

这个方法优点是一次可制备大量有膜载网,火棉胶膜均匀平展;制作方便可靠。实践证明所成支持膜很好地适用于对分辨本领不要求极高的各类样品。

二、放线菌孢子的标本制备 直接扣压法是用镊子夹紧有膜的载网,把有膜面向着放线菌气生菌丝体表面轻轻扣压一下,即有大量孢子附着到载网上。为防止附着不牢的孢子污染电子显微镜,必须用吹气球轻轻吹过有膜面。此后不需要其它任何处理,就可以直接放入电子显微镜观察。放线菌孢子表面的微细结构有足够的反差,因此不需要做增加反差的处理。

直接扣压法操作简便,没有使用液体,因而图象背景干净,可以得到清晰的照片(图2)。扣压有时还会带下一些菌丝,这可以观察到孢子在菌丝上的着生情况(图3)。

三、细菌的标本制备 与前相同。用镊子夹紧载网,把有膜面在固体培养基上增生的细菌菌落表面轻轻扣压。这样就有相当浓厚的一层细菌粘附在支持膜上。这时由于细菌量过多,又会带有培养基,不能直接使用。可以在干净的瓷盘上(或凹玻片、蜡盘等)滴上无菌水,把粘着大量细菌的载网扣到无菌水表面,放置一段时间。这可以使细菌量得到稀释,并漂洗去带下的少量培养基。而后取下载网用滤纸在载网边缘吸去液体,凉干后进行增加反差的处理。不同菌种漂洗时间不同。有些细菌分泌粘物很多,这可以用滴水轻轻冲洗,直至载网上无肉眼可见的浓密物为止,这样也可以得到分散的可供观察的细菌标本。细菌的一般形态观察时,标本经干燥固定就可以了。

由于细菌体,尤其是鞭毛电子散射能力弱,图象反

差很差难于直接观察。增加反差的方法可采用金属投影或负染色。金属投影可以得到富立体感的图象(图4、5)。一般观察使用金属铬(Cr)就可以,投影角度采用 $30^\circ$ 左右为宜。负染色法不需要真空镀膜装备,操作也简单,应用于病毒和噬菌体可以显示出微细结构,但用于细菌常常引起背景不干净、染色程度难掌握(图6)。

四、噬菌体的标本制备 使用直接扣压法,把有膜载网扣压在因噬菌体作用形成的无菌斑点表面,放置一段时间再取下,同样可以得到噬菌体标本。在载网粘附样品后进行负染色。最常用的负染色液是2%或4%的磷钨酸重蒸馏水溶液,用NaOH调到中性(pH 7—7.4)。负染色的方法很多,都是大同小异。简单的方法是在载网带有样品的面上滴一滴负染色液,而后用滤纸吸去,仅在膜面上留一薄层液体,经干燥后即可放入电子显微镜观察。载网吸附样品后不需漂洗,实际上在负染过程中已起到漂洗作用。

为获得好的噬菌体电子显微镜标本,常常要进行增殖、分离、纯化等复杂的操作。而直接扣压制成的标本也可以得到一定浓度分布的噬菌体,达到观察微细结构的目的(图7)。(图2—7见封三)

## 参 考 文 献

[1] G·A·米克著(中国科学院生物物理研究所电镜组部分同志译),生物学工作者实用电子显微术,444—457页,科学出版社,1976。

[2] B.И.比留佐娃等著(王大成译),生物材料的电子显微镜研究法,23—30页,科学出版社,1965。

# 土壤中挥发性氨的定量测定

蒋能慧 刘光松

(中国科学院南京土壤研究所)

