

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20230331003

http://www.yykxjz.cn/

王合虎, 张彦浩, 李文涛, 张沛东. 不同栽培方式对鳗草实生苗建成和生理的影响. 渔业科学进展, 2023, 44(6): 239–249
WANG H H, ZHANG Y H, LI W T, ZHANG P D. Effects of different cultivation methods on seedling establishment and physiology of the eelgrass *Zostera marina*. Progress in Fishery Sciences, 2023, 44(6): 239–249

不同栽培方式对鳗草实生苗建成和生理的影响*

王合虎 张彦浩 李文涛 张沛东^①

(中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室 山东 青岛 266003)

摘要 在15℃条件下,研究了3种栽培方式(水培促萌+萌中插植、水培促萌+萌后插植以及基质栽培)对鳗草(*Zostera marina*)种子萌发、实生苗建成与生长的影响,分析了鳗草实生苗的培育成本及其应对不同栽培方式的生理响应。结果显示,水培促萌+萌中插植、水培促萌+萌后插植的鳗草种子萌发率和实生苗建成率无显著差异($P>0.05$),平均达到54.8%和46.5%,分别是基质栽培处理组的1.3和1.6倍($P<0.05$)。水培促萌+萌中插植、水培促萌+萌后插植的鳗草实生苗的各项生长指标亦无显著差异($P>0.05$),其平均值均显著高于基质栽培处理组($P<0.05$),特别是根生成速率平均达到基质促萌处理组的1.6倍。主成分分析显示,水培促萌+基质插植的鳗草实生苗生理状态较优,其中,总氮和可溶性糖含量的贡献度较大,贡献度平均分别达到16.6%和15.0%,是基质栽培处理组的1.2倍($P<0.05$)。培育成本分析显示,水培促萌+萌后插植栽培方式的培育成本最低(3.6元/株),是水培促萌+萌中插植栽培方式的81.9%。综合实生苗培育效果和培育成本,水培促萌+萌后插植的栽培方式是适宜的鳗草实生苗栽培方式,其主要通过提升实生苗非结构性碳水化合物的形成和提高光合色素含量,实现对实生苗建成与生长的促进作用。

关键词 鳗草;栽培方式;种子萌发;实生苗建成;生理响应

中图分类号 Q948.8 文献标识码 A 文章编号 2095-9869(2023)06-0239-11

海草是唯一一类可完全生活在海水中的被子植物,具有完整的根、茎、叶结构,主要分布于沿岸浅水区域,营沉水生活(Short *et al*, 2007; Lopez y Royo *et al*, 2011; 张沛东等, 2020)。构筑的海草床是滨海三大典型生态系统之一,具有极其重要的生态功能,不仅可为众多海洋生物提供栖息环境,还在净化水质、捕获沉积物、促进营养物质循环等海洋环境改善方面发挥重要作用(Jackson *et al*, 2001; Barbier *et al*, 2011; Christianen *et al*, 2013; Momota *et al*, 2022)。同时,海草床是最有效的碳封存系统之一,每年碳埋藏量达27.4 Tg C (Fourqurean *et al*, 2011)。然而,海草床为脆弱生态系统,受人类活动和全球气候变化的影响,全

球绝大多数海草床均处于严重的日益衰退趋势,仅1993—2003年全球海草床已有 2.6×10^6 hm²退化,并且下降速度在不断加快,约有14% (10种)的海草物种濒临灭绝(Waycott *et al*, 2009; Martins *et al*, 2005)。为防止海草床的继续退化和消失、促进其恢复,有关海草床生态恢复理论与技术的研究逐渐受到国内外学者的重视。植株移植法是迄今为止最成熟的修复方法,但其移植成本高、对供体海草床破坏大、劳动强度高(Fonseca *et al*, 1998; Goodman *et al*, 1995)。近年来,海草实生苗人工培育理论和技术逐渐成为研究热点。与自然海域海草实生苗建成率相比,人工培育的海草实生苗建成率可提高数倍至几十倍(Orth *et al*,

* 国家自然科学基金(42076100)资助。王合虎, E-mail: aelite@163.com

① 通信作者: 张沛东, 教授, E-mail: zhangpdsg@ouc.edu.cn

收稿日期: 2023-03-31, 收修改稿日期: 2023-05-18

1994; Pickerell *et al.*, 2005)。然而,目前的海草实生苗人工培育多采用将种子直接播种至基质中进行苗种建成,幼苗建成率较低(Wang *et al.*, 2016; Churchill, 1992; Jarvis *et al.*, 2015)。优化海草实生苗人工栽培技术、提高海草实生苗建成率是实现海草实生苗规模化培育的关键。

幼苗期是植物单株存活的决定性生活阶段,在植物生活周期中,种子萌发和幼苗期是植物生活史中最关键和最敏感的时期,在这个时期植物个体对生态因子的变化最敏感,个体损失率最高(Peterson *et al.*, 2004)。海草实生苗的建成在很大程度上取决于水流、沉积物的稳定性、栽培基质和栽培方式(Kahn *et al.*, 2005; Tanner *et al.*, 2010; 程冉等, 2022)。栽培基质不仅可为植株根际提供固持作用,还可为植物提供营养元素和微量元素,从而促进植物快速生长(Short, 1987; Erfteimeijer *et al.*, 1994)。徐强(2016)开展了不同栽培基质(普通泥土、赤玉土、天鹅湖底泥和复合基质)对鳗草(*Zostera marina*)植株栽培效果影响的室内实验和海区实验,其研究结果均表明,普通泥土处理组的栽培效果最优,海区移植 80 d 后,普通泥土处理组的鳗草植株存活率最高(69%),是赤玉土处理组的 3 倍。

栽培方式也对海草实生苗建成具有显著影响。Wang 等(2016)研究了基质栽培和无土栽培对鳗草种子萌发的影响,发现基质栽培处理组种子萌发率为 46%,显著高于无土栽培处理组的种子萌发率(19%)。刘云龙等(2016)采用去离子水对鳗草种子进行促萌 21 d,实生苗培育 40 d,其种子萌发率达 57%,但实生苗死亡率高达 95%以上。谢坤秀(2021)研究了水培促萌+基质插植和基质栽培对鳗草实生苗建成的影响,发现水培促萌+基质插植处理组的实生苗建成率为 49%,而基质栽培处理组的实生苗建成率仅为 24%。由此可见,水培+萌中插植的鳗草实生苗的建成效果较好,但培育过程相比单纯的基质栽培需要更多人力,培育成本较高。因此,探究低成本、培育效果较好的鳗草实生苗栽培方式十分必要。

本研究以温带优势海草种类——鳗草为对象,于 15 ℃、天然泥土基质条件下,研究了 3 种不同栽培方式(水培促萌+萌中插植、水培促萌+萌后插植和基质栽培)对鳗草种子萌发、实生苗建成和生理的影响,核算了 3 种不同栽培方式的培育成本,通过对比分析不同栽培方式下鳗草的实生苗建成、生长、生理指标及培育成本,得出鳗草实生苗适宜的栽培方式,查明鳗草种子及实生苗应对不同栽培方式的生理响应过

程,以期建立鳗草实生苗人工培育理论和技术提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

鳗草种子于 2021 年 7 月采集于山东省荣成市天鹅湖(37.338 2°~37.358 8°N, 122.555 1°~122.579 3°E)。在鳗草面积较大的区域通过人工方式收集生殖枝,将包含有种子佛焰苞摘取置于尼龙网兜内,置于自然海域,待其成熟掉落于袋中并收集。收集好的种子置于室内低温无菌海水循环水槽中保存。

