



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117044595 A

(43) 申请公布日 2023. 11. 14

(21) 申请号 202311021345.0

(22) 申请日 2023.08.14

(71) 申请人 华南农业大学

地址 510642 广东省广州市天河区五山路
483号

(72) 发明人 吴道铭 邢鹤严 陈佳倩 谢子曦
邓文琪 于珊

(74) 专利代理机构 广州京诺知识产权代理有限公司 44407

专利代理师 朱双

(51) Int. Cl.

A01G 24/30 (2018.01)

A01G 24/00 (2018.01)

A01G 31/00 (2018.01)

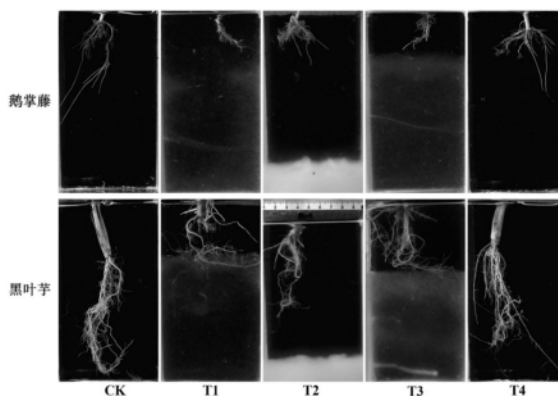
权利要求书1页 说明书15页 附图8页

(54) 发明名称

一种用于植物根系生长观察的半固态凝胶及其制备方法和应用

(57) 摘要

本发明公开了一种用于植物根系生长观察的半固态凝胶及其制备方法和应用。本发明通过配制100质量份的植物营养液,加热至65℃-80℃,加入0.2-0.5质量份的卡波姆U20,保温条件下每分钟200~400转搅拌至充分溶解,然后加入0.05-0.3质量份的高分子吸水树脂,保温条件下每分钟20~50转搅拌至充分溶解;如果出现气泡,则超声消除气泡,由此制备得到半固态凝胶。本发明的半固态凝胶能满足模拟根系自然生长需要,可以满足根系三维空间生长和观察,适用于开放环境培养,且能保障后续采集干净且损伤少的活根样品,并且具有工艺简单、原材料简单且成本低的优点。



1. 一种用于植物根系生长观察的半固态凝胶的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:
配制100质量份的植物营养液,加热至65℃-80℃,加入0.2-0.5质量份的卡波姆U20,保温条件下每分钟200~400转搅拌至充分溶解,然后加入0.05-0.3质量份的高分子吸水树脂,保温条件下每分钟20~50转搅拌至充分溶解;如果出现气泡,则超声消除气泡;由此制备得到半固态凝胶。
2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述的植物营养液为霍格兰氏营养液、MS营养液、山崎营养液或园艺均衡营养液。
3. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:配制100质量份的植物营养液,加热至80℃,加入0.5质量份的卡波姆U20,保温条件下每分钟300转搅拌至充分溶解,然后加入0.2质量份的高分子吸水树脂,保温条件下每分钟30转搅拌至充分溶解;如果出现气泡,则超声消除气泡;由此制备得到半固态凝胶。
4. 一种根据权利要求1-3任一项所述的用于植物根系生长观察的半固态凝胶的制备方法制备获得的半固态凝胶。
5. 权利要求4所述的半固态凝胶在原位无损植物根系生长观察中的应用。
6. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于,包括利用所述的半固态凝胶作为植物培养基质的步骤。
7. 根据权利要求6所述的应用,其特征在于,包括以下步骤:将所述的半固态凝胶装于透明根箱内并消除气泡,然后将植物移栽至根箱中,适当涣散根系使根系自然分布在半固态凝胶中,固定植株地上部分的茎秆,用避光材料包裹根箱,培养植株,适时对植物根系进行生长观察。
8. 根据权利要求5所述的应用,其特征在于,所述的植物为草本植物、灌木植物或乔木植物幼苗。
9. 根据权利要求8所述的应用,其特征在于,所述的草本植物为黑叶芋,所述的灌木植物为鹅掌藤,所述的乔木植物为团花。

一种用于植物根系生长观察的半固态凝胶及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明属于植物培养技术领域,具体涉及一种用于植物根系生长观察的半固态凝胶及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 植物根系作为植物获取水分和营养的重要器官,观察根系生长发育规律不仅有助于寻找有效的方法调控根系生长和提高植物生产力,同时也能及时发现根系对环境的响应变化,便于快速采取措施提高植物抵抗外界不利环境。非损伤原位观察是确保准确分析根系生长特征的重要前提。遗憾的是,目前大部分的土壤栽培条件下根系研究多属于破坏性采样分析。尽管同位素示踪法、微根管法、核磁共振成像法和中子射线照相法可以实现非损伤观察,但这些方法成本极高且只能获得非完整的根系形态数据。透明根室法被认为可以较好的原位实现无损原位观察根系在土壤中生长。但该方法只能观测到触及透明面的根系,细根分析误差较大,无法获取全部根系。

[0003] 采用透明基质作为植物生长的非土壤基质来观察植物根系生长仍是目前观察根系生长的主要手段,主要方法有水培法、气培法、凝胶培养法和纸基培养法。水培法应用最广泛,主要是把植物种植在有固体支撑装置和含植物生长必需营养成分的营养液中。气培法是通过空气压缩机将营养液雾化并将其喷射到根系上。凝胶培养法则以混有营养液的琼脂等凝胶作为栽培基质。纸基培养法让根系附着于发芽纸上生长,营养液通过毛管作用浸润发芽纸并供应根系吸收。气培法、凝胶培养法和纸基培养法则是水培法的扩展,三者主要的区别是如何向根系供应营养液。尽管这些方法让根系生长于视觉穿透环境下,可以满足无损原位观察的需要,但均存在一定缺陷:(1) 纸基培养法属于二维观察范畴,无法满足观察根系空间生长的需要;(2) 气培法和水培法尽管可以让根系实现三维空间生长,但缺乏支撑基质,根系构型和在土壤中生长差异很大,如根系分级生长、根系分支角和拓扑结构等均显著小于土壤栽培;(3) 凝胶培养法可以减少与土壤栽培的空间构型差异,但该方法不利于后续的根系采样,且对环境和操作要求较为严格。

[0004] 综上所述,现有的根系观察方法主要存在以下几点问题:(1) 因土壤不可视性的限制,根系在土壤中生长时对根系的观察受到阻碍,难以实时观察根系的生长形态及状态;(2) 在收集根系时,不易获得完整的植物根系,易损坏根系;(3) 透明根室法等观察方式不能准确反应根系在自然状态下的生长情况,只能观察到部分根系的生长,且在根室中种植的植物种类有限制;(4) 水培法等培养基质支撑力较小,根系生长受重力影响无法观察根系自然状态下生长形态;(5) 同位素示踪法、微根管法、核磁共振成像法和中子射线照相法等方法操作复杂,成本高,对植物培育条件要求严格;(6) 目前常用作培养基质的琼脂培养基要求在无菌环境中培育植物,对环境和操作要求较为严格。

[0005] 寻找一种既可以满足根系三维空间生长和观察,又可以保障后续采集干净且损伤少的活根样品,并且适用于开放环境的培养方法是植物根系生长观察的难点,也是当前业

界尚未解决的难题。

发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种用于植物根系生长观察的半固态凝胶及其制备方法,该半固态凝胶可在开放培养下用于植物根系生长的观察,以实现在开放环境下原位准确观测根系空间生长和无损收集活根样品,为植物根系的研究提供支持。

[0007] 为了实现发明目的,设计的凝胶配方需满足以下条件:①强度小且粘附力弱但具备较好支撑能力,较好模拟根系在土壤生长情况,但避免培养介质过硬和过度粘附细根;②性质稳定,不易受pH值变化影响,也不易与金属离子发生变性反应,避免影响营养元素活性;③透明度高,便于根系观察;④对植物无害,避免抑制根系生长;⑤可以防腐抗菌,避免在根系生长过程中产生霉变。

[0008] 本发明的第一个目的是提供一种用于植物根系生长观察的半固态凝胶的制备方法,包括以下步骤:

[0009] 配制100质量份的植物营养液,加热至65℃-80℃,加入0.2-0.5质量份的卡波姆U20,保温条件下每分钟200~400转搅拌至充分溶解,然后加入0.05-0.3质量份的高分子吸水树脂,保温条件下每分钟20~50转搅拌至充分溶解;如果出现气泡,则超声消除气泡;由此制备得到半固态凝胶。

[0010] 优选,所述的植物营养液为霍格兰氏营养液、MS营养液、山崎营养液、园艺均衡营养液或其他常用营养液。

[0011] 优选,所述的制备方法,包括以下步骤:

[0012] 配制100质量份的植物营养液,加热至80℃,加入0.5质量份的卡波姆U20,保温条件下每分钟300转搅拌至充分溶解,然后加入0.2质量份的高分子吸水树脂,保温条件下每分钟30转搅拌至充分溶解;如果出现气泡,则超声消除气泡;由此制备得到半固态凝胶。

[0013] 本发明的第二个目的是提供一种根据所述的用于植物根系生长观察的半固态凝胶的制备方法制备获得的半固态凝胶。

[0014] 本发明的第三个目的是提供所述的半固态凝胶在原位无损植物根系生长观察中的应用。

[0015] 优选,所述的应用,包括利用所述的半固态凝胶作为植物培养基质的步骤。

[0016] 优选,所述的应用,包括以下步骤:

[0017] 将所述的半固态凝胶装于透明根箱内(如果出现气泡,需置于超声清洗器中进行超声消除气泡),然后将植物移栽至根箱中,适当涣散根系使根系自然分布在半固态凝胶中,固定植株地上部分的茎秆,用避光材料包裹根箱,培养植株,适时对植物根系进行生长观察。

