DOI号: 10.3724/SP.J.0000.2009.40643

沉水植物菹草的人工种子技术

安彦杰　张彦辉　杨　劭
(华中师范大学生命科学学院, 武汉　430079)

摘要:为满足水生态系统重建及水体景观对沉水植物种苗的需求,本文建立了菹草 (*Potamogeton crispus* L.)人工种子的制作方法,并分析了菹草人工种子的萌发条件。结果表明,以海藻酸钠为包埋剂,在包埋剂中添加 BA 1.0mg/L + 6-BA 0.5 mg/L制备的菹草人工种子在灭菌自来水中萌发率可达 80%,且转株率达 20%。在 15—25℃之间,温度对菹草人工种子萌发和转株的影响不显著;氮磷水平对菹草人工种子萌发和转株的影响不显著;光强对菹草人工种子的萌发和转株有显著影响,较高的光强有较高的萌发率和转株率,光强为 40μmol/ m^2 · s时,菹草人工种子萌发率、转株率可达 67.8%、35.6%;底质对菹草人工种子的萌发和转株有显著影响,菹草人工种子在黄沙壤上的萌发率、转株率分别为 60%和 42.2%,黄沙壤比淤泥和砂石更适合菹草人工种子萌发和转株;菹草人工种子在野外湖水的试验中萌发率、转株率分别达到 28%、15%。

关键词:生态重建;沉水植物;菹草;人工种子;萌发率
中图分类号: Q948.8　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3207(2009)04-0643-06

人工种子 (Artificial seeds)是指将植物离体培养中产生的体细胞胚或能发育成完整植株的分生组织 (芽、愈伤组织、胚状体等) 包埋在含有营养物质和具有保护功能的外壳内,形成的在适宜条件下能够发芽出苗的颗粒体[1]。人工种子在本质上属于无性繁殖,与天然种子相比,它具有繁殖速度快、生产周期短,可工厂化大规模制备、贮藏、迅速推广、生产不受季节限制等优点[2]。有学者认为从经济角度考虑,无性繁殖或多年生植物首先具有人工种子应用的潜力[3]。迄今为止,人工种子的研究范围主要集中于一些重要的农林作物[4—9]、药用植物[10,11]以及观赏植物[12,13]等,而沉水植物的人工种子研究还未见报道。

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[14]。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[15],随之造成整个水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* L.)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。本文报道沉水植物菹草人工种子的制作方法及萌发的影响因素等研究结果。

1　材料与方法

1.1　材料　取菹草苗,按照文献[16]的方法对其灭菌。在生物安全柜里将无菌菹草苗的茎切成 4—6 mm 的带节的茎段,转接到诱导芽分化的培养基上。大约 4—6d后,茎节处长出新芽。

1.2　制备人工种子　将诱导出的长 3—5 mm的芽置于盛海藻酸钠 +MS +蔗糖 + BA 1.0 mg/L + 6-BA0.5 mg/L的凝胶液中。无菌条件下,用滴管将含有芽的凝胶滴入 $CaCl_2$中进行固化反应。20min

收稿日期: 2007-12-05;**修订日期**: 2009-02-16
基金项目:国家十五水专项课题 (编号: 2005AA60101005)资助
作者简介:安彦杰 (1983—),男,汉族,河北邯郸人;硕士研究生;主要从事水生植物恢复生态学研究。E-mail: anyanjie@163.com
通讯作者:杨劭, E-mail: yang-shao@tom.com

后取出,用无菌蒸馏水漂洗 5次,终止反应即得菹草人工种子。刚制成的菹草人工种子直径约为 5—6mm,百粒重为 6—8g。

1.3 包埋剂的激素及水环境条件对人工种子萌发的影响 包埋剂激素为:BA和 6-BA的不同配比(激素单位:mg/L),即 A处理 MS + BA∶6-BA(1.0∶0.5);B处理 MS + BA∶6-BA(3.0∶0.5);C处理 MS(水环境条件为灭菌的自来水和未灭菌的自来水)。灭菌水的制备方法,使用湿热灭菌法,利用全自动加压蒸汽灭菌锅,在 121℃灭菌 20min。

