同水流强度下铜藻受精卵附着密度及粘附剂剩余面积

Fig.3 *Sargassum h. zygotes* settlement density and remaining area of adhesive under different flow intensity

不同小写字母表示在不同潜水泵功率间附着密度差异显著 ($P<0.01$)

2.1.2 喷涂 3%CaCl₂溶液的海藻酸钠粘附剂实验结果

海藻酸钠粘附剂喷涂 3%CaCl₂溶液后迅速固化,材料表面形成黏连紧密的固化膜紧密包封铜藻受精卵。7d 后,暴波指数最低(*EI*:3.9)的 6W 组附着密度最大,均极显著($P<0.01$)高于 15W、23W、55W 和 85W 组。说明水动力作用越小,铜藻受精卵附着密度越高。对照组中,由于粘附剂溶解脱落时呈不规则小片状且其中包封少量未及时附着的受精卵,因此附着密度仅 40 个/cm²。分析说明,喷涂 3%CaCl₂溶液有助于提高海藻酸钠粘附剂包封力度、抗冲击能力和增加受精卵附着数量。粘附剂剩余面积中,1d 时 85W 组的粘附剂被完全冲散,除 55W 水动力作用组外其余平均剩余面积均高于 50%;3d 各组平均剩余面积为 95.73cm²、15.14cm²、29.82cm²、5.27cm²、0cm²;5d 时 55W 组无粘附剂;7d 时仅 6W 组的粘附剂有少量剩余(4.96cm²)外,其余组面积为 0cm²(图 3)。7d 内对照组粘附剂仅损失 1.83cm²(等完全溶解后记录附着量)。

2.1.3 HBPA 实验结果:

经 7d 培养,对照组铜藻受精卵附着密度为 20.56 个/cm²,极显著($P<0.01$)高于实验组。在实验组中,6W 组附着密度极显著($P<0.01$)高于 15W、23W、55W 和 85W 组;暴波指数最高(*EI*:8.4)的 85W 组受精卵附着密度仅为 0.2 个/cm²。结果说明,水动力作用越强,铜藻受精卵附着密度越低(图 3);即便粘附性强的粘附剂,也无法抵御强水流条件,受精卵附着量也低。由于 HBPA 黏度大,降溶解较慢,面积损失较少。对照组中 HBPA 面积无变化;各实验组中 HBPA 平均损失分别为 0.8cm²、2.6cm²、6.9cm²、10.6cm²和 31.3cm²,其中 85W 组损失最高。结果说明 HBPA 相比海藻酸钠粘附剂有强韧的抗流性能,在人工海藻场修复和营造底栖生物栖息地中有望成为首选的粘附剂。

2.2 室外移植实验

2.2.1 室外站点水动力作用测量结果

每个站点放置 4 个石膏块,24h 后回收称重(图 4)。经测量 S₁ 站点暴波强度指数为 6.6,极显著($P<0.01$)高于 S₂(*EI*:5.0)和 S₃(*EI*:4.0)站点(图 5)。



图 4 水动力作用测量、潮间带移植及铜藻附着

Fig.4 Water motion measurement, Intertidal transplantation and *Sargassum h.* attached

2.2.2 铜藻受精卵室外移植结果

S₁ 站点实验砖上,海藻酸钠粘附剂包封的受精卵未见附着,HBPA 和喷涂 3%CaCl₂溶液的海藻酸钠包封的受精卵附着数量都为 1 株;S₂ 站点 HBPA 和喷涂 3%CaCl₂溶液的海藻酸钠包封的受精卵附着数量分别为 14 株和 1 株,海藻酸钠包封的未见附着;S₃ 站点 HBPA 包封的附着数量为 66 株,喷涂 3%CaCl₂溶液的海藻酸钠包封的为 61 株,附着数量最少的是海藻酸钠,为 14 株(图 5)。生长 1 月后,每种粘附剂组随机取 10 株铜藻测量。在 HBPA 材料包封下的铜藻受精卵平均株高为 0.35cm,喷涂 3%CaCl₂溶液的海藻酸钠包封下的受精卵平均株高为 0.28cm,海藻酸钠包封的受精卵平均株高为 0.18cm(图 5);3 种粘附剂包封的铜藻受精卵平均日增长率分别为 1.12%、0.93%、0.6%。以上数据初步说明,HBPA 抵御水动力作用冲击的能力优于海藻酸钠粘附剂,且包封受精卵有较高的生长速率,有助于铜藻受精卵的高效附着和生长。

