

水稻生理学实验手册

科学出版社

水稻生理学实验手册

吉田昌一 D. A. 福尔诺 J. H. 科克 K. A. 戈梅斯 著

北京市农业科学院作物研究所资料情报组 译

福州大学图书馆藏书印

科学出版社

1975

内 容 简 介

本书系菲律宾国际水稻研究所出版的有关水稻生理学的实验手册。是对水稻进行化学分析与田间试验的技术指导书籍。其内容包括对水稻植株进行常规的化学分析方法和有关水稻生理和测定谷粒产量等方法。

此书可供从事水稻以及其他粮食作物的生理、栽培工作者参考。

Shouichi Yoshida, Douglas A. Forno, James H. Cock,
Kwanchai A. Gomez
LABORATORY MANUAL FOR PHYSIOLOGICAL
STUDIES OF RICE
The International Rice Research Institute
Philippines, 1972 2nd edition

水稻生理学实验手册

吉田昌一 D. A. 福尔诺 J. H. 科克 K. A. 戈梅斯 著
北京市农业科学院作物研究所资料情报组 译

*

科学出版社出版

北京朝阳门内大街137号

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1975年9月第 一 版 开本: 787×1092 1/32

1975年9月第一次印刷 印张: 2 1/2

印数: 0001—22,250 字数: 53,000

统一书号: 16031·27

本社书号: 516·16

定 价: 0.22 元

目 录

1. 取样与样品制备	(1)
2. 水稻组织化学分析的一般说明	(5)
3. 植物组织的全氮(有机氮)分析	(7)
4. 植株组织中磷、铁、锰、铝和粗硅的常规分析法	(9)
5. 用乙二胺四醋酸(EDTA)法对植株组织和 土壤溶液中的钙和镁常规测定	(17)
6. 用原子吸收分光光度测定法和火焰光谱法对锌、 铜、锰、钙、镁、钾和钠的常规分析	(22)
7. 用双硫脲测定溶液中重金属	(31)
8. 植株组织内及水内硼的分析	(34)
9. 植株组织内氯的测定	(36)
10. 植株组织内叶绿素的测定	(38)
11. 植株组织内糖与淀粉的测定	(41)
12. 植株组织内全 C^{14} 的测定	(45)
13. 植株组织内 C^{14} -标记糖的测定	(48)
14. 植株组织内 C^{14} -标记淀粉的测定	(52)
15. 田间完整植株对 $C^{14}O_2$ 的同化作用	(54)
16. 用藏红-酚法探测水稻组织内的硅化细胞	(56)
17. 稻株水培的常规方法	(57)
18. 光强度和光透射比率的测量	(64)
19. 叶面积、叶面积指数和叶厚度的测量	(66)
20. 叶角度(叶开张度)的测量	(70)
21. 谷粒产额的测量	(70)
22. 产量因素的测量	(71)

1. 取样与样品制备

设备

剪刀、纸袋、标记用笔、烘箱、秤、带有1毫米筛孔的研磨机。

取样时间

取样时间大部分取决于研究的内容。在诊断植株营养失调时，应在表现失调症状时取样。例如受铁的毒害及缺磷、缺锌的症状，一般在移植后三、四星期出现^[8]。在此期间进行植株化学分析很有助于诊断这些失调原因。

研究营养吸收问题，应在不同生长时期取样：即在移植时期、恢复生长时期、分蘖盛期、幼穗分化时期、茎伸长期、开花期、乳熟期及成熟期^[4]。

研究作物吸收全部养分时，应在成熟期取全株样品。在此时取样有时会低估养分吸收，因为有些老叶业已脱落，同时成熟前如下雨，可能将一些养分如氮及钾自叶部淋失^[7]。

植株分析部分

分析稻株成分的等级，用全株、叶片或Y-叶（最近期成熟叶片）为样品。这些部分都已经过长期的研究^[5,7]，对所含成分的不足、足够或受毒害的临界点都已确定，因之可用为对照与研究所得结果进行比较（见表1）。若在生长前期取样，应取全株。

