



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103651095 B

(45) 授权公告日 2015.03.11

(21) 申请号 201310736212.1

(22) 申请日 2013.12.26

(73) 专利权人 安徽理工大学

地址 232001 安徽省淮南市舜耕中路 168 号

(72) 发明人 许亚峰 王传礼

(51) Int. Cl.

A01G 33/00(2006.01)

(56) 对比文件

CN 1089427 A, 1994.07.20, 全文.

CN 1094214 A, 1994.11.02, 全文.

CN 1341349 A, 2002.03.27, 全文.

KR 10-0901987 B1, 2009.06.08, 全文.

CN 1561691 A, 2005.01.12, 全文.

CN 1865433 A, 2006.11.22, 全文.

CN 101120650 A, 2008.02.13, 全文.

CN 101720661 A, 2010.06.09, 全文.

CN 102657070 A, 2012.09.12, 全文.

CN 102771377 A, 2012.11.14, 全文.

JP 特开 2002-238401 A, 2002.08.27, 全文.

费修铤等. 海藻栽培—传统方式及其改造途径. 《海洋与湖沼》. 2000, 第 31 卷 (第 5 期), 第 555 ~ 580 页.

陈百尧等. 羊栖菜孢子体人工育苗试验. 《现代渔业信息》. 1999, 第 14 卷 (第 11 期), 第 26 ~ 28, 32 页.

李卫东等. 蜈蚣藻属海藻的应用及人工养殖前景展望. 《河北渔业》. 2012, (第 11 期), 第 48 ~ 54 页.

张沛东等. 海草植株移植方法的研究进展. 《海洋科学》. 2013, 第 37 卷 (第 5 期), 第 100 ~ 107 页.

王金霞等. 大型海藻无性系微球体构建和反应器培养研究. 《海洋科学》. 2011, (第 2 期), 第 17 ~ 21 页.

审查员 李平

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

一种大规模海藻育苗以及移植方法

(57) 摘要

本发明涉及一种大规模海藻育苗以及移植方法,其步骤是:选定适合海草生长的围堰池场地并修建围堰池,通过成体海草移栽和海草种子播种的形式在选定的围堰池内进行人工海草场的构建;定期对围堰池内构建的海草场进行跟踪观测,并进行补植成体海草或补种海草种子;待到围堰池海藻种苗库构建完毕并达到稳定状态,从围堰池种苗库内采集成体海草或海草种子进行海草植株移植。

1. 一种大规模海藻育苗以及移植方法,其步骤是:

(1) 选定适合海草生长的围堰池场地并修建围堰池,围堰池场地要求底质细沙粒径为 0.02 ~ 80 微米,厚度在 12 厘米以上,细沙的有机质含量 2%;每月至少有 24 天可以在海潮高潮期间进水,最高水温不能超过 30℃,且水温 30℃持续时间不能超过 10 天;

