

放射性同位素 P^{32} 在农作物和土壤研究中的試驗方法

黄有馨 高恒广 王正芳 袁一琴 郑维认

(中国农业科学院江苏分院)

在农业科学研究中放射性同位素大多是作为研究工作的手段来利用的,因此应用的方法和技术对于取得正确的科学成果特别重要。本文根据我們几年来工作中的初步經驗,并参考一些国内外有关資料,对放射性同位素 P^{32} 在农作物和土壤研究中的一些最基本的試驗方法作了比較系統的总结。

一、盆栽試驗中放射性同位素 P^{32} 的标志方法

1. 放射性同位素 P^{32} 用量的計算^[1,2]

根据中国农业科学院原子能研究所建議的五个試驗設計原則和我們几年来应用放射性同位素 P^{32} 进行盆栽試驗的經驗,我們认为,以水稻为指示作物,在盆钵規格为直径 20 厘米、高 25 厘米、装土 6 公斤的情况下,同位素 P^{32} 的用量应按下列情况确定:

1. 水稻品种: 中稻,整个生育期約 120 天;
2. 采样測定的延續期限約 6 个半衰期,若最后一次采样測定在水稻抽穗期,則同位素衰变的校正为 $\frac{1}{2^6} = \frac{1}{64}$;
3. 作物对 P^{32} 的吸收利用率以土壤含磷量最高的土壤为代表,約 20% 左右;
4. 定标器計数裝置的計数效率为 5% 左右(用标准源測量);
5. 最后一次采样每盆干物重以 100 克計算,每次取 100 毫克磨碎干样,鋪样測量,則作物稀释为 $\frac{1}{1000}$;
6. 本底測量結果为 13 脉冲/分;
7. 要求最后一次測量时样品的計数率(脉冲/分)高于本底 2 倍,約为 40 脉冲/分。

如 x 代表試驗开始时 P^{32} 的放射性总強度的微居里数,則可用下述方程式求得:

$$x \left[2220000 \times \frac{1}{1000} \times \frac{20}{100} \times \frac{1}{64} \times \frac{5}{100} \right] = 40, x = 115 \text{ 微居里.}$$

(1 微居里 = 2220000 脉冲/分)。

根据上述計算設計的 1963 年利用放射性同位素 P^{32} 測定土壤有效磷("A"值)的最后一次采样測定結果^[8]列于表 1。

表 1 1963 年最后一次采样植株放射性測量結果

土 壤 項 目	施入磷肥的总放射性強度, 微居里/盆	从施用到采样所經歷的时间, 天	植株干重, 克/盆	磷肥利用率, %	計数裝置的效率, %	本底, 脉冲/分	100 毫克植株样品的淨計数率, 脉冲/分
黄 泥 土	100	84	164.5	21.10	5.5	13	28
板 浆 白 土	100	84	56.8	27.24	5.5	13	104
石灰性冲积土	100	84	42.3	16.63	5.5	13	81
漚 田 土	100	84	135.0	47.78	5.5	13	74

由表1的数据可以看出,黄泥土上植株生长最旺,作物稀释倍数最高,在肥料利用率为21.10%、计数装置的计数效率为5.5%、本底为13脉冲/分、延续时间为84天的条件下,施用100微居里/盆放射性同位素 P^{32} 标记的磷肥,最后100毫克的植株样品放射性强度为28脉冲/分,仍为本底2倍多。其他几种土壤上植株样品的放射性强度,则还要高些。

由此可见,每盆施用总强度为100—120微居里的放射性同位素 P^{32} 是比较适合的。如果计数装置的计数效率还要高,则同位素用量还可以降低。两年来的试验表明,无论施用载体还是不施用载体,均未发现对水稻生长有辐射效应。

2. 肥料(过磷酸钙)的标记

肥料的标记必须根据试验目的,对磷肥用量、标志后磷肥的比度及源液的比放射性度作精密的计算以后进行。

(1) 固体标记 具体标记步骤如下:

(i) 将粉状过磷酸钙置于80℃的恒温箱中烘干后,放于干燥器中冷却,然后称出试验所需的量(包括见证样品),放在培养皿或大的蒸发皿中;