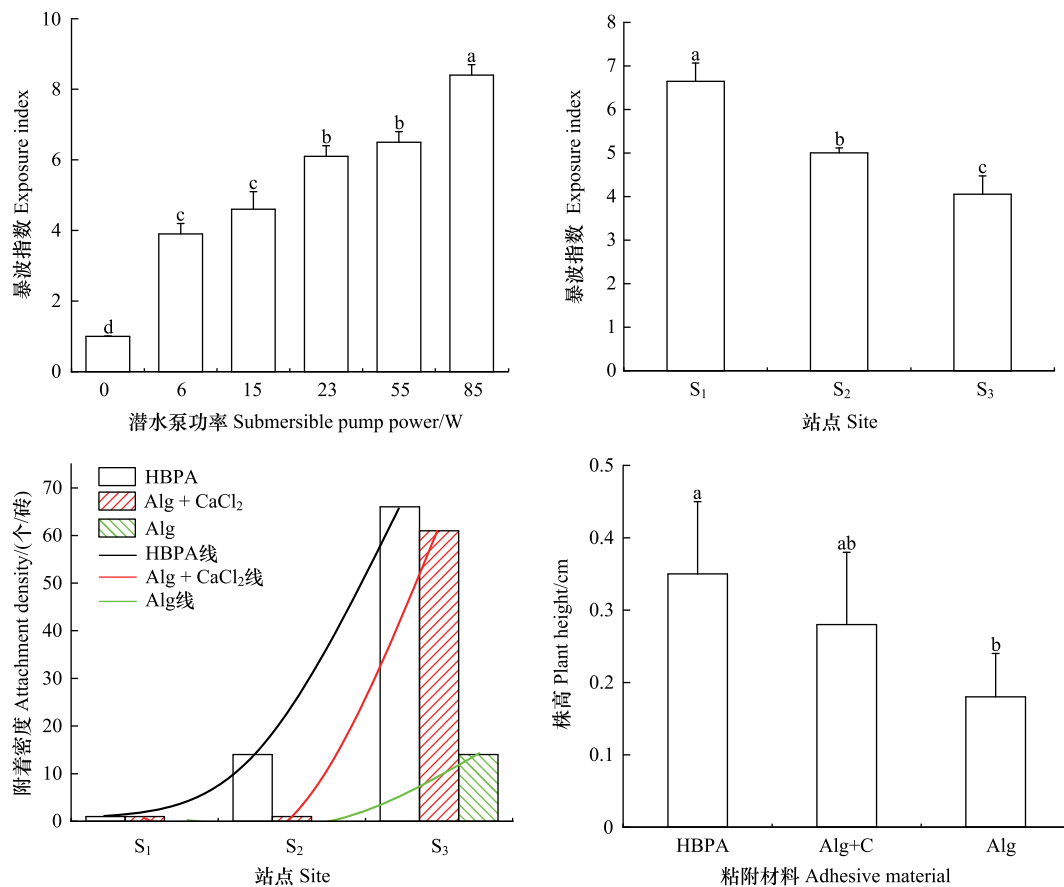


图5 室内水动力作用指数、潮间带水动力作用指数、铜藻附着数量及平均株高

Fig.5 Indoor water motion index, Intertidal water motion index, *Sargassum h.* attachments number and average plant height

