

藤壶黏附研究进展

陈 新¹, 唐 敏¹, 刘秋好¹, 卓 文¹, 李紫薇²

(1. 海南大学 材料与化工学院, 海南 海口 570228; 2. 海南大学 环境与植物保护学院, 海南 海口 570228)

摘要: 藤壶是最常见的海洋污损动物,也是材料防污性能检测和评价试验中最主要的动物模型。藤壶附着从腺介幼虫探索适宜基底开始,到随后分泌藤壶胶进行固着,期间受自身及多种环境因子的影响。本文从藤壶腺介幼虫的黏附行为、影响黏附的因素和藤壶胶的特性 3 个方面出发,综述了近年来在藤壶黏附领域的研究进展,期望为新型防污产品的研发和检测评价提供较系统的参考资料。

关键词: 藤壶; 腺介幼虫; 黏附; 藤壶胶

中图分类号: Q51 文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2017)07-0150-07

DOI: 10.11759/hyxx20170104001

曾经在海事活动中常用的有机锡防污涂料于 2008 年已完全禁用^[1],环境友好型的替代产品目前大多还处在研发阶段,要加快从经验性研发阶段过渡到理论指导阶段,有必要深入理解污损生物黏附过程和机理。藤壶是一类备受关注的海洋污损动物,它们具有坚硬的石灰质壳板,成体固着在岩礁和很多人工设施(如船的外壳、海水养殖设施、海洋平台、以及浸入海水中的各种仪器仪表等)表面生活,而且其适应性强,分布广,已附着的藤壶很难去除,这给各种海事活动造成了严重危害。此外,目前在实验室对材料进行防污检测和评价的试验中,藤壶是最常用的动物模型,对藤壶黏附机理的深入研究无疑将为防污性能评价提供理论和应用基础。因此,藤壶黏附研究已成为防污产品研发和检测评价中的关注焦点,近 10 年来在此领域取得了较多成果。本文主要从藤壶腺介幼虫的黏附行为、影响黏附的因素和藤壶胶的特性 3 个方面,综述了近年在藤壶黏附领域的研究进展,以期防污产品的研发和检测评价提供新思路。

1 藤壶腺介幼虫的黏附行为

藤壶属于节肢动物门(Arthropoda)、甲壳亚门(Crustacea)、颚足纲(Maxillopoda)、鞘甲亚纲(Thecostraca)、蔓足下纲(Cirripedia),其发育过程可分为 3 个阶段,即营浮游生活的 6 期无节幼虫(nauplius)、由浮游向固着生活过渡的腺介幼虫(cyprid,又称金星幼虫)期和固着生活的成体期。

藤壶幼体发育进入腺介幼虫阶段后,在固着前

不再摄食,经短暂的浮游生活,随即开始利用第一对触角末端膨大的吸盘在基底行走探索,通过吸盘末端的感受器选择到适宜的基底后,开始分泌胶质附着,进而变态。从腺介幼虫探索选择基底到藤壶成体黏附的过程可细分为 4 个阶段:(1)腺介幼虫在探索选择基底时分泌临时胶质;(2)如果基底适宜,腺介幼虫分泌永久胶质黏附在基底表面,开始不可逆的永久性附着;(3)藤壶幼体黏附在基底表面完成变态过程通常需一周左右的时间;(4)藤壶成体黏附在基底上固着生活。藤壶成体在不断蜕皮生长过程中,底板和侧板新生成部分的附着和固定需要藤壶胶,研究表明藤壶胶相关基因的表达在藤壶蜕皮后明显升高,蜕皮与藤壶胶基因表达可能受到同步相关控制^[2]。这些过程中发生的黏附强度逐步增大,但黏附机理尚不清楚^[3-4]。

藤壶幼虫附着是非常复杂的主动选择过程,受到各种环境因子和基底表面性质的影响,其中研究者最关注的是腺介幼虫对其附着基底的识别、选择过程及其机理。Maruzzo 等^[5]采用显微录像技术结合扫描电镜详细观察了纹藤壶(*Amphibalanus amphitrite*)腺介幼虫的触角形态、大小以及触角刚毛的位置和走向,发现这些结构特征非常有利于幼虫高效