1.4 温度对菹草人工种子萌发和转株的影响 实验选择了 15℃、20℃、25℃三个水平,实验用水为未灭菌的武汉东湖湖水。

1.5 光强对菹草人工种子萌发和转株的影响 实验选择了 40μmol/m^2·s、10μmol/m^2·s、0μmol/m^2·s三个水平,实验用水为未灭菌的武汉东湖湖水。

1.6 氮磷水平对菹草人工种子萌发和转株的影响 实验设置了三个处理,处理 A(N∶P = 5mg/L∶0.5mg/L),处理 B(N∶P = 2mg/L∶0.1mg/L),处理 C(N∶P = 1mg/L∶0.03mg/L),氮和磷的浓度通过添加不同量的硝酸盐和正磷酸盐来控制。实验用水为未灭菌的去离子水。

1.7 底质对菹草人工种子萌发和转株的影响 用大的锥形瓶分别盛以黄沙壤、砂石或淤泥,将人工种子播种于上述 3种底质上,再加入未灭菌的武汉东湖湖水,水深 16cm。

以上萌发实验均设三个重复,每个重复 30个人工种子,全部在人工气候箱中进行,除温度的影响实验外温度均为(20±1)℃,除光强的影响实验外其他实验光强均为 40μmol/m^2·s,光暗周期均为 12h∶12h,实验用湖水均采自武汉东湖,武汉市环保局 2006—2007年对武汉地表水环境质量监测结果显示,东湖水质状况为劣 V类,处于中度富营养状态,本实验水样采自东湖风光村,是东湖污染最严重的区域之一,TP = 0.69mg/L,TN = 4.3mg/L,Chl. a = 78mg/m^3,达重度富营养状态。

1.8 菹草人工种子在野外湖水中的萌发实验 实验地点选在武汉东湖湖中,将人工种子用窗纱包裹,以绳扎口,系在绳上,悬于水中 1.2m、0.6m两个水深处,并在绳子上坠以多块砖头,以减小风浪的冲击,每个水深 8个重复,每个重复 50个人工种子。

以上所有菹草人工种子萌发实验中,芽或根突破种皮 2mm以上视为萌发,萌发后最终形成有根、茎、叶的植株即视为转株。萌发率 =萌发的人工种子数/播种的人工种子总数 ×100%,转株率 =转株的人工种子数/播种的人工种子总数 ×100%。

1.9 数据处理方法 以上实验所得数据均用 GraphPad Prism 4进行 Turkey's多重比较检验。

2 结 果

2.1 包埋剂中的激素及水环境条件对菹草人工种子的萌发的影响

实验结果表明(图 1),在灭菌自来水中,不同激素处理的萌发率显著不同($p < 0.01$),处理 A最高,处理 C最低;未灭菌自来水中,处理 A和处理 B萌发率差异不显著,但它们均显著高于组合 C($p < 0.01$)。有菌条件会降低 A和 C的萌发率;但对处理 B无显著影响。当不添加任何激素时,人工种子萌发率很低,在灭菌自来水和未灭菌自来水中分别为 20%、10%,且均未生根;实施处理 B即 BA∶6-BA = 3.0∶0.5时,萌发率为 50%,同样均未生根;而实施处理 A即 BA∶6-BA = 1.0∶0.5时,灭菌自来水中萌发率达 80%,且转株率达 20%。经过 A处理的人工种子播种于灭菌自来水中的萌发率显著高于在未灭菌自来水中的萌发($p < 0.01$),经过 C处理的人工种子在灭菌自来水中的萌发率高于在未灭菌的自来水中的萌发($p < 0.05$),而经过 B处理的人工种子在未灭菌自来水和灭菌自来水中萌发率无显著差别($p > 0.05$)。人工种子在灭菌的自来水中的萌发率要比在未灭菌的自来水中萌发率高,可见水中微生物对人工种子萌发有抑制作用。