其中图内 HBPA: 为超支化聚合物粘附剂; Alg+C: 为喷涂 3%CaCl₂ 溶液的海藻酸钠粘附剂; Alg: 为海藻酸钠粘附剂

3 讨论

3.1 粘附剂对铜藻受精卵成活的影响

为了提高大型海藻受精卵水下粘附力和成活率,近年来提出许多固定化技术^[23-27],比如多糖包封已发展为最有前途的移植固定方法^[28],而多糖中的海藻酸钠凝胶珠和黏液包封是迄今为止最通用的手段。海藻酸钠作为安全无毒的固定化基质允许不同类型的微小生物被包封生长^[29-30],且能应用到益生菌^[31]、微藻^[32]等真核原核细胞上,并已被证明在外界渗透胁迫、冷休克、透明度和其他形式的污染等不利条件下包封有效性^[24]。静水培养发现海藻酸钠包封受精卵附着生长效果良好,喷涂 3%CaCl₂ 溶液后,受精卵附着量和成活率有所提高,海藻酸钠的使用验证了包封和固定化的有效性。由于海藻酸钠粘附剂的易获取性、制备简便、成本低廉、便于运输储存等优势,当前被用到受精卵包封研究并小规模应用到水下移植,粘附剂在包封微藻清理污染及大型藻类受精卵水下移植应用中具有广阔发展前景^[33-34],但本研究发现海藻酸钠粘附剂在外界环境胁迫下粘附性能不稳定^[35],应用到潮间带移植时附着成活效果不明显。实验发现 HBPA 与水接触时能快速强粘附,HBPA 溶降解速率比海藻酸钠慢,黏性优于海藻酸钠,但 HBPA 的强粘附性和低溶降解速率导致受精卵在有效成活时间内无法正常萌发生长;当 HBPA 应用到潮间带移植时,外界水动力环境影响下加速了粘附剂的溶降解,使受精卵在有效附着时间内成功抓牢附着基质,提高了受精卵附着效率和成活率,HBPA 的强粘附性能使其成为潮间带移植的优选粘附剂。基于 HBPA 的粘附特性,将来大型海藻移植中粘附剂的筛选首先具备高粘附强度性能,粘附剂的粘附基团在水下能够与被粘附物(海藻受精卵、附着基质等)之间的相互作用

用增强,能实现水下稳定粘附并抵抗高波浪能的海流冲击。

3.2 水动力作用对材料粘附力的影响

风力是形成海洋表层水动力的首要因素,海水涌动产生的波浪力^[36]对潮间带和潮下带生物尤其是大型海藻受精卵的影响较大,包括损伤、分离和位移^[37-38]等,在强波浪力作用下以及海水污染、浊度高、沉积物多等限制海藻受精卵粘附附着的因素下,导致藻场退化,底栖生物栖息地近年来急速锐减。Kamohara S 等^[11]使用海藻酸钠粘附剂混合沙子包封爱氏藻(*Eisenia arborea* Areschoug)受精卵涂覆在水槽底部进行水动力作用冲击(流速:6cm/s)粘附剂,并在潮下带进行海藻受精卵移植和区域性小面积的藻场修复。这是较早的水动力作用对粘附剂影响研究和实际应用,但对粘附剂在潮间带抗流冲击研究的完整度还有所欠缺,且未解决提高粘附剂粘附力问题。基于此本研究为海藻酸钠粘附剂喷涂 3%CaCl₂溶液使粘附力增强,在室内设置不同梯度组的水动力作用产生波浪作用,以及在潮间带选择不同水动力作用强度的站点测试粘附剂的抗流能力。通过水动力作用发现海藻酸钠在 5 组水动力作用冲击下损失差异较大,微流速下粘附剂有较长时间的粘附能力;当水动力作用输出达 3000L/h 时粘附剂的粘附作用就无法体现,受精卵也未见附着;潮间带移植中,水动力作用最低的站点仅有 14 株受精卵附着成活,由此说明海藻酸钠粘附剂适宜在水动力作用低于 4(EI)的潮间带环境使用。海藻酸钠喷涂 3%CaCl₂溶液后粘附力增强,材料内部结构黏连紧密,在微流冲击下粘附剂的粘附效果显著,当水动力作用输出量大时粘附力虽弱,但附着密度比海藻酸钠粘附剂高;潮间带移植中有 61 株成活,表明 3%CaCl₂溶液有助于粘附剂提高粘附力,且实验证明粘附剂适用于水动力作用高于 4(EI)低于 5(EI)的潮间带海域。通过水动力作用冲击发现海藻酸钠粘附剂有低稳定度、高孔隙率的局限性,海水中的磷酸盐或柠檬酸盐对钙具有很高的亲和力,将交联的钙离子隔离从而使海藻酸钠粘附剂在水下不稳定^[39];高孔隙率会导致粘附剂内部黏连不紧密,黏度较低,水中易分溶解,高孔隙率的缺陷在水动力作用作用下极易被冲散。海藻酸钠粘附剂在喷涂 3%CaCl₂溶液后粘附力、包封力和抗冲击能力都有所提高,但水动力作用强度大于 5(EI)时粘附剂抗流性能显著下降。HBPA 在室内高强度水动力作用冲击还有剩余,HBPA 展现强韧的粘附能力,在潮间带 S₂站点水动力作用影响下的附着量高于海藻酸钠,呈现强劲的抗流性能,移植效果显著。基于海藻场退化现状在宏观生境条件已无法逆转的情况下,通过使用诸如 HBPA 高粘附力的粘附剂微观辅助的方式使受精卵逐渐适应当前生境,并逐步提高大型海藻受精卵的粘附力和附着量以及呈规模化的移植,最后靠海藻自身繁殖能力实现种群恢复。