碳酸氢铵、氨水和尿素施入土壤后往往有相当部分分解(尿素在尿酶作用下)成气态氨。氨的挥发损失直接影响到氮肥肥效。为了弄清氨气在土壤中扩散损失的变化规律,需要有适于田间测定氨气损失的方法。我们在研究氨气挥发损失的工作中,通过实践对Ventura(1)和Nommik(2)提出的田间测定氨气方法作了改进,使之适用于水田和旱地挥发性氨的定量测定。用经过改进的方法测氨灵敏度,操作较简便,特别是在通气条件下搜集从土壤中挥发损失的氨。

本文简要介绍方法的操作和应用实例。

## 一、测定方法

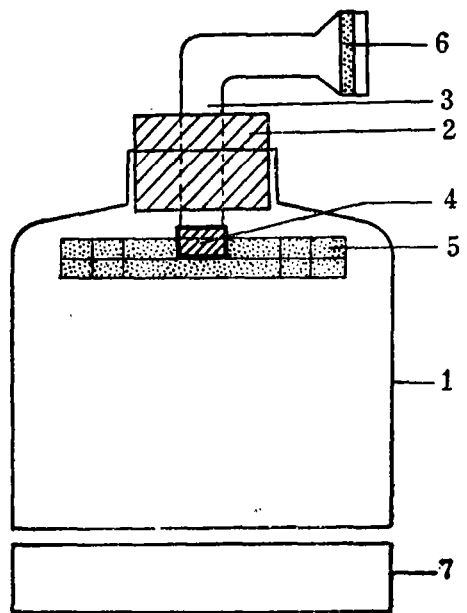
本方法以磷酸甘油溶液作氨的吸收剂,用开口型(气体可以通过的)泡沫塑料作吸收剂的载体,在通气条件下吸收自土体挥发的氨,然后蒸馏测定之。

### (一)材料和装置

1. 泡沫塑料吸收载体 选用常见的市售白色聚

醚型泡沫塑料,容重40—60毫克/立方厘米,其孔隙以小米大小为宜。截取两片直径约8厘米、厚度约1.25厘米的泡沫塑料(其中上片中心处用打孔器锥一小孔)相叠,用尼龙线稍加缝合,即可作为吸收载体。另截取一直径约2厘米,厚约1厘米的泡沫塑料小圆片,试验时使其吸附氨吸收剂后放置在通气管的进口处,以防大气中氨对测定的污染。泡沫塑料圆片可反复使用,直至破裂或损坏,弃之换新。

2. 装置 取直径约10厘米的透明广口瓶,截去底部。供田间测定用的玻璃瓶,去底后瓶身高度至少应有12厘米,使保证测定时泡沫塑料圆片(吸收载体)与土面或水面相距在5厘米以上,瓶底则弃而不用,供实验室测定用的,瓶底需保留4厘米左右的高度作盛土容器,瓶身可略短些。瓶口配上橡皮塞,中央锥孔,插入直径约1厘米的玻璃弯管作通气管。管的进口直径为2厘米。通气管连接泡沫塑料圆片(吸收载体)的接口处可套上一段约2厘米长的橡皮管,以利泡沫塑料圆片与玻管间衔接紧密不致滑脱(图1)。



1—吸收瓶 2—橡皮塞 3—通气管  
4—橡皮管 5—吸氨用泡沫塑料圆片  
6—防止外界氨气干扰用的泡沫塑料小圆片  
7—瓶底(供实验室测定,瓶底用作盛土容器)

图1 吸收装置

## (二)试剂

1 M  $H_3PO_4$  溶液,

1 M KOH 溶液,

$H_3PO_4$ —甘油溶液(氨吸收剂):1升溶液含50毫升浓磷酸(比重1.71)和40毫升甘油,

1 M KCl 溶液,

甲基红—亚甲兰混合指示剂:100毫升95%乙醇中溶解0.12克甲基红和0.08克亚甲兰,

MgO: 注意密封保存。如暴露空气需在650℃高温炉中灼烧3—4小时,

5 N NaOH 溶液,

2% 硼酸溶液:称取20克硼酸用热蒸馏水(约60℃)溶解,冷却后稀释至1000毫升。最后用稀盐酸或稀氢氧化钠调节pH至4.5(定氮混合指示剂显淡红色),

0.1000 N 或 0.0200 N  $H_2SO_4$  标准溶液。

## (三)测定挥发性氨的实验室步骤和田间步骤

1. 泡沫塑料的预处理 试验进行前,将泡沫塑料圆片在1 M  $H_3PO_4$  和1 M KOH 溶液中交替挤压洗涤约5次,然后用蒸馏水洗净备用。操作时带橡皮手套以防腐蚀皮肤。