1.2 实验设计

参考已有文献报道(Kahn *et al.*, 2005; Tanner *et al.*, 2010),并综合考虑插植时间、规模化培育和成本等因素,设置 3 种不同的栽培方式:水培促萌+萌中插植、水培促萌+萌后插植以及基质栽培,详情见表 1。每个处理组设置 5 个重复。根据谢坤秀(2021)、Niu 等(2012)和 Zhang 等(2014)的研究结论,实验时长为 42 d,其中,鳗草种子促萌 12 d,鳗草实生苗室内培育 30 d。

1.3 实验设施与环境条件

1.3.1 实验设施 实生苗室内培育平台由 4 套循环系统组成,每套循环系统包括栽培容器、培育水箱、温度控制、循环水系统等设施,如图 1 所示。栽培容器使用聚乙烯材质的圆形透明盒,规格为 17 cm × 11.2 cm (直径 × 高),侧面开孔 5 个以利于基质与海水充分接触,开孔直径为 1.2 cm,开口处表面积为 1.1 cm²。室内培育水箱为聚乙烯材质,规格为 90 cm × 60 cm × 70 cm,每个培育水箱放置 5 个栽培容器。采用冷水机进行水温调控,并使用功率为 200 W 的水泵进行水体循环,以维持系统水温的均一性,循环速率为 15 L/min。

1.3.2 环境条件 实验海水为马山集团有限公司自储海水,不同盐度人工海水通过海水与淡水按照一定比例混合调制。实验期间,保持海水温度为(15 ± 1) ℃,水深控制在(60 ± 10) cm,为使盐度均衡,培育期间,每周换水 1 次。光照条件为自然光照,平均日光照强度为(3 321.17 ± 120.15) lx。实验使用的栽培基质为采自马山集团有限公司的天然土壤。栽培基质与栽培容器之间放置医用无菌纱布,防止种子和基质流出。

表 1 不同栽培方式处理设置
Tab.1 Treatment settings for different cultivation methods

组别 Group	萌发阶段 Germination stage		插植时间 Implantation time	实生苗培育阶段(13—42 d) Seedling cultivation stage
	1—4 d	5—12 d		
水培促萌+ 萌中插植 WA	淡水水培 Freshwater hydroponics	盐度 10 水培 Salinity 10 hydroponics	促萌期间 Germination process	基质插植 Substrate implantation
水培促萌+ 萌后插植 WB	淡水水培 Freshwater hydroponics	盐度 10 水培 Salinity 10 hydroponics	促萌结束 End of germination	基质插植 Substrate implantation
基质栽培 SS	基质栽培 Substrate cultivation		—	基质栽培 Substrate cultivation

注: 1. 基质采用天然泥土, 采自马山集团有限公司天然土壤; 2. 水培促萌表示种子萌发阶段在水培环境中进行; 3. 萌中插植表示在种子水培促萌阶段将萌发的种子挑出并插植至基质; 4. 萌后插植表示在种子水培促萌阶段结束后统一将萌发的种子插植至基质; 5. 基质插植表示将萌发的种子插植至基质中进行实生苗建成; 6. 基质栽培表示首先将种子播种至基质中, 然后将基质置于不同盐度的水体环境进行种子促萌及实生苗建成。

Note: 1. Natural soil was used as the substrate, which was collected from the natural soil of Mashan Group Co. LTD; 2. Hydroponic germination promotion means that seed germination is promoted under hydroponic environment during the germination stage; 3. Germination insertion treatment means that germination seeds are inserted during germination process; 4. Germination post-insertion treatment means that germination seeds are inserted uniformly after the end of germination; 5. Substrate implantation means that the germinated seeds are inserted into the substrate for seedling formation; 6. Substrate cultivation means that seeds are first sown into the substrate, and then the substrate is placed in the water environment of different salinities for seed germination and seedling establishment.

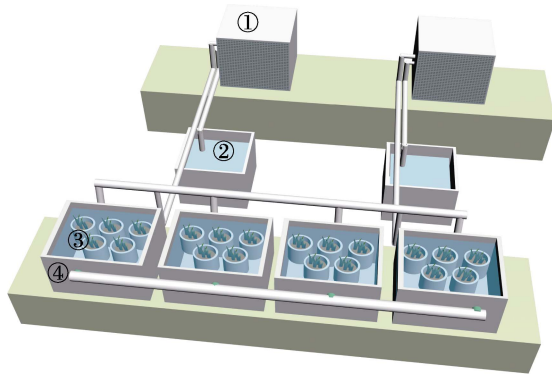


图 1 实生苗室内培育平台模式图

Fig.1 Diagram of indoor seedling cultivation platform

- ①: 温度控制系统; ②: 循环水系统;
③: 栽培容器; ④: 培育水箱

- ①: Temperature control system; ②: Circulating water system;
③: Cultivation vessel; ④: Breeding water tank

1.4 实验过程

将已消毒的 1 500 粒鳗草种子随机平均分成 15 份, 每个处理组设置 5 个重复, 每个重复 100 粒种子。每个处理组随机选择 1 套循环系统, 包含的 5 个栽培容器(重复)随机放入其中的培育水箱, 并每 2 d 随机调换位置。其中, 水培促萌+萌中插植处理组再随机选择 1 套循环系统, 用作萌发种子插植后的实生苗培育。

水培促萌+萌中插植处理组: 促萌开始时, 首先向已编号的各栽培容器中放入 100 粒种子, 栽培容器

顶部放置医用纱布, 并用皮筋固定, 防止种子外溢; 然后将其置于培育水箱, 加入淡水至 60 cm 促萌 4 d, 结束后将淡水全部排出并加入盐度为 10 的人工海水继续促萌 8 d; 促萌期间, 将已萌发的种子(以子叶 ≥ 1 cm 为萌发标志)挑出, 分别插植到对应编号的装有栽培基质的栽培容器中, 插植时小心地将幼苗下胚轴插入基质, 至基质覆盖下胚轴; 然后将其置于随机选择的另外 1 套循环系统的培育水箱, 加入盐度为 20 的人工海水至 60 cm 进行实生苗培育。

水培促萌+萌后插植处理组: 促萌阶段与水培促萌+萌中插植处理组相同, 但促萌期间不将萌发种子挑出, 直至促萌阶段(12 d)结束, 统一将萌发的种子插植到对应编号的装有栽培基质的栽培容器中, 然后放回原培育水箱, 排出促萌期间使用的人工海水, 加入盐度为 20 的人工海水至 60 cm 进行实生苗培育。

基质栽培处理组: 首先将种子均匀播种至装有栽培基质的栽培容器中, 播种深度距基质表面 1.5~2 cm, 然后置于培育水箱, 加入淡水至 60 cm 促萌 4 d, 结束后将淡水全部排出并加入盐度为 10 的人工海水至 60 cm 继续促萌 8 d, 促萌阶段共计 12 d。促萌阶段结束后, 将盐度为 10 的海水全部排出并加入盐度为 20 的人工海水至 60 cm 进行实生苗培育。

