

# 澳大利亚树木微量营养元素的研究方法

迟 健

**摘要** 介绍了澳大利亚对树木微量营养元素的研究方法,包括:实验室和温室的条件;营养液的配制和纯化;试验材料(容器、沙和水)的选择;实验器皿的清洗;温室内管理措施;试验苗木的观察记载和养分分析;以及样品采集与处理方法等。

**关键词** 树木、微量元素、研究方法

树木养分研究及营养诊断方法,是实行科学造林、科学施肥的重要手段。我国至今在这方面,尤其在微量元素方面,研究相当薄弱。笔者1989~1990年作为高级访问学者,在澳大利亚Mordoch大学与Dell B博士合作,从事这方面的研究工作。涉及树种有蓝桉(*Eucalyptus globulus* Labill.)、巨桉(*E. grandis*)和变色桉(*E. diversicolor* F. Muell.)等;涉及的营养元素有N、P、K、Ca、Zn、Cu、Fe等;培育方法有沙培和水培。本文主要介绍用沙培法研究树木微量元素及其影响苗木生长的试验方法。

## 1 实验室和温室的一般条件

### 1.1 实验室和操作准备室

配制营养液的专用实验室,凡沙土、植物(极少量种子除外),及接触过上述物质的器皿均不得带入该室,以免引起污染。烘干土壤、植物烘样、磨样及分析等操作,需在其它实验室进行。使用过的器皿需严格清洗,才可送到实验室内。

操作准备室主要用来存放和处理一些易引起污染的物品,其中又可分为:(1)沙土、工具、花盆等的贮藏室;(2)清洗器皿的清洗室;(3)某些试验中消毒土壤的高压蒸汽灭菌室;(4)处理土壤或植物的普通实验室。

### 1.2 温室

必须是密闭的专用温室<sup>[1]</sup>,即玻璃嵌入有橡皮垫圈的铝合金框中,窗户不能开启,出入随手关门,以免尘埃污染。为避免阳光强烈照射造成室内过热,玻璃上涂灰白色半透明漆。此外温室外装冷风机,根据不同季节和天气情况,自动定时向里吹风,使室温控制在25~30℃。吹入的冷风需先经水箱滤去尘埃。温室内只允许放试验用盆栽(或水培)植物,并且只能浇水和滴注式施肥;凡筛土、喷药等易引起污染的操作,需在室外进行。

### 1.3 供水系统

不论沙培或水培均需大量用水,而且不合适的水会引起污染,影响试验正确性,因此要有专用供水系统,包括:(1)普通自来水,用于清洗花盆、大型工具等;(2)去离子水(DI),分别装在温室、试验准备室及专用实验室屋顶的大水箱中。水箱用不涂锌的铁皮制成,表面涂沥青。新水箱贮水6个月仅增加Zn  $2\sim 3\times 10^{-6}$ ;旧水箱贮水9个月仅增加Zn  $0.2\times 10^{-6}$ <sup>[1]</sup>。水箱表面

1994-03-28 收稿。

迟健副研究员(中国林业科学研究院亚热带林业研究所 浙江富阳 311400)。

也可涂合成树脂或聚乙烯塑料代替沥青。DI 水用未接触屋顶或地面的雨水,经离子交换树脂 Chelex100 或 CPG-oxine 处理而成<sup>[2,3,5]</sup>。供水管道用不加色素和增塑剂的聚乙烯管,水龙头也不能用金属龙头,而采用挤压式聚乙烯龙头;(3)两次去离子水(DDI),由 DI 水通过一个内装 6 cm 高 CPG-oxine(CPG-8-HQ)树脂柱的巴斯德氏管(两端用 Dacron 化纤棉塞住)而获得<sup>[4]</sup>。水流以极缓的速度(约 2 L/h)流入聚乙烯贮水桶中。

DI 水可用于冲洗器皿及直接用于大量元素(N、P、K)营养试验;但微量元素试验则需用 DDI 水(器皿的最后冲洗、配营养液、浸泡种子及灌溉用水)。普通蒸馏水价昂且往往有金属元素污染(含 Mo  $0.0001 \sim 0.0008 \times 10^{-6}$ ; Cu  $0.01 \sim 0.2 \times 10^{-6}$ ; Fe  $0.004 \sim 0.006 \times 10^{-6}$ ; B  $0.03 \times 10^{-6}$ ),因此在微量元素试验中已废弃不用。