(2) 海藻育苗:在孢子成熟后,定期从海中取健康成熟的四分孢子体海藻,每棵约 500g,去其侧枝,在自来水下冲洗并用毛刷清除其表面污物,然后将清洗过的藻体用灭菌海水冲洗二次,再切成 5cm 左右藻段,装入 6 个预先灭菌含有 400ml 海水盐度 32‰的 500ml 锥形瓶中,将锥形瓶封口后置于培养箱中,在 26℃,200  $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  光强,光照时间 14h/d 条件下培养 2d;培养过程中每隔 3h 摇晃 1 次,培养两天后的海水依次用 50  $\mu\text{m}$  和 10  $\mu\text{m}$  网孔筛绢过滤,过滤完后以 40ml 灭菌过的 f/2 培养基将孢子从 10  $\mu\text{m}$  网孔筛绢上冲洗到烧杯中,每瓶海藻得到 20ml 左右孢子液;选取直径 6cm 培养皿,其内放置 3 个盖玻片,盖玻片连同培养皿灭菌处理,将收集的孢子液转入到灭菌培养皿中,每个培养皿中倒入 10ml 孢子液,放入培养皿中的盖玻片用于后续孢子生长观察,在温度 26℃,盐度 32‰,100  $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  光强,光照时间 14h/d 条件下培养孢子,每 5d 更换一次灭菌的 f/2 培养液,观察孢子萌发情况,当孢子培养至 42d 时,将已可用肉眼观察到的配子体苗全部移入到 100ml 锥形瓶中,每瓶放入 f/2 培养液 40ml 和孢子苗 10 株,每天摇晃 3-4 次,培养光强增加到 400  $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,其它培养条件同上,孢子苗培养至 60d 移入 500ml 锥形瓶含 300ml f/4 培养液,每瓶不超过 20 个孢子苗,在上述培养条件基础上增加光强至 800  $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  并每天通气 0.5h 孢子苗培养至 160d,取长势较好的孢苗株下海挂养,水深 25cm,株间绳间距 15cm,将诱导出的长 3-5mm 的芽置于盛海藻酸钠 +MS+ 蔗糖 +IBA110mg/L+6-BA015mg/L 的凝胶液中,无菌条件下,用滴管将含有芽的凝胶滴入  $\text{CaCl}_2$  中进行固化反应,20min 后取出,用无菌蒸馏水漂洗 5 次,终止反应即得海藻人工种子;

(3) 通过成体海草移栽和海草种子播种的形式在选定的围堰池内进行人工海草场的构建;

(4) 定期对围堰池内构建的海草场进行跟踪观测,并进行补植成体海草或补种海草种子;

(5) 待到围堰池海藻种苗库构建完毕并达到稳定状态,从围堰池种苗库内采集成体海草或海草种子进行海草植株移植;

(6) 海草植株移植:通过 PVC 管空心工具,采集一定单位体积的圆柱体、长方体或其他不规则体的草块作为 PU,并在移植区域海底挖掘与 PU 同样规格的“坑”,将 PU 放入后压实四周底泥;或指利用铁铲工具将 PU 的根状茎掩埋于移植海区底质中的一种植株移植方法;或采用框架法,框架由钢筋焊接而成,且框架内部放置砖头重物作为沉子,将 PU 绑缚于框架之上,然后直接抛掷于移植海域,PU 与框架之间的绑缚材料采用可降解材料;或采用挂网法:将 PU 的叶鞘部分夹系于网格或绳索物体的间隙,然后将网格或绳索固定于移植海域海底。

## 一种大规模海藻育苗以及移植方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及种苗库的构建方法,尤其涉及一种大规模海藻育苗以及移植方法。

### 背景技术

[0002] 海草是海洋单子叶被子植物,全世界海草分 6 科 14 属,共 66 种,已知中国海区有 10 属 20 种(如大叶藻 *Zosteramarina*L、丛生大叶藻 *Zosteracaespitosa*Miki、日本大叶藻 *Zostera japonica* Ascherson&Graebner、红须根虾形藻 *Phyllospadix iwatensis* Makino)。海草分布面积占全球海洋面积的 0.1%~0.2%,在热带、温带和北极圈地区均有海草生长。海草场、珊瑚礁和红树林是三大典型海洋生态维护系统,可以稳定海底底质,缓解海浪对沿岸的侵蚀,改善水质,提供重要初级生产力,为次级生物消费者提供食物网支撑,为经济水产动物提供栖息地和保障沿海旅游业健康发展,对维护近岸海洋生态系统的健康发展,保护沿海渔业资源具有重要作用。而全球气候变化和海洋过度开发导致的包括海草场生态系统在内的海洋生态环境恶化和局部海洋生态失衡,已在全球范围内越来越多地引起各国政府、研究机构和科研院校的关注。