表 1 稻株对不同元素不足及受毒害的临界含量

元 素	不足或受毒害	临 界 含 量	分 析 部 分	生 长 期
N	不足	2.5 %	叶片	分蘖期
P	不足	0.1 %	叶片	分蘖期
	毒害	1.0 %	藁秆	成熟期
K	不足	1.0 %	藁秆	成熟期
	不足	1.0 %	叶片	分蘖期
Ca	不足	0.15%	藁秆	成熟期
Mg	不足	0.10%	藁秆	成熟期
S	不足	0.10%	藁秆	成熟期
Si	不足	5.0 %	藁秆	成熟期
Fe	不足	70 ppm	叶片	分蘖期
	毒害	300 ppm	叶片	分蘖期
Zn	不足	10 ppm	苗	分蘖期
	毒害	>1500 ppm	藁秆	成熟期
Mn	不足	20 ppm	苗	分蘖期
	毒害	>2500 ppm	苗	分蘖期
B	不足	<3.4 ppm	藁秆	成熟期
	毒害	100 ppm	藁秆	成熟期
Cu	不足	<6 ppm	藁秆	成熟期
	毒害	30 ppm	藁秆	成熟期
Al	毒害	300 ppm	苗	分蘖期
	毒害			

考虑到植物失调标准,因生长期、品种、气候等而有不同,因此临界含量可能有所差异,因此应用上表所列的等级时要注意。

同时应知“含量百分率”为一强度因素,而“全部吸收量”为一容量因素,因此某一元素的含量经常因植株生长状态而有影响,而生长状态又为许多其他因素所影响。例如水稻藁秆的含硅量由于施氮量的不同而有很大的变化,也就是水稻藁秆的含硅量不常是土壤中有效硅的良好指标。

在这种情况下植株吸收全硅量可能是较好的指标^[3]。这

种考虑对盆栽试验的植株组织做化学分析进行解释尤为重要。

取样和样品制备

1. 连根拔取植株,用自来水冲洗根及茎基部。如测定微量养分,须用蒸馏水或脱矿质水洗根及茎基部。用剪刀剪去根。此步可在样品干燥后进行。

2. 将样品放于纸袋内,在袋上记明取样日期及采样地点。在取样开始时,在袋上对样品记以适当的说明。

3. 如欲分析植株的某一部分,可在田间直接采取该部分。为了方便起见,可在田间采取全株然后取其个别部分。用自来水将样品冲洗,必要的话可再用蒸馏水或脱矿质水冲洗。

4. 将样品在通风烘箱 80°C 下干燥到具有恒量干重时(约48小时)。不要把箱内填装得过满,以免样品干燥得不匀后,在称量干重时容易发生误差。当分析干组织的有机化合物时,取样后应立即加以干燥。为了使分析精确,可将新鲜组织放在酒精内煮沸3分钟或用冷冻干燥技术处理。

5. 样品干燥充分后,记录其干燥后重量。在称重之前,不要将样品在空气中暴露时间太长,以免样品返潮。如样品是破碎的,可将样品放袋内干燥然后连袋称重,再取出样品称出袋重。在常规分析时,干重有三个有效数字就够了。

6. 将样品切成小片,在带有1毫米筛孔的研磨机内磨碎。研磨机要完全无油脂,在研磨两种样品的间隔要充分加以清洁。在分析微量元素时,特别应加注意之点是要防止最低限度的污染(由于筛子经常是黄铜质的,应考虑到是铜与锌的污染来源)。如样品不足1克,切为细末,称重以进行化学分析或用一适合的小磨。如为分析淀粉,可在球磨机内进一

步研磨。

7. 将研磨样品贮存于严密盖紧的玻璃瓶中。小样品可盛于信封内,然后将信封放在聚乙烯袋内。分析硼时,将样品放在软玻璃盛器内,不要用派热克斯 (Pyrex) 容器,因派热克斯为硼酸硅盐制成,可能为硼污染的来源。样品应贮放在阴凉地点。贮存前样品必须要适当地加以标明,取样日期是很重要的。