收稿日期: 2016-12-03; 修回日期: 2017-03-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360105, 31660128, 31160098); 海南大学博士科研启动基金项目(kyqd1046)

[Foundation: National Natural Science Foundation of China, No. 31160098, 31360105, 31660128; Hainan University Research Initiation Funds for Doctor, No. kyqd1046]

作者简介: 陈新(1973-),男,四川成都,硕士,研究方向为海洋生物, E-mail: 982912387@qq.com; 唐敏,通信作者, E-mail: 1251054716@qq.com

地探索基底表面,在探索过程中,刚毛与基底密切接触,因此推测大部分刚毛为接触性化学信号接收器。在腺介幼虫用一对触角探索基底时,会在基底表面留下所分泌的蛋白质足迹(footprint),通过原子力显微镜发现足迹主要由单个纳米蛋白丝或纤维聚集束组成,形成相互联结的复杂形态,蛋白丝的受力-延伸关系呈锯齿状特征,这与拉伸程度和形变史有关^[6-7]。足迹蛋白除了起临时黏附作用,含有的 SIPC(settlement-inducing protein complex)成分信息素还可能引导其他幼虫在此处黏附,对形成新的藤壶聚集起重要作用,特别是在缺乏藤壶成体的区域^[8]。

2 影响黏附的因素

通过在实验室和自然海域中对几种藤壶腺介幼虫附着过程及其影响因素的研究,发现影响其黏附的因素复杂,主要与基底材料、环境理化因子和幼虫的自身状态有关。

2.1 黏附的基底材料

基底材料表面的理化性能会影响藤壶腺介幼虫的黏附。基底材料的质地、粗糙度、表面能、颜色等都与幼虫附着密切相关^[9-10]。用于各种海事活动的材料种类繁多,有金属、无机材料、有机材料等。通过实海挂板试验发现,尽管藤壶在各种材料表面的黏附情况有一定差异,但除了铜合金材料(含铜 64%以上)可较有效地防止藤壶的附着^[10-11],藤壶在其他材料表面都可黏附生长,如钢、铝、钛、石棉、玻璃、木材、塑料和橡胶等,可见藤壶黏附的基质种类非常广泛。

基质材料表面形貌和化学差异会影响藤壶黏附底盘的组成和结构差异,Berglin 和 Gatenholm^[12]比较了生长在聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)和聚甲基丙烯酸甲酯(polymethyl methacrylate, PMMA)表面上的致密藤壶(*Balanus improvisus*),其黏附底盘在低表面能、低模量的 PDMS 表面合成颗粒状、如橡胶般较厚的黏附底盘,而且未检测到常见的钙,采用 0.5 mol/L 二硫苏糖醇和 7 mol/L 的盐酸胍缓冲液溶解后,SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳可分离出三种明显的蛋白质和一些多肽;而在中等表面能、玻璃状的 PMMA 聚合物表面形成连续的坚硬的黏附底盘,其中存在方解石形态的钙,相同的缓冲液不能溶解黏附底盘中的蛋白质。已有研究还表明:不同表面形貌的聚二甲基硅氧烷对纹藤壶腺介幼虫的附着率具

有明显的影响,与光滑表面相比,在间隔 20 μm 宽、脊高 20 μm 的表面,幼虫平均黏附率下降 47%,而在相同间隔,脊高 40 μm 的表面,幼虫平均黏附率下降 84%^[13];而且不同种类藤壶的腺介幼虫对基底表面形貌的反应差异较大,如大西洋藤壶(*Semibalanus balanoides*)腺介幼虫倾向于在 0~0.5 mm 纹理的表面黏附,而致密藤壶腺介幼虫更趋向于在光滑的材料表面进行探索并黏附^[14-15]。藤壶易于黏附生长在缝隙和低凹处,这与缝隙可能提供来自海浪冲击、捕食者以及干燥等不利环境的庇护有关。

此外,材料表面的亲水性会影响藤壶幼虫的黏附行为,在亲水玻璃表面,纹藤壶幼虫的探索步伐较大,探索期间较短;而在疏水玻璃表面,静止水体中,幼虫的探索步伐较小,期间较长,在流水情况下,幼虫的探索步伐增大,期间缩短^[16]。