[0003] 沉水植物是淡水生态系统尤其是浅水湖泊生态系统的主要成员,在维持水生生态系统的结构和功能及生物多样性方面执行非常重要的作用。由于水体污染和渔业养殖过度,沉水植物群落普遍退化或消失,随之造成整个水生生态系统功能的普遍退化,常引起水华暴发,严重妨害了工农业生产和人民健康。沉水植物的恢复成为水污染综合治理的关键环节。由于大多沉水植物种子难以获得,当水体的植物种子库受到严重破坏时,水生植被的恢复工程不可避免对水生植物种苗有大量需求。目前水生植被恢复工程的种苗都是从自然水体捞取,这就对种源地的植物种群造成了破坏。此外,种苗的获得也会受到季节所限。利用人工种子技术,可避免对种源地植物资源的破坏,且操作简易。菹草 (*Potamogeton crispus* L1) 是我国常见的沉水植物,有较好的耐污能力和除污能力,常作为水生植被重建工程首选的先锋植物。

### 发明内容

[0004] 本发明要解决的技术问题是:本发明提供一种为海草场生态修复工程提供可供移栽的海草种子、幼苗及成体海草的海草种苗库系统的构建方法。

[0005] 本发明解决技术问题的技术方案是:

[0006] 一种大规模海藻育苗以及移植方法,其步骤是:

[0007] (1) 选定适合海草生长的围堰池场地并修建围堰池,围堰池场地要求底质细沙粒径为 0.02~80 微米,厚度在 12 厘米以上,细沙的有机质含量 2%;每月至少有 24 天以上可以在海潮高潮期间进水,最高水温不能超过 30℃,且水温 30℃持续时间不能超过 10 天;

[0008] (2) 海藻育苗:在孢子成熟后,定期从海中取健康成熟的四分孢子体海藻,每棵约 500g,去其侧枝,在自来水下冲洗并用毛刷清除其表面污物,然后将清洗过的藻体用灭菌海水冲洗二次,再切成 5cm 左右藻段,装入 6 个预先灭菌含有 400ml 海水盐度 32‰的 500ml

锥形瓶中,将锥形瓶封口后置于培养箱中,在  $26^{\circ}\text{C}$ ,  $200 \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  光强,光照时间 14h/d 条件下培养 2d;培养过程中每隔 3h 摇晃 1 次,培养两天后的海水依次用  $50 \mu\text{m}$  和  $10 \mu\text{m}$  网孔筛绢过滤,过滤完后以 40ml 灭菌过的 f/2 培养基将孢子从  $10 \mu\text{m}$  网孔筛绢上冲洗到烧杯中,每瓶海藻得到 20ml 左右孢子液;选取直径 6cm 培养皿,其内放置 3 个盖玻片,盖玻片连同培养皿灭菌处理,将收集的孢子液转入到灭菌培养皿中,每个培养皿中倒入 10ml 孢子液,放入培养皿中的盖玻片用于后续孢子生长观察,在温度  $26^{\circ}\text{C}$ , 盐度 32‰,  $100 \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  光强,光照时间 14h/d 条件下培养孢子,每 5d 更换一次灭菌的 f/2 培养液,观察孢子萌发情况,当孢子培养至 42d 时,将已可用肉眼观察到的配子体苗全部移入到 100ml 锥形瓶中,每瓶放入 f/2 培养液 40ml 和孢子苗 10 株,每天摇晃 3-4 次,培养光强增加到  $400 \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,其它培养条件同上,孢子苗培养至 60d 移入 500ml 锥形瓶含 300ml f/4 培养液,每瓶不超过 20 个孢子苗,在上述培养条件基础上增加光强至  $800 \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  并每天通气 0.5h 孢子苗培养至 160d,取长势较好的孢苗株下海挂养,水深 25cm,株间绳间距 15cm,将诱导出的长 3-5mm 的芽置于盛海藻酸钠 +MS+蔗糖 +IBA110mg/L+6-BA015mg/L 的凝胶液中,无菌条件下,用滴管将含有芽的凝胶滴入  $\text{CaCl}_2$  中进行固化反应,20min 后取出,用无菌蒸馏水漂洗 5 次,终止反应即得海藻人工种子;

[0009] (3) 通过成体海草移栽和海草种子播种的形式在选定的围堰池内进行人工海草场的构建;