8. 当样品化学分析称量前,研磨组织连同容器在 80°C 下再进行干燥 24 小时。

误差来源

样品分析时有五种主要误差来源:污染、样品的差异、分析上的差异、人与人及实验室与实验室间的差异以及由于不小心造成的差异。

污染常来自土粒、灰尘、研究人员的手及研磨等原因^[2,6]。在分析上的差异方面,同一样品要较不同样品的差异少得多。因此在取样技术上应充分加以注意。应用变差系数来估算用多少数量的样品才能得到理想的精确度,一般如要求 10% 的精确度时,应在同一地内取 10—20 个样品^[9]。

人与人之间和实验室与实验室之间的差异是很难予以估价的,但有时会很大。用标准样品方法可以评定这些误差的大小^[1]。

当制备及分析大数量的样品时,误差常会较多地发生。在这种情况下,分析时应加若干标准样品。

参考文献

- [1] Bowen, H. J. M., 1965. Note. *Soil Sci.* 99:138.
- [2] Hood, S. L., R. Q. Parks and C. Hurwitz, 1944. Mineral contamination resulting from grinding plant material. *Ind. Eng. Chem.*,

Analyt. Ed., 16:202-205.

- [3] Imaizumi(今泉), K. and S. Yoshida (吉田), 1958. Edaphologica studies on silicon-supplying power of paddy fields. *Bull. Natl. Inst. Agr. Sci. (Tokyo)* Ser.B 8, 261-304.
- [4] Ishizuka (石塚), Y., 1964. Nutrient uptake at different stages of growth, p. 199-217. In *Proceedings of a symposium on the mineral nutrition of the rice plant*, Feb. 1964, Los Baños, Philippines. Johns Hopkins Press, Baltimore.
- [5] Mikkelsen, D. S., 1970. Recent advances in rice plant tissue analysis. *Rice Journal* 73:2-5.
- [6] Mitchell, R. L., 1960. Contamination problems in soil and plant analysis. *J. Sci. Food Agr.* 11:553-560.
- [7] Tanaka(田中), A. and S. A. Navasero, 1964. Loss of nitrogen from the rice plant through rain or dew. *Soil Sci. Plant Nutr.* 10:36-39.
- [8] Tanaka(田中), A. and S. Yoshida(吉田), 1970. Nutritional disorders of rice in Asia. *Int. Rice Res. Inst. Tech. Bull.* 10. 51 pp.
- [9] Yanagisawa(柳泽), M. and J. Takahashi (高桥), 1964. Studies on the factors related to the productivity of paddy soils in Japan with special reference to the nutrition of the rice plants. *Bull. Natl. Inst. Agr. Sci. Ser. B.* 14:41-171.

2. 水稻组织化学分析的一般说明

本手册介绍水稻植株组织进行化学分析的一般方法。不准备叙述方法的原理。

表 1 水稻组织的化学分析一般方法

元素或成分	消 化 或 提 取	分 析 方 法
N	基耶达(Kjeldahl)测氮法 三元混合物消化 三元混合物消化 三元混合物消化	容量法
P		比色法
Al		比色法
Fe		比色法
Si	三元混合物消化或干灰法	重量法
K Na } }	HCl 提取或水提取	火焰光谱法

续表 1

元素或成分	消化或提取	分析方法
Ca Mg Mn Zn Cu	HCl 提取	原子吸收分光光度法
B	HCl 提取	比色法
Cl	水提取	容量法
叶绿素	丙酮提取	比色法
糖	酒精提取	比色法
淀粉	高氯酸提取	比色法

以后分章叙述，每章后附有参考文献。下面所引的为综合性资料。

参考文献

- [1] Black, C. A. (Ed.), 1965. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin. 1572 p.
- [2] Chapman, H. D. and P. F. Pratt, 1961. Methods of analysis for soils, plants and waters. Univ. of California, Riverside. 309 pp.
- [3] Comar, C. L., 1955. Radioisotopes in biology and agriculture. McGraw-Hill, New York. 481 pp.
- [4] Dawes, E. A., 1962. Quantitative problems in Biochemistry, 2nd ed., E. & S. Livingstone Ltd. Edinburgh. 295 pp.
- [5] Horwitz, W. (Ed.), 1965. Official methods of analysis of the association of official agricultural chemists. 10th ed. Association of Official Agricultural Chemists, Washington, D. C. 957 pp.
- [6] Jackson, M. L., 1958. Soil chemical analysis. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, N. J. 498 pp.
- [7] Paech, K. and M. V. Tracey, 1955. Moderne methoden der Pflanzenanalyse. Vol. 2. Springer-Verlag. Berlin. 626 pp.
- [8] Paech, K., and M. V. Tracey. 1956. Moderne methoden der Pflanzenanalyse. Vol. 1. Springer-Verlag. Berlin. 542. pp.
- [9] Sachs, J., 1953, Isotopic tracers in biochemistry and physiology.