腺介幼虫在选择固着基底时,对附着材料的颜色也有一定的识别和选择。相比于浅色(如白色、灰色、黄色),幼虫更倾向于黏附在黑色、绿色、棕色等深色的材料表面^[17]。

2.2 环境理化因子

环境理化因子对藤壶幼虫黏附有明显的影响,如潮下带生活的三角藤壶(*Balanus trigonus*),其腺介幼虫的黏附与温度和盐度密切相关,高温低盐度的环境会显著降低幼虫的黏附率,推测高温低盐作为胁迫因子会通过改变幼虫代谢活动等而降低幼虫为黏附而储藏的能量,进而影响幼虫的黏附^[18]。

已有试验表明,自然环境中的紫外线会对藤壶幼虫的感光眼点造成一定伤害,从而影响其趋光性和附着行为;另一方面,紫外线可能通过影响微生物膜的生长而间接影响腺介幼虫的附着和分布^[19]。

实验室的试验发现:局部水流的强度和方向会影响纹藤壶腺介幼虫的附着,幼虫首先接触基底水平对流较高的区域,随后幼虫的探索则参照基底表面水流方向进行定向;相比于自由流速较慢(5 cm/s)的区域,幼虫大多不会选择在自由流速较快(10 cm/s)的区域定居,但在远低于界面层剪应力阈值的区域,幼虫不会出现接触和探索行为^[20]。

2.3 幼虫的自身状态

研究表明:纹藤壶腺介幼虫的黏附受到来自于基因、母系效应及个体发育的综合影响^[21],随着腺介幼虫年龄的增加影响程度减弱,其影响机理可能通过幼虫的外部感受器和信号传导途径来调节幼虫对

外界的反应行为。数量遗传研究还揭示,在基底表面形成的黏附板特征受到基因或母系效应的影响^[22]。

腺介幼虫的年龄和生理状态(主要指其能量积蓄情况)对其成功黏附和随后的变态和生长有重要影响。腺介幼虫在探索和选择附着基底的过程中不再摄食,能量来源依靠早期浮游阶段积累在体内的脂类,当能量即将耗尽时,腺介幼虫对基底的选择性明显下降^[23]。

2.4 其他同类藤壶成体的影响

自然界藤壶通常集聚生活,反映出腺介幼虫在选择黏附基底时受到其他已附着同种藤壶成体的影响。有研究发现,藤壶成体分泌的蛋白复合体 SIPC 在腺介幼虫选择黏附基底的过程中起着重要作用。SIPC 是一种表皮蛋白质,纹藤壶的 SIPC 序列与 2-巨球蛋白(macroglobulin)家族相似^[24-25]。SIPC 通常由 76、88、和 98kDa 三个亚基组成,每个亚基都能单独诱导幼虫黏附的作用。外源凝集素如扁豆凝集素(*Lens culinaris* agglutinin, LCA)结合纹藤壶成体提取物会抑制腺介幼虫的黏附^[26-27]。推测 LCA 通过结合 SIPC 糖链中的葡萄糖和甘露糖来影响 SIPC 复合体的功能,同时也表明 SIPC 中特定的糖链在诱导幼虫黏附方面具有重要作用^[26, 28]。近期有报道纹藤壶成体会发出红色荧光,其腺介幼虫的视觉在确定黏附地点时能识别同类藤壶聚集生长处^[29]。

2.5 基底微生物膜(biofilm)的影响

微生物膜对藤壶腺介幼虫黏附的影响较为复杂,主要与微生物膜的组成和分泌物有关。Patil 和 Anil^[30]在实验室通过无菌或非无菌技术培养羽纹纲 5 种硅藻(*Amphora coffeaeformis*、*A. rostrata*、*Navicula transitans* var. *derasa* f. *delicatula*、*N. crucicula* 和 *N. subinflata*),发现这 5 种硅藻形成的微生物膜及其细胞外多聚物(extracellular polymeric substances, EPS)对纹藤壶腺介幼虫附着和变态的影响明显不同,表明不同的硅藻种类及其产生的 EPS 可为腺介幼虫的黏附提供不同的生理生化信号。