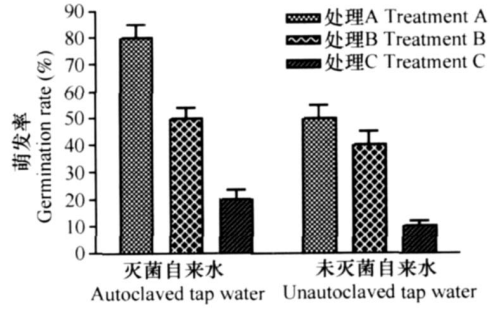


图 1 激素组合及水环境对菹草人工种子萌发的影响

Fig. 1 Effect of hormone types and concentration and water condition on the germination of artificial seeds of *P. crispus*

2.2 温度对菹草人工种子萌发和转株的影响

由于菹草是秋季萌发,实验温度设置为 15—25℃。结果显示(图 2),温度 15—25℃对菹草人工种子的萌发和转株均无显著影响($p > 0.05$)。

15℃、20℃和 25℃的萌发率分别为 47.8%、38.9% 和 41.1%。

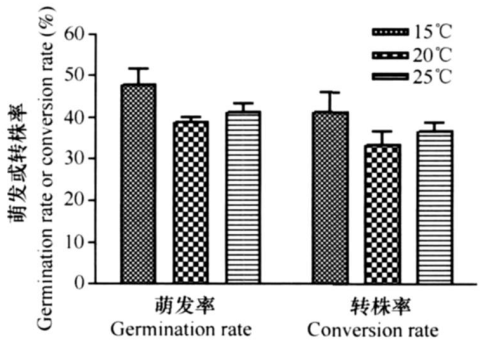


图 2　温度对菹草人工种子萌发、转株的影响

Fig. 2　Effect of temperature on the germination and conversion of artificial seeds of *P. crispus*

2.3　光强对菹草人工种子萌发和转株的影响

实验结果表明(图 3),光强对人工种子的萌发率有显著影响,40μmol/m^2 · s的萌发率显著高于其他两种光强($p < 0.01$),10μmol/m^2 · s光强萌发率高于黑暗条件($p < 0.05$)。光强对人工种子的转株率亦有显著影响,40μmol/m^2 · s的转株率最高($p < 0.01$),10μmol/m^2 · s光强转株率高于黑暗条件($p < 0.05$)。40μmol/m^2 · s时人工种子萌发率、转株率可达 67.8%、35.6%。

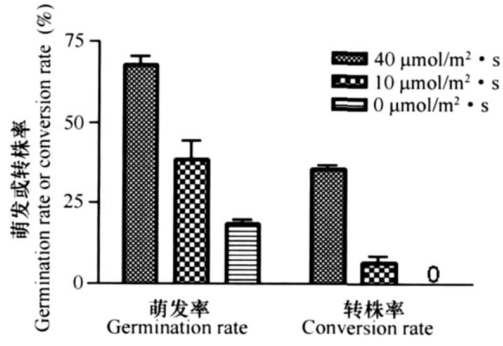


图 3　光强对菹草人工种子萌发、转株的影响

Fig. 3　Effect of light intensity on the germination and conversion of artificial seeds of *P. crispus*

2.4　氮磷水平对菹草人工种子萌发和转株的影响

实验设置的三个不同氮、磷浓度处理对菹草人工种子萌发和转株均无显著影响($p > 0.05$,图 4)。

2.5　底质对菹草人工种子萌发和转株的影响

由图 5可知,黄沙壤质的萌发率、转株率都显著高于砂石和淤泥($p < 0.01$);砂石质的萌发率显著高于淤泥($p < 0.05$),但其转株率无显著差异($p > 0.05$)。