2. 实验室测定步骤 将预处理好的泡沫塑料圆片浸泡在磷酸甘油溶液中数分钟,取出轻轻挤干,然后将上片的小孔接插到套有橡皮管的通气管上。另将经同样处理、浸泡后的泡沫塑料小圆片稍加挤干塞在通气管的进口处,以防止外界氨气进入瓶内。试验期间每日更换。这样,从土壤中挥发的氨气被吸附在泡沫塑料圆片上的磷酸所吸收,并且保证试验处于通气条件下。试验处理布置在瓶底盛土容器中。布置完毕将瓶底与瓶身上合,检查接口处使之密合,并用透明胶纸加封。

3. 田间测定步骤 在田间进行测定时,将已装上泡沫塑料圆片的吸收装置象钟罩似的扣在试验部位上,并压入土中3厘米。为防止玻璃瓶在水田中下陷,宜用三根竹竿斜插在瓶壁四周,使玻璃瓶位置固定。当到达预定的测定时间时,按垂直方向启瓶取出泡沫塑料圆片(勿使接触瓶壁)分别放置在容器中,然后带回室内分析测定。对需要长期测定挥发性氨的试验,应以新处理的泡沫塑料圆片分次按预定时间更换瓶内的泡沫塑料圆片,并分析、计算挥发性氨的累积量。

测定挥发性氨的过程中,土壤本身也会挥发出少量的气态氨,故需设置对照处理,以便对试验处理的数据进行校正。对照处理同样按上述步骤与试验处理同时进行。处理重复数一般以四个重复为宜。

4. 分析方法 吸附在泡沫塑料圆片上的氨,用250毫升1 M KCl 分五次挤压提取(取直径略大于泡沫塑料圆片的塑料烧杯和直径10厘米的结晶皿各一只,每次将50毫升KCl溶液倒入盛有泡沫塑料圆片的结晶皿中,用塑料烧杯底部多次挤压后倾出)。提取液收集在500毫升开氏瓶(或500—1000毫升的烧瓶)中,加2滴混合指示剂,用5 N NaOH 调至提取液pH7呈现绿色为止。在蒸馏(可以自行安装一个简易的蒸馏装置)前加2克 MgO,蒸出的氨收集在2%硼酸液中,用标准

表 1

无土条件下不同量的碳酸氢铵回收率测定

碳酸氢铵用量	回收率 $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}(\%)$	变异系数 C.V.(%)	试验条件
0.100克试剂纯碳酸氢铵	98.6 ± 0.11	0.22	放置7天, 7.5°—9°C
0.100克肥料碳酸氢铵*	98.7 ± 0.04	0.07	放置5天, 22°—27°C
0.300克肥料碳酸氢铵	99.3 ± 0.32	0.64	放置11天, 9.5°—11°C
0.400克肥料碳酸氢铵	99.0 ± 0.39	0.76	同上
0.500克肥料碳酸氢铵	99.2 ± 0.10	0.19	同上
0.600克肥料碳酸氢铵	98.4 ± 0.19	0.38	同上