Qian 等^[31]发现在潮间带不同高程处自然形成的微生物膜中微生物群落组成差异明显,相比于在高或低潮位形成的生物膜,纹藤壶腺介幼虫更倾向于附着在中等潮位处形成的生物膜,幼虫的附着与微生物膜细菌和硅藻的生物量及丰度无关;相关实验也进一步表明纹藤壶腺介幼虫可以识别并倾向于附着在其自然聚集栖息地形成的生物膜上^[32-33],并

且发现天然海水中形成的微生物膜可以显著增强纹藤壶腺介幼虫的黏附力^[34]。

可见,在自然海洋环境中,各种理化和生物因子处于动态变化的复杂状况下,腺介幼虫的附着过程受到各种因子的综合影响,所以,在研究黏附影响因子时,要综合考虑各种效应。

3 藤壶胶的特性

藤壶胶是藤壶腺介幼虫及其成体与基底材料表面黏附的主要物质^[35],通常把藤壶个体在正常生长发育过程中所分泌的胶黏物称为初生胶,而已附着的藤壶成体在修复自身破损结构所分泌的胶质称为次生胶^[3, 36]。藤壶胶与多种基材表面黏接后都能呈现较大的内聚强度,而且具有非常优异的抗生物降解性^[37]。这些特性引起了人们的关注,通过研究发现,初生胶和次生胶的主要成分都是蛋白质。人们对较易获取的次生胶研究较多,近来通过研究红巨藤壶(*Megabalanus rosa*)、纹藤壶和日本笠藤壶(*Tetraclita japonica formosana*)等藤壶胶蛋白,在藤壶胶蛋白的生成、组成、结构和功能特征以及藤壶胶交联过程及机制等方面取得了较大进展。

藤壶胶的组成复杂,具有 10 种以上蛋白,目前已鉴定了 6 种,根据分子量命名,分别为 cp-100K、cp-68K、cp-52K、cp-20K、cp-19k、cp-16k。在白脊管藤壶(*Fistulobalanus albicostatus*)、三角藤壶、尖吻藤壶(*Balanus rostratus*)和 *Semibalanus cariosus* 等藤壶中都发现了 cp-100K 的同源基因。除此,还有部分蛋白具有种属特异性。如具有膜质底板的日本笠藤壶的藤壶胶分泌腺体中,分泌的同系蛋白类 cp-19K、cp-52K 和 cp-100K 都为优势表达蛋白,通常 cp-100K 和 cp-52K 在藤壶胶中含量较高,都具有高疏水性和难溶特性。推测是藤壶胶的主体部分,构成不溶性的框架,通过结合其他蛋白质组分提供黏结力。cp-100K 和 cp-52K 的生化特性相似,其中 Cys 残基含量分别是 1.4%和 1.1%,推测分子内的二硫键对 cp-100K 和 cp-52K 分子构象的稳定性起着重要作用;cp-52K 初级结构中含有四个较长的重复序列,未发现分子间二硫键以及相互交联聚合,估计疏水作用和氢键在胶凝聚过程中起重要作用^[2, 38]。此外,还发现胶蛋白及其他黏附相关基因的转录,但在钙化底板藤壶胶中常见的 cp-20K 在日本笠藤壶成体转录组中缺失,推测这可能体现了在膜质和钙质两种不同底板藤壶中的黏附机理有所差异^[39]。

在红巨藤壶和纹藤壶中都分离出糖基化蛋白 cp-68K, 其氨基酸组成相似, 序列同源性较低(47%)。cp-68K 氨基酸组成与 cp-100K 相差较大。Ser, Thr, Ala 和 Gly 含量高达 57%, 主要集中在 N-端长链区域, C-端富含 Lys, Pro, Trp, Cys 和疏水性氨基酸。推测 C-端可能形成疏水核和较致密的构象, 表面分布带电荷的 Lys 残基; 而 N-端 Ser 和 Thr 的自由羟基基团以及 C-端的带电区域可能是重要的功能区域。cp-68K 在藤壶黏附中的作用尚不清楚, 推测其在黏附初期可能与 cp-19K 蛋白一起耦合极性表面, 起“底漆”作用^[2]。

含量较低的 cp-20K 蛋白, 富含 Cys 残基(含量高达 17%)和带电荷氨基酸(Asp, 11.5%; Glu, 10.4%; His, 10.4%), 分子内二硫键对稳定 cp-20K 蛋白构象至关重要^[40]。cp-20K 在海水中呈现出吸附碳酸钙的行为, 可以单体的形式与碳酸钙相互作用, 因此推测 cp-20K 可能在藤壶底板和侧板之间起耦合作用^[2, 41]。