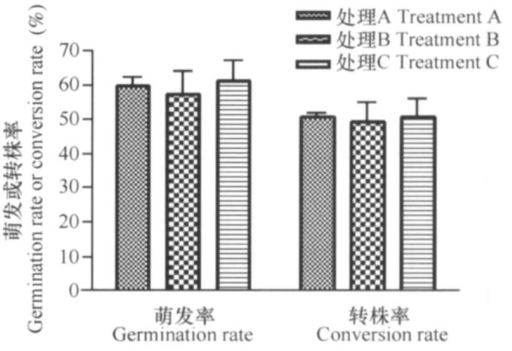


图 4　氮磷水平对菹草人工种子萌发、转株的影响

Fig. 4　Effect of concentration of nitrogen and phosphorus-on the germination and conversion of artificial seeds of *P. crispus*

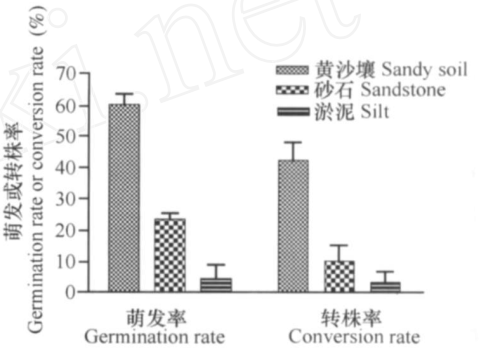


图 5　底质对菹草人工种子萌发、转株的影响

Fig. 5　Effect of substrate types on the germination and conversion of artificial seeds of *P. crispus*

2.6　菹草人工种子在野外湖水中的萌发实验

水深 0.6m 时菹草人工种子的萌发率为 28.3%,转株率为 15%。水深 1.2m 时菹草人工种子的萌发率为 27%,转株率为 12%。两个水深条件下萌发率没有显著区别,但转株率在 0.6m 水深时显著高于 1.2m 水深(图 6)。

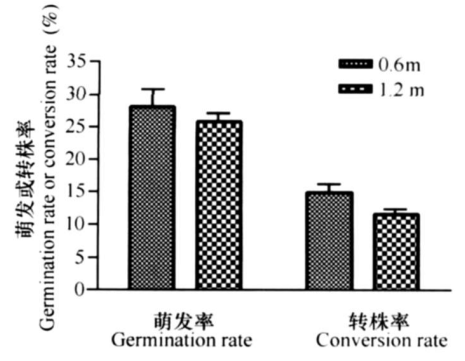


图 6　水深对菹草人工种子萌发、转株的影响

Fig. 6　Effect of water depth on the germination and conversion of artificial seeds of *P. crispus*

3 讨 论

3.1 激素及水环境条件对菹草人工种子萌发的影响

现有人工种子研究[11,17—20]表明,包埋材料中的激素组合对人工种子萌发有关键影响,适当的激素组合能大大提高萌发率和转株率。通常采用细胞分裂素类和生长素类结合使用,细胞分裂素类激素主要是 6-BA、KT、ZT等,生长素类主要是 IBA、NAA等。在无菌条件下,陆生植物人工种子萌发率一般为 60%—80%,有菌条件下萌发率很低甚至全部死亡[11,20]。

本研究表明,不同激素配比对菹草人工种子萌发率有显著影响,A处理即 MS + BA :6-BA (1.0 0.5)包埋的人工种子萌发率在无菌自来水中萌发率高达 80%,而不添加任何激素的人工种子在同样条件下萌发率只有 20%。因此本研究中菹草人工种子都以A处理的成分作为人工胚乳。以本研究建立的菹草人工种子制备方法获得的人工种子,在实验室有菌条件下萌发率达到了 50%—70%,在野外自然湖泊环境中萌发率近 30%,高于陆生植物人工种子在有菌条件下的萌发率,高于菹草有性种子的萌发率[21]。菹草无性石芽在室内萌发率较高,可达 90%,而在野外仅为 10%—20%[22]。与菹草无性石芽的萌发率相比,在室内菹草人工种子萌发率低于无性石芽,而在野外菹草人工种子则高于无性石芽的萌发率。这证明菹草人工种子有一定实用价值。据检索,这也是沉水植物人工种子制备的第一个报道。