(ii) 根据标记肥料的比放射性要求(0.2—0.4毫居里/克 P_2O_5)和100克过磷酸钙加15—20毫升放射性源液的要求,配好相应比放射性的放射性源液;

(iii) 在通风橱内用自动移液管吸取配好的一定体积的 P^{32} 源液,慢慢滴入蒸发皿(或培养皿)中的过磷酸钙上,使过磷酸钙全部湿润,用玻棒搅匀;

(iv) 将蒸发皿(或培养皿)置于垫纸的小托盘上,放入80℃的恒温箱中烘干,并不时搅拌,以防止结块。烘干后,再放入干燥器中冷却;

(v) 将烘干的过磷酸钙移入研钵中于手套箱中磨碎;

(vi) 根据每盆所用的过磷酸钙量和试验的总盆数,称取一定量的过磷酸钙,封存于预先准备好的玻璃纸袋中,放入干燥器中备用。同时称出肥料分析用的见证样品,置于三角瓶中。

(2) 肥料的液体标记 将粉状的过磷酸钙溶解于水,并稀释至适当浓度,分析溶液的含磷量,然后根据每盆所需施入磷肥的量吸取一定体积的过磷酸钙溶液于100毫升的三角瓶中;再根据每盆所用的放射性强度的大小吸取一定体积的 P^{32} 源液加入三角瓶中,摇匀后备用。若用于土壤,则在溶液加入后,用定量的水洗滌三角瓶正好使土壤呈湿润状态。

从以上两种肥料标记方法的比较来看,固体标记方法由于强度高,又是放射性粉末,且操作步序又多,在标记时和施用时必须特别注意安全防护;而液体标记的操作方便,又比较安全,因此我们认为,除了要比磷肥品种或者研究过磷酸钙肥效的试验外,一般的试验(如研究植物的根系活动、测定土壤有效磷“A”值等)均可采用液体标记法。在土壤有效磷“A”值测定试验中,1963年使用液体标记的过磷酸钙作“标准”和1962年使用固体标记的过磷酸钙作“标准”,在相同土壤上得到的结果还是比较接近的^[8](表2)。

表2 不同的肥料标记方法两年测得的“A”值(毫克P/公斤风干土)

土壤	生育期 年份*	分 蘖 期 “A” 值		孕 穗 期 “A” 值	
		1962 年	1963 年	1962 年	1963 年
马 肝 土		209	260	—	—
板 浆 白 土		38	26	21	25

* 1962年用固体标志法,1963年用液体标志法。

(3) 土壤磷素的标记 在有些研究中不需加或不宜加大量磷素,例如研究植物根系在土

壤中的活动情况、土壤有效磷“ x ”值测定等,則可将放射同位素 P^{32} 的原始溶液直接施入土壤中进行示踪。一般标记均采用示踪磷与土壤均匀混合的方法。由于所用的土壤量大而标记物的用量很少,因此应特别注意使两者均匀混合,才能保证以后試驗结果的可靠性。細碎的土壤在拌土时容易揚起尘土,影响安全。为克服这一困难,工作中可采用湿润土壤的标记方法,拌和时使土壤呈湿润状态,严格控制加入的水量,但絕不能过湿。特别是旱作栽培試驗,土壤的含水程度以达到不起尘土,捏起可以成团,落下又能散开为宜。在标记进行以前,可用一定量的土壤定量加水法粗测一下水分用量,然后根据土壤用量按比例推算水的用量。砂性土壤和粘性土壤用水量相差很大,必須先經試驗估测。在这样的湿润土中,标记物可以均匀分布在全部土壤中。具体的标记方法如下:

(i) 按照上述方法算出的每盆土壤湿润时所需的水量,将大部水倒入一个大三角瓶中。在通风橱中用自动吸量管吸取一定体积的 P^{32} 源液(根据試驗設計要求的强度和 P^{32} 源液的比放射性决定),移入盛有水的三角瓶内,搖混均匀;

(ii) 将此放射性稀释源液在手套箱内慢慢加入盛于大搪瓷盆中的試驗土壤上,用戴上厚橡皮手套的手,輕輕拌和盆中土壤;