McGraw-Hill, New York. 383 pp.

- [10] Sandell, E. B., 1950. Colorimetric determination of traces of metals, 3rd ed. rev. Interscience Publishers, Inc., New York 1032 pp.
- [11] Slavin, W., 1968. Atomic absorption spectroscopy. Interscience Publishers, Inc., New York. 307 pp.
- [12] Togari (户莉), Y. (Ed.), 1956. Sakumotsu-shiken-ho (Laboratory Manual in Crop Science). Tokyo Nogyo-gijitsu Kyokai (农业技术协会), 553 pp

3. 植物组织的全氮(有机氮)分析

设备

微量基耶达蒸馏器、100 毫升基耶达烧瓶、125 毫升锥形烧瓶、10 毫升快输吸量管。

样品制备

试剂

1. 浓硫酸。

2. 混合盐 将 250 克 K_2SO_4 或 Na_2SO_4 与 50 克 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 及 5 克金属态硒混合(比例为 50:10:1)。

步骤 将 200 毫克干样品放入 100 毫升基耶达烧瓶内。加入约等量的混合盐及 3 毫升的浓 H_2SO_4 。将基耶达烧瓶放在一适宜大小的空铅铁罐内,在火焰上加热以煮解样品。当样品澄清后,冷却再加入 10 毫升蒸馏水,混匀使样品再行冷却。

样品分析

试剂

1. 4%硼酸 溶解 40 克 H_3BO_3 在 1 升蒸馏水中。此试剂浓度不需要很精确直至硼酸量在化学当量上较多于所吸收

的氮量时。

2. 混合指示剂 溶解 0.3 克溴甲酚绿及 0.2 克甲基红在 400 毫升的 90% 乙醇内。指示剂颜色在酸溶液中呈红色，碱溶液中呈蓝色。

3. 40% 氢氧化钠 在通风橱内，用烧杯溶解 400 克工业用 NaOH 于 600 毫升蒸馏水中。将烧杯放在冷水浴锅中散热。冷却后贮放于螺旋塞的瓶内。

4. 碳酸钠 将 10—20 克分析纯的 Na_2CO_3 移入派热克斯烧杯内，在 270°C 加热 3 小时。将烧杯在干燥器内冷却。

5. 甲基橙指示剂 溶解 0.1 克甲基橙在 100 毫升蒸馏水中。

6. 0.1 *N* 标准盐酸 稀释 9 毫升浓盐酸至 1 升蒸馏水内。将此约为 0.1 *N* 的 HCl 溶液按下法标定：在 20 毫升蒸馏水中精确地溶解 0.53 克碳酸钠试剂并稀释至 100 毫升。将 10 毫升此 0.1 *N* 碳酸钠溶液移入 125 毫升锥形瓶内。加两滴甲基橙指示剂。将约为 0.1 *N* HCl 溶液滴定于 0.1 *N* 碳酸钠内直至甲基橙指示剂变为橙红色。逐渐将溶液煮沸 1 分钟，然后在室温下用流动自来水浇在烧瓶外部使之冷却。如颜色变回成橙色，再滴定更多的 HCl 直到最后呈现持久的橙红色。

计算

$$\text{HCl 当量浓度} = \frac{0.1 \times 10}{\text{滴定 HCl 毫升量}}$$

7. 标准 0.05 *N* 盐酸 将 500 毫升标定的 0.1 *N*、HCl 移至 1 升容量的烧瓶内，用蒸馏水定其容量。

步骤

蒸馏 将基耶达烧瓶内的消化样品全部移入微型基耶达蒸馏器内，用蒸馏水将烧瓶冲洗三次，将每次所洗的水都倒入

蒸馏装置内。要用最少量的水。然后用快输吸量管加 10 毫升 40% NaOH 至蒸馏器内。

准备一个 125 毫升锥形瓶，放入 10 毫升 4% 硼酸试剂及三滴混合指示剂。将烧瓶放在蒸馏器的冷凝器下，冷凝器的出口尖端必须放在烧瓶内溶液表面的下面。让蒸发器放出的蒸气通过样品，将氨蒸馏出通到含有硼酸及混合指示剂溶液的烧瓶内。