3.2 温度对菹草人工种子萌发和转株的影响

人工种子与植物种子一样,其萌发也受到环境因素影响。水温对沉水植物的影响较气温对陆生植物的影响要弱,菹草是喜低温的沉水植物,有研究[23]指出菹草冬芽萌发的最适温度在 20℃以下,我们的研究显示 15—25℃时,温度对菹草人工种子的萌发和转株并无显著影响,这说明菹草人工种子萌发对温度有较高的适应性。有研究[24]证实,10℃和 20℃下菹草冬芽萌发率无显著差别,与本实验结果相似。

3.3 光强对菹草人工种子萌发和转株的影响

水体光强,特别是光合作用有效辐射是沉水植物生长的重要影响因子。光照不足在水体中比较普遍,特别是水体富营养化导致的藻类的大量生长显著减少了透明度。一般认为:水底光强不足入射光的 1%时,沉水植物就不能定居[25]。光照强度对菹草人工种子的萌发和转株有显著的影响,较高的光强有较高的萌发率和转株率,以及较快的萌发速度。黑暗状态下,人工种子萌发极缓慢,幼苗很小,很少叶子,且全部为白化苗,转株率为 0。光是影响叶绿素形成的主要条件,被子植物叶绿素的形成,一般是需要光照的。这个现象与菹草无性石芽相似[26]。

光照实验中 40μmol/m^2 · s的萌发率约 70%,高于在温度实验中 20℃的萌发率 50%,这两个实验的条件即光照时间、光照强度、温度均相同,其萌发率的差异,可能是这两批人工种子来源于不同健壮程度的无菌菹草苗。

3.4 氮磷水平对菹草人工种子萌发和转株的影响

本研究结果表明,不同的氮磷水平对菹草人工种子萌发转株影响不显著。可能原因是人工种子萌发主要靠消耗人工胚乳内的营养物质,这同天然种子萌发特点类似。天然种子萌发时贮藏的有机物如淀粉、脂肪和蛋白质在酶的作用下,转变为简单的有机物。有报道[24]显示,水中氮磷水平对菹草冬芽萌发的影响不显著。

3.5 底质对菹草人工种子萌发和转株的影响

底质类型对菹草人工种子的萌发和转株也有显著影响。黄沙壤是菹草人工种子萌发的最佳底质。砂石底质上人工种子萌发率和转株率也要高于淤泥。淤泥最不适合菹草人工种子萌发,人工种子在淤泥底质上有的腐烂死亡,这与其中有机物含量高有关,这些有机物中往往含有大量对植物有毒害作用的有机酸,另外还含有对植物有害的乙醛、酚、酒精和乙烯等[25]。至于菹草人工种子在砂石上的萌发和转株率低于黄沙壤,原因可能是砂石底质结构紧密,孔隙度小,不利于根系的发展。

3.6 菹草人工种子在野外湖水中的萌发实验

菹草人工种子在野外条件下湖水中的萌发试验中,我们设置了 0.6m和 1.2m两个水深,实验区域湖水的透明度为 0.5m。由于本研究设置的水深条件较少,只有两个水平,加上湖水透明度较小,设置的水深条件光照强度差别较小。这与前面的实验“光照强度对菹草人工种子萌发的影响”实验结论并不矛盾。我们对实验场地湖水的水质进行了分析,其中 TP = 0.69mg/L, TN = 4.3 mg/L, Chl. a = 78mg/m^3,无论参考世界经济协作与发展组织(OECD)、美国环保局和日本公害研究所等国外湖泊营养状况分类标准,还是国内学者提出的标准[27],实验湖水水质均明显超过富营养的标准,属重富营养。野外条件下的萌发率、转株率均低于实