对这些蛋白质结构的研究, 进一步揭示了蛋白质在黏结底板与基底材料过程中承担的功能。纹藤壶分泌的初生胶和次生胶生化组成相似, 都为纳米纤维状的蛋白质网络结构(约占 90%)。藤壶胶中蛋白质的二级结构大多为 β -折叠(约占 50%)和无规则卷曲, 主要呈淀粉状(amyloid)的交叉 β 折叠结构(cross- β -sheet)域和球状结构域, 推测这两种结构在控制藤壶胶蛋白纤维的保护、黏附和力学性能方面具有重要作用^[42]。

藤壶胶分泌初始为液态, 通过自组装和交联, 最后凝聚成耦合底板和基底材料的胶质层, 期间经历了复杂而有序的过程。近年来, 随着各种新技术在该领域中的应用, 对藤壶胶质交联细节及其调控过程有了更深入的了解, 这可为防污策略提供有价值的参考资料, 另一方面对研发高强度无毒仿生生物胶产品也有重要借鉴意义。

采用激光共聚焦显微镜、双光子激发荧光显微镜(two-photon excited fluorescence microscopy, TPEFM)、宽带相干反斯托克斯-拉曼散射显微镜(broadband coherent anti-Stokes Raman scattering microscopy, BCARS)等技术, 发现纹藤壶腺介幼虫的腺体有两类含不同颗粒的柱状大型细胞, 富含蛋白质的 α 颗粒和富含脂类的 β 颗粒, 即脂类和蛋白两相分别存在于腺介幼虫分泌腺体的不同颗粒中。通过胞吐作用分泌的蛋白质和脂类物质流入收集管后, 受压排出流至触角, 积累到一定程度, 最后通过触角第 3 节黏附盘上

的孔释放到外界, 分泌的黏附物质是包括脂类和磷蛋白的双相体系, 胶组分聚合固化时, 幼虫将一对触角埋入胶里。胶分子相互作用形成完整的黏附盘, 黏附盘结构分为明显的两层, 中央为蛋白质块状物, 外部包裹有一薄层富含脂类的非蛋白层。因此, 推测藤壶先分泌脂类形成一种局部疏水环境, 有助于随后磷蛋白在脂层上的分泌及分布, 并限制蛋白层的分布边界, 同时防止细菌对蛋白的降解。脂层组成很可能是脂蛋白和/或脂多糖, 其功能基团之间通过交联形成稳定的“底漆”。最终, 通过脂类和蛋白质协同作用, 在通常不利于形成黏接的海水环境中形成具有很强黏附力的藤壶胶层^[43-44]。藤壶胶的微观结构与黏附基质的表面性质有关^[45]。Wiegmann 等^[46]观察到: 在不易黏附的材料表面, 藤壶胶呈现水化黏丝形成松散的网络状膨胀物质; 而在易黏附的材料表面, 藤壶胶为丝状网络编织形成的致密层状物质, 形成的黏附力远远高于前者。其中分子间非共价键作用在藤壶胶自组装的初始起着主要作用, 而蛋白质的高级构象直接影响分子间的相互作用^[38]。

Dickinson 等^[47]通过比较藤壶胶聚合与血液凝结过程及其相关成分, 从进化观点揭示了藤壶胶聚合的生化过程和机理类似于伤口愈合模型。在藤壶生长和修复过程中, 分泌的胶蛋白含有结构前体、失活的胰蛋白酶, 血细胞中有谷氨酰胺转氨酶, 丝氨酸类胰蛋白酶激活胶的前体结构, 发生相互结合作用以及随后的聚合反应。藤壶胶聚合期间产生含有精氨酸末端的多肽, 也会引诱其他腺介幼虫的黏附。