[0018] 优选,所述的植物为草本植物、灌木植物或乔木植物幼苗。

[0019] 优选,所述的草本植物为黑叶芋,所述的灌木植物为鹅掌藤,所述的乔木植物为团花。

[0020] 对于原位无损植物根系生长观察和采样分析,如需动态原位分析根系形态构型变化,可先获取二维或三维根系生长照片,随后借助相关根系分析软件分析;培养结束后,如需无损收集活根样品,将根系和半固态凝胶倾倒入水中,适当漂洗即可分离出完整活根样

品。

[0021] 与现有技术相比,本发明具有以下优点:

[0022] (1) 满足模拟根系自然生长需要,可以满足根系三维空间生长和观察,不同于现有的水培等,本发明的半固态凝胶具有一定的支持力,确保根系自然舒展,侧根和细根均呈一定角度展开,较好模拟根系在土壤生长情况。

[0023] (2) 保障后续采集干净且损伤少的活根样品,不同于现有的琼脂凝胶,本发明的半固态凝胶质地柔软、根系粘附力弱,容易与根系分离,避免后续采样时难以分离根系和凝胶以及拉断细根,可获得完整的根系。

[0024] (3) 适用于开放环境培养,不同于现有的琼脂凝胶,本发明所选凝胶配方具有较强防腐抗菌能力,不需要进行严格无菌处理和封闭条件培养,可以避免在开放环境下根系生长过程中产生霉变。

[0025] (4) 工艺简单且操作简便,本发明的关键工艺是制备半固态凝胶,只需简单的水浴、搅拌和超声除泡,所需仪器设备简单。

[0026] (5) 原材料简单且成本低,本发明所选的高分子吸水树脂和卡波姆U20是在农业、医疗业等广泛应用的凝胶材料,获取方便,价格低廉,且用量少,总体使用成本远低于现有的琼脂凝胶。

[0027] (6) 解决原料的使用缺点并实现原料间优势互补。高分子吸水树脂是一类具有三维网状结构的高分子聚合物,由于其分子链上含有如羧基、磺酸基、酰胺基、羟基等强亲水性基团,多作为保水剂应用于改良土壤水分状况和物理性质。卡波姆U20是由C10-30烷基丙烯酸酯高分子聚合形成的交链共聚物,具有生物相容性、生物粘附作用和生物可降解等特性,是一种优良的水溶性基质。这两种凝胶单配在放置一段时间后容易发生水合作用,导致凝胶出现水化、分层的现象。较高浓度的高分子吸水树脂有极强的吸水性,吸收了大量的水,导致培养介质中盐分增加而植物可利用水分减少,进而致使根系渗透失衡;并且单配高分子吸水树脂水解产生丙烯酸、丙烯酰胺或钠离子等不利植物根系生长的成分,进而抑制植物生长。合适浓度高分子吸水树脂与卡波姆U20复配,在本发明条件下发生反应形成更稳定安全的胶体,削弱了高分子吸水树脂与根系的水分竞争,防止高分子吸水树脂水解减少了丙烯酸、丙烯酰胺或钠离子等毒害物质产生,也可以防止卡波姆U20长时间放置水化变性产生沉淀。

附图说明

[0028] 图1是各种凝胶复配营养液的稳定性。

[0029] 图2是食品类凝胶添加防腐剂安全性。

[0030] 图3是工业类凝胶复配后形态。

[0031] 图4是工业类凝胶复配安全性。

[0032] 图5是不同处理中种植五周后鹅掌藤和黑叶芋根系生长变化。

[0033] 图6是不同处理中鹅掌藤和黑叶芋鲜重变化;注:图a和图b,鹅掌藤鲜重;图c和图d,黑叶芋鲜重;数据为4次重复的平均值±标准误,不同字母表示同一时间不同处理间差异显著($P < 0.05$, Duncan)。

[0034] 图7是不同处理中鹅掌藤养分变化;注:图a、b和c,鹅掌藤地上部;图d、e和f,鹅掌

藤根系;数据为4次重复的平均值±标准误,不同字母表示同一时间的不同处理间差异显著($P<0.05$,Duncan)。

[0035] 图8是不同处理中黑叶芋养分变化;注:图a、b和c,黑叶芋地上部;图d、e和f,黑叶芋根系;数据为4次重复的平均值±标准误,不同字母表示同一时间的不同处理间差异显著($P<0.05$,Duncan)。

[0036] 图9是不同处理中团花生物量变化;注:图a:株高;图b:地径;图c:地上部生物量;图d:根鲜重;数据为均值±标准误($n=3$),柱上相同字母表示不同处理间差异不显著($P>0.05$,Duncan's法)。

[0037] 图10是不同处理中团花根系形态变化;注:图a:总根长;图b:根表面积;图c:根体积;图d:根直径;数据为均值±标准误($n=3$),柱上相同字母表示不同处理间差异不显著($P>0.05$,Duncan's法)。

[0038] 图11是不同处理中团花养分含量变化;注:图a:地上部氮含量;图b:地上部磷含量;图c:地上部钾含量;图d:根系氮含量;图e:根系磷含量;图f:根系钾含量;数据为均值±标准误($n=3$),柱上相同字母表示不同处理间差异不显著($P>0.05$,Duncan's法)。

具体实施方式

[0039] 以下实施例是对本发明的进一步说明,而不是对本发明的限制。

[0040] 以下实施例中所用的1/4霍格兰氏营养液为将本领域通用的(可市购)的霍格兰氏营养液所有组分浓度均稀释为霍格兰氏营养液原浓度的1/4制备得到的。

[0041] 以下实施例中所用的结冷胶(低酰基型,食品级,纯度 $>95\%$)、刺槐豆胶(食品级,纯度 $>95\%$)、琼脂粉(凝胶强度 $800-1200\text{g}/\text{cm}^2$,纯度 $>95\%$)、黄原胶(食品级,1%粘度 $1300\sim 1700\text{m}/\text{pas}$,纯度 $>91\%$)、卡拉胶(K型,食品级,纯度 $>95\%$)和沙蒿籽胶(食品级,纯度 $>95\%$)购买自南通奥凯生物技术开发有限公司。羟乙基纤维素(Hydroxyethyl cellulose, HHR-250,1%粘度 $3400\sim 5000\text{m}/\text{pas}$,纯度 $>95\%$)、羧甲基纤维素(Carboxymethyl Cellulose,CMC,1%粘度 $100\sim 2000\text{m}/\text{pas}$,纯度 $>95\%$)、硅酸镁锂(纯度 $>99\%$)、高分子吸水树脂(Super absorbent polymer,SAP,200~400目,吸水速率 $<40\text{S}$,纯度 $>99\%$)、 γ -聚谷氨酸(γ -Polyglutamic acid, γ -PGA,分子量120万,纯度 $>99\%$)和卡波姆(Carbomer Ultrez 20,U20,1%粘度 $47000\sim 77000\text{m}/\text{pas}$,纯度 $>99\%$)购买自广州市佰宇生物科技有限公司。

[0042] 实施例1

[0043] 本实施例分析各种常用凝胶溶解性、透明度和观察成胶性能,以筛选满足半固态凝胶状态、透明度高、强度小且粘附力弱但具备较好支撑能力的凝胶材料。

[0044] 1.实验材料:

[0045] (1)食品类凝胶:结冷胶、刺槐豆胶、琼脂粉、黄原胶、卡拉胶和沙蒿籽胶。

[0046] (2)工业类凝胶:羟乙基纤维素(Hydroxyethyl cellulose,HHR-250)、羧甲基纤维素(Carboxymethyl Cellulose,CMC)、硅酸镁锂、高分子吸水树脂(Super absorbent polymer,SAP)、 γ -聚谷氨酸(γ -Polyglutamic acid, γ -PGA)和卡波姆(Carbomer Ultrez 20,U20)。

[0047] 2.实验设置:本实验设置36个处理,分别为上述12个食品类凝胶和工业类凝胶的0.4%、0.8%和1.2%浓度溶液,每个处理设置3个重复。

[0048] 3.实验过程:分别称取结冷胶(高酰)、刺槐豆胶、琼脂粉、黄原胶、卡拉胶、沙蒿籽胶、HHR-250、CMC、硅酸镁锂、SAP、 γ -PGA和卡波姆U20各0.2、0.4和0.6g,置于100mL烧杯,各加入50mL去离子水,搅拌溶解1分钟,静置5分钟,即得到浓度为质量分数0.4%、0.8%和1.2%的胶液,观察和记录溶解和成胶情况。然后再置于65℃水浴,水浴搅拌溶解20分钟,静置冷却,继续观察和记录溶解和成胶情况。并测定激光穿透情况。

[0049] 4.实验结果:食品类凝胶中0.4%浓度的刺槐豆胶、0.4%浓度的琼脂粉、0.4%浓度的卡拉胶、0.8%浓度的卡拉胶、1.2%浓度的卡拉胶、0.4%浓度的沙蒿子胶、0.8%浓度的沙蒿子胶、1.2%浓度的沙蒿子胶单配溶解性较好,溶液呈现半固态凝胶状,溶液透明。工业类凝胶中除1.2%浓度的CMC、0.4%浓度的 γ -PGA、1.2%浓度的 γ -PGA外,其他实验浓度凝胶溶液呈现半固态凝胶状,溶液透明。上述溶液透明的凝胶可供下一步的稳定性分析实验。

[0050] 表1食品类凝胶溶解性、透明度和成胶性能

[0051]