[0010] (4) 定期对围堰池内构建的海草场进行跟踪观测,并进行补植成体海草或补种海草种子;

[0011] (5) 待到围堰池海藻种苗库构建完毕并达到稳定状态,从围堰池种苗库内采集成体海草或海草种子进行海草植株移植;

[0012] (6) 海草植株移植:通过 PVC 管空心工具,采集一定单位体积的圆柱体、长方体或其他不规则体的草块作为 PU,并在移植区域海底挖掘与 PU 同样规格的“坑”,将 PU 放入后压实四周底泥;或指利用铁铲工具将 PU 的根状茎掩埋于移植海区底质中的一种植株移植方法;或采用框架法,框架由钢筋焊接而成,且框架内部放置砖头重物作为沉子,将 PU 绑缚于框架之上,然后直接抛掷于移植海域,PU 与框架之间的绑缚材料采用可降解材料;或采用挂网法:将 PU 的叶鞘部分夹系于网格或绳索物体的间隙,然后将网格或绳索固定于移植海域海底。

[0013] 本发明的技术效果是:本发明通过修建围堰池和在围堰池进行人工海草场的构建,可以持续提供用于海草场生态修复和人工海草场构建所需的成体海草和海草种子,避免了对自然海区海草的破坏,维护了海洋生态系统的持续健康发展。种苗库一旦构建成功之后,可以通过自身的营养繁殖(地下茎)和有性繁殖(种子)进行种苗库的自我更新与维持。同时在种苗库内也可进行海参养殖,为海参养殖提供一个良好的生长环境,有利于海参产量的增加和海参品质的提高。因此,本发明通过人工构建并提供适合海草生长的生活环境系统达到不破坏开放水域的海草场而完成海草种子的采集及提供稳定可供移植的海草资源的目的。

## 具体实施方式

[0014] 本发明海草种苗库系统的构建方法系指海草种子、幼苗及成体海草的构建方法。

[0015] (1) 选定适合海草生长的围堰池场地并修建围堰池,围堰池场地要求底质细沙粒径为 0.02 ~ 80 微米,厚度在 12 厘米以上,细沙的有机质含量 2%;每月至少有 24 天以上可以在海潮高潮期间进水,最高水温不能超过 30℃,且水温 30℃持续时间不能超过 10 天;

[0016] (2) 海藻育苗:在孢子成熟后,定期从海中取健康成熟的四分孢子体海藻,每棵约 500g,去其侧枝,在自来水下冲洗并用毛刷清除其表面污物,然后将清洗过的藻体用灭菌海水冲洗二次,再切成 5cm 左右藻段,装入 6 个预先灭菌含有 400ml 海水盐度 32‰的 500ml 锥形瓶中,将锥形瓶封口后置于培养箱中,在 26℃,200  $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  光强,光照时间 14h/d 条件下培养 2d;培养过程中每隔 3h 摇晃 1 次,培养两天后的海水依次用 50  $\mu\text{m}$  和 10  $\mu\text{m}$  网孔筛绢过滤,过滤完后以 40ml 灭菌过的 f/2 培养基将孢子从 10  $\mu\text{m}$  网孔筛绢上冲洗到烧杯中,每瓶海藻得到 20ml 左右孢子液;选取直径 6cm 培养皿,其内放置 3 个盖玻片,盖玻片连同培养皿灭菌处理,将收集的孢子液转入到灭菌培养皿中,每个培养皿中倒入 10ml 孢子液,放入培养皿中的盖玻片用于后续孢子生长观察,在温度 26℃,盐度 32‰,100  $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  光强,光照时间 14h/d 条件下培养孢子,每 5d 更换一次灭菌的 f/2 培养液,观察孢子萌发情况,当孢子培养至 42d 时,将已可用肉眼观察到的配子体苗全部移入到 100ml 锥形瓶中,每瓶放入 f/2 培养液 40ml 和孢子苗 10 株,每天摇晃 3-4 次,培养光强增加到 400  $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,其它培养条件同上,孢子苗培养至 60d 移入 500ml 锥形瓶含 300ml f/4 培养液,每瓶不超过 20 个孢子苗,在上述培养条件基础上增加光强至 800  $\mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  并每天通气 0.5h 孢子苗培养至 160d,取长势较好的孢苗株下海挂养,水深 25cm,株间绳间距 15cm,将诱导出的长 3-5mm 的芽置于盛海藻酸钠 +MS+蔗糖 +IBA110mg/L+6-BA015mg/L 的凝胶液中,无菌条件下,用滴管将含有芽的凝胶滴入  $\text{CaCl}_2$  中进行固化反应,20min 后取出,用无菌蒸馏水漂洗 5 次,终止反应即得海藻人工种子;