3.3 粘附剂在藻场移植修复中的应用

海藻场是海洋重要的初级生态系统^[40-41],在浙江省沿岸海域藻场受生物和非生物因素影响^[42],面积急剧下降,成规模藻场资源难以寻觅。研究表明,铜藻植株能生长到 200cm,生殖托怀卵量约 9.8×10^5 个/株^[43],但在自然条件下种群分布锐减,说明目前生境条件下依靠受精卵分泌的外披粘附黏液难以维系自然繁衍^[10],需要人为强化粘附能力。因此研究并测试海藻酸钠等粘附剂在水动力作用影响下的粘附力,使其高效应用到受精卵粘附移植上,并显著提高受精卵在自然海域硬底质基质上的粘附力^[44-45],增加附着数量。喷洒受精卵液、悬挂受精卵袋、苗绳附着、基质室内培养再移植等传统的移植方法受外在因素如水动力作用等影响效率低下且效果不显著,无法形成群体规模。因此,考虑到海藻栖息地的生存状况和传统移植修复方法的缺陷,且保证藻类可持续的生长,移植方法的优化和地点的选择成为生态修复中的关键节点。如:潮间带移植中,海藻酸钠粘附剂包封的受精卵可以选择在低海况条件下的背浪庇护区进行移植,此地水动力作用产生的波浪能对粘附剂和受精卵影响小,可将粘附剂刷涂或使用喷枪喷涂在潮间带岩礁壁上;在潮间带高海况和高波浪能的迎浪面可选用 HBPA 刷涂在岩礁基质上再喷洒受精卵液进行移植;移植时选择耐干出性能^[34]优良的藻种,如羊栖菜和鼠尾藻。潮下带移植中,可选以有性繁殖为主的铜藻或以营养繁殖的瓦氏马尾藻作为移植藻种,2 种藻类是浙江近岸潮下带适宜生长种,根据其生长特性制作受精卵和粘附剂混合的黏液,刷涂或喷枪喷涂在人工鱼礁或人工藻礁上投放在透明度较好的海区,或使用喷枪将黏液喷洒在移植海区的海面上通过自由沉降到海底岩礁基质上进行移植修复。

4 结论

研究表明,在水动力作用下,有粘附剂包封的铜藻受精卵成活率优于无包封的,粘附剂包封作用使铜藻受精卵附着能力增强,能进一步提高修复效果。基于大型海藻受精卵粘附功能,筛选出适宜规模化移植的粘附剂,能够广泛应用在海藻人工育苗、天然基质移植、人工礁体移植等领域,创建节约、高效和可持续的大型海藻受精卵混合黏液人工移植技术体系。研究结果将促进更高效人工粘附剂及移植方法的研发与应用,逐步推广高效、低成本的海藻场生态修复方法,恢复浙江沿岸受损的海藻场生态系统,同时也将为我国近岸岛礁区海藻场的生态修复建设和海洋碳汇提供技术支撑。

参考文献 (References):