凝胶		溶解性		透明程度		成胶情况		激光直射情况	
		常温	水浴	常温	水浴	常温	水浴	常温	水浴
结冷胶	0.4%	溶解	溶解	混浊	混浊	半凝	半凝	折射	折射
	0.8%	溶解	溶解	混浊	混浊	半凝	半凝	折射	折射
	1.2%	溶解	溶解	混浊	混浊	半凝	半凝	折射	折射
刺槐豆胶	0.4%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	0.8%	溶解	溶解	混浊	混浊	半凝	半凝	直射	折射
	1.2%	溶解	溶解	混浊	混浊	半凝	半凝	折射	折射
琼脂粉	0.4%	不溶	溶解	混浊	透明	不成胶	半凝	不透	直射
	0.8%	不溶	不溶	混浊	混浊	不成胶	不成胶	不透	不透
	1.2%	不溶	不溶	混浊	混浊	不成胶	不成胶	不透	不透
黄原胶	0.4%	溶解	溶解	混浊	混浊	半凝	半凝	折射	折射
	0.8%	溶解	溶解	混浊	混浊	半凝	半凝	折射	折射
	1.2%	溶解	溶解	混浊	混浊	半凝	半凝	折射	折射
卡拉胶	0.4%	溶解	溶解	透明	透明	过稀	过稀	直射	直射
	0.8%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	1.2%	溶解	溶解	透明	透明	凝固	半凝	直射	直射
沙蒿籽胶	0.4%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	0.8%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	1.2%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射

[0052] 表2工业类凝胶溶解性、透明度和成胶性能

[0053]

凝胶		溶解性		透明程度		成胶情况		激光直射情况	
		常温	水浴	常温	水浴	常温	水浴	常温	水浴
HHR-250	0.4%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	0.8%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	1.2%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
CMC	0.4%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	0.8%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	1.2%	溶解	溶解	透明	透明	凝固	半凝	直射	直射
SAP	0.4%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	0.8%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	1.2%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
硅酸镁锂	0.4%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	0.8%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	1.2%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
γ -PGA	0.4%	溶解	溶解	透明	透明	过稀	过稀	直射	直射
	0.8%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	1.2%	溶解	溶解	透明	透明	凝固	半凝	直射	直射
卡波姆 U20	0.4%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	0.8%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射
	1.2%	溶解	溶解	透明	透明	半凝	半凝	直射	直射

[0054] 实施例2

[0055] 本实施例基于实施例1的筛选的凝胶材料,进一步试验测定这些凝胶与营养液复配的稳定性和防腐抗菌能力。

[0056] 实验材料与实施例1相同。

[0057] 实施过程:先配制1/4霍格兰氏营养液,随后分别称取结冷胶、刺槐豆胶、琼脂粉、黄原胶、卡拉胶、沙蒿籽胶、HHR-250、CMC、硅酸镁锂、SAP、 γ -PGA和卡波姆U20各0.2g,置于100mL烧杯;将1/4霍格兰氏营养液分别加入装有凝胶的烧杯中,每杯加50mL,充分搅拌;然后置于加热板上加热搅拌溶解(注意及时充分搅拌,防止部分受热过高出现焦化)。静置冷却凝固,室温放置一周,观察和记录絮凝和发霉情况。

[0058] 实验结果:分析各种凝胶复配营养液的稳定性(图1)得知,图1第一行的食品用胶在放置一段时间后普遍出现了长霉、变黄的情况。其中结冷胶的颜色变化最为严重,但长菌情况较轻。琼脂粉长菌变色情况较为严重,溶液已经从透明质地变为不透明。卡拉胶和刺槐

豆胶溶液长菌变色情况相比较于其他四种溶液较轻,但溶液内仍有较为明显的菌丝菌落等存在。图1第二行的工业用胶在放置一段时间后均出现了分层的状况。具体表现为溶液上层为不透明的浑浊半固态质地,溶液下层为透明泛黄较稀的液体质地。其中硅酸镁锂凝胶溶液状况较轻,上下层溶液差别较小。CMC、卡波姆、SAP、 γ -PGA凝胶溶液上下两层溶液区别较大。HHR-250凝胶溶液分层现象较轻,但出现了轻微长菌情况。可见在凝胶溶液配置完成静置一段时间后,食品用胶类凝胶溶液普遍出现长菌,泛黄的问题,工业用胶类凝胶溶液单配不稳定,普遍出现分层现象与水化现象。

[0059] 实施例3

[0060] 本实施例基于实施例1和实施例2的结果,尝试应用现有的防腐方法解决食品类凝胶的长菌霉变问题。

[0061] 1. 实验材料:根据实施例1的结果,选择卡拉胶和沙蒿子胶开展本实验;营养液为1/4霍格兰氏营养液;防腐剂为业界常用的山梨酸钾和茶多酚,购买自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

[0062] 2. 实验设计与过程

[0063] 如表3设置9个处理,每个处理设置3个重复。处理设置说明:(1)不同胶添加处理,检验胶的稳定性和对植物生长的影响;(2)添加防腐剂与不添加防腐剂处理,检验防腐效果和对植物生长影响。先配制1/4霍格兰氏营养液,随后按表3分别称取卡拉胶和沙蒿籽胶,置于100mL烧杯;将1/4霍格兰氏营养液分别加入装有凝胶的烧杯中,每杯加50mL,充分搅拌。然后置于加热板上加热至80℃搅拌溶解(注意及时充分搅拌,防止部分受热过高出现焦化)。静置冷却凝固制得半凝胶。将经过灭菌处理的5天大玉米幼苗移栽于上述制备的半凝胶中。对于加防腐剂处理,在胶面上加入2~5mL(约5mm厚)的0.1%山梨酸钾或0.05%茶多酚溶液层。用遮光膜,包住培养杯。培养一周,观察玉米生长情况。

[0064] 表3防腐剂安全性分析处理设置

[0065]	处理编号	凝胶	说明
[0066]	P1	1%卡拉胶	不加防腐剂
	P2		加 0.1%山梨酸钾
	P3		加 0.05%茶多酚
	P4	1.2%沙蒿子胶	不加防腐剂
	P5		加 0.1%山梨酸钾
	P6		加 0.05%茶多酚
	P7	0.5%卡拉胶+0.6%沙蒿子胶	不加防腐剂
	P8		加 0.1%山梨酸钾
	P9		加 0.05%茶多酚

[0067] 3.实验结果:分析食品类凝胶添加防腐剂安全性(图2)得知,食品类凝胶溶液+防腐剂溶液培养玉米幼苗,玉米幼苗生长状态较差,P1、P4、P6、P7的玉米幼苗全部死亡,P3、P5的玉米幼苗部分死亡。P2、P8、P9的玉米幼苗存活,但溶液水化严重且长菌现象明显,无法有效观察植物根系。加入防腐剂后凝胶的长菌情况没有明显改善,但防腐剂的加入对植物产生了巨大影响。表明尽管食品类凝胶可满足半固态凝胶状态、透明度高、强度小且粘附力弱但具备较好支撑能力的需求,但防腐抗菌能力差,且无法通过常用防腐方法改善,无法满足开放环境使用的要求。

[0068] 实施例4

[0069] 本实施例基于实施例1和实施例2的结果,尝试通过复配的方法解决工业类凝胶复配稳定性问题,进一步探索提高凝胶稳定性和防腐抗菌能力的方法,并优化半固态凝胶制备方法。

[0070] 1.实验材料:根据实施例1的结果,选择硅酸镁锂、CMC、HHR-250、SAP、卡波姆U20和 γ -PGA进行复配;营养液为1/4霍格兰氏营养液。

[0071] 2.实验设计与过程

[0072] 如表4设置6个处理。先配制1/4霍格兰氏营养液,随后按表3分别称取硅酸镁锂、CMC、HHR-250、SAP、卡波姆U20和 γ -PGA,置于100mL烧杯;将1/4霍格兰氏营养液分别加入装有凝胶的烧杯中,每杯加50mL;然后置于80℃水浴以每分钟300转快速搅拌溶解。静置冷却凝固。观察凝胶基本形态并记录凝胶复配稳定性。

[0073] 考虑到部分凝胶复配后产生大量气泡,需进一步开展消泡处理,包括微波或超声振荡(新芝SB25-12DTD超声波清洗机,频率20KHz,超声时间依据消泡效果而调整)和改变凝胶搅拌混匀次序。获取无泡凝胶后,将经过灭菌处理的5天大玉米幼苗移栽于半凝胶中。用遮光膜,包住培养杯。培养一周,观察玉米生长情况,分析凝胶复配安全性。

[0074] 表4工业类凝胶复配处理设置

处理编号	说明
F1	0.6%硅酸镁锂+0.8%CMC
F2	0.6%硅酸镁锂+0.8%HHR-250
F3	0.6%硅酸镁锂+0.5%SAP
F4	0.5% γ -PGA+0.5%卡波姆U20
F5	0.5% γ -PGA+0.3%SAP
F6	0.5%卡波姆U20+0.3%SAP

[0076] 3.实验结果:分析工业类凝胶复配稳定性(图3)得知,工业凝胶复配后质地有了很大改善,静置一段时间后凝胶溶液质地与刚配置好时区别较小,均为半凝固质地;且凝胶溶液颜色透明,整体没有分层现象。F2、F5溶液内气泡较多,导致凝胶溶液不透明。F1、F3、F4可见凝胶上层气泡明显多于凝胶下层气泡,F6溶液内气泡较少。表明快速搅拌溶解易导致气泡产生,影响后续根系观察。

[0077] 分析工业凝胶复配安全性(如图4)可知,玉米幼苗在各个工业凝胶复配溶液中均长势良好,凝胶溶液质地透明,呈现半固体状,能够清晰的观察到玉米幼苗根系的长势情况。相比之下,F6处理(0.5%卡波姆U20+0.3%SAP)中玉米植株和根系生长更好,表现为长出的新根较多,且在胶中较好的展开,获得较自然状态下的根构型。这满足了模拟根系在自