蒸馏样品 7 分钟。将烧瓶放低，使溶液自冷凝器滴入烧瓶约 1 分钟。用蒸馏水洗冷凝器出口尖端。

滴定 用标定的 HCl 滴定含有蒸馏出来的铵的硼酸及混合指示剂的溶液。

备注

(1) 含有 1.5—4% 氮的样品用标定的 0.1 N HCl。

(2) 含有不足 1.5% 氮的样品用标定的 0.05 N HCl。

(3) 要用多于 2 毫升的滴定值，以使滴定误差减少到不足重视的程度。

(4) 测定硼酸与混合指示剂空白的滴定值。

计算

$$\text{样品含 N\%} = \frac{(\text{样品滴定度} - \text{空白滴定度}) \times \text{HCl 的当量浓度} \times 14 \times 100}{\text{样品重(克)} \times 1000}$$

4. 植株组织中磷、铁、锰、铝和粗硅 的常规分析法

设备

分光光度计、75 毫升派热克斯试管(在 50 毫升处有刻度的)、过滤漏斗、沃特曼滤纸 1 号和 44 号、pH 计。

样品制备

试剂

酸混合液 准备含有 750 毫升浓 HNO_3 , 150 毫升浓 H_2SO_4 和 300 毫升 60—62% 的 HClO_4 的混合液。

步骤

将 1 克磨成粉状的干燥植株样品放在 75 毫升派热克斯试管里, 加 10 毫升酸混合液并在通风橱下预先消化至少 2 小时。然后在小煤气火焰上加热。如果试管加热太快, 由于过度冒泡可能使一些样品从试管里损失掉。慢慢加热直至混合液变清, 要防止蒸发干了。冷却并加蒸馏水至 50 毫升刻度处, 用酸洗滤纸(沃特曼 1 号)过滤样品提出物。

备注

1. 如果蒸发干了, 磷就会损失掉。
2. 如果要测定铝, 继续煮解混合液直至容量降到 0.5 毫升以除去尽可能多的酸混合液。
3. 如果要测定硅, 使用无灰沃特曼滤纸 44 号, 保存滤纸和滤渣以测定粗硅。

样品分析: 磷

试剂

1. 钼酸盐-钒酸盐溶液 将 25 克钼酸铵 $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ 溶于 500 毫升蒸馏水中。将 1.25 克钒酸铵 (NH_4VO_3) 溶于 500 毫升 1N HNO_3 中。然后将这两种等量的溶液混在一起。每星期准备一次新鲜的混合液。

2. 2N 硝酸 把 10 毫升浓 HNO_3 用蒸馏水稀释至 80 毫升。

3. 标准磷溶液 将 0.110 克一价磷酸钾 (KH_2PO_4) 溶于

蒸馏水中,并稀释至 1 升。此溶液含有磷 25 ppm。

将下面所指的 25 ppm 溶液的毫升数放入 10 毫升的试管中以制备下列各个标准。加 2 毫升 2 N HNO₃到每个试管中,然后用蒸馏水稀释至 8 毫升。

P 标准液(ppm)	加到 10 毫升试管中的 25 ppm P 溶液的毫升数
2.5	1
5.0	2
7.5	3
10.0	4
12.5	5
15.0	6

步骤

将 1 毫升样品提出物放进 10 毫升的试管中,加 2 毫升 2 N HNO₃并用蒸馏水稀释至 8 毫升。把 1 毫升钼酸盐-钒酸盐溶液加入含有样品提出物或标准液的试管中,然后加蒸馏水至 10 毫升。摇动试管并让试管直立放置 20 分钟。在 420 毫微米波长处测定吸光度,并和磷标准液的吸光度相比较。