#### 1.4 清洗系统

清洗室内放 4 只加盖塑料大水槽,并装有 DI 水龙头。A、B、C、D 水槽中分别存放有不含营养元素的洗涤剂,EDTA(四乙基乙烯胺,一种离子交换剂)溶液,0.5%稀硝酸和 1%稀盐酸。对大多数微量元素试验,清洗玻璃或塑料器皿时顺次在 A、B、C 溶液中各浸泡 12 h,从一种溶液中取出后用 DI 水冲洗 3 次,再放入另一溶液;金属器具只需在 A、B 溶液中而不必在酸液中浸泡,以免腐蚀。做硼的试验则仅在 A、B、D 溶液中浸泡。所有用于微量元素试验的器皿最后用 DDI 水冲洗 3 次,干燥后待用。上述清洗液每月更换一次。值得注意的是:一些难洗净及廉价物品,如:滴管、无刻度吸管、细玻管、塑料袋、盛过药品的塑料表面皿等只能使用一次,不必清洗。

#### 1.5 通气及冷藏系统

用空气压缩机将空气通过一个除尘装置,打入贮气罐中备用。这种空气用于蒸发掉营养液中的有机溶剂及种子催芽。

冷藏系统主要是冷库,贮备挥发性溶剂、危险品及防止配好的营养液在贮藏过程中变质;体积小易变质药品及种子等则放在冰箱中。

#### 1.6 玻璃器皿

一律用硬质玻璃(Pyrex)器皿,或聚乙烯器皿,因普通玻璃含 K、Na 等元素。但硬质玻璃含微量硼<sup>[1]</sup>,所以做硼的试验要用聚乙烯器皿。

## 2 营养液配制

早期营养试验主要或全部用固态营养物,一次或分次放在沙土表面。其缺点是开始时浓度过大易造成伤害;后期可能浓度太低而产生养分亏缺。因此,现在一般代之以营养液,固体营养物仅用于研究某化合物可溶性、有效性等特殊试验。

### 2.1 配方

澳大利亚常规营养液配方如表 1,适用于拉萨岭(Lancelin)沙<sup>[6]</sup>。这是完全营养液,如做某元素缺素试验,则从配方中去掉含该元素药品。如做某元素不同含量对植物生长影响试验,则将含该元素药品配成几种浓度等级。此外,水培中如用氨态氮化物,每升水中可加 2 g CaCO<sub>3</sub> 消除铵的毒性;沙培时每 10 kg 沙加 30~50 g CaCO<sub>3</sub>。为防止 CaCO<sub>3</sub> 引起缺铁症,可加磷酸三钙作缓冲剂,或直接以固态磷酸三钙代替 CaCO<sub>3</sub><sup>[1]</sup>。

表 1 澳大利亚常规营养液配方

	药 品	g/L	mg/	
			3 kg 盆	3 kg 盆
大量元素	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	104.0	5	520
	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	102.8	5	514
	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	114.4	2.5	286 <sup>①</sup>
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	54.4	5	272
	MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	14.6	5	73
微量元素	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	0.5	5	2.5
	ZnSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	6.0	5	30
	CoCl <sub>2</sub>	0.2	5	1.0
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.24	5	1.2
	MnCl <sub>2</sub> · 4H <sub>2</sub> O	4.54	5	22.7
	CuSO <sub>4</sub> · 5H <sub>2</sub> O	4.6	5	23.0

①一次量,共用3次。

营养液共加 Dithizone 3 次,氯仿 9 次,放掉沉淀物 12 次。最后将澄清液倒入三角瓶中,通入清洁加压空气过夜,蒸发掉残余氯仿,瓶口盖 Dacron 人造纤维防尘(不用含营养元素的脱脂棉)。各营养液用 DDI 以分别补足到 1 000 mL,分别装入聚乙烯瓶中,遮光冷藏备用(K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 液除外,因低温易结晶,需常温保存)。Dithizone 在 pH 值大于 7 时还可去掉 Fe 和 Ni,但纯化后再调整 pH 值,使之适合植物生长。此外,8-Hydroxyquinoline(oxine)0.1 M 氯仿液在 pH4.9~9.5 时可去掉 Ni;5.5 时去掉 Zn 和 Cu;7~12 时去 Fe;9.0 时去掉 Mn<sup>[7]</sup>。6 种含微量元素的化学药品不必提纯,可分别溶解后混合,添 DDI 水至 1 000 mL,在小口塑料瓶中冷藏保存。