然状态下生长的基本要求。因此,后续主要选择卡波姆U20和SAP配比进行植物生长测定。

[0078] 实施例5

[0079] 本实施例基于实施例4的结果,进一步选择不同浓度的卡波姆U20和SAP进行复配,分析两种胶体复配的凝胶状态和玉米幼苗耐受程度,以筛选合适的半凝胶配比。

[0080] 1.实验材料:选择卡波姆U20和SAP进行复配;营养液为1/4霍格兰氏营养液。

[0081] 2.实验设计与过程

[0082] 卡波姆U20和SAP均设置4种浓度水平,其中卡波姆U20的浓度水平分别为质量分数0.1%、0.2%、0.5%和0.8%,SAP的浓度水平分别为质量分数0.05%、0.15%、0.3%和0.4%,然后按如表5进行L16(4²)正交设计,共设置16个处理。实验过程同实施例4。

[0083] 表5卡波姆U20和SAP复配L16(4²)正交设计处理设置

[0084]

处理编号	卡波姆U20	SAP
t1	0.1%	0.05%
t2	0.1%	0.15%
t3	0.1%	0.3%
t4	0.1%	0.4%
t5	0.2%	0.05%
t6	0.2%	0.15%
t7	0.2%	0.3%
t8	0.2%	0.4%
t9	0.5%	0.05%
t10	0.5%	0.15%
t11	0.5%	0.3%
t12	0.5%	0.4%
t13	0.8%	0.05%
t14	0.8%	0.15%
t15	0.8%	0.3%
t16	0.8%	0.4%

[0085] 3.实验结果:分析两种凝胶复配成胶状态和玉米幼苗耐受性(表6)得知,卡波姆U20用量低于0.2%时(为0.1%时)成胶状态不稳定,而用量超过0.5%时(为0.8%时)容易出现过度黏稠状,这两种状态均不是理想的半凝胶状;当SAP的用量超过0.3%时,容易对玉米造成渗透胁迫,致使玉米出现萎蔫情况。综合两种凝胶复配成胶状态和玉米幼苗耐受性,得知两种凝胶的复配浓度应控制在:卡波姆U20为0.2%~0.5%,SAP为0.05%~0.3%。

[0086] 表6卡波姆U20和SAP复配成胶状态和玉米幼苗耐受性

[0087]	处理	成胶状态	玉米幼苗耐受性
	t1	过稀	正常
	t2	过稀	正常
	t3	半凝胶，但两天后分层	正常
[0088]	t4	半凝胶，但两天后分层	萎蔫
	t5	半凝胶	正常
	t6	半凝胶	正常
	t7	半凝胶	正常
	t8	过度黏稠	萎蔫
	t9	半凝胶	正常
	t10	半凝胶	正常
	t11	半凝胶	正常
	t12	过度黏稠	萎蔫
	t13	过度黏稠	萎蔫
	t14	过度黏稠	萎蔫
	t15	过度黏稠	萎蔫
	t16	过度黏稠	萎蔫

[0089] 实施例6

[0090] 本实施例基于实施例4和5的结果,以园林草本植物黑叶芋为植物对象,对比分析营养液和不同半凝胶配方中黑叶芋生长、根系形态变化和养分吸收差异,验证利用半固态凝胶配方观察分析草本植物幼苗生长的安全性和可行性,完善建立植物根系半固态凝胶培养方法。

[0091] 1. 实验材料:供试植物为根系生长较快的草本植物黑叶芋 (*Alocasia longiloba*),为3个月大实生苗,购自广州芳村苗木批发市场。供试培养基为半固态凝胶培养基和营养液,半凝胶培养基原材料为:高分子吸水性树脂 (SAP) 和卡波姆U20 (U20);营养液为1/4霍格兰氏营养液。试验容器采用全透明根箱,由无毒聚丙烯板组装而成,尺寸为20cm×10cm×5cm。

[0092] 2. 实验过程:

[0093] (1) 凝胶配方:试验以1/4霍格兰氏营养液作为对照处理 (CK),以U20和SAP作为试验凝胶,并设置4个半固态凝胶处理配方:

[0094] T1,终浓度为质量分数0.3%的SAP溶于1/4霍格兰氏营养液中;

[0095] T2,终浓度为质量分数0.5%的U20溶于1/4霍格兰氏营养液中;

[0096] T3,终浓度为质量分数0.4%的U20和终浓度为质量分数0.3%的SAP溶于1/4霍格兰氏营养液中;

[0097] T4,终浓度为质量分数0.5%的U20和终浓度为质量分数0.2%的SAP溶于1/4霍格兰氏营养液中。

[0098] 每个处理有4个根箱。每个根箱为1个重复。

[0099] (2) 半固态凝胶的制备:先配制1/4霍格兰氏营养液(pH 6.0),然后水浴至80℃,按处理设置分别称取相应质量的SAP、U20于营养液中,80℃水浴搅拌溶解。其中,T1和T2以每分钟300转快速搅拌溶解,溶解时间约为4分钟。T3为SAP和U20同时加入,并以每分钟30转慢速搅拌溶解,溶解时间约为35分钟。T4为先称取卡波姆U20于已用80℃水浴预热的营养液中,80℃水浴以每分钟300转快速搅拌溶解,搅拌溶解时间3分钟;随后称取SAP于卡波姆U20营养液中,80℃水浴以每分钟30转慢速搅拌溶解,搅拌溶解时间35分钟。

[0100] (3) 原位无损植物根系生长观察和采样分析:溶解的凝胶转移至根箱中,每个根箱800mL。如果出现气泡,需将根箱置于超声清洗器(新芝SB25-12DTD超声波清洗机,频率20KHz,超声时间依据消泡效果而调整)中进行超声除泡。静置待凝胶冷却至室温后,将植物移栽至根箱,并用海绵固定植株(通过用海绵固定地上部分的茎秆),适当涣散根系使其均匀分布在培养基质中。生长期间,每7天通过便携扫描仪采集根箱正面根系生长图像,然后借助WinRHIZO Pro 2017分析根长和根表面积变化。生长5周后,将根系和半固态凝胶倒在水中,通过漂洗获得完整根系,分离地上部和根系,测定生物量、地上部分和根系氮磷钾。

[0101] 实施例7

[0102] 本实施例基于实施例4和5的结果,以灌木植物鹅掌藤为植物对象,对比分析营养液和不同半凝胶配方中鹅掌藤生长、根系形态变化和养分吸收差异,验证利用半固态凝胶配方观察分析灌木植物幼苗生长的安全性和可行性,完善建立植物根系半固态凝胶培养方法。

[0103] 1. 实验材料:供试植物为根系生长较慢的灌木鹅掌藤(*Schefflera actinophylla*),为3个月大实生苗,购自广州芳村苗木批发市场。其他实验材料同实施例6。

[0104] 2. 实验过程同实施例6。

[0105] 实施例6和实施例7的结果如下:

[0106] (1) 凝胶形态和根系生长变化

[0107] 放置5周后,各处理培养介质均没有观察到霉变和长菌现象;0.3% SAP凝胶营养液(T1)和0.4% U20+0.3% SAP凝胶营养液(T3)出现一定程度水化分层,底层凝胶较浑;0.5% U20凝胶营养液(T2)水化分层更加严重,底层出现明显的絮凝物沉淀;0.5% U20+0.2% SAP凝胶营养液(T4)比较稳定,与1/4霍格兰氏营养液(CK)一样澄清透明(图5)。鹅掌藤根系生长相对较慢,除了T1,其他处理均观察到一定数量的新生白根。黑叶芋根系则生长相对较快,不同处理均观察到一定数量的新生白根,且数量比鹅掌藤多。与CK相比,T1和T2均对鹅掌藤和黑叶芋根系生长产生抑制作用。值得注意的是,CK中两种植物根系不易舒展,多下垂于营养液中;不同的是,T4中根系较自然舒展在半固态凝胶中,侧根和细根均呈一定角度展开。上述结果也表明,SAP和U20的搅拌溶解速率和添加顺序对凝胶的稳定性也产生

影响。

[0108] (2) 根系形态指标变化

[0109] 动态观察鹅掌藤和黑叶芋在不同培养介质中根长变化(表7),结果显示T1和T2处理种植一周后就表现出显著抑制这两种植物的根系生长;第五周时,T1和T2处理鹅掌藤总根长比CK分别显著降低了51.59%和47.48%,黑叶芋总根长比CK分别显著降低了44.72%和45.86%。与CK相比,T3和T4处理的鹅掌藤和黑叶芋总根长均没有表现出显著差异。

[0110] 表7植物总根长变化

植物	时间	总根长/cm				
		CK	T1	T2	T3	T4
鹅掌藤	处理前	1.79±0.24a	1.70±0.26a	1.75±0.55a	1.93±0.20a	1.73±0.55a
	第一周	5.67±0.38a	3.95±0.07b	3.95±0.27b	5.66±0.43a	6.11±0.41a
	第二周	7.87±0.74a	4.71±0.26b	4.64±0.25b	8.05±0.66a	7.72±0.99a
	第三周	11.33±1.08a	6.69±0.39b	6.55±0.26b	11.45±1.29a	11.30±0.85a
	第四周	14.72±0.73a	9.93±1.02b	10.37±1.40b	16.31±2.35a	14.82±0.27a
	第五周	23.16±3.65a	11.21±0.65b	12.16±0.73b	23.15±2.22a	23.46±2.13a
黑叶芋	处理前	28.43±2.74a	28.41±1.24a	29.29±4.37a	28.11±2.55a	26.41±3.75a
	第一周	39.67±0.96a	36.79±1.16ab	37.73±1.23b	40.08±0.36a	40.26±0.38a
	第二周	64.04±1.74a	45.28±1.54b	46.76±1.08b	68.23±1.47a	65.37±3.54a
	第三周	87.97±5.98a	56.96±2.55b	55.53±2.19b	91.38±5.65a	85.26±5.51a
	第四周	116.64±4.08a	74.65±3.44b	70.36±1.29b	111.68±6.80ab	127.18±10.16a
	第五周	151.41±8.05a	83.70±3.10b	81.98±5.25b	152.15±1.29a	161.7±13.87a