验室条件,这是光照、温度、溶氧、水深、风浪、有毒污染物和水生动物等多种因子作用的结果。但菹草人工种子能在野外复杂条件下在重富营养湖水中达到28%的萌发率及15%的转株率,显示了菹草人工种子技术具有实际应用前景。

参考文献:

[1] Murashige T. The impact of plant tissue culture on agriculture [A]. In: T Thorpe (Eds), Frontiers of Plant Tissue Culture [C]. The international association for tissue culture. Canada: University of Calgary Alberta. 1978, 15—26

[2] Zhang M, Huang H R, Wei X Y. Advances in study on artificial seed of plant [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2000, **17**(5): 407—412 [张铭, 黄华容, 魏小勇. 植物人工种子研究进展. 植物学通报, 2000, **17**(5): 407—412]

[3] Kamada H. Artificial seed [A]. In: Tanska R (Eds), Practical Technology on the mass production of clonal plants [C]. Tokyo: CMC Publisher. 1985, 48

[4] Bapat V A, Mhatre M and Rao P S. Propagation of *Morus indica* L. (Mulberry) by encapsulated shoot buds [J]. *Plant Cell Report*, 1987, (6): 393—395

[5] Sharma A. Regeneration Dendrobium wardcamum warner (orchidaceae) from synthetic seeds [J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1992, **30**(8): 747—748

[6] Rao P S. Encapsulated shoot tips of banana: a new propagation and delivery system [J]. *Infamusa*, 1993, **2**(2): 4—5

[7] Tang S H, Sun M, Li K P. Studies on artificial seed of *Ipomoea aquatica* Forsk [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1994, **21**(1): 71—75 [汤绍虎, 孙敏, 李坤培. 蕹菜人工种子研究. 园艺学报, 1994, **21**(1): 71—75]

[8] Xing X H, Shen Y W, Gao M W, *et al*. Studies on production of artificial seeds of rice Hybrid between *Indica* and *Japonica* [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1995, **21**(1): 45—48 [邢小黑, 沈毓渭, 高明尉,等. 水稻籼粳杂种人工种子制备的研究. 作物学报, 1995, **21**(1): 45—48]

[9] Tang W, Ouyang F, Guo Z C. Studies on in vitro regeneration and artificial seeds of potato [J]. *Guihaia*, 1998, **18**(1): 65—69 [唐巍, 欧阳藩, 郭仲琛. 马铃薯离体再生及人工种子研究. 广西植物, 1998, **18**(1): 65—69]

[10] Guo S X, Cao W C Zhang J H, *et al*. Studies on preparation process and germination of white Dendrobium (*Dendrobium candidum*) artificial seeds [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 1996, **27**(2): 105—107 [郭顺星, 曹文芩, 张集慧, 等. 铁皮石斛人工种子制作流程及发芽研究. 中草药, 1996, **27**(2): 105—107]

[11] He Y K, Zhu C F, He M Y, *et al*. Morphogenesis of tubercles and production of artificial seeds in *Pinellia ternate* [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 1997, **23**(4): 482—488 [何奕昆, 朱长甫, 何孟元,等. 半夏小块茎的形态发生及人工种子制作. 作物学报, 1997, **23**(4): 482—488]

[12] Ni D X, Deng Z L, Cen Y Q, *et al*. Study on artificial seeds of adventitious shoots *Salvia chinensis* and *Anthurium andraeanum* [J]. *Journal of Fudan University* (Natural Science), 1994, **33**(5): 540—545 [倪德祥, 邓志龙, 岑益群,等. 紫参和安祖花不定芽人工种子的研究. 复旦学报(自然科学版), 1994, **33**(5): 540—545]