说明

温度和酸度影响颜色的强度。样品或标准液的颜色若在温度相差 10°或 10°C 以上时出现,其吸光度值不能互相比。在上面的方法中也可用 2 N HClO₄ 代替 2 N HNO₃,但标准必须按 2 N HClO₄ 配制。显出颜色的最后酸度应在 0.3—0.8 N 的范围内。上法得出的酸度为 0.4 N。因此,提取方法中所加的硝酸和高氯酸在少于 0.1 N 时实际上可以忽略。

这个方法最适用于水稻植株组织内的高磷含量的样品。

参考文献

- [1] Black, G. A. (ed.), 1965, Method of Soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. American Society of Agronomy, Inc., Madison, Wisconsin. 1572 pp

[2] Sekine(关根), T., T. Sasakawa(篠川), S. Morita(森田), T. Kimura(木村) and K. Kuratomi(仓富) (ed.), 1965. Photoelectric Colorimetry in Biochemistry (Part 2). Nanko-do Publishing Co. (南光堂) Tokyo. 242 pp.

样品分析: 铁

试剂

1. 氢醌 用蒸馏水配制 1% 溶液。如显出颜色就废弃不用, 另配新溶液。

2. 柠檬酸钠 将 250 克柠檬酸钠溶于水并用蒸馏水稀释至 1 升。

3. 邻二氮菲 将 0.5 克邻二氮菲溶于蒸馏水中并稀释至 100 毫升。在水浴中将烧瓶加温使较快地溶解。将溶液放在深色瓶中或放在暗处贮藏。如果显出颜色就废弃另配新溶液。

4. 铁标准液 将 0.1 克电解铁放在 100 毫升的烧杯中。用表面玻璃盖上, 然后加进 50 毫升 1:3 (容积/容积) 的 HNO_3 。煮沸直至一氧化二氮的褐色烟雾不再发生。冷却并用蒸馏水稀释至 1 升。此溶液含有铁 100 ppm, 取 10 毫升此溶液并加蒸馏水至 100 毫升, 此溶液含有铁 10 ppm。将下面所指的 10 ppm 溶液的毫升数放入 25 毫升的容量瓶中, 并用蒸馏水补足容量以制出各种铁标准液。

Fe 标准液 (ppm)

加到 25 毫升容量瓶中的 10 ppm
Fe 溶液的毫升数

0	0
0.4	1
0.8	2
2.0	5
4.0	10

步骤

将 10 毫升样品提出物或标准液放在 25 毫升的容量瓶

中。加 1 毫升氢醌试剂和 1 毫升邻二氮菲试剂。加入预先测定的(见备注)能使 pH 值到 3.5 的柠檬酸的数量。然后用蒸馏水补足容量。在水浴中将容量瓶加热 1 小时使铁完全还原。在 508 毫微米波长处读吸光度并和铁标准液的吸光度比较。

备注

用可整分的样品和标准液,测定其能使 pH 值到 3.5 所需要的柠檬酸钠的数量。

说明

当邻二氮菲和铁起作用时,形成桔红色的混合物。pH 值在 2.0—9.0 间的酸度并不影响颜色的深浅。标准和样品的溶液应有相同的最后 pH 值,因此用柠檬酸钠缓冲使 pH 值为 3.5。有色的复合物将能保持稳定几个月。

参考文献

- [1] Sandell, E. B., 1950. Iron, p. 522—554, *in* Colorimetric determination of traces of metals, 3rd. ed. rev. Interscience Publishers, Inc., New York. 1032 pp

样品分析: 锰

试剂

1. 酸溶液 将 400 毫升浓 HNO_3 和 200 毫升蒸馏水混合。在此溶液中溶解 75 克 HgSO_4 , 然后加 200 毫升 85% 的 H_3PO_4 。将 0.035 克 AgNO_3 溶解在此溶液中, 加蒸馏水至 1 升。

2. 过硫酸铵 是在干燥器中贮藏过的硫酸铵结晶 $[(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8]$ 。

3. 锰贮备液 将 3.08 克分析纯的 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 放在 100 毫升的烧杯中, 细心地加 50 毫升 1:1 (容积/容积) HCl 去溶