4 展望

(1) 生物与材料相互作用的分子机理研究

生物污损形成和发展的本质是生物与材料相互作用的结果, 以藤壶为例, 藤壶在选择黏附基底和实施黏附的过程中, 在生物-材料界面的分子是如何相互作用? 其影响因素有哪些? 调节机制是什么? 藤壶腺介幼虫在探索和选择到适宜基底时, 接触基底表面的触角把相关信号传导入机体, 期间发生在生物-材料界面上进行识别的分子机理还不清楚; 藤壶分泌藤壶胶开始多步骤的黏附过程中, 生物-材料界面上的蛋白质分子与水中基底材料或生物膜相互作用的分子机理目前还未知。对这些问题进行系统的探究和总结, 有助于我们从本质上深入理解藤壶黏附机理, 而且为研发防污材料策略提供参考资料。

(2) 藤壶胶研究

在复杂的海水环境中, 藤壶要与各种不同基底材料表面形成牢固的黏结、防止微生物的降解以及满足生长过程中不断的扩延和修补需求, 这些都与藤壶胶的性质和作用密切相关。因此, 有必要进一步深入研究藤壶胶蛋白的表达、结构以及不同组分的性质、作用及其相互协作关系等, 如对主要胶质蛋白(cement proteins, CPs)的基因表达及其调控的研究、对 CPs 高级结构的解析对分子间非共价键的性质和影响因素的研究, 以及藤壶胶中各组分的有序分泌和组装过程等。这些将是揭示藤壶黏附机理的重要研究方向, 研究中的各环节也可为发展水下高强度胶材料提供新的思路。

参考文献:

- [1] 钱培元. 抗污损海洋天然产物的开发及其作用机理研究进展[J]. 生命科学, 2012, 24(9): 1026-1034.
Qian Peiyuan. A brief overview of recent progress in screening for antifouling marine natural products and studying of their molecular mechanisms[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2012, 24(9): 1026-1034.
- [2] Kamino K. Barnacle Underwater Attachment[M]//Smith A M, Callow J A. Biological Adhesives. Berlin, Heidelberg: Springer, 2006: 145-166.
- [3] Kamino K. Mini-review: Barnacle adhesives and adhesion[J]. Biofouling, 2013, 29(6): 735-749.
- [4] Kamino K. Diversified material designs in biological underwater adhesives[M]//Thomopoulos S, Birman V, Genin G M. Structural Interfaces and Attachments in Biology. New York: Springer Science+Business Media, 2013: 175-199.
- [5] Maruzzo D, Conlan S, Aldred N, et al. Video observation of surface exploration in cyprids of *Balanus amphitrite*: The movements of antennular sensory setae[J]. Biofouling, 2011, 27(2): 225-239.
- [6] Sullan R M A, Gunari N, Tanur A E, et al. Nanoscale structures and mechanics of barnacle cement[J]. Biofouling, 2009, 25(3): 263-275.
- [7] Phang I Y, Aldred N, Ling X Y, et al. Atomic force microscopy of the morphology and mechanical behavior of barnacle cyprid footprint proteins at the nanoscale[J]. Journal of the Royal Society Interface, 2010, 7(43): 285-296.
- [8] Dreanno C, Kirby R R, Clare A S. Smelly feet are not always a bad thing: the relationship between cyprid footprint protein and the barnacle settlement pheromone[J]. Biology Letters, 2006, 2(3): 423-425.
- [9] 黄英, 柯才焕, 周时强. 国外对藤壶幼体附着的研究进展[J]. 海洋科学, 2001, 25(3): 30-32.
- [10] 黄宗国. 海洋污损生物及其防除. 下册[M]. 北京: 海洋出版社, 2008.
Huang Zongguo. Marine Fouling and its Prevention[M]. The Volume II. Beijing: Ocean Press, 2008.
- [11] Institute U S N. Marine fouling and its prevention[J]. Science, 1952, 101(2625): 406-407.
- [12] Berglin M, Gatenholm P. The barnacle adhesive plaque: Morphological and chemical differences as a response to substrate properties[J]. Colloids & Surfaces B Bio-interfaces, 2003, 28(2-3): 107-117.
- [13] Schumacher J F, Aldred N, Callow M E, et al. Species specific engineered antifouling topographies: correlations between the settlement of algal zoospores and barnacle cyprids[J]. Biofouling, 2007, 23(5): 307-317.
- [14] Berntsson K M, Jonsson P R, Larsson A I, et al. Rejection of unsuitable substrata as a potential driver of aggregated settlement in the barnacle *Balanus improvisus*[J]. Marine Ecology Progress Series, 2004, 275(1): 199-210.
- [15] Aldred N, Clare A S. Mechanisms and principles underlying temporary adhesion, surface exploration and settlement site selection by barnacle cyprids: A short review[M]//Gorb S N. Functional Surfaces in Biology Adhesion Related Phenomena Volume 2. Dordrecht: Springer, 2009: 43-65.
- [16] Chaw K C, Birch W R. Quantifying the exploratory behaviour of *Amphibalanus amphitrite* cyprids [J]. Biofouling, 2009, 25(7): 611-619.
- [17] Swain G, Herpe S, Ralston E, et al. Short-term testing of antifouling surfaces: The importance of colour[J]. Biofouling, 2006, 22(6): 425-429.
- [18] Thiagarajan V, Harder T, Qian P Y. Combined effects of temperature and salinity on larval development and attachment of the subtidal barnacle *Balanus trigonus* Darwin[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2003, 287(2): 223-236.
- [19] Hung O S, Gosselin L A, Thiagarajan V, et al. Do effects of ultraviolet radiation on microbial films have indirect effects on larval attachment of the barnacle *Balanus amphitrite*[J]. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 2005, 323(1): 16-26.
- [20] Mullineaux L S, Butman C A. Initial contact, exploration and attachment of barnacle (*Balanus amphitrite*) cyprids settling in flow[J]. Marine Biology, 1991, 110(1): 93-103.
- [21] Holm R E, McClary M J, Rittschof D. Variation in attachment of the barnacle *Balanus amphitrite*: sensation or something else[J]. Marine Ecology Progress Series,