1.5 样品采集与分析

促萌结束后, 统计各处理组种子萌发数, 计算种子累积萌发率。室内培育结束后, 统计各处理组实生

苗数,计算各处理组实生苗建成率;测定实生苗的株高、叶长、叶宽和根长等生长指标,并随机选取5株实生苗,使用去离子水清洗后置于60℃烘干至恒重,测定实生苗生产力;随后在每个处理组选取15株幼苗用于可溶性糖和淀粉含量的测定(蒽酮法)、光合色素含量的测定(萃取法)和总碳、总氮含量的测定(Lewis *et al.*, 2007; 王文杰等, 2009)。

$$\text{累积萌发率(\%)} = \sum n_i / N \times 100 \quad (1)$$

式中, n_i 为第 i 天种子的萌发数, N 为萌发种子的总数;

$$\text{实生苗建成率(\%)} = \text{存活的幼苗数} / \text{初始种子数} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{地上组织绝对生长速率(mm/d)} = \text{株高} / \text{幼苗培育时间} \quad (3)$$

$$\text{叶片延伸速率(mm/d)} = \text{每株实生苗叶片长度之和} / \text{实生苗培育时间} \quad (4)$$

$$\text{单株叶面积(cm}^2\text{/shoot)} = \text{每株实生苗叶片面积之和} \quad (5)$$

$$\text{根延伸速率(mm/d)} = \text{每株实生苗最大根长} / \text{实生苗培育时间} \quad (6)$$

$$\text{根生成率[roots/(shoot·d)]} = \text{每株实生苗根数之和} / \text{实生苗培育时间} \quad (7)$$

$$\text{生产力[mg DW/(shoot·d)]} = \text{每株实生苗干重} / \text{实生苗培育时间} \quad (8)$$

1.6 培育成本

鳗草实生苗的培育成本(元/株)=培育费用/实生苗数量。培育费用主要包括种子费、材料费(循环水、栽培基质和栽培容器等费用)、能源费(培育水体循环和制冷等费用)和人工费(基质填充、日常维护和基质插植等费用)。本研究基于1个重复(100粒种子)进行了培育费用估算,如表2所示,并根据各重复的实生苗数量,最终计算得出各重复的培育成本。

1.7 数据分析

运用 SPSS 25.0 软件对数据进行分析,不同栽培

表2 培育费用分析¹/元
Tab.2 Cultivation costs analysis/Yuan

培育方式 Cultivation methods	种子费 ² Seed cost	材料费 Material costs			能源费 ⁶ Energy cost	人工费 Labor costs			费用合计 Total costs
		循环水 ³ Circulating water	栽培基质 ⁴ Cultivation substrates	栽培容器 ⁵ Cultivation containers		基质填充 ⁷ Filling substrates	日常维护 ⁸ Routine maintenance	种子插植 ⁹ Seed insertion	
水培促萌+ 萌中插植 WA	50.0	32.6	0.5	10.0	90.7	1.0	8.4	12.0	205.2
水培促萌+ 萌后插植 WB	50.0	28.0	0.5	5.0	70.6	1.0	8.4	1.0	164.5
基质栽培 SS	50.0	28.0	0.5	5.0	70.6	1.0	8.4	0.0	163.5

注: 1. 基于本实验1个重复(即100粒种子)进行成本分析; 2. 单价0.5元/粒; 3. 实验期间, WB和SS处理组需更换1次淡水、2次盐度10人工海水和5次盐度20人工海水, WA处理组则比WB和SS处理组增加1次淡水更换, 其余换水频次与2个处理组相同, 经计算, WA处理组共使用淡水0.38 m³、海水0.28 m³, WB和SS处理组均使用淡水0.24 m³、海水0.24 m³, 其中海水单价110.0元/m³, 淡水单价4.0元/m³; 4. 每个重复使用天然泥土230.0 cm³, 单价200.0元/m³; 5. WA处理组每个重复使用2个栽培容器, 其余2个处理组每个重复使用1个栽培容器, 单价5.0元/个; 6. WA处理组在种子萌发阶段使用2套循环水系统, WB和SS处理组均使用1套循环水系统, 经计算, WA处理组共使用电量129.6 kW·h, WB和SS处理组均使用70.6 kW·h, 单价0.7元/kW·h; 7. 基质填充: 1.0元/盆; 8. 日常维护: 0.2元/盆/d; 9. 种子插植: 1.0元/次, 实验期间, WA处理组在促萌阶段12 d内每日插植, 共计12次, WB处理组插植1次, SS处理组不进行插植。

Note: 1. The analysis is based on the cost of 1 replicate (i.e. 100 seeds) of this experiment; 2. Unit price 0.5 Yuan/seed; 3. During the experiment, the fresh water was renewed once, artificial seawater with a salinity of 10 was renewed twice, and artificial seawater with a salinity of 20 was renewed five times in the WB and SS treatments. Except for the frequency of water exchange above, the WA treatment had 1 additional fresh water change. It was calculated that the WA treatment group used a total of 0.38 m³ of fresh water and 0.28 m³ of seawater, and the WB and SS treatment groups both used 0.24 m³ of fresh water and 0.24 m³ of seawater, where the unit price of seawater is 110.0 Yuan/m³ and the unit price of freshwater is 4.0 Yuan/m³; 4. 230.0 cm³ of natural soil per replicate, the unit price of 200.0 Yuan/m³; 5. Two containers were used in each replicate of the WA treatment, and one container was used in each of the other two treatments. The unit price is 5.0 Yuan per container; 6. The WA treatment used 2 systems during the seed germination stage, and both the WB and SS treatments used 1 system. A total of 129.6 kW·h of electricity was used by the WA treatment and 70.6 kW·h by both the WB and SS treatments. The unit cost of electricity is 0.7 Yuan/kW·h; 7. Substrate filling fee: 1.0 Yuan/basin; 8. Daily maintenance cost: 0.2 Yuan/basin/day; 9. Seed insertion cost: 1.0 Yuan/time. During the experiment, the WA treatment was inserted 12 times within 12 days of the seed promotion stage, the WB treatment was inserted once, and the SS treatment was not inserted.

方式处理组的实生苗指标采用单因素方差分析(one-way ANOVA), 若存在显著差异再使用 Duncan's 分析进行多重比较。显著性水平设置为 $P < 0.05$ 。采用 R 语言绘制 PCA, 筛选不同栽培方式影响鳗草实生苗的主要成分指标。采用 R 语言对数据进行 Pearson 相关性分析, 同时, 对生理指标与生长指标进行 Mantel 相关性分析, 探究实生苗各指标之间的相关性水平。实验数据采用平均值±标准误(Mean±SE)表示。

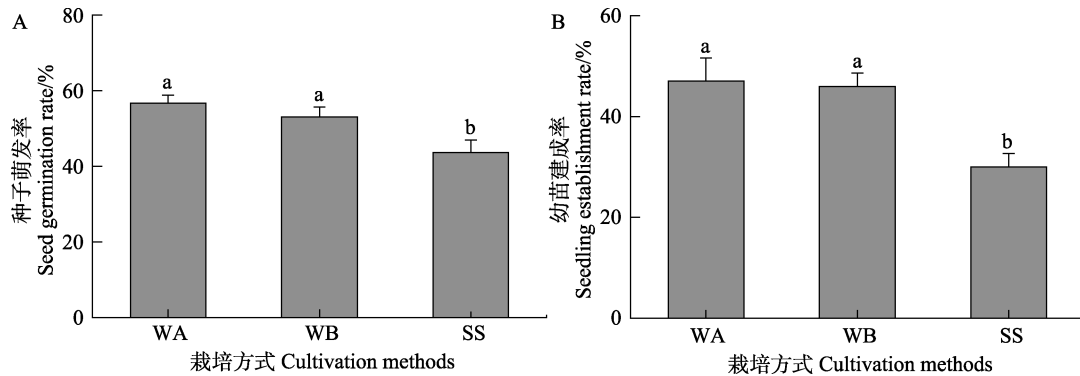


图2 不同栽培方式对鳗草种子萌发(A)和实生苗建成(B)的影响

Fig.2 The effect of different cultivation methods on the seed germination (A) and seedling establishment (B) of eelgrass

WA: 水培促萌+萌中插植处理组; WB: 水培促萌+萌后插植处理组; SS: 基质栽培方式处理组。

误差线上不同字母表示不同处理之间存在显著差异($P < 0.05$)。下同。

WA: Hydroponic germination promotion + germination insertion treatment; WB: Hydroponic germination promotion + germination post-insertion treatment; SS: Substrate cultivation treatment. Different letters on the error bar indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$). The same below.