### 3 沙培法

#### 3.1 沙及其处理

最好用高纯度石英沙(含 SiO<sub>2</sub> 不少于 99.7%),分别经清水、DI 水和 DDI 水多次冲洗<sup>[1]</sup>。河沙先洗去泥土等杂质,过筛,然后用 18%~20% 重蒸馏的盐酸煮,去掉 Ca 等杂质;加 1% 草酸去 Fe;加 Permal BX(一种洗涤剂)去掉多种微量元素;热水冲洗去 B。也可用 3%~5% 稀盐酸冷浸 5 d<sup>[1]</sup>。最后用 DI 水和 DDI 水反复冲洗。也有用 1~2 mm 聚乙烯颗粒代替沙,其优点是不会引起污染,但吸水性差,需经常浇水,否则树苗生长不好。

澳大利亚的特殊情况是:大部分地区地质年代古老,沙土中养分含量流失殆尽,故用西澳洲拉萨岭(Lancelin)的沙土作沙培材料,经清洁塑料纱筛子过筛,在清洁聚乙烯薄膜上用清洁不锈钢铲将沙拌匀后备用。小盆浅层(不超过 20 cm 高)容器宜采用 0.5~1.0 mm 颗粒粗砂(通过 35~18 目筛);大盆深层容器为防表层干燥,宜用 0.2~0.7 mm 细纱(通过 80~30 目筛),或下层先铺小卵石,再复细沙<sup>[1]</sup>。

#### 3.2 沙培用盆

通常采用黑色塑料花盆(非再生利用的聚乙烯加碳粉填料,不加增塑料),常用规格为底部无排水孔、容积 2 L 的花盆,能装沙 3 kg,可观察树苗 3~6 个月<sup>[8]</sup>。经 DI 水冲洗过的塑料盆内衬大小配套的新聚乙烯袋(一次性),袋内装 3 kg 风干沙。其它形式的容器从略。

#### 3.3 施基肥

播种前用手枪式注液器施肥。注射器内有一只塑料套管,管一端有聚乙烯海绵塞,以防污

### 2.2 药品的纯化

高度分析纯(BDH 或 AR 级)药品配制的营养液,如用于大量元素试验,可直接使用;但用于微量元素试验时,对含大量元素的 5 种化学药品要分别提纯去杂(所含的微量元素),方法是:每升 DDI 水营养液先用 0.1 M HCl 或 NaOH 溶液调整到某一 pH 值,然后加离子交换剂去杂。Mn、Cu 或 Zn 在 pH7.0 时,每升每次加 0.1% Dithizone (H<sub>2</sub>D<sub>2</sub>) 氯仿溶液 1 mL<sup>[6]</sup>,在加塞子的分液漏斗中振荡 1 min,静置 30 min 后放掉紫红色沉淀,然后加氯仿 3 次,每次 5 mL,振荡静置后放掉沉淀物。每种

染注射器内部。每更换一次营养液即更换套管。将5种大量元素营养液及微量元素混合液按规定的毫升数,依次注到沙土表面(每种溶液分注5~6个点),注射枪口不可与沙接触。施过肥的盆上盖清洁牛皮纸防尘,在温室中自然干燥一周,然后将每盆沙土分别倒入带盖清洁塑料桶中,旋转式振荡60次,使营养成份与沙土均匀混合,再倒回原盆的塑料袋中。如果每盆沙土的营养成份不一样,要随时更换振荡用桶,防止产生交叉污染。

### 3.4 播种

种子在小三角瓶中加入DDI水浸没,瓶口盖Dacron人造棉,用带滴管的橡皮管通入清洁加压空气催芽,种子露白后播种。

播种前往风干沙中加水湿润。由于花盆无排水孔,水过多会烂根,过少将造成干旱,所以每次浇水都要精确达到沙土最大田间持水量的80%。为此应预先计算风干沙土的最大田间持水量,并在盆上标上盆+沙+水的总重量。

播种用清洁玻棒在每盆沙土上分别戳4个孔,深0.5cm左右。用清洁塑料镊子夹1粒露白种子于孔中,用玻棒拨沙盖上小孔。为避免污染,每播完一个处理用DDI水冲洗玻棒,或一次多备几支玻棒轮换使用。