[0112] 注:表中数据为4次重复的平均值±标准误。同行数据后的不同字母表示同一时间的不同处理间差异显著(P<0.05,Duncan)。

[0113] 与根长变化类似,T1和T2处理在种植一周后就显著抑制两种植物的根表面积的变化(表8);第五周时,T1和T2处理鹅掌藤根表面积比CK分别显著降低了30.59%和32.27%,黑叶芋根表面积比CK分别显著降低了29.23%和27.75%。与CK相比,T3和T4处理种植一周的鹅掌藤根表面积有所下降,但第五周时没有表现出显著差异;第五周黑叶芋的这三个处理(CK、T3和T4)间根表面积差异也不显著。

[0114] 表8植物根表面积变化

[0115]

植物	时间	根表面积/cm ²				
		CK	T1	T2	T3	T4
鹅掌藤	处理前	9.27±1.16a	8.89±3.32a	9.13±1.12a	8.41±1.79a	8.22±2.06a
	第一周	15.59±1.05a	12.24±1.10d	12.42±0.54cd	13.92±1.39bc	14.73±0.87ab
	第二周	22.63±1.79a	16.93±0.87b	16.59±0.53b	21.54±1.59a	22.26±0.59a
	第三周	31.41±1.14a	20.52±2.20c	23.93±4.19bc	26.81±1.49b	32.31±1.50a
	第四周	41.87±2.66a	31.86±0.82b	30.64±2.06b	41.66±4.17a	43.1±3.54a
	第五周	60.95±6.34a	42.30±7.34b	41.28±7.66b	59.73±8.90a	62.98±3.93a
黑叶芋	处理前	12.70±2.44a	14.08±2.77a	13.99±3.05a	14.83±3.48a	13.16±1.47a
	第一周	22.75±1.97a	21.28±1.64b	19.55±0.45b	22.84±1.69a	23.35±2.44a
	第二周	31.09±1.19b	26.35±0.73c	26.96±0.58c	33.45±4.26a	33.23±3.08ab
	第三周	41.76±4.35a	31.01±2.18b	29.9±2.93b	43.78±4.29a	41.60±4.00a
	第四周	51.44±5.47b	36.30±0.91c	36.36±2.61c	46.94±17.98b	56.29±1.78a
	第五周	64.14±2.35a	45.39±3.61b	46.34±2.27b	66.10±5.26a	64.82±3.15a

[0116] 注:表中数据为4次重复的平均值±标准误。同行数据后的不同字母表示同一时间的不同处理间差异显著(P<0.05,Duncan)。

[0117] (3) 植物生物量变化

[0118] 生长5周后,与CK相比,T2处理的鹅掌藤地上部和根系鲜重分别显著降低了37.05%和54.05%,黑叶芋地上部和根系鲜重分别显著降低了35.03%和63.22%(图6);T2和T3处理的两种植物地上部和根系鲜重也呈一定程度下降,且T2下降幅度较T3大;T4处理的两种植物地上部和根系鲜重与CK无显著差异。

[0119] (4) 植物养分变化

[0120] 生长5周后,T2处理的鹅掌藤地上部和根系的氮、磷和钾含量均显著低于CK,地上部和根系的氮分别降低了28.07%和25.29%,磷分别降低了42.82%和25.15%,钾分别降低了45.21%和52.39%(图7);T1处理的鹅掌藤地上部氮、磷和钾含量和根系钾含量也均显著低于CK;T3和T4处理的地上部和根系的氮、磷和钾含量均与CK无显著差异。

[0121] 生长5周后,与CK相比,T1和T2处理的黑叶芋地上部和根系的氮、磷和钾含量均显著下降(图8),且T2的下降幅度更大,T2处理的黑叶芋地上部和根系的氮分别降低了21.76%和34.19%,磷分别降低了62.52%和25.15%,钾分别降低了40.15%和27.24%;T3和T4处理的地上部和根系的氮、磷和钾含量均与CK无显著差异。

[0122] 实施例8

[0123] 本实施例基于实施例4和5的结果,以乔木植物团花为植物对象,对比分析营养液和不同半凝胶配方中团花生长、根系形态变化和养分吸收差异,验证利用半固态凝胶配方观察分析乔木植物幼苗生长的安全性和可行性,完善建立植物根系半固态凝胶培养方法。

[0124] 1.实验材料:选用乔木团花(*Neolamarckia cadamba*,组培苗,4月苗龄),团花组培苗由华南农业大学林学院风景园林学院陈晓阳教授团队提供。其他实验材料同实施例6。

[0125] 2.实验过程:试验以1/4霍格兰氏营养液作为对照处理(CK),以U20和SAP作为试验凝胶,并设置2个半固态凝胶处理配方:T1,0.4% U20+0.3% SAP溶于1/4霍格兰氏营养液中;T2,0.5% U20+0.2% SAP溶于1/4霍格兰氏营养液中。每个处理有4个根箱。每个根箱为1个重复。半固态凝胶的制备方式如下:T1:SAP和U20同时加入,并以每分钟30转慢速搅拌溶解,溶解时间约为35分钟;T2:先称取U20于已用80℃水浴预热的营养液中,80℃水浴以每分钟300转快速搅拌溶解,搅拌溶解时间3分钟;随后称取SAP于U20营养液中,80℃水浴以每分钟30转慢速搅拌溶解,搅拌溶解时间35分钟。原位无损植物根系生长观察和采样分析同实施例6。

[0126] 3.结果

[0127] (1)不同配方胶中团花生物量差异

[0128] 分析得知,在这四个生物量上,营养液CK组与凝胶复配一组T1和凝胶复配二组T2的株高、地径、地上部分鲜重和根鲜重均无显著性差异(图9)。

[0129] (2)不同配方胶中团花根系形态差异

[0130] 分析团花根系形态差异(图10)得知,两个复配凝胶溶液T1与T2组的团花的总根长均高于营养液CK组,三组总根长长度依次递增,每组差距约6cm;T2组的根表面积最多,多于CK组10cm²,CK组略高于T1组约2.5cm²;根体积T2组最高,高于CK组1.8cm³,T1组略高于CK组;CK组的根直径最长,长于另两组约0.5mm,T2根直径略高于T1组。在总根长、根表面积、根体积和根直径这四个生物量上,营养液CK组与凝胶复配一组T1和凝胶复配二组T2均无显著性差异。可见,与营养液相比,半固态凝胶没有明显影响团花根系形态变化。

[0131] (3)不同配方胶中团花地上部和根系养分差异

[0132] 分析团花地上部和根系氮磷钾含量(图11)得知,T1与T2组的团花的地上部分氮含量均高于营养液CK组,T1组高于T2组,三组地上部分氮含量呈现递增趋势,每组相差0.1%左右。T1组的根系氮含量最多,高于T2组0.05%,T2组高于CK组0.025%。地上部分磷含量T2组最高,高于另两组0.25%左右,T1组略低于CK组;T2组的根系磷含量最高,CK组其次,T1组根系磷含量最低,每组相差0.3%左右。钾在天上部分和根系差距较小。不论是地上部还是根系的氮、磷、钾含量,CK与T1和T2组均无显著性差异。可见,与营养液相比,半固态凝胶没有明显影响团花地上部和根系的氮磷钾养分吸收。

[0133] 综合上述实施例6、7和8的结果表明,高浓度SAP快速单配凝胶、高浓度U20快速单配凝胶和0.4% U20+0.3% SAP同时添加慢速混配凝胶长时间放置出现水化或絮凝分层。按实施例6方法先后混配0.5% U20+0.2% SAP凝胶与1/4霍格兰氏营养液一样稳定且澄清透明;高浓度SAP和高浓度U20凝胶抑制鹅掌藤和黑叶芋的根系生长、养分吸收和生物量累积,不利植物生长;尽管0.4% U20+0.3% SAP同时添加慢速混配凝胶与实施例6方法先后混配0.5% U20+0.2% SAP凝胶中草本植物黑叶芋、灌木鹅掌藤和乔木团花幼苗根系生长、养分吸收和生物量累积均与CK无显著差异,对植物生长相对安全,但0.4% U20+0.3% SAP同时添加慢速混配凝胶稳定性较差,而实施例6方法先后混配0.5% U20+0.2% SAP凝胶稳定性好。