2.2 实生苗生长

2.2.1 地上组织 单因素方差分析显示, 不同栽培方式对鳗草实生苗地上组织指标存在显著差异($P < 0.05$), 如图3所示。水培促萌+基质插植处理实生苗的形态规格均较大, 其中, 水培促萌+萌中插植处理组各地上组织指标均最高, 其单株叶面积、叶片延伸速率、地上部分绝对生长速率和实生苗生产力是基质栽培方式处理组的1.1~1.4倍($P < 0.05$)。

2.2.2 地下组织 不同栽培方式对鳗草实生苗地下组织具有显著影响, 其中, 以基质栽培方式处理组最低, 如图4所示。单因素方差分析显示, 基质栽培方式处理组鳗草实生苗的根延伸速率和根生成率仅为水培促萌+萌中插植处理组的79.0%和59.6% ($P < 0.05$)。

2.3 培育成本

单因素方差分析结果显示, 不同栽培方式对培育成本具有显著影响($P < 0.05$), 如图5所示。水培促萌+

2 结果

2.1 种子萌发率和实生苗建成率

不同栽培方式的鳗草种子萌发率和实生苗建成率存在显著差异(图2)。其中, 水培促萌+萌中插植处理组种子萌发率和实生苗建成率最高(57%和47%), 分别是基质栽培处理组的1.3倍和1.6倍($P < 0.05$)。

萌后插植处理组单株培育成本最低(3.6元/株), 分别是水培促萌+萌中插植和基质栽培方式培育成本的81.9%和65.6%。

2.4 实生苗生理指标

2.4.1 可溶性糖和淀粉含量 单因素方差分析结果显示, 水培促萌+萌中插植和水培促萌+萌后插植的可溶性糖含量和淀粉含量无显著差异($P > 0.05$), 但均显著高于基质栽培方式处理组($P < 0.05$)(图6)。基质栽培方式处理组可溶性糖含量和淀粉含量相比水培促萌+萌中插植处理组降低19.1%和22.4%。

2.4.2 光合色素含量 室内培育结束后, 各栽培方式处理组叶绿素a含量在2.4~3.2 mg/cm²之间, 叶绿素b含量相比在1.7~2.1 mg/cm²之间, 类胡萝卜素含量在0.8~1.0 mg/cm²之间(图7)。其中, 水培促萌+萌中插植处理组实生苗光合色素含量显著高于基质栽培方式处理组, 水培促萌+萌中插植处理组叶绿素a含量、叶绿素b含量和类胡萝卜素含量分别是基质栽培方式处理组的1.4、1.2和1.2倍($P < 0.05$)。

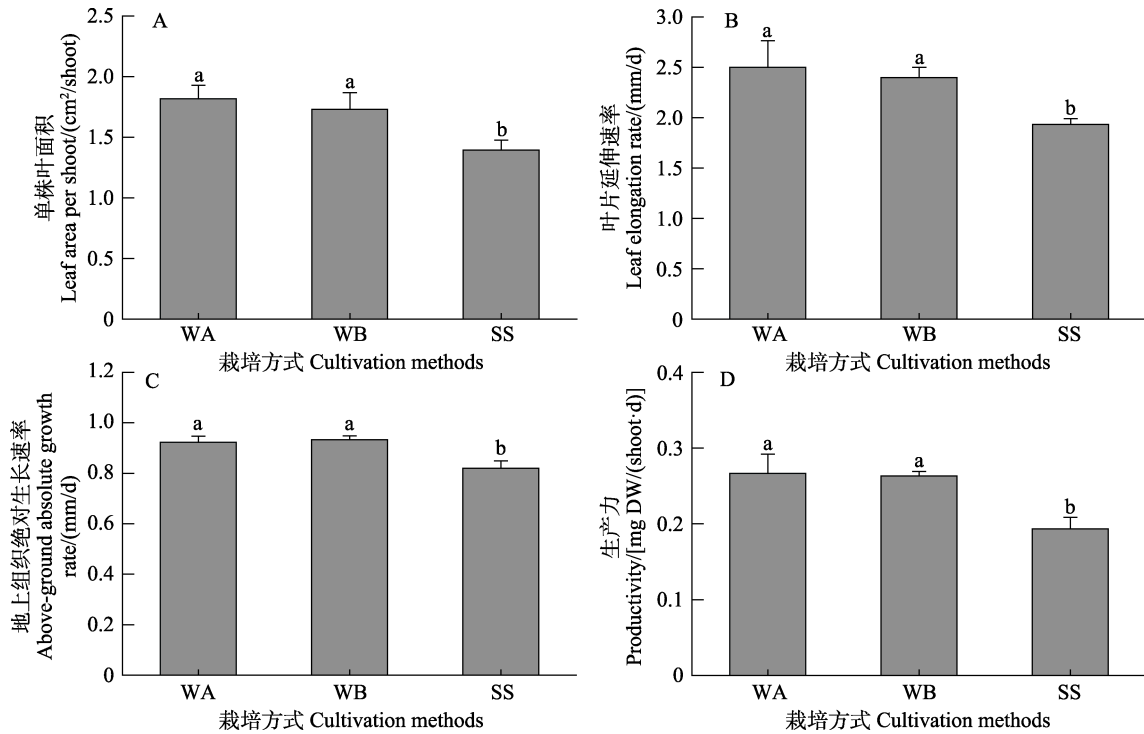


图3 不同栽培方式对实生苗单株叶面积(A)、叶片延伸速率(B)、地上组织绝对生长速率(C)和实生苗生产力(D)的影响
Fig.3 The effect of different cultivation methods on the leaf area per shoot (A), leaf elongation rate (B), above-ground absolute growth rate (C) and productivity (D) of eelgrass

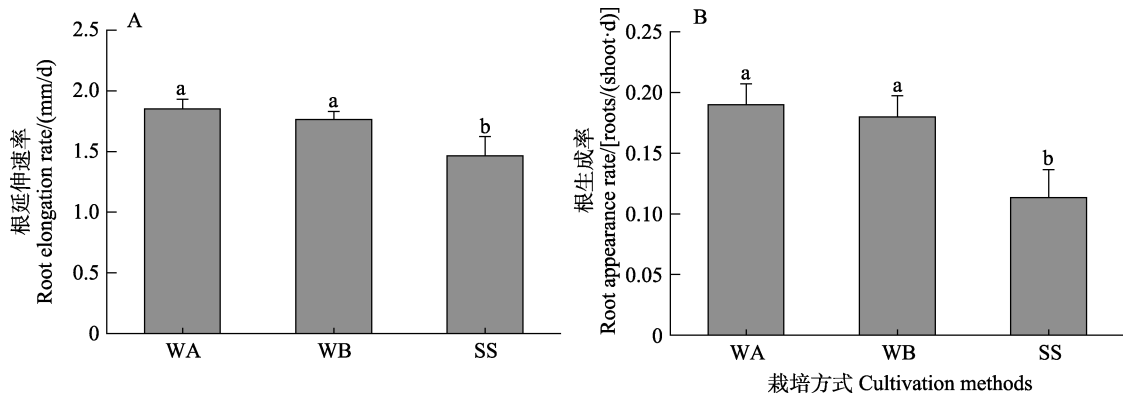


图4 不同栽培方式对根延伸速率(A)和根生成率(B)的影响

Fig.4 The effect of different cultivation methods on the root elongation rate (A) and root generation rate (B) of eelgrass