[0017] (3) 通过成体海草移栽和海草种子播种的形式在选定的围堰池内进行人工海草场的构建;

[0018] (4) 定期对围堰池内构建的海草场进行跟踪观测,并进行补植成体海草或补种海草种子;

[0019] (5) 待到围堰池海藻种苗库构建完毕并达到稳定状态,从围堰池种苗库内采集成体海草或海草种子进行海草植株移植;

[0020] (6) 海草植株移植:通过 PVC 管空心工具,采集一定单位体积的圆柱体、长方体或其他不规则体的草块作为 PU,并在移植区域海底挖掘与 PU 同样规格的“坑”,将 PU 放入后压实四周底泥;或指利用铁铲工具将 PU 的根状茎掩埋于移植海区底质中的一种植株移植方法;或采用框架法,框架由钢筋焊接而成,且框架内部放置砖头重物作为沉子,将 PU 绑缚于框架之上,然后直接抛掷于移植海域,PU 与框架之间的绑缚材料采用可降解材料;或采用挂网法:将 PU 的叶鞘部分夹系于网格或绳索物体的间隙,然后将网格或绳索固定于移植海域海底。成体移栽:优先选择其它围堰海参养殖池当中的成体大叶藻进行移栽。成体大叶藻移栽的具体方法有插管法、枚钉法、牡蛎壳法、草皮法、泥盆法和杆体固定方法,杆体固定方法是将绳子的一端绑扎在杆体上,在海底底质挖出一个与海草束根端直径相同的种植坑,种植坑的深度为 5 ~ 7 厘米,将连接杆体与海草束的绳子拉直,将杆体插入种植坑底部的海底底质中,同时将海草束的根端放入种植坑,然后将处在种植坑内的海草束根端用底质沙土掩埋,达到座根的目的。

[0021] 定期对新围堰池内构建的大叶藻场进行跟踪观测和补植,主要观测大叶藻生长状态和繁殖状况,并对围堰池内非常稀疏的局部区域进行补植,具体补植措施可以按照当初构建大叶藻场的方式进行,也可以就地取材,在所构建的围堰池内大叶藻密度较大的地方就地取成体大叶藻,进行补植,前提是不能影响到已经构建的大叶藻场,以尽快促使整个围堰池内大叶藻场的稳定和可持续发展。

[0022] 待到围堰池大叶藻种苗库构建完毕并达到稳定状态,即人工构建的大叶藻场可以自我繁殖,可以产生种子,也可以通过匍匐根产生新生的大叶藻,通过这两种方式可以维持大叶藻场自身种群,大叶藻的规模和密度基本稳定,此时就可以认为种苗库达到稳定状态,然后,可以开始从种苗库内采集成体大叶藻和大叶藻种子,以大叶藻种子的收集为主,只有当种苗库内的成体大叶藻异常茂盛的情况下才可以进行成体大叶藻的挖取移栽,茂盛程度可以按照大叶藻种群密度达到或超过 600 株 /m<sup>2</sup> 视为茂盛。

[0023] 本实施例方法同样适用其它海草,如丛生大叶藻 *Zostera caespitosa* Miki、日本大叶藻 *Zostera japonica* Ascherson&Graebner、红须根虾形藻 *Phyllospadix iwatensis* Makino。