- 2000, 202(3): 153-162.
- [22] Holm R E, Orihuela B, Kavanagh C J, et al. Variation among families for characteristics of the adhesive plaque in the barnacle *Balanus amphitrite*[J]. Biofouling, 2005, 21(2): 121-126.
- [23] Harder T, Thiagarajan V, Qian P Y. Combined effect of cyprid age and lipid content on larval settlement and metamorphosis of *Balanus amphitrite* Darwin[J]. Biofouling, 2001, 17(4): 257-262.
- [24] Dreanno C, Matsumura K, Dohmae N, et al. An alpha2-macroglobulin-like protein is the cue to gregarious settlement of the barnacle *Balanus amphitrite*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006, 103(39): 14396-14401.
- [25] Dreanno C, Kirby R R, Clare A S. Locating the barnacle settlement pheromone: spatial and ontogenetic expression of the settlement-inducing protein complex (SIPC) of *Balanus amphitrite* [J]. Proceedings of the Royal Society B Biological, 2006, 273(1602): 2721-2728.
- [26] Matsumura K, Mori S, Nagano M, et al. Lentil lectin inhibits adult extract-induced settlement of the barnacle, *Balanus amphitrite*[J]. Journal of Experimental Zoology, 1998, 280(3): 213-219.
- [27] Pagett H E, Abrahams J L, Bones J, et al. Structural characterisation of the N-glycan moiety of the barnacle settlement-inducing protein complex (SIPC)[J]. Journal of Experimental Biology, 2012, 215: 1192-1198.
- [28] Khandeparker L, Anil A C, Raghukumar S. Exploration and metamorphosis in *Balanus amphitrite* Darwin (Cirripedia: Thoracica) cyprids: significance of sugars and adult extract[J]. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 2002, 281(1-2): 77-88.
- [29] Matsumura K, Qian P Y. Larval vision contributes to gregarious settlement in barnacles: Adult red fluorescence as a possible visual signal[J]. Journal of Experimental Biology, 2014, 217(5): 743-750.
- [30] Patil J S, Anil A C. Influence of diatom exopolymers and biofilms on metamorphosis in the barnacle *Balanus amphitrite*[J]. Marine Ecology Progress Series, 2005, 301: 231-245.
- [31] Qian P Y, Thiagarajan V, Lau S C K, et al. Relationship between bacterial community profile in biofilm and attachment of the acorn barnacle *Balanus amphitrite*[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2003, 33(3): 225-237.
- [32] Hung O S, Thiagarajan V, Qian P Y. Preferential attachment of barnacle larvae to natural multi-species biofilms: Does surface wettability matter[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2008, 361(1): 36-41.
- [33] Hung O S, Thiagarajan V, Zhang R, et al. Attachment of *Balanus amphitrite* larvae to biofilms originating from contrasting environments[J]. Marine Ecology Progress Series, 2007, 333(1): 229-242.
- [34] Zardus J D, Nedved B T, Huang Y, et al. Microbial biofilms facilitate adhesion in biofouling invertebrates[J]. Biological Bulletin, 2008, 214: 91-98.
- [35] Kamino K. Underwater adhesive of marine organisms as the vital link between biological science and material science[J]. Marine Biotechnology, 2008, 10: 111-21.
- [36] Kamino K. Absence of cross-linking via trans-glutaminase in the barnacle cement and redefinition of the cement[J]. Biofouling, 2010, 26: 755-760.