(iii) 最后用剩余的水洗滌三角瓶三次,也加于土壤中。用手充分均匀混合,使土壤全部湿润均匀为止;

(iv) 将拌和好的土壤小心移入盆鉢,为了防止万一有土壤撒于地面而造成污染,装盆时可在盆下垫一塑料布或橡皮布;

(v) 标记土壤装入盆鉢以后,随即盖好,以防止水分蒸发。放置平衡一天,然后进行灌水种植。

以上是一般采用的方法,在工作中感到缺点很多,特别是处理多、重复多的时候,工作量大、費時間,且工作人員接触放射性的時間較长,不利于安全卫生,急待改进。

二、放射性植株样品的采集制备及分析方法

1. 植株样品的采样与制备

根据試驗的設計与要求,在作物的不同发育阶段分期采样,每次每个处理至少采三次重复样品,进行分析和测定,其方法如下:

(1) 事先准备好采样用具,注意穿戴必要的个人防护衣具,并将要采的重复样品依处理的順序編制排号,写好标签;

(2) 依排号順序連根拔起水稻植株,用自来水冲洗后,立即掛上标签;

(3) 根据試驗要求进行考苗并剪去其地下部分,需要分部位的立即分部位;

(4) 将植株样品依次置于托盘上,在 80°C 的恆温箱中烘干后,放在干燥器中冷却称重;

(5) 于手套箱中剪碎样品;如植株量大可将剪碎样品混合均匀后以 4 分或 8 分取样法取出适宜的数量磨碎,盛于貼有标签的磨口广口瓶中。样品用研钵或磨碎机在手套箱中磨碎,并按样品的放射性强度从小到大的順序进行。同时,間隔研磨非放射性样品。每一样品磨完后,用酒精清洗其用具,消除放射性样品間的相互影响;

(6) 将盛磨碎样品的广口瓶敞口置于 80°C 的恆温箱中烘一小时后,加盖冷却备用。

2. 植株放射性測量样品的制备

測量样品的制备是試驗中最后一道工序,关系到以后放射性測量的准确性。影响制样質

量的主要因素有称量的精确度、铺样的几何条件(即均匀平整度)和样品的用量,特别是在样品放射性较低用量较大时更为重要。由于样品自吸收的作用对测量结果关系很大,同时还需要注意工作人员的安全卫生,因此我们在这方面对常用的方法作了一些改进。为决定样品的合理用量,必须在制样测定前作出样品厚度对计数率的关系曲线,取其曲线上样品厚度与计数率成直线的部分,选用样品量。具体制样方法如下:

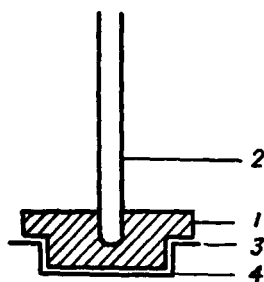


图1 模具示意图
1—模具主体; 2—玻璃把柄; 3—铝碟;
4—样品。

(1) 铺样方法 一般的铺制植株放射性样品的方法是将磨碎后的植株干样称取 100 毫克置于铝碟中用骨勺铺平。这种铺样方法比较慢,且不可能使样品表面均匀平整。最近改用有机玻璃平板做成的面积与铝碟底面积相近的模具(图1)来铺平植株样品,这比骨勺铺样来得快,同时可以使样品铺得比较均匀,表面比较平整且压得比较紧实,相对地减少了由于铺样的几何条件的差异所引起的误差。用这种方法铺样,样品的计数率比前者稍低(表3)。

由表3看出,用模具铺样的计数率比骨勺铺样要稍低一些,在样品计数率不高(最高为 28 脉冲/分)的情况下,两者之差为 1.9—4.6 脉冲/分。这可能是由于铺样比较平整、比较紧实、几何条件不同所引起的。模具铺样法具有容易获得紧实、平整一致的测量样品,和铺样速度比较快等优点,因而认为应用模具铺样比较好。