- [1] Zhang K, Xu Y Y, Hua X F, Han H L, Wang J N, Wang J, Liu Y M, Liu Z. An intensified degradation of phenanthrene with macroporous alginate-lignin beads immobilized *Phanerochaete chrysosporium*. *Biochemical Engineering Journal*, 2008, 41(3): 251-257.
- [2] Zeeb B, Saberi A H, Weiss J, McClements D J. Formation and characterization of filled hydrogel beads based on calcium alginate: factors influencing nanoemulsion retention and release. *Food Hydrocolloids*, 2015, 50: 27-36.
- [3] Moreno-Garrido I. Microalgae immobilization: Current techniques and uses. *Bioresource Technology*, 2008, 99(10): 3949-3964.
- [4] Smidsrd O, Skja G. Alginate as immobilization matrix for cells. *Trends Biotechnol*, 1990, 8: 71-78.
- [5] Bartsch I. Derivation of clonal stock cultures and hybridization of kelps//*Protocols for Macroalgae Research*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2018.: CRC Press, 2018: 61-78.
- [6] Wang B, Zhang E D, Gu Y, Ning S X, Wang Q H, Zhou J T. Cryopreservation of brown algae gametophytes of *Undaria pinnatifida* by encapsulation-vitrification. *Aquaculture*, 2011, 317(1/2/3/4): 89-93.
- [7] Kerrison P D, Innes M, MacLeod A, McCormick E, Elbourne P D, Stanley M S, Hughes A D, Kelly M S. Comparing the effectiveness of twine- and binder-seeding in the Laminariales species *Alaria esculenta* and *Saccharina latissima*. *Journal of Applied Phycology*, 2020, 32(4): 2173-2181.
- [8] Jung S M, Lee J H, Lee H J, Jeon J Y, Park T H, Yoon J H, Shin H W. The growth of alginate-encapsulated macroalgal spores. *Aquaculture*, 2018, 491: 333-337.
- [9] Jung S M, Lee J H, Han S H, Jeon W B, Kim G Y, Kim S, Kim S, Lee H R, Hwang D S, Jung S, Lee J, Shin H W. A new approach to the restoration of seaweed beds using *Sargassum fulvellum*. *Journal of Applied Phycology*, 2020, 32(4): 2575-2581.
- [10] 毕远新, 苗航, 王惠杰, 杨起帆. 基于孢子粘附功能的大型海藻生态修复技术研究. *水生生物学报*, 2022, 46(2): 160-167.
- [11] Kamohara S, Fuseya M, Yanagisawa T, Hattori K. The method of plantation of *Eisenia Arborea Areschoug*, sagaram on the rocky shore by using the sol with the sporophyte, sodium alginate and sand. *Journal of Fisheries Engineering*, 2007, 43: 201-206.
- [12] Mols-Mortensen A, Ortind E A G, Jacobsen C, Holdt S L. Variation in growth, yield and protein concentration in *Saccharina latissima* (Laminariales, Phaeophyceae) cultivated with different wave and current exposures in the Faroe Islands. *Journal of Applied Phycology*, 2017, 29(5): 2277-2286.
- [13] Kerrison P D, Stanley M, De Smet D, Buyle G, Hughes A. Holding (not so) fast: surface chemistry constrains kelp bioadhesion. *European Journal of Phycology*, 2019, 54: 291-299.
- [14] Chen Y C. Immobilized microalga *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyta, Chlorococcales) for long-term storage and for application for water quality control in fish culture. *Aquaculture*, 2001, 195(1/2): 71-80.
- [15] 张婧, 严兴洪, 章守宇. 铜藻受精卵的早期发生与幼孢子体发育观察. *水产学报*, 2012, 36(11): 1706-1716.
- [16] Terrados J, Duarte C M. Experimental evidence of reduced particle resuspension within a seagrass (*Posidonia oceanica* L.) meadow. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2000, 243(1): 45-53.
- [17] 毕远新, 张亚洲, 丰美萍, 梁君, 王洋, 王伟定. 渔山列岛海藻场空间分布格局及成因分析. *浙江海洋大学学报: 自然科学版*, 2017, 36(5): 373-378.
- [18] Augyte S, Yarish C, Redmond S, Kim J K. Cultivation of a morphologically distinct strain of the sugar kelp, *Saccharina latissima* *Forma angustissima*, from coastal Maine, USA, with implications for ecosystem services. *Journal of Applied Phycology*, 2017, 29(4): 1967-1976.
- [19] Bak U G, Mols-Mortensen A, Gregersen O. Production method and cost of commercial-scale offshore cultivation of kelp in the Faroe Islands using multiple partial harvesting. *Algal Research*, 2018, 33: 36-47.
- [20] Forbord S, Steinhovden K B, Solvang T, Handa A, Skjermo J. Effect of seeding methods and hatchery periods on sea cultivation of *Saccharina latissima* (Phaeophyceae): a Norwegian case study. *Journal of Applied Phycology*, 2020, 32(4): 2201-2212.