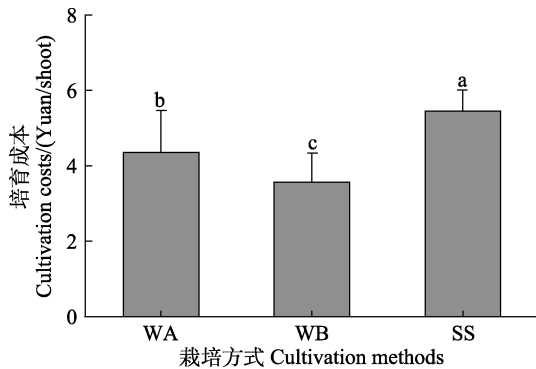


图5 不同栽培方式对培育成本的影响

Fig.5 The effect of different cultivation methods on cultivation costs

2.4.3 总碳、总氮和碳氮比 各栽培方式处理组实生苗的总碳含量均高于32% (图8), 各栽培方式处理组实生苗总碳含量无显著差异($P>0.05$)。各栽培方式处理组总氮含量均较低, 在0.93%~1.13%之间。其中, 水培促萌+萌中插植处理组总氮含量最高, 是最低值的1.2倍($P<0.05$)。不同栽培方式处理组实生苗的碳氮比在28.6~35.0之间, 基质栽培方式处理组碳氮比最高, 达到35.0, 是其他处理组的1.2倍($P<0.05$)。

2.4.4 不同栽培方式与实生苗生理指标的关系

对不同栽培方式实生苗的生理指标进行主成分分析。结果显示, 前4个排序轴对实生苗生理各指标

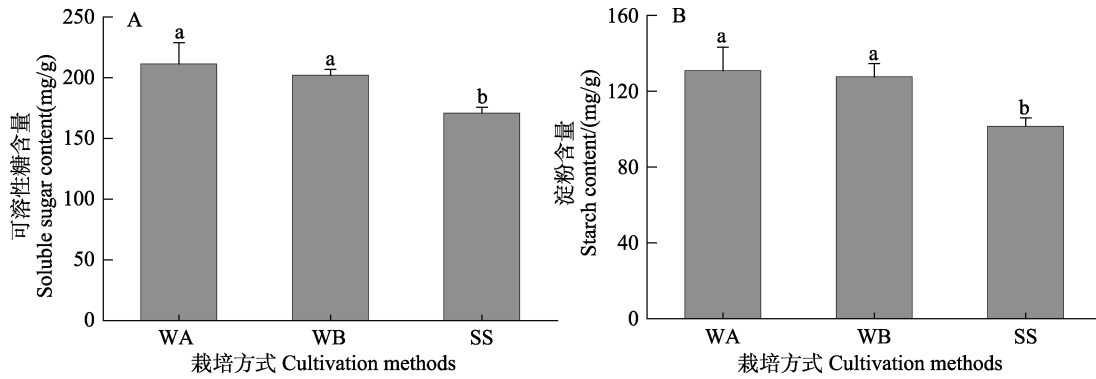


图 6 不同栽培方式对可溶性糖含量(A)和淀粉含量(B)的影响

Fig.6 The effect of different cultivation methods on the soluble sugar content (A) and starch content (B) of eelgrass

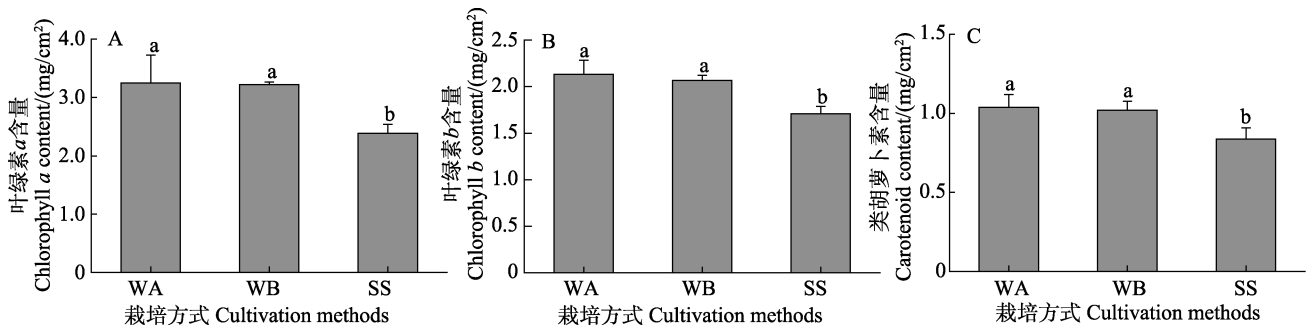


图 7 不同栽培方式对叶绿素 a 含量(A)、叶绿素 b 含量(B)和类胡萝卜素含量(C)的影响

Fig.7 The effect of different cultivation methods on the chlorophyll a content (A), chlorophyll b content (B) and carotenoid content (C) of eelgrass

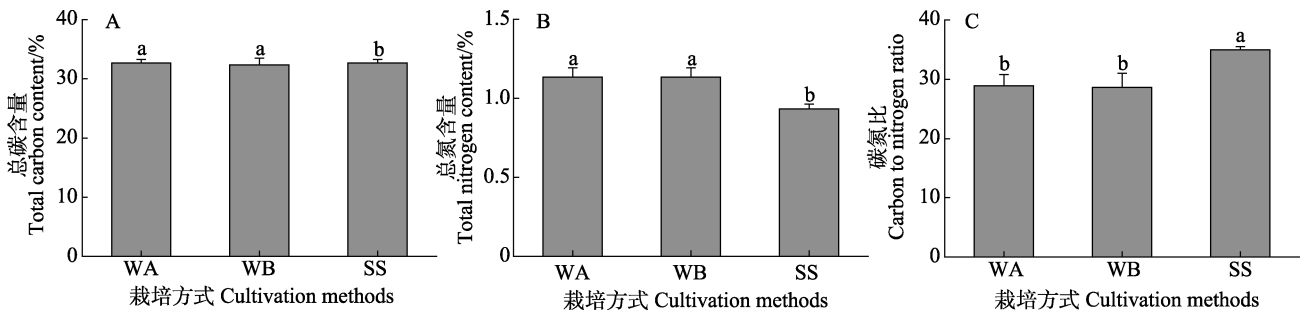


图 8 不同栽培方式处理对总碳(A)、总氮(B)和碳氮比(C)的影响

Fig.8 The effect of different cultivation methods on the total carbon (A), total nitrogen (B) and C/N ratio (C) of eelgrass

解释量为 70.5%、14.5%、7.9%和 4.6%，第 1、第 2 排序轴累积方差解释率为 85%，前 2 个主成分(Dim.1 和 Dim.2)的特征值大于 1，占特征值的 80%以上(见表 3)。