表3 骨勺铺样和模具铺样测量结果的比较

样品重量,毫克	60	100	120	140
骨勺铺样计数率,脉冲/分	21	27.2	28	28.1
模具铺样计数率,脉冲/分	18.9	22.9	23.4	26.2
两者计数率差,脉冲/分	2.2	4.3	4.6	1.9

(2) 定量铺样与不定量铺样 定量铺样是在分析天平上称取一定量的植株样品置于底面积为 2.55 厘米²的有机玻璃碟或铝碟中,用上述模具在手套箱中铺平封固后,测定放射性强度。

不定量铺样法是取用样品厚度与计数率曲线上成直线部分的样品重量,水稻样品可取用 70—110 毫克(铝碟面积为 2.55 厘米²)进行铺样,然后准确定量,进行放射性测量。其具体步骤如下:

(i) 将铝碟编号称重;

(ii) 称取两个非放射性样品,其重量在样品厚度与计数率成直线的范围内,作为对照。用骨勺或定量取样法取出和对照数量接近的植株样品置于已经称重的铝碟中,用模具铺压平整,放入干燥器内。铺样在手套箱中进行;

表4 定量法与不定量法测量的结果

项目	处理 样品重,毫克	不定量法				定量法			
		99.5	95.7	98.4	93.5	100	100	100	100
样品计数率,脉冲/分		102.3	98.6	93.5	90.6	97.7	90.2	100.0	94.0
100毫克样品计数率,脉冲/分		102.8	103.0	95.0	97.0	97.7	90.2*	100.0	94.4
各处理 100 毫克植株样品计数率的平均数,脉冲/分		99.5				97.4			
处理间计数率差		2.1							

* 计数率超出了该处理平均数的5%,故未参与计算。

(iii) 將鋪好的样品在分析天平上准确称重,若样品重量与对照相差太大,应重新称样,一般不会相差过大;

(iv) 在計数装置上測定放射性强度,然后换算成 100 毫克植株样品的放射性强度。

根据試驗結果(表 4)得知,两者有同样的准确性。不定量鋪样或者更好些,虽然它多了一道换算手續,但在有计算机工具的条件下,这一简单的計算所花的时间是有限的。其更重要的优点是在称量上比較准确,称样鋪样的时间大为縮短,可以完全避免在分析天平中由于增減干燥粉末的放射性样品而造成的污染,对工作人员的安全卫生大有裨益。

(3) 沉淀制样法^[4] 应用放射性同位素 P^{32} 的植物試驗中,由于 P^{32} 的 β 射綫对植物能产生輻射效应,因此同位素用量和其标记物的比放射性必須在植物的允許剂量范围内。同时 P^{32} 的半衰期比較短(14.3 天),有些試驗要延續的时间往往很长,在这种情况下,样品的放射性强度就弱了,用一般的計数装置不能精确測量。因此,可将大量植物样品浓缩后制样来提高測量样品的放射性强度,縮短測量时间,提高准确度。沉淀法則是达到这一目的的方法之一。制样方法的步驟如下:

(i) 称取一定量的植株干样,用过氯酸湿灰化法消化;

(ii) 消化后的样品用水溶提,按彼坚布爾斯基^[10] 的过磷酸鈣水溶性磷的測定方法,使样品中的磷素呈 $NH_4MgPO_4 \cdot 6H_2O$ 的形式沉淀;

(iii) 将沉淀液通过玻璃或不銹鋼質的特制漏斗(其直径与植株样品測量时所用的鉛碟直径相同)(图 2),抽气过滤;

(iv) 将沉淀連同滤紙移至預先准备好的有机玻璃片上,于室温下干燥后測定其放射性强度。

若沉淀样品需与植株样品的測量結果相比較,則应保持几何位置完全相同。

在制样过程中发现抽滤制样的质量与載体的多少有关,因此曾进行了一些对比試驗。結果表明,在沉淀漏斗的内径为 1.8 厘米时沉淀样品含 P_2O_5 量約为 15 毫克左右为宜。沉淀物过多,則厚度太大且不易均匀平整;沉淀物过少,不能鋪滿滤紙,則測量誤差就大。