各处理均重复4次, 注\*者重复3次。

表 2

土培条件下氮的测定回收

施入土壤的氮量	氮挥发率%	土壤残留氮量(%)	测得的总氮量(%) (氮挥发率+土壤 残留氮量)	平均值 $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}(\%)$	变异系数 C.V.(%)	
0.400克碳酸氢铵	23.3	73.4	96.7	96.5 ± 0.4	0.7	
	撒施土表	19.0	76.7			95.7
	19.0	77.7	97.0			
0.500克碳酸氢铵	24.5	72.6	97.1	96.4 ± 0.3	0.7	
	撒施土表	19.9	76.0			95.9
	19.2	76.6	95.8			
	25.1	71.8	96.9			

注: 1. 供试土壤系石灰性土(江苏响水), PH8.1, 通过2毫米筛孔, 土壤含水量12.15%;

2. 在温度18°~23°C实验室中放置四天后测定;

3. 土壤残留氮量用2NkCl提取, 蒸馏测定。

酸滴定。

计算:

$$\text{挥发的NH}_3\text{量(毫克)} = (V - V_0) \times N \times 17$$

V—滴定试验处理所消耗的标准酸体积

V<sub>0</sub>—滴定对照处理所消耗的标准酸体积

N—标准酸的浓度

$$\text{氮挥发率}(\%) = \frac{\text{挥发的氮量(毫克)}}{\text{施入的氮量}^*(\text{毫克})} \times 100$$

\* 根据施入肥料的含N量计算

## 二、方法的准确度和精密度

### (一)无土条件下挥发氮气的回收试验

称取0.100克试剂纯碳酸氢铵和分别为0.100克、0.300克、0.400克、0.500克、0.600克的肥料碳酸氢铵, 在无土条件下任供试肥料自然挥发, 用上述的实验室步骤进行挥发性氮的回收率测定。从表1所示结果可以看出, 供试碳酸氢铵的用量不同, 但氮的回收率都接近99%(六组试验平均值98.9%), 变异系数最大不超

过0.76%。表明本方法具有较好的准确度和精密度。

### (二)土培条件下氮的回收试验

许多因子对氮的挥发都有直接影响。采用实验室步骤在土培条件下进行试验, 虽然试验条件如土壤质地、土壤湿度、土壤紧实度等都尽可能控制一致, 但重复间施肥的均匀度很难做到完全相同, 由于本方法灵敏度高, 施肥中的这种差异就会反映在测定结果上, 因此, 在土培条件下测得的氮挥发结果, 其精密度往往不如无土条件下高。这点从表2的试验结果可以得到说明。表2是采用实验室技术在土培条件下进行的氮回收试验。试验对施入肥料的挥发损失氮和土壤残留的氮都作了分析。

从表2的结果看, 氮挥发率重复之间差异是较大的, 然而将各试验区的氮挥发率和土壤残留氮量相加, 其重复间的结果(见表2测得的总氮量一列)则十分相近。两种用量的总氮量占施入氮量分别为96.5% ± 0.4和96.4 ± 0.3, 变异系数均小于1%。由此可见, 在土培条件下各重复间的差异完全是重复间影响氮挥发的一些条件的差异所致。

### 三、二种吸收氨方法的吸氨效率比较

在拟定这项方法的过程中,我们曾采用密闭条件下以稀硼酸作为吸收剂的方法和本法进行了吸氨效率的比较。对比试验在实验室中进行,分别在无土条件下测定纯碳酸氢铵的回收率(用0.100克 $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ 放置瓶底容器中任其挥发,七天后挥发完毕,测定所吸收的氨量)以及在土培条件下测定施入土壤碳酸氢铵后的挥发率(用0.400克 $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ 撒施土表,在室内放置三天后测定自土体挥发的氨量)。硼酸吸氨方法采用25毫升2%硼酸溶液盛于小烧杯中,悬挂在试验装置内的上部进行吸收,待试验结束,根据滴定硼酸所消耗的标准酸量计算吸氨量。这个方法的特点是整个装置处在密闭条件下,而甘油磷酸一泡沫塑料吸氨方法则装置内部能通过泡沫塑料孔隙与大气相通。