每个变量对两成分的相关性显示，总氮含量对主成分 1 的贡献最大，碳氮比和可溶性糖含量对主成分 1 的贡献较大，除总碳含量和碳氮比外，各指标均与主成分 1 呈正相关(图 9)。将 8 个指标进行排序，综合结果显示 WA>WB>SS，因此，3 个实验组中，WA(水培促萌+萌中插植处理组)对鳃草实生苗生长的促进效果最优。

表 3 PCA 分析相关解释量

项目 Items	组成成分 Component			
	Dim.1	Dim.2	Dim.3	Dim.4
特征值 Eigenvalues	5.637	1.163	0.636	0.371
解释率 Explanatory rate	70.5%	14.5%	7.9%	4.6%

2.5 鳃草生态学指标和生理指标的相关性分析

对鳃草实生苗生理指标采用 Pearson 相关性分

析, 萌发建成、生长指标与生理指标之间采用 Mantel 相关性分析, 如图 10 所示。可溶性糖含量与光合色素(Chl *a*、Chl *b* 和 CA)呈显著正相关($Cor>0.8, P<0.05$), 淀粉含量与光合色素呈显著正相关($Cor>0.8, P<0.05$)。表明适宜的栽培方式主要通过提升实生苗非结构性碳水化合物的形成和光合色素含量, 加快实生苗可溶性糖和淀粉含量生成, 实现对实生苗建成生长的促进作用。

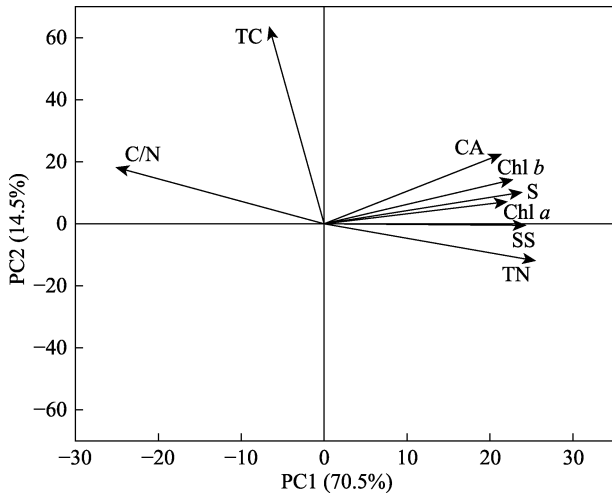


图 9 不同栽培方式处理组与植株生理指标的 PCA 排序图
Fig.9 PCA sequence diagram of different cultivation treatments and plant physiological indicators

CA: 类胡萝卜素; Chl *a*: 叶绿素 *a*; Chl *b*: 叶绿素 *b*;
TN: 总氮; TC: 总碳; C/N: 碳氮比;
SS: 可溶性糖; S: 淀粉。下同。

CA: Carotenoids, Chl *a*: Chlorophyll *a*, Chl *b*: Chlorophyll *b*,
TN: Total nitrogen, TC: Total carbon, C/N: Carbon nitrogen ratio, SS: Soluble sugar, S: Starch. The same below.

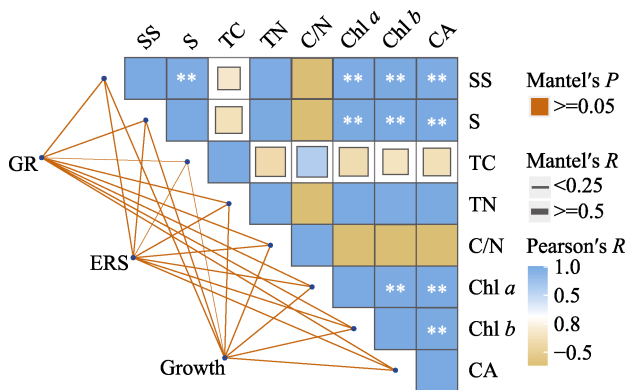


图 10 鳎草实生苗萌发建成、生长指标和生理指标相关性分析

Fig.10 Correlation analysis of germination, growth and physiological indicators of eelgrass seedlings

3 讨论

3.1 不同栽培方式对海草实生苗建成的影响

不同栽培方式能影响植株所处的生态环境、生长发育和物质的积累与分配, 从而影响植株的建成和生长等(Zhang *et al*, 2015; 江鑫等, 2012; Ochieng *et al*, 2010; Dennison *et al*, 1993)。本研究发现, 水培促萌+萌中插植、水培促萌+萌后插植的栽培方式显著提升了鳎草的实生苗建成率, 这 2 种栽培方式的实生苗建成率是基质栽培方式的 1.6 倍。这可能是因为水培促萌的方式可使种子与低盐度水体充分接触, 休眠破除速度快, 种子萌发率和实生苗建成率均较高, 而基质栽培方式可能降低了种子与低盐度水体的接触度, 导致其休眠破除速度慢, 种子萌发率和实生苗建成率降低。

Churchill (1992)研究发现, 子叶提供幼苗存活所必须的 O_2 , 子叶能否突破沉积物是实生苗建成和存活的关键。海草实生苗人工培育中, 埋藏较深的种子比埋得较浅的种子需要更长的下胚轴, 导致幼苗子叶从沉积物表面出现之前需要更长的时间, 子叶出现的任何延迟都可能导致幼苗死亡。Granger 等(2000)发现, 鳎草种子播种深度为 2 cm 的萌发率和实生苗存活率显著高于播撒于基质表面和播种更深的种子。Churchill(1992)发现, 播种深度为 1 cm 的鳎草种子萌发率显著高于播种深度大于 3 cm, 且随着深度增加, 在实验结束时因腐烂损失的种子越多。本研究中, 水培促萌+萌中插植、水培促萌+萌后插植栽培方式可以减少因子叶突破沉积物所需的能量消耗, 使种胚中储存的能量更多流向实生苗建成和生长发育, 提高了实生幼苗的建成率。

本研究中, 水培促萌+萌中插植、水培促萌+萌后插植处理组不仅减少了子叶因突破沉积物所需的能量消耗, 而且在种子萌发后通过即时变盐处理培养, 实现实生苗高建成率(46.5%)。刘云龙等(2016)在实验室条件下进行鳎草实生苗培育, 发现鳎草种子经盐度 0 萌发培养 21 d, 再转入盐度 15 继续培育, 鳎草实生苗建成率达 24.4%, 高于同期在盐度 30 储存的鳎草种子自然萌发率(0.2%)。本研究结果与刘云龙等(2016)的结论相一致。Hootsmans 等(1987)发现, 低盐度中鳎草种子存活和发育能力均减弱, 种子萌发后的发育和存活决定实生苗建成率, 同样受到盐度的限制。同时, 有研究发现, 鳎草实生苗适宜的存活盐度为 5~42, 低盐度会加剧鳎草实生苗的死亡(Phillips *et al*, 1983; Giesen *et al*, 1990; Arasaki *et al*, 1950)。