- [37] Kamino K, Inoue K, Maruyama T, et al. Barnacle Cement Proteins: Importance of disulfide bonds in their insolubility[J]. The Journal of Biological Chemistry, 2000, 275(35): 27360-27365.
- [38] Kamino K, Nakano M, Kanai Satoru. Significance of the conformation of building blocks in curing of barnacle underwater adhesive[J]. FEBS Journal, 2012, 279(10): 1750-1760.
- [39] Lin H C, Wong Y H, Tsang L M, et al. First study on gene expression of cement proteins and potential adhesion-related genes of a membranous-based barnacle as revealed from Next- Generation Sequencing technology[J]. Biofouling, 2014, 30(2): 169-181.
- [40] Suzuki R, Mori Y, Kamino K, et al. NMR assignment of the barnacle cement protein Mrp-20k[J]. Journal of Biomolecular NMR, 2005, 32(3): 257-257.
- [41] Mori Y, Urushida Y, Nakano M, et al. Calcite-specific coupling protein in barnacle underwater cement[J]. FEBS Journal, 2007, 274(24): 6436-6446.
- [42] Barlow D E, Dickinson G H, Orihuela B, et al. Characterization of the adhesive plaque of the barnacle *Balanus amphitrite*: amyloid-like nanofibrils are a major component[J]. Langmuir, 2010, 26(9): 6549-6556.
- [43] Aldred N, Gohad N V, Petrone L, et al. Confocal microscopy-based goniometry of barnacle cyprid permanent adhesive[J]. Journal of Experimental Biology, 2013, 216(11): 1969-1972.
- [44] Gohad N V, Aldred N, Hartshorn C M, et al. Synergistic roles for lipids and proteins in the permanent adhesive of barnacle larvae[J]. Nature Communications, 2014, 5: 4414.
- [45] Sangeetha R, Kumar R. Interfacial morphology and nanomechanics of cement of the barnacle, *Amphibalanus reticulatus* on metallic and non-metallic substrates[J]. Biofouling, 2011, 27: 569-577.
- [46] Wiegmann M, Watermann B. Peculiarities of barnacle adhesive cured on non-stick surfaces[J]. Journal of Adhesion Science and Technology, 2003, 17(14): 1957-1977.

[47] Dickinson G H, Vega I E, Wahl K J, et al. Barnacle cement: A polymerization model based on evolutionary

concepts[J]. Journal of Experimental Biology, 2009, 212(21): 3499-3510.

The research progress in the attachment of barnacles

CHEN Xin¹, TANG Min¹, LIU Qiu-yu¹, ZHUO Wen¹, LI Zi-wei²

(1. College of Material and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. College of Environment and Plant Protection, Hainan University, Haikou 570228, China)

Received: Dec. 3, 2016

Key words: barnacle; cyprid; attachment; barnacle cement

Abstract: As the most ubiquitous marine fouling macrofauna, barnacles are widely used as model animals in anti-foulant evaluation in the laboratory. Barnacles initiate the attachment from the exploration of substrata by cyprids and then secrete cement to fix themselves on the proper substrata. Such a process is influenced by the larval physiological status and various environmental factors. This paper reviews the recent research progress made in the behavior of the barnacle cyprid, the influential factors, and the cement characteristics. It is expected that this review can provide illuminated references for the development of novel antifoulants and the evaluation of antifoulant products.

(本文编辑: 梁德海)