### 3.5 播种后的管理

浇水用容量1~2L的有盖广口聚乙烯瓶,盖上有许多小孔,浇水时将瓶倒置挤压瓶壁,水即从小孔流出,用挤压次数控制浇水量。在播种初期,每次浇水后要保持各盆总重量与第一次加水的总重量一致;但苗高超过10cm后,总重量不断变化,故浇水时不必再称重,凭经验浇水即可。浇水间隔期视天气及苗木大小而异,小苗在夏季早、晚各浇1次,春秋每天1次;大苗每隔1~2d1次,但每次浇水量需大些。

如试验期为3~4个月(指在澳大利亚针对桉树),大部分养分均一次给足;但氮肥肥效短,所以播后第3和第6周各追肥1次,用量与播种时同。

如发现病虫害,可将放置花盆的木质平台(带轮子)推至温室外喷药防治,所施农药不应对应试验有干扰,如:做磷的缺素试验不能用含磷农药;做氮的缺素试验不用含氮农药。

播种后每盆如苗木较多时需间苗,第1次间苗在苗高10cm左右,每盆留2株;第2次在苗高20cm左右,留1株。

## 4 试验植株的观测内容和分析方法

### 4.1 缺素症状的观察

将苗木上出现的异样症状记录下来,如:叶变小、变色、坏死、出现斑点、扭曲,植株矮小、畸形,生长点坏死等。并拍摄彩色照片为辅证。注意别将病虫害症状与缺素症状相混淆。

### 4.2 高生长和叶宽测定

播种后3~4个月,将各处理、各重复的苗木分别测高,并选树冠中部一轮枝,测量各枝上充分成长叶片的最宽处宽度,最后计算各处理的平均苗高和平均叶宽,找出某营养元素针对某树种的最适浓度。上述数据为合理施肥和营养诊断提供重要依据。我们发现土壤含锌量0.2ppm对蓝桉苗生长最合适。但要注意:苗期数据不完全适用于成年树木,养分需求量会随年龄而变化,要了解大龄树木养分需求,需用大型容器做试验。

### 4.3 叶样的采集、处理及生物量测定

测量苗高及叶宽后,每处理选1株生长中等的代表株,在树冠不同部位(顶梢2轮枝上的叶不用)随机采充分成长叶50片,作为分析样品。采叶不用剪刀,应戴上清洁塑料手套用手采摘。叶样烘干、磨碎后作养分分析,其数据是营养诊断的重要依据。此外进行各代表株的地上、地下部分生物量测定。

### 参 考 文 献

- 1 Hewitt E J. Sand and water culture methods (Ed. 2). East Malling England; Common. Bureau of Hort. and Plantation Crops, 1966. 434~453.
- 2 Moore C H. An examination of the polymerization behavior of *Jasus lalandii* haemocyanin and its relation to the allosteric binding of oxygen. *Biochemistry (Australia)*, 1968, 7: 4075.
- 3 Eskew D L. A simple plant nutrient solution purification method for effective removal of trace metals using controlled pore glass-8-Hydroxyquinoline chelation column chromatography. *Plant Physiol. (Australia)*, 1984, 76: 103~105.
- 4 Samamuelson O. Ion exchange separations in analytical chemistry (Ed. 2), New York; Wiley, 1963.
- 5 Shaltiel S. Chelex TM100 chelating ion exchange resin for analysis removal or recovery of trace metals. *BIO-RAD Laboratories Bulletin*, 1983, 2020.
- 6 Review C R C. The analytical applications of Dithizone. *Biochemistry (Aust.)*, 1983, (68): 4419.
- 7 Stary S (Ed.). The solvent extraction of metal chelates. Perth; M D University Press, 1964.
- 8 Wallace I M, Dell B, Loneraga J F. Zinc nutrition of Jarrah (*Eucalyptus marginata*). *Aust. J. Bot.*, 1986, 34: 41~51.
- 9 Walsh L O, Beaton J D. Soil testing and plant analysis. Published by Soil Science Soc. of America, 1973.

## Introduction of Research Method on Tree's Nutrition of Trace Elements in Australia

*Chi Jian*

**Abstract** This is an introduction of the research method on the nutrition of trace elements and the effect on the growth of trees mainly for sand culture, including: the requirements of laboratory and green house; compounding and purification of nutritive fluids; the selection of experimental materials—container for seedling, sand and water; the washing of the experimental utensils; fertilization, sowing, watering and other managements of the green house; and the observation, recording; sample collecting and treatment and nutrient analysis of the tested seedlings.

**Key words** tree, trace element, research method