3.2 不同栽培方式对海草实生苗生理状况的影响

植物的生长发育是以其生理响应作为物质基础,特别是有关栽培方式与非结构性碳水化合物等物质代谢的生理过程(江志坚等, 2012)。本研究发现, 水培促萌+萌中插植、水培促萌+萌后插植处理组叶绿素 *a* 含量和叶绿素 *b* 含量均显著高于基质栽培方式处理组, 平均分别是其 1.4 和 1.2 倍。谢坤秀(2021)研究了不同栽培方式对鳗草实生苗培育效果的影响, 发现水培促萌+萌中插植栽培方式下鳗草实生苗光合电子传递速率达 47, 是基质栽培方式处理组的 1.3 倍。本研究结果与谢坤秀(2021)的结论一致。这可能是种子萌发后迅速插植至基质中进行培育, 减少了低盐度对实生苗造成的损伤。Arasaki (1950)发现, 低盐度会损害海草实生苗的生长, 鳗草实生苗的盐度下限为 5~7。同时, 鳗草实生苗在低盐环境下生长和光合作用都会受到限制(Pinnerup, 1980)。Hellblom 等(1999)发现, 鳗草幼苗光合作用随盐度升高而增强。

海草能将其叶光合作用产物——非结构性碳水化合物(如葡萄糖、蔗糖和淀粉等)储存起来, 而这些碳水化合物在其叶和根茎中的含量将随着光照、水温等环境因子而变化(Ochieng *et al*, 2010; Dennison *et al*, 1993)。Niu 等(2012)在实验室条件下进行鳗草实生幼苗的培育, 发现种子在水培条件下促萌并将萌发幼苗移至细沙基质中培养, 幼苗叶绿素 *a* 含量高达 7.0 mg/g。本研究表明, 鳗草实生苗可溶性糖含量、可溶性淀粉含量与光合色素之间呈极显著正相关, 基质栽培方式下鳗草实生苗形态学指标均较低, 光合能力弱。而水培促萌+萌中插植、水培促萌+萌后插植栽培方式下, 鳗草实生苗生长较快, 光合能力强, 营养物质积累多, 生产力平均达 0.27 mg DW/(shoot-day)。

4 结论

本研究分析了天然泥土基质条件下, 水培促萌+萌中插植、水培促萌+萌后插植和基质栽培 3 种栽培方式对鳗草种子萌发、实生苗建成及生理响应过程的影响, 核算了 3 种不同栽培方式的培育成本。综合实生苗培育效果和培育成本发现, 水培促萌+萌后插植栽培方式展现出最优的培育效果和培育成本, 其实生苗建成率达到 46%, 是基质栽培方式处理的 1.5 倍, 且培育成本为 3.6 元/株, 较水培促萌+萌中插植降低了 18.1%。研究结果为丰富海草生物学理论、建立低成本且高效的鳗草实生苗人工培育技术等提供了基础数据。利用海草种子人工育苗后移栽到海区的修复方式逐渐成为热点, 关于不同栽培方式与陆海接力修

复模式对鳗草实生苗建成和生长的影响是否存在交互作用等科学问题, 还需进一步探讨。

参 考 文 献

- ARASAKI S. Studies on the ecology of *Zostera marina* and *Zostera nana*. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 1950, 16(2): 70–76
- BARBIER E B, HACKER S D, KENNEDY C, *et al*. The value of estuarine and coastal ecosystem services. Ecological Monographs, 2011, 81(2): 169–193
- CHENG R, HOU X, WANG H, *et al*. Survival, growth, and physiological responses of surfgrass transplants to different hydrodynamic regimes. Progress in Fishery Sciences, 2022, 43(2): 21–31 [程冉, 侯鑫, 王欢, 等. 红纤维虾形草移植植株存活、生长和生理对不同水动力条件的响应. 渔业科学进展, 2022, 43(2): 101–104]
- CHRISTIANEN M J A, VAN BELZEN J, HERMAN P M J, *et al*. Low-canopy seagrass beds still provide important coastal protection services. PLoS One, 2013, 8(5): e62413
- CHURCHILL A C. Growth characteristics of *Zostera marina* seedlings under anaerobic conditions. Aquatic Botany, 1992, 43(4): 379–392
- DENNISON W C, ORTH R J, MOORE K A, *et al*. Assessing water quality with submersed aquatic vegetation. BioScience, 1993, 43(2): 86–94
- ERFTEMEIJER P L A, STAPEL J, SMEKENS M J E, *et al*. The limited effect of in situ phosphorus and nitrogen additions to seagrass beds on carbonate and terrigenous sediments in South Sulawesi, Indonesia. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 1994, 182(1): 123–140
- FONSECA M S, KENWORTHY W J, THAYER G W. Guidelines for the conservation and restoration of seagrasses in the United States and adjacent waters. Marine Ecology Progress, 1998
- FOURQUREAN J W, DUARTE C M, KENNEDY H, *et al*. Seagrass ecosystems as a globally significant carbon stock. Nature Geoscience, 2012, 5(7): 505–509
- GIESEN W B J T, VAN KATWIJK M M, DEN HARTOG C. Eelgrass condition and turbidity in the Dutch Wadden Sea. Aquatic Botany, 1990, 37(1): 71–85
- GOODMAN J L, MOORE K A, DENNISON W C. Photosynthetic responses of eelgrass (*Zostera marina* L.) to light and sediment sulfide in a shallow barrier island lagoon. Aquatic Botany, 1995, 50(1): 37–47
- GRANGER S L, TRABER M S, NIXON S W. The influence of planting depth and density on germination and development of *Zostera marina* seeds. Biologia Marina Mediterranea, 2000, 7(3): 55–58
- HELLBLUM F, BJORK M. Photosynthetic responses in *Zostera marina* to decreasing salinity, inorganic carbon content and osmolality. Aquatic Botany, 1999, 65(1/2/3/4): 97–104
- HOOTSMANS M J M, VERMAAT J E, VAN VIERSSEN W. Seed-bank development, germination and early seedling