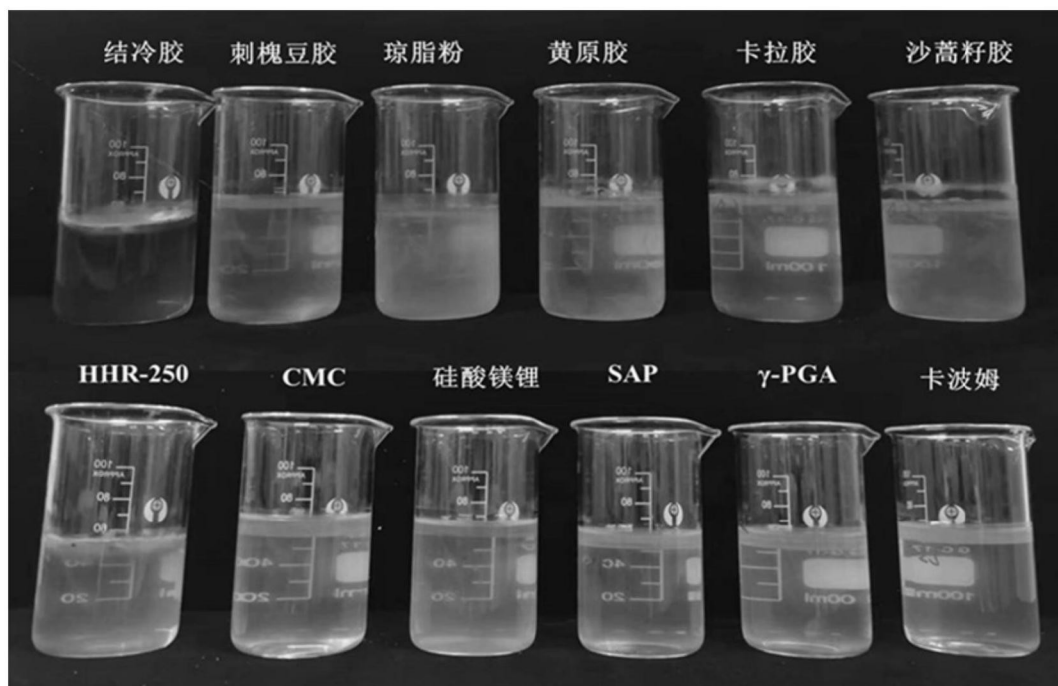


图1

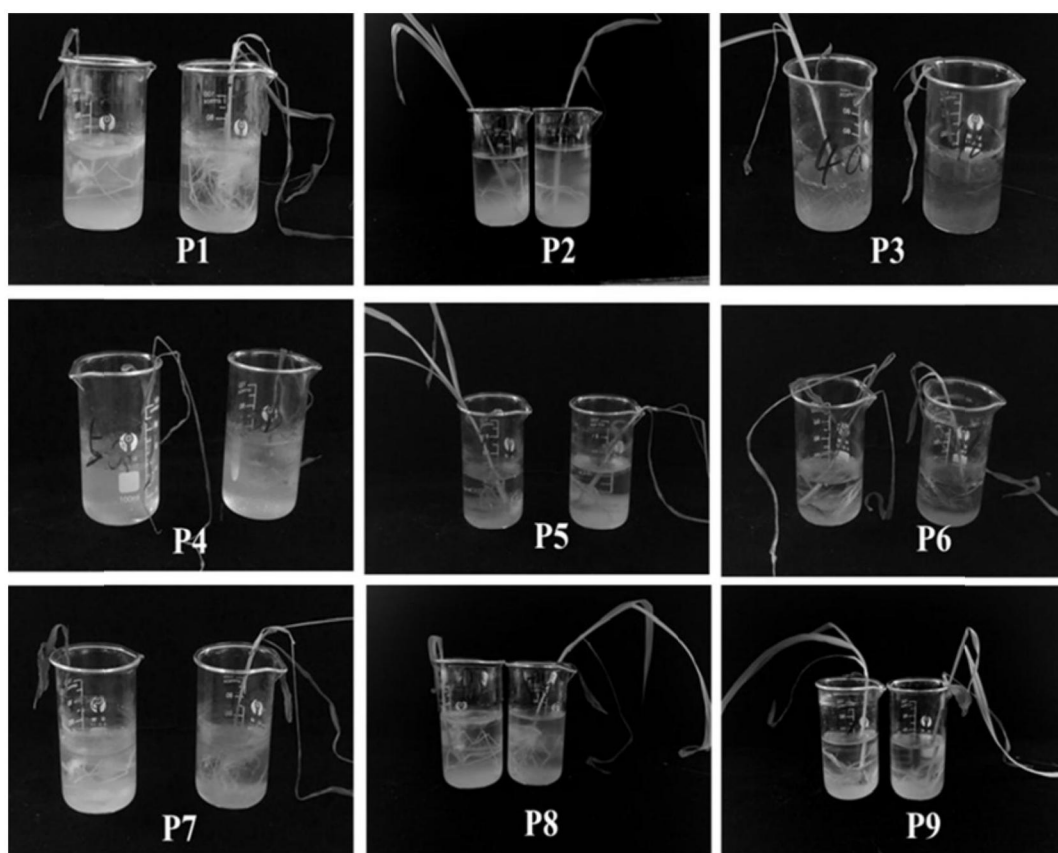


图2

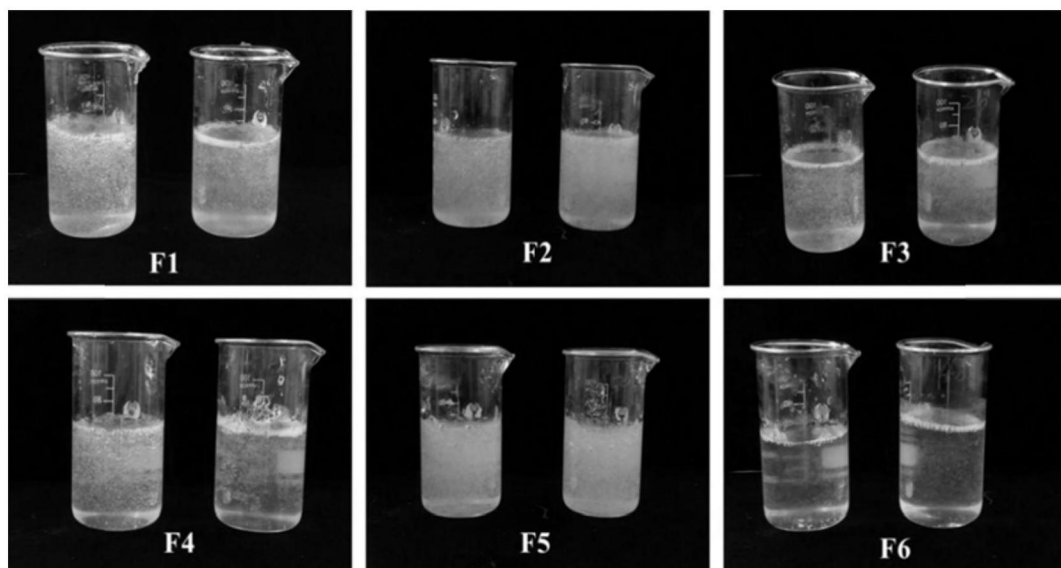


图3

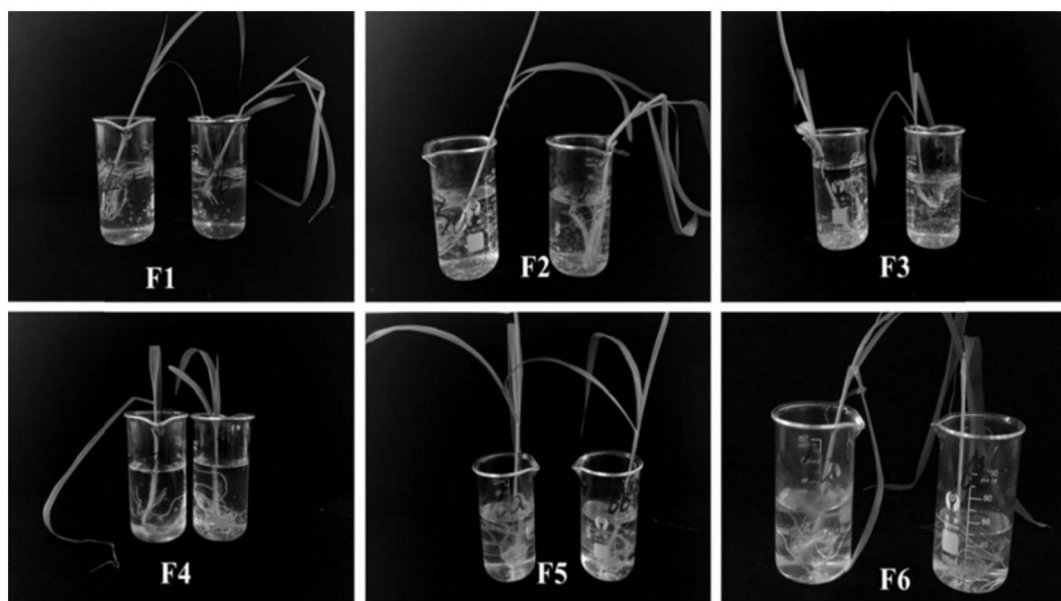