表3 二种方法吸氨效率比较

方 法	氨回收率*(%) (无土壤条件下)		氨挥发率** (%) (土 培 条 件 下)	
	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	C.V	$\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$	C.V
在密闭装置中,用2%硼酸吸氨	$98.9 \pm 0.2$	0.4	$4.5 \pm 1.0$	22.9
在通气装置中,用甘油磷酸一泡沫塑料吸氨	$98.6 \pm 0.1$	0.2	$18.2 \pm 0.6$	3.3

\* 4次重复,试验期间温度 $7.5^{\circ}\text{C}$ — $9^{\circ}\text{C}$ ,

\*\* 4次重复,石灰性土(江苏响水)含水量15.6%,试验期间温度 $25^{\circ}\text{C}$ — $28^{\circ}\text{C}$ 。

表3结果表明,在无土壤条件下二种吸氨方法同样都获得了较高的氨回收率,试验误差也较小。但是在土培条件下测得的氨挥发率差异却很大,用硼酸吸氨方法的变异系数甚至高达22.9%。在这项试验的后期,我们曾发现该处理的土壤表面局部生长有白色霉菌。可能密闭容器容易造成高湿条件,在温度适宜时有利于某些嫌气性微生物滋生。这里氨挥发率结果显著偏低、精密度差,显然是微生物消耗了部分氮素所造成。可见,在密闭的土培条件下,用这种方法测定气态氨,有时会得到不可靠的结果。采用甘油磷酸一泡沫塑料吸氨的方法,不仅装置本身处在通气条件下,而且在根据需要在需要每隔一天或数天更换泡沫塑料圆片(吸收载体)的同时,进一步改善了装置内的通气状况。另外,在吸收剂中加入适量的甘油,在一定程度上也具有吸湿作用。我们在长期试用本法的过程中,一般在3—7天内更换一次泡沫塑料圆片,尚未发现过土表生长霉菌现象。

### 四、方法应用举例

#### (一)不同土壤上施用硫酸铵后氨挥发的比较

供试土壤为石灰性土(宁夏省中卫县), $\text{pH}8.1$ ;微酸性土(江苏省无锡县), $\text{pH}6.7$ 。采用上述的实验室步骤在温室淹水条件下进行。试验肥料用量0.36克,溶于水后施入。施肥7天后进行测定。结果表明(表4)石灰性土壤在供试条件下氨挥发率为7.2%;微酸性土氨的挥发很少,仅0.6%。

表4 硫酸铵在石灰性土和微酸性土中氨挥发的比较\*

土 壤	氨 挥 发 率 (%)	
	重 覆 测 定 值	平均值( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ )
石 灰 性 土	7.2	$7.2 \pm 0.1$
	7.1	
	7.3	
微 酸 性 土	0.6	$0.6 \pm 0.1$
	0.5	
	0.7	

注:试验期间温度为 $11^{\circ}\text{C}$ — $28^{\circ}\text{C}$

\* 根据贾义同志测得结果

#### (二)尿素表施和深施对氨挥发的影响

供试土壤为石灰性浅色草甸土(安徽省砀山县), $\text{pH}9.0$ 。在温室中选用3公斤装盆钵,模拟旱地和水田(不栽作物、两组进行。供试肥料为细粒尿素,以每亩21公斤计,每个处理施用0.25克,由土表撒施和深施5厘米两种方法施入,4次重复。整个试验周期为20天,每隔10天取样测定,共测2次,结果列于表5。

表5 石灰性土表施和深施尿素氨的挥发

处 理	氨 挥 发 率 (%)			
	施后10天	施后10—20天	20天累计	
旱 地	撒 施	$73.5 \pm 1.1$	$5.3 \pm 0.0$	78.8
	深 施	$3.9 \pm 0.6$	$7.6 \pm 0.4$	11.5
水 田	撒 施	$19.1 \pm 0.6$	$18.6 \pm 0.5$	37.7
	深 施	$13.5 \pm 1.4$	$15.9 \pm 0.7$	29.4