- survival of two seagrass species from the Netherlands: *Zostera marina* L. and *Zostera noltii* hornem. *Aquatic Botany*, 1987, 28(3/4): 275–285
- JACKSON E L, ROWDEN A A, ATTRILL M J, *et al.* The importance of seagrass beds as a habitat for fishery species. *Oceanography and Marine Biology*, 2001, 39: 269–304
- JARVIS J C, MOORE K A. Effects of seed source, sediment type, and burial depth on mixed-annual and perennial *Zostera marina* L. seed germination and seedling establishment. *Estuaries and Coasts*, 2015, 38(3): 964–978
- JIANG X, PAN J H, HAN H W, *et al.* Effects of substrate and water depth on distribution of sea weeds *Zostera marina* and *Z. caespitosa*. *Journal of Dalian Ocean University*, 2012, 27(2): 101–104 [江鑫, 潘金华, 韩厚伟, 等. 底质与水深对大叶藻和丛生大叶藻分布的影响. *大连海洋大学学报*, 2012, 27(2): 101–104]
- JIANG Z J, HUANG X P, ZHANG J P. Effect of environmental stress on non-structural carbohydrates reserves and transfer in seagrasses. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(19): 6242–6250 [江志坚, 黄小平, 张景平. 环境胁迫对海草非结构性碳水化合物储存和转移的影响. *生态学报*, 2012, 32(19): 6242–6250]
- KAHN A E, DURAKO M J. The effect of salinity and ammonium on seed germination in *Ruppia maritima* from Florida Bay. *Bulletin of Marine Science*, 2005, 77(3): 453–458
- LEWIS M A, DANTIN D D, CHANCY C A, *et al.* Florida seagrass habitat evaluation: A comparative survey for chemical quality. *Environmental Pollution*, 2007, 146(1): 206–218
- LIU Y L, ZHANG X L. The effects of salinity on seed germination and seedling development of the seagrass, *Zostera marina* L. *Haiyang Xuebao*, 2016, 38(2): 104–111 [刘云龙, 张学雷. 盐度对大叶藻种子萌发和幼苗发育的影响. *海洋学报*, 2016, 38(2): 104–111]
- LOPEZ Y ROYO C, PERGENT G, ALCOVERRO T, *et al.* The seagrass *Posidonia oceanica* as indicator of coastal water quality: Experimental intercalibration of classification systems. *Ecological Indicators*, 2011, 11(2): 557–563
- MARTINS I, NETO J M, FONTES M G, *et al.* Seasonal variation in short-term survival of *Zostera noltii* transplants in a declining meadow in Portugal. *Aquatic Botany*, 2005, 82(2): 132–142
- MOMOTA K, HOSOKAWA S, KOMURO T. Small-scale heterogeneity of fish diversity evaluated by environmental DNA analysis in eelgrass beds. *Marine Ecology Progress Series*, 2022, 688: 99–112
- NIU S N, ZHANG P D, LIU J, *et al.* The effect of temperature on the survival, growth, photosynthesis, and respiration of young seedlings of eelgrass *Zostera marina* L. *Aquaculture*, 2012, 350: 98–108
- OCHIENG C A, SHORT F T, WALKER D I. Photosynthetic and morphological responses of eelgrass (*Zostera marina* L.) to a gradient of light conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2010, 382(2): 117–124
- ORTH R J, LUCKENBACH M, MOORE K A. Seed dispersal in a marine macrophyte: Implications for colonization and restoration. *Ecology*, 1994, 75(7): 1927–1939
- PETERSON J E, BALDWIN A H. Seedling emergence from seed banks of tidal freshwater wetlands: Response to inundation and sedimentation. *Aquatic Botany*, 2004, 78(3): 243–254
- PHILLIPS R C, STEWART G W, PETER M C. Reproductive strategies of eelgrass (*Zostera marina* L.). *Aquatic Botany*, 1983, 16(1): 1–20
- PICKERELL C H, SCHOTT S, WYLLIE-ECHEVERRIA S. Buoy-deployed seeding: Demonstration of a new eelgrass (*Zostera marina* L.) planting method. *Ecological Engineering*, 2005, 25(2): 127–136
- PINNERUP S P. Leaf production of *Zostera marina* L. at different salinities. *Ophelia*, 1980, 1(Suppl): 219–224
- SHORT F T. Effects of sediment nutrients on seagrasses: Literature review and mesocosm experiment. *Aquatic Botany*, 1987, 27(1): 41–57
- SHORT F, CARRUTHERS T, DENNISON W, *et al.* Global seagrass distribution and diversity: A bioregional model. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2007, 350(1/2): 3–20
- TANNER C E, PARHAM T. Growing *Zostera marina* (eelgrass) from seeds in land-based culture systems for use in restoration projects. *Restoration Ecology*, 2010, 18(4): 527–537
- WANG M, WANG Y, GUO X, *et al.* Reproductive properties of *Zostera marina* and effects of sediment type and burial depth on seed germination and seedling establishment. *Aquatic Botany*, 2016, 134: 68–74
- WANG W J, HE H S, GUAN Y, *et al.* Methodological comparison of chlorophyll and carotenoids contents of plant species measured by DMSO and acetone-extraction methods. *Bulletin of Botanical Research*, 2009, 29(2): 224–229 [王文杰, 贺海升, 关宇, 等. 丙酮和二甲亚砜法测定植物叶绿素和类胡萝卜素的方法学比较. *植物研究*, 2009, 29(2): 224–229]
- WAYCOTT M, DUARTE C M, CARRUTHERS T J B, *et al.* Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(30): 12377–12381
- XIE K X. Physiological and ecological effects of salinity and cultivation methods on the establishment of *Zostera marina* seedlings. Master's Thesis of Ocean University of China, 2021 [谢坤秀. 盐度及栽培方式对鳗草实生苗建成影响的生理生态学研究. 中国海洋大学硕士研究生学位论文, 2021]
- XU Q. Studies on culture substrate and transplanting eelgrass with rhizome substrate envelopes of *Zostera marina* L. Master's Thesis of Ocean University of China, 2016 [徐强.

- 大叶藻植株栽培基质及根状茎基质包裹移植方法的研究. 中国海洋大学硕士研究生学位论文, 2016]
- ZHANG P D, ZHANG L Y, NIU S N, *et al.* Effect of light intensity on survival, growth, and photosynthetic pigment of young seedlings of eelgrass *Zostera marina* Linnaeus, 1753 (Alismatales: Zosteraceae). *Marine Biology Research*, 2014, 10(8): 745–754
- ZHANG P D, ZHANG Y H, ZHANG H Y, *et al.* Research advances in shoot propagation theory and planting technique of Seagrasses. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, 41(4): 181–189 [张沛东, 张彦浩, 张宏瑜, 等. 海草植株扩繁理论及其定植效应的研究进展. *渔业科学进展*, 2020, 41(4): 181–189]
- ZHANG Q, LIU J, ZHANG P D, *et al.* Effect of silt and clay percentage in sediment on the survival and growth of eelgrass *Zostera marina*: Transplantation experiment in Swan Lake on the eastern coast of Shandong Peninsula, China. *Aquatic Botany*, 2015, 122: 15–19

(编辑 马瑾艳)

Effects of Different Cultivation Methods on Seedling Establishment and Physiology of the Eelgrass *Zostera marina*

WANG Hehu, ZHANG Yanhao, LI Wentao, ZHANG Peidong^①

(Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract In this study, the effects of three cultivation methods (hydroponics germination promotion + germination insertion treatment, hydroponic germination promotion + germination post-insertion treatment, and substrate cultivation treatment) on seed germination, seedling establishment, and growth of *Zostera marina* were studied at 15 °C, and the cultivation costs and physiological responses of *Z. marina* seedlings to different cultivation methods were analyzed. The experiment lasted for 42 days. The results revealed that there were no significant differences ($P>0.05$) in the seed germination rate and seedling establishment rate of *Z. marina* between treatments of hydroponic germination promotion + germination insertion and hydroponic germination promotion + germination post-insertion. The average of the two cultivation methods reached 54.8% and 46.5%, which were 1.3 and 1.6 times higher than those under the substrate cultivation treatment, respectively ($P<0.05$). There were no significant differences ($P<0.05$) in the growth indices of *Z. marina* seedlings between the two cultivation methods of hydroponic germination promotion + germination insertion and hydroponic germination promotion + hydroponic germination post-insertion, but the average were significantly higher ($P<0.05$) than those under the substrate cultivation treatment. Specifically, the average of root production rate was 1.6 times higher than that under the substrate cultivation treatment. Principal component analysis revealed that the physiological state of *Z. marina* seedlings was best under the hydroponics germination promotion + substrate implantation treatment. The contributions of the total nitrogen and soluble sugar contents were greater under the two treatments with an average of 16.6% and 15.0%, respectively, which were 1.2 times greater than those under the substrate cultivation treatment ($P<0.05$). The analysis of cultivation costs showed that the treatment of germination promotion + germination post-insertion cultivation had the lowest cultivation costs (3.6 Yuan/plant), which was 81.9% of that under the treatment of germination promotion + germination insertion cultivation. The results showed that the hydroponic germination promotion + germination post-insertion treatment is a suitable method for cultivating *Z. marina* seedlings, mainly by enhancing the formation of nonstructural carbohydrates and increasing the photosynthetic pigment content of seedlings.

Key words *Zostera marina*; Cultivation methods; Seed germination; Seedling establishment; Physiological response

① Corresponding author: ZHANG Peidong, E-mail: zhangpds@ouc.edu.cn