图4

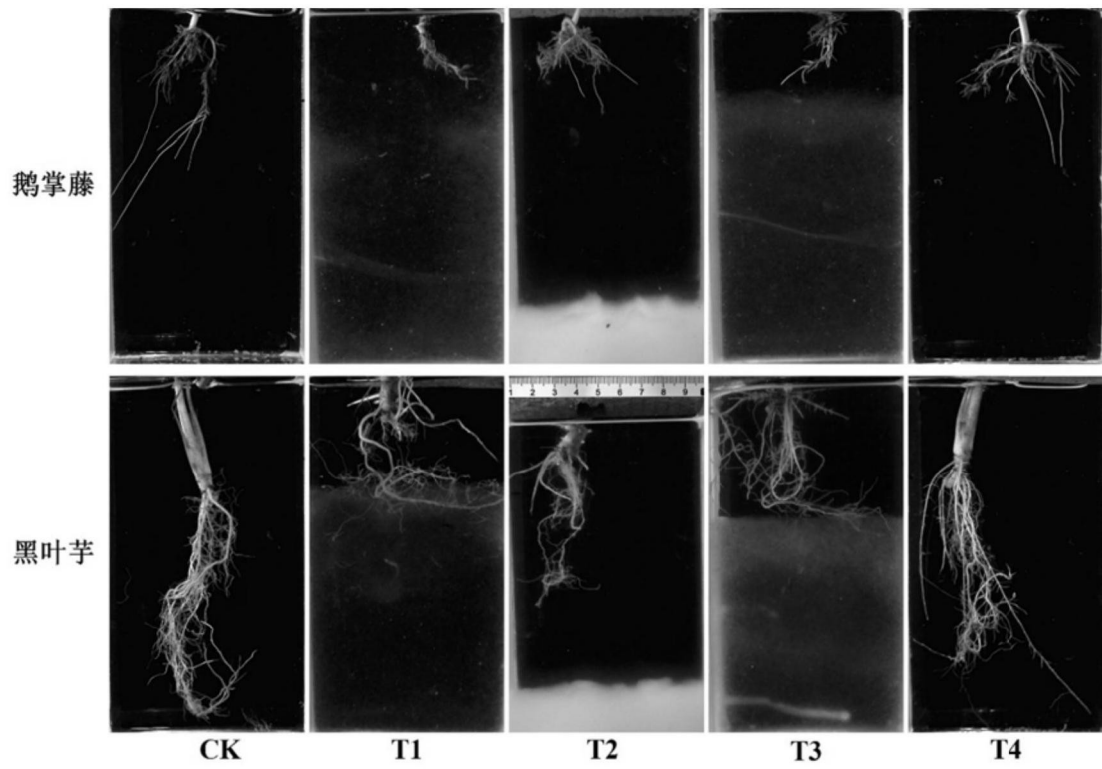


图5

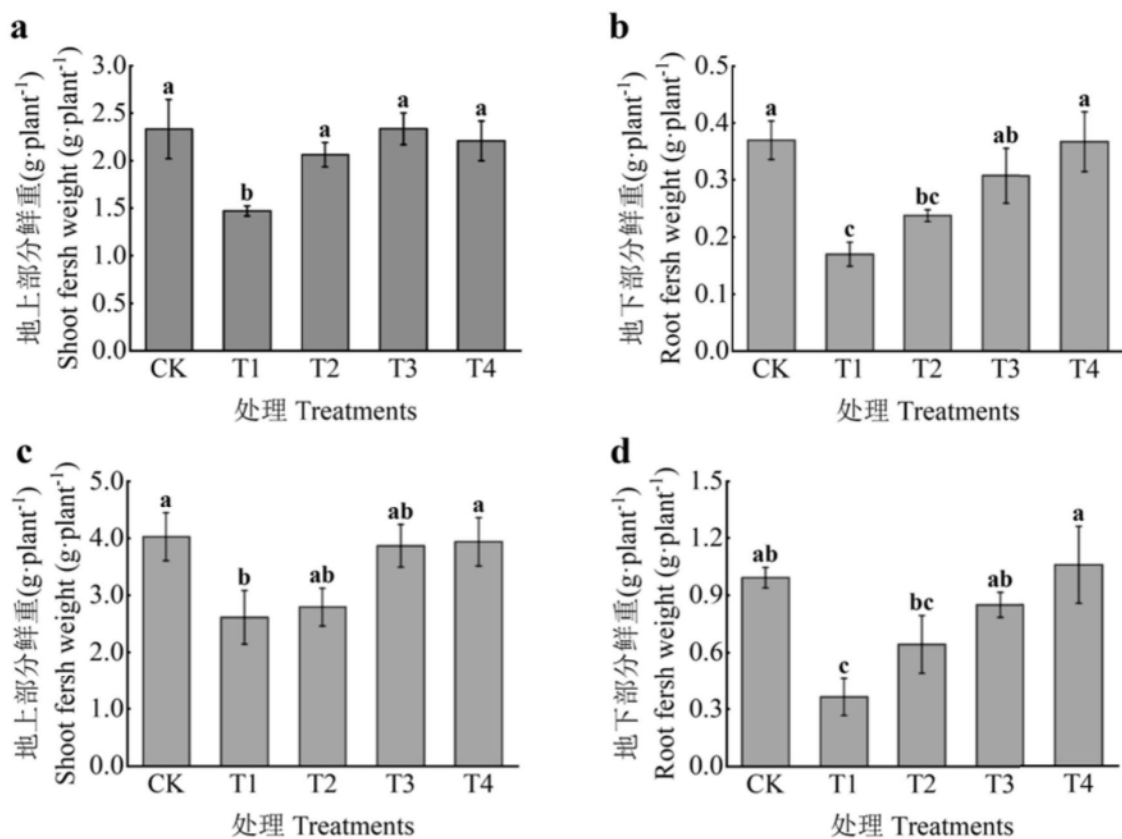


图6

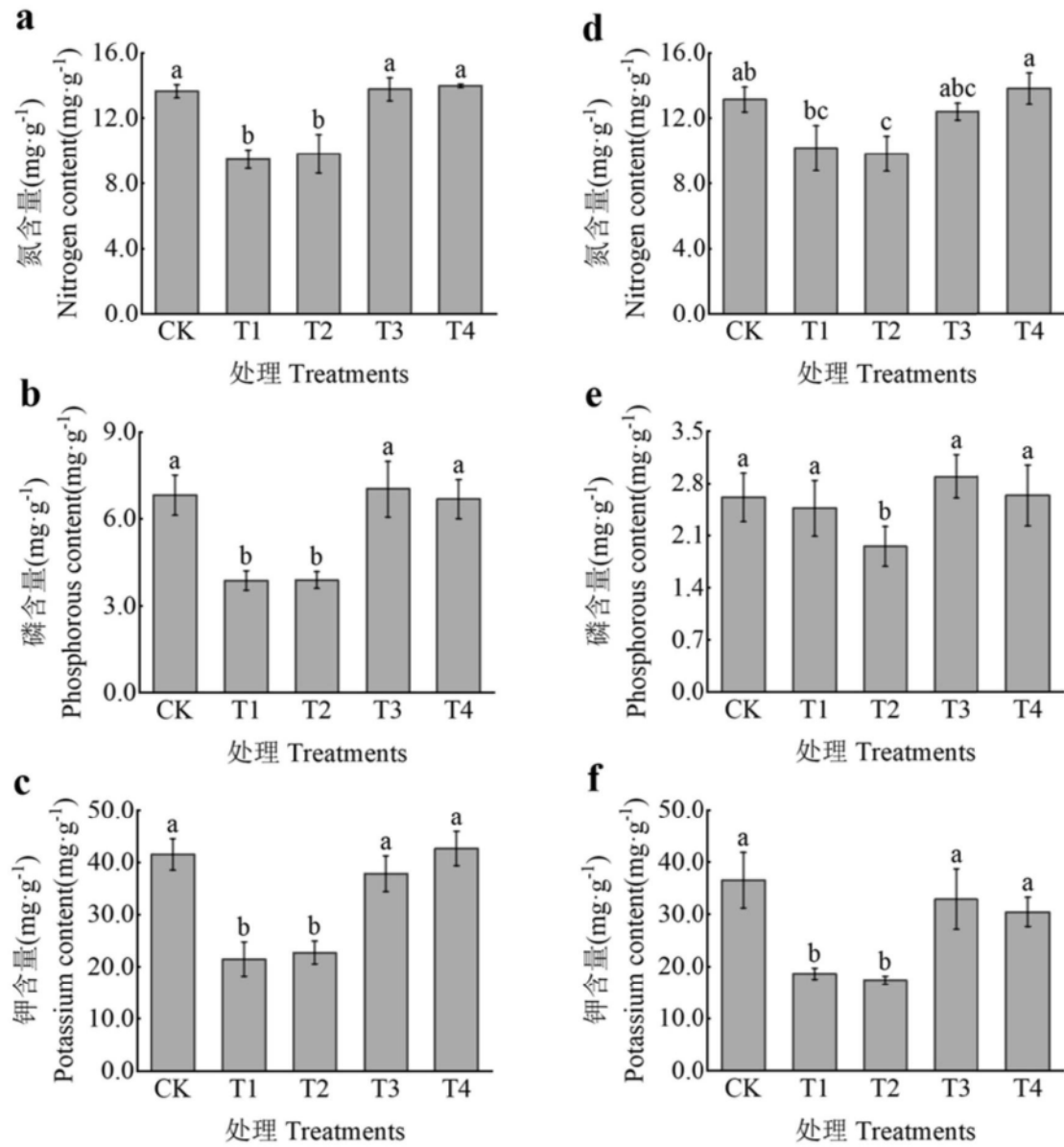


图7