注:1. 试验期间温度为 $6^{\circ}\text{C}$ — $25^{\circ}\text{C}$

2. 旱地含水量13.2%

从表5可看出,旱地表施处理在施肥后的前10天氨挥发率达73.5%,后10天显著下降,仅5.3%,20天的累积量为78.8%。而旱地深施处理前10天的挥发率只

有3.9%,后10天为7.6%,20天的累积量为11.5%。两者相比,旱地深施氮挥发量仅为表施的1/7左右。同样,水田深施的氮挥发率也比水田表施小,但没有旱地的结果那样悬殊,两者20天的累积量相差8.3%(达到统计上显著,  $P < 0.05$ )。

这项试验证实了尿素深施同样可减少氮的挥发,而旱地的效果尤为显著。

## 五、几点说明

(1) 应用本方法,一人操作,测样批量30个左右。为了避免空气中氮污染所造成的误差,蒸馏前的操作步骤一般应在当天完成。

(2) 本方法中供吸收氨气用的泡沫塑料圆片最大

吸氨量为120毫克(根据测定磷酸甘油溶液浸泡前后磷酸浓度的变化计算)。在实测中也证实120毫克氨可完全被泡沫塑料圆片所吸收。由于泡沫塑料圆片吸附磷酸甘油溶液量不是准确控制的,因此实际应用时,泡沫塑料圆片的最大吸氨量似以不超过100毫克为好。

(3) 提高本方法的精密密度首先是注意各处理重复间的操作应尽量做到一致,也可以适当增加重复次数或者选用体积大些的吸收装置进行。

## 参 考 文 献

[1] Hans NOMMIK, Plant and Soil, 39: 309-318, 1973.

[2] VENTURA, W.B and YOSHIDA, T., 46: 521-531, 1977.

## 国外学者访华报告

# 美国土壤分类和土壤调查研究情况\*

袁 嗣 良

美国第七次土壤分类草案中的分类系统共分六级,即土纲、亚纲、土类、亚类、土族和土系。这个分类系统的组别数、各单元的主要划分标准见表1。

土纲是土壤分类系统的最高级分类单元、全美共分为十个土纲。这十个土纲与联合国粮农教科文组织所编世界土壤图与非洲土壤图图例在土纲一级的异同,可见表2。

土纲是按成土过程来划分的,其具体划分标准见表3。

土纲的命名是用一个名词缩写的组成单元来表示的,其名称的组成单元及含意见表4。

亚纲是按土壤相近的发生性质来划分的。亚纲名称的组成单元及含意见表5。

亚纲的名称是由亚纲组成单元和土纲组成单元二者拼接起来的。

例如  $Udult = Ud + ult$

湿老成土 (湿润的水文状况) (老成土)

$Psamment = Psamm + ent$

砂新成土 (砂土质地) (新成土)

土类是按发生层种类的相似程度等来划分的。土类名称的组成单元及含意见表6。

土类的名称是由土类的组成单元和亚纲的组成单元二者拼接起来的。

例如  $Paleudult = Pale + ud$

古湿润老成土 (古老发育的) (湿润的水分状况)

$+ ult$

(老成土)

$Quartzipsamment = Quartzi + psamm$

石英砂质新成土 (高石英含量) (砂土质地)

$+ ent$

(新成土)

亚类为土类的中心概念组别。其名称是由所属土类名称用一个或更多的形容词加以修饰而组成的。

例如  $Typic Paleudult$  vs

典型 古湿润老成土 相对于

\* 本文系美国佛罗里达大学美籍土壤化学教授袁嗣良博士于1979年7月10日在中国科学院南京土壤研究所的学术报告之一。由陈鸿昭、曾志远两同志根据记录稿整理,整理稿未经本人审阅。