[13] Yang G X, Li Y X, Cen Y Q, *et al*. The germination and conversion of *Anthurium andraeanum* artificial seeds from adventitious shoots in nonsterile soil [J]. *Journal of Fudan University* (Natural Science), 1995, **34**(4): 438—444 [杨光孝, 李元鑫, 岑益群,等. 安祖花不定芽人工种子直播成株. 复旦学报(自然科学版), 1995, **34**(4): 438—444]

[14] Chen H D. An approach to the restoration of aquatic vegetation in the Xihu Lake of Hangzhou, with reference to the water quality problem [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1984, **8**(2): 237—244 [陈洪达. 杭州西湖水生植被恢复的途径与水质净化问题. 水生生物学集刊, 1984, **8**(2): 237—244]

[15] Xie P, Chen Y Y. Enhance biodiversity research and protection in freshwater ecology system [J]. *Journal of CAS*, 1996, **4**: 276—281 [谢平, 陈宜瑜. 加强淡水生态系统中生物多样性的研究和保护. 中国科学院院刊, 1996, **4**: 276—281]

[16] Gao J, Yang S. Tissue culture and rapid propagation of submerged morcorphyte *Potamogeton crispus* L. [J]. *Plant Physiology Communications*, 2006, **42**(2): 251—252 [高健, 杨劭. 沉水植物菹草的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 2006, **42**(2): 251—252]

[17] Li Q, Qin L Y, Deng S X. Cultivation of artificial seeds of strawberry [J]. *Journal of Fruit Science*, 1995, **12** (supplement): 133—135 [李青, 覃兰英, 邓世秀. 草莓人工种子培育的研究. 果树科学, 1995, **12**(增刊): 133—135]

[18] Gu R S, Chen Z H, Guan Y L, *et al*. Conversion of encapsulated shoot tips of *Eucalyptus camaldulensis* [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 1998, **34**(3): 26—31 [谷瑞升, 陈正华, 关月兰, 等. 赤桉人工种子制备过程中微芽繁殖体转株的研究. 林业学报, 1998, **34**(3): 26—31]

[19] Xue J P, Zhang A M, Ge H L, *et al*. Technique on artificial seeds of *Pinellia ternate* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2004, **29**(5): 402—405 [薛建平, 张爱民, 葛红林, 等. 半夏的人工种子技术. 中国中药杂志, 2004, **29**(5): 402—405]

[20] Hu F M, He Y H, Hu Z Y. Development of artificial seed in *Ziziphus jujuba* [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2004, **40**(6): 181—184 [胡芳名, 何业华, 胡中沂. 枣树人工种子的研制. 林业科学, 2004, **40**(6): 181—184]

[21] You W H, Song Y C. Seed germination ecology of three submerged macrophytes in Dianshan Lake [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1995, **6**(2): 196—200 [由文辉, 宋永昌. 淀山湖三种沉水植物的种子萌发生态. 应用生态学报, 1995, **6**(2): 196—200]

[22] Ren J C, Qiao J R, Dong W, *et al*. Study on ecological habits of *Potamogeton crispus* and its growth in Jing-Mi canal, Beijing [J]. *Acta Scientianum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 1997, **33**(6): 749—755 [任久长, 乔建荣, 董巍,等. 菹草的

生态习性和在京密引水渠的发生规律研究. 北京大学学报(自然科学版), 1997, **33**(6): 749—755]

[23] Jian Y X, Li B, Wang J B, *et al*. Control of turion germination in *Potamogeton crispus* [J]. *Aquatic Botany*, 2003, 75: 59—69

[24] Gao J, Luo Q, Li G, *et al*. Effect of dissolved oxygen, temperature, nitrogen and phosphorus on germination of turion and seedling growth of *Potamogeton crispus* L. [J]. *Journal of Wuhan University* (Natural Science), 2005, **51**(4): 511—516 [高健, 罗青, 李刚, 等. 溶氧、温度、氮和磷对菹草(*Potamogeton crispus* L.)冬芽萌发及生长的影响. 武汉大学学报, 2005, **51**(4): 511—516]