- [21] Visch W, Larsson A I, Aberg P, Toth G B. Adherence of kelp (*Saccharina latissima*) gametophytes on ropes with different binder treatments and flow regimes. *Journal of Applied Phycology*, 2023, 35(1): 195-200.
- [22] 吴祖立. 热带气旋对浙江嵊泗海洋牧场重要生境的影响研究——以典型热带气旋事件为例[D]. 上海:上海海洋大学, 2020.
- [23] Heo S J, Jeon Y J. Antioxidant effect and protecting effect against cell damage by enzymatic hydrolysates from marine algae. *Food Industry and Nutrition*, 2005, 10(1): 31-41.
- [24] Thu, B. Alginate gels—Some structure-function correlations relevant to their use as immobilization matrix for cells. *Progress in Biotechnology*, 1996: 19-30.
- [25] Thepenier C, Gudin C, Thomas D. Immobilization of *Porphyridium cruentum* in polyurethane foams for the production of polysaccharide. *Biomass*, 1985, 7(3): 225-240.
- [26] Mitropoulou G, Nedovic V, Goyal A, Kourkoutas Y. Immobilization technologies in probiotic food production. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2013, 2013: 716861.
- [27] Lefevre, Mathilde F, Patrick A, Sesilja L, Markus B.S, Thomas H, Martin L, Maxime S, Mathieu T, Lionel W, Ruddy L, Philippe H, Elise. Sea star-inspired recombinant adhesive proteins self-assemble and adsorb on surfaces in aqueous environments to form cytocompatible coatings. *Acta biomaterialia*, 2020, 112(1): 62-74.
- [28] Pane L, Feletti M, Bertino C, Carli A. Viability of the marine microalga *Tetraselmis suecica* grown free and immobilized in alginate beads. *Aquaculture International*, 1998, 6(6): 411-420.
- [29] Colinet D, Schmitz A, Depoix D, Crochard D, Poirié M. Convergent use of RhoGAP toxins by eukaryotic parasites and bacterial pathogens. *PLoS Pathogens*, 2007, 3(12): e203.
- [30] Fletcher R L, Callow M E. The settlement, attachment and establishment of marine algal spores. *British Phycological Journal*, 1992, 27(3): 303-329.
- [31] Moreno-Garrido I, Campana O, Lubián L M, Blasco J. Calcium alginate immobilized marine microalgae: experiments on growth and short-term heavy metal accumulation. *Marine Pollution Bulletin*, 2005, 51(8/9/10/11/12): 823-829.
- [32] 周卫征, 霍书豪, 朱顺妮, 尚常花, 秦磊, 王忠铭, 谢君. 微藻固定化技术及其在资源化中应用. *可再生能源*, 2011, 29(4): 90-94.
- [33] 武双全. 东中国海波高分布特征研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
- [34] Gaylord B, Blanchette C A, Denny M W. Mechanical consequences of size in wave-swept algae. *Ecological Monographs*, 1994, 64(3): 287-313.
- [35] Dalby D H, Cowell E B, Syrratt W J, Crothers J H. An exposure scale for marine Shores in western Norway. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1978, 58(4): 975-996.
- [36] Menge B A, Sutherland J P. Community regulation: variation in disturbance, competition, and predation in relation to environmental stress and recruitment. *The American Naturalist*, 1987, 130(5): 730-757.
- [37] Denny M. Predicting physical disturbance: mechanistic approaches to the study of survivorship on wave-swept Shores. *Ecological Monographs*, 1995, 65(4): 371-418.
- [38] Ballantine W J. A biologically-defined exposure scale for the comparative description of rocky shores. *Field Studies*, 1961, 1: 1-19.
- [39] Vogel S. Drag and flexibility in sessile organisms. *American Zoologist*, 1984, 24(1): 37-44.
- [40] Norton T A. The resistance to dislodgement of *Sargassum muticum* germlings under defined hydrodynamic conditions. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1983, 63(1): 181-193.
- [41] 章守宇, 孙宏超. 海藻场生态系统及其工程学研究进展. *应用生态学报*, 2007, 18(7): 1647-1653.
- [42] Davenport J, Mann K H, Lazier J R N. Dynamics of marine ecosystems: biological—physical interactions in the oceans. *The Journal of Ecology*, 1992, 80(3): 580.
- [43] 孙建璋, 庄定根, 陈万东, 郑海羽, 林力, 逢少军. 铜藻 *Sargassum horneri* 繁殖生物学及种苗培育研究. *南方水产*, 2008, 4(2): 6-14.
- [44] Brawley S H, Johnson L E. Survival of fucoid embryos in the intertidal zone depends upon developmental stage and Microhabitat. *Journal of Phycology*, 1991, 27(2): 179-186.
- [45] Brown M T. Effects of desiccation on photosynthesis of intertidal algae from a southern New Zealand shore. *botm*, 1987, 30(2): 121-128.