在沉淀法試驗中,曾对不同强度的放射性植株样品用植株鋪样法和沉淀制样法在相同的条件下进行測量,并比較其結果(表 5)。

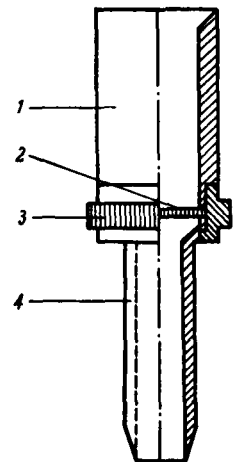


图 2 特制漏斗示意图
1——上斗; 2——滤片;
3——套圈; 4——漏斗。

表 5 用鋪样法与沉淀法制样測得的不同放射性强度样品的計数率

制样方法 \ 样品编号	1	2	3	4
沉淀法, 0.5 克样品的計数率, 脉冲/分	48.0	53.0	64.0	46.3
鋪样法, 100 毫克样品的計数率, 脉冲/分	6.2	6.2	9.0	6.4
鋪样法, 0.5 克样品的計数率*, 脉冲/分	31.0	31.0	45.0	32.0
沉淀計数率/鋪样法計数率	1.55	1.71	1.42	1.44

* 由 100 毫克样品鋪样測量的計数率乘 5 而得。

由表 5 数据可以看出,用沉淀法制备强度低的放射性植株样品,可以提高測量样品的放射性强度,縮短測量时间,提高測量的准确度。表 5 中沉淀法与鋪样法的各計数率的比值基本上是接近的,这是由于所用的植物样品的放射性强度比較低,測量誤差較大之故。如果采用强度較高的样品进行鋪样測定;而使其样品經過衰变,于强度較低时进行沉淀制样,再測量其放射性,将后者通过时间校正并与前者比較,可以获得比較理想的結果。因此,我們认为在試驗延

續期很长的情况下,可以預先用沉淀法和鋪样法作出一个校正值,然后对放射性強度低的样品采用沉淀制样法則比較适宜。

(4) 干灰化制样法 此法也是測量放射性強度低的植物样品的一种常用的方法,其制样步骤如下:

(i) 称取一定量磨碎的植株干样置于已知重量的坩堝中,先在通风橱中用普通电炉炭化;

(ii) 将炭化后的样品放入馬福炉中,保持 550℃ 的高温灰化 2—4 小时。温度不能太高或太低,太高了会使磷素損失,太低了則灰化不完全;

(iii) 使温度降低至 80℃ 左右时取出坩堝置于干燥器中冷却;

(iv) 在分析天平上称出灰分总量,从中称取 100 毫克置于鉛碟中,鋪平。在与植株鋪样法相同的条件下測定放射性強度。

此法手續比較麻煩,而放射性植株灰化操作又不太安全,因此我們認為,如果条件許可还是用沉淀法較好。

3. 植株样品的全磷分析

采用鉬黄比色法^[7]。有关全磷分析的問題可參看文献[7]。

4. 标记肥料的放射性和全磷分析

用原始标记肥料作成放射性样品,在同一試驗連續采样測定时每次均需同时測量肥料样品的放射性。植株样品中含的放射性磷量,由肥料的放射性、植株的放射性和肥料的全磷分析結果計算而得。这样可以避免由于不同时期采样的放射性測量結果時間校正或計数装置計数效率的改变而引起的誤差。制样的方法如下:

(1) 取盆栽試驗时称出的置于三角瓶中的过磷酸鈣見証样品两份;

(2) 加入 15 毫升 1N 的 HNO_3 ,将三角瓶用錐形玻璃球盖盖好,加热保持沸騰 15 分钟;

(3) 移下三角瓶,冷却后,将瓶中溶液滤入 100 毫升的容量瓶中,用热的 0.1N HNO_3 冲洗;

(4) 冷却后用蒸餾水稀释至刻度,搖混均匀;

(5) 吸取 0.2 毫升上述溶液(視溶液的放射性強度而定),滴入已經称好的置于鉛碟中的 100 毫克非放射性植株样品上。用細鉛絲小心拌勻,于紅外灯下烘干后鋪平。在与放射性植株样品相同的几何条件下,測量其放射性強度;