[25] Liu J K. The Advanced Hydrobiology [M]. Beijing: Science Press. 1999, 235—236 [刘健康. 高级水生生物学. 北京: 科学出版社. 1999, 235—236]

[26] Li W C, Lian G H. Light demand for brood-bud germination of submerged plant [J]. *Journal of Lake Sciences*, 1996, **8**(supplement): 25—29 [李文朝, 连光华. 几种沉水植物营养繁殖体萌发的光需求的研究. 湖泊科学, 1996, **8**(增刊): 25—29]

[27] Shu J H, Huang W Y, Wu Y G. Studies on the classification of trophic types of China's lakes [J]. *Journal of Lake Sciences*, 1996, **8**(3): 193—200 [舒金华, 黄文钰, 吴延根. 中国湖泊营养类型的分类研究. 湖泊科学, 1996, **8**(3): 193—200]

STUDY OF ARTIFICIAL SEEDS OF SUBMERGED MACROPHYTE POTAMOGETON CRISPUS L.

AN Yan-Jie, ZHANG Yan-Hui and YANG Shao

(College of Life Sciences, Central China Normal University, Wuhan 430079)

Abstract: Restoration of submerged vegetation is the key step of restoration of aquatic ecosystem in eutrophic lakes. The seed bank was strongly destroyed in many eutrophic lakes of China, it is necessary to get plenty of seedlings for restoration of submerged vegetation because of the difficulty of getting enough macrophyte seeds. Usually, seedlings of submerged macrophytes have to be obtained from other water bodies. Transplantation may destroy the source vegetation and encounter shortage of seedlings in case of lack of vegetation in nearby water bodies. The technique of artificial seeds is a promising method to provide a large number of seedlings in a short time without limitation of season, long distant transportation and harm to the natural macrophyte community.

In order to establish the method for the preparation of artificial seeds of submerged macrophytes, a common submerged macrophte *Potamogeton crispus* L. was selected as experimental material. In this study, the artificial seed of *P. crispus* was obtained by using node segments as explant, buds were induced in induction medium. The node segments with buds of *P. crispus* were encapsulated with sodium alginate and calcium chloride to form artificial seeds. The effects of hormone types and concentration in capsule, temperature, light intensity, concentration of nitrogen and phosphorus, sediment types on the germination and conversion of artificial seeds of *P. crispus* were investigated. An experiment of germination and conversion of the artificial seeds in lake was also conducted.

The hormones supplemented in the capsules could promote the germination of artificial seeds. The result showed that the germination and conversion rates of artificial seeds, which embedded in IBA 1.0 mg/L and 6-BA 0.5 mg/L, were 80% and 20% respectively in autoclaved tap water. No significant effect of temperature was found on the germination and conversion in range of 15—25℃. Similarly nitrogen and phosphorus caused no significant change on the germination and conversion of artificial seeds of *P. crispus*. Light intensity affected the germination and conversion significantly. Higher light intensity favored the germination of artificial seeds. The germination and conversion rates of the artificial seeds reached to 67.8% and 35.6% respectively at light intensity of 40μmol/m^2·s. Sediment types also affected the germination significantly. Sandy soil was better than sandstone and silt to support the germination. The germination rate of artificial seeds of *P. crispus* was 60% on the sandy soil, which was higher than that in sandstone and silt sediments. To test the feasibility of artificial seeds of *P. crispus* in eutrophic lakes, a trial experiment was carried out in the East Lake which is a hyper-eutrophic lake in Wuhan, Hubei the germination and conversion rates of artificial seeds of *P. crispus* were 28% and 15% under water depth of 0.6 m, and 27% and 12% under water depth of 1.2 m, respectively. The results showed that the artificial seed of *P. crispus* was applicable in restoration of aquatic vegetation in place of plant transplantation.

Key words: Ecological restoration; Submerged macrophyte; *Potamogeton crispus* L.; Artificial seeds; Germination rate