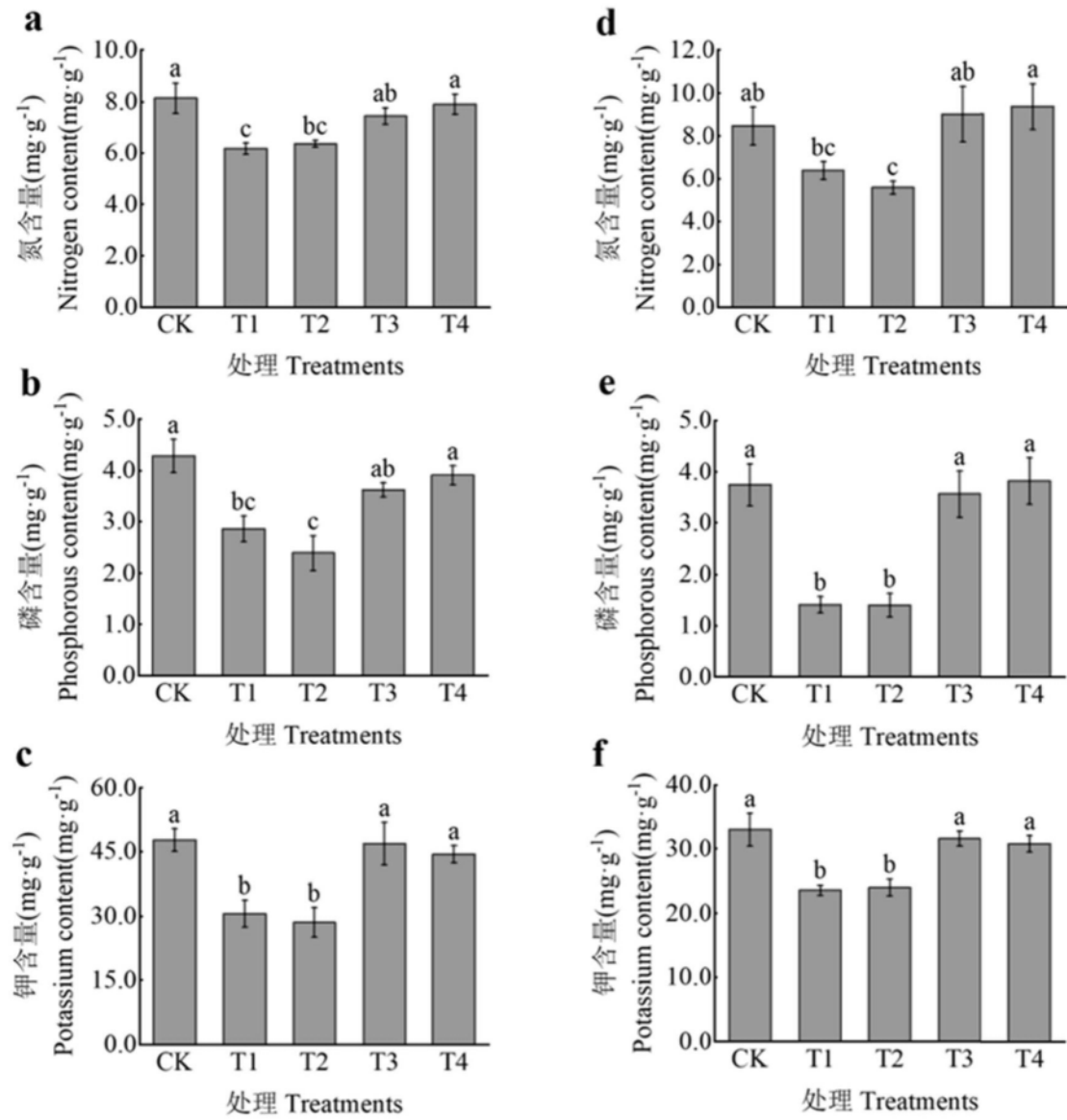


图8

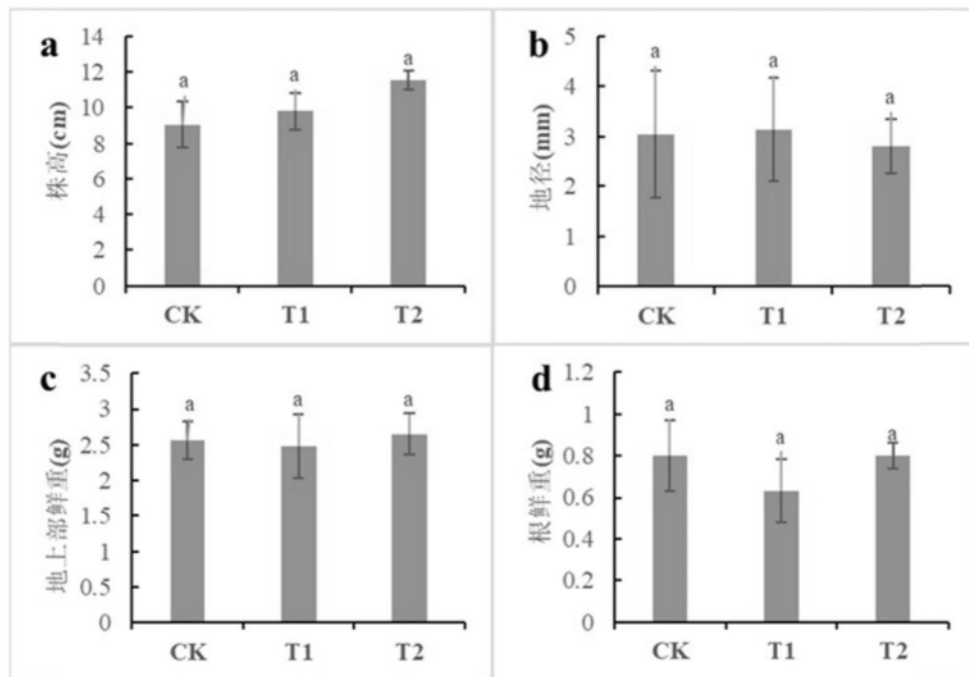


图9

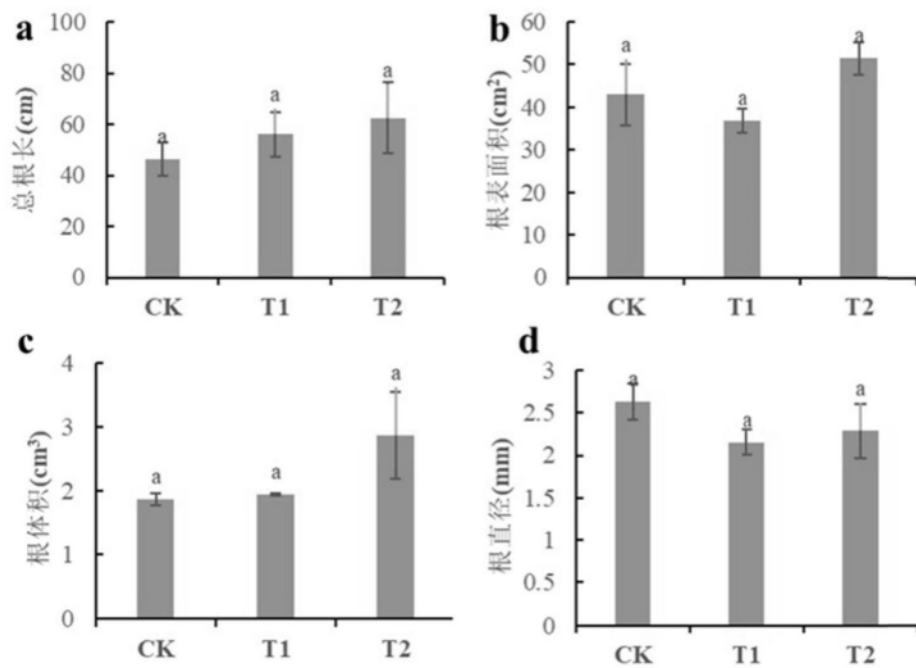


图10

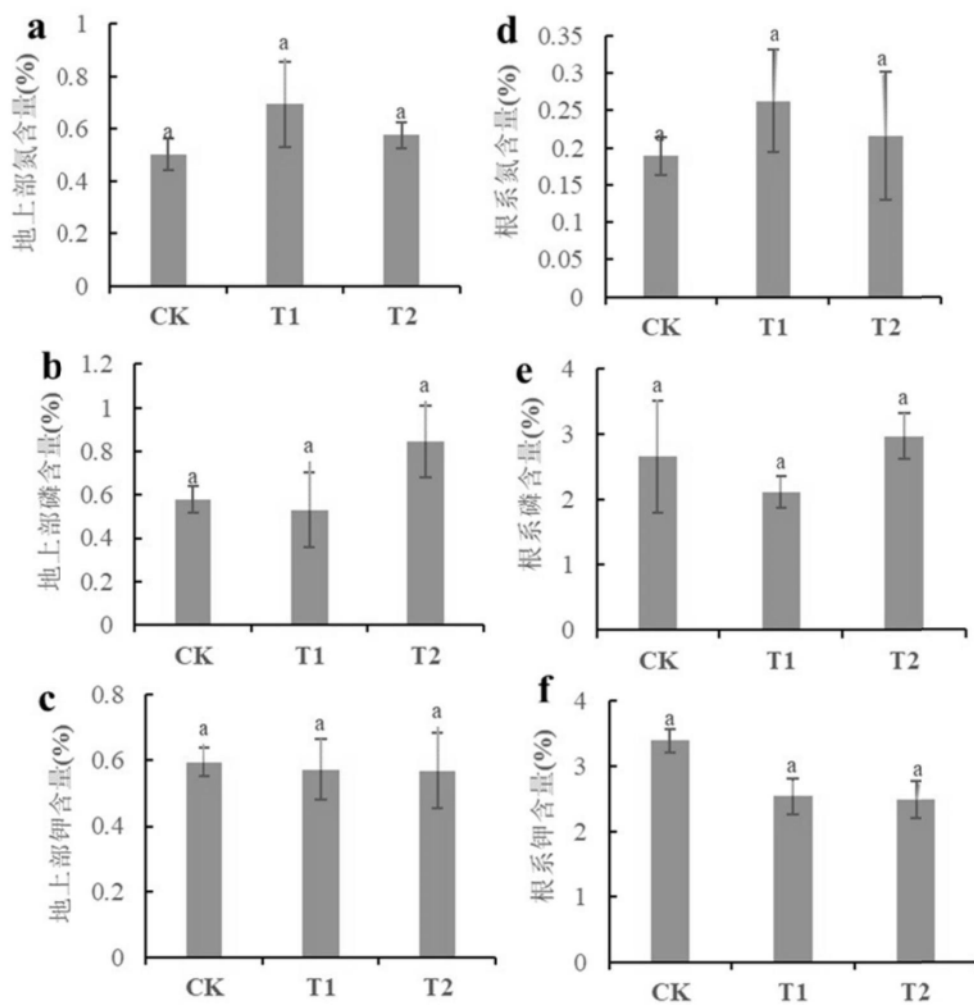


图11