(6) 吸收一定体积的上述溶液(視溶液含磷量而定),于 100 毫升的容量瓶中,用鉬黄比色法分析其全磷含量。

三、放射性測量仪器的使用及样品的測量

仪器的使用对样品的測量和試驗結果的精确度有很大的影响,因此在样品測量之前,必須熟悉仪器的使用方法和进行必要的准备。

1. 定标器的使用規則

(1) 使用前要检查仪器所有导綫、电綫的插、接系統,接好地綫,电压必須通过稳压器輸入,以保証輸入电压稳定;

(2) 关好仪器所有开关,将高压調节旋扭逆时針方向轉至最低处,調节高压指針至“零”处;

- (3) 接通电源,打开电源开关,使仪器預热 5—10 分钟(視測定时的气温而定);
- (4) 打开計数开关,將轉換开关扳到校正的位置,檢驗氖灯是否依次发亮。同时开动停表,若机械計数器每分钟跳动 50 次,表明机械計数部分正常;將轉換开关扳到 64 进位或其他进位位置;
- (5) 接好計数管。必須注意不要將計数管的正、負极接錯;
- (6) 沿順时針方向(只能向一个方向)轉动高压調节旋鈕,慢慢地將高压調节到計数管的工作电压。待高压稳定 5 分钟后再进行本底測量,然后进行样品測量,仪器連續使用 4 小时,中間需休息 30 分钟;
- (7) 样品測量后,再測一次本底,然后降下高压至零点,关掉計数开关和电源开关,并按高压排斥按钮,拔掉电源插头,將仪器加罩,并在登記簿上登記。

2. 計数管的选择使用与保护^[3]

- (1) 每次試驗开始前应选定两个工作計数管,其中一个作为后备。选择的要求为:效率高,稳定度好,本底低;
- (2) 对于新計数管,使用前必須进行坪曲綫的測定(坪曲綫的測定方法参考中国科学院原子能研究所編的“同位素应用实验方法讲义”)。在相同的条件下,隔日連續測定两次,确定計数管的各个参数,檢驗其稳定性,并校正說明书上各参数的数值;
- (3) 計数管使用一段时间之后,須重新測定其坪曲綫,校正各个参数。有机管的坪长不得小于 150 伏特;坪斜不可大于 5%/100 伏,若不合要求,应更換計数管;
- (4) 对事先选好的两个計数管,应用相同的标准源和相同的几何位置測定其換算系数。而在同一試驗中最好是使用同一只計数管,万一发生故障时,再以另一只代替;
- (5) 避免用計数管測定放射性过强的样品,一般不超过 2000 脉冲/分。測坪曲綫时,严禁使計数管产生連續放电。測量完毕后应立即降下高压,以保証計数管有較长的寿命;
- (6) 备用計数管应保存于干燥器中。

3. 放射性样品的測量

- (1) 同一試驗中所有的放射性測量样品的几何位置都应严格一致。样品的中心应对准計数管的阳极。样品与計数管云母窗的垂直距离应大于其云母窗的直径(我們將样品置于計数管下 3 厘米处),以避免由于样品的垂直或水平位置的微小变动而引起較大的誤差。
- (2) 对于不同作物或同一作物的不同发育阶段的放射性样品,在測量前需作样品厚度与計数率的关系曲綫。而測量样品的重量应选择在该曲綫成直綫关系的范围内。
- (3) 每次样品測量之前,需用标准源校正計数管的計数效率,以保証样品都在計数装置工作正常、效率稳定的情况下进行測量。
- (4) 本底測量用相应的非放射性植株样品进行,測量开始和測量結束时各測一次本底。在样品測量过程中,每隔一段时间測本底一次。
- (5) 样品的測量时间視計数率的大小而定,一般用 $t = \frac{1}{n_s E^2}$ 公式計算測量时间,式中 n_s 为样品計数率; E 为測量的相对誤差; t 为測量时间。
- (6) 强度过大的放射性样品可放置一段时间,让其自行衰变,待强度适合时进行測量。一般放射性强度应小于 2000 脉冲/分。
- (7) 鋪好的測量样品未进行測量时,应置于干燥器中防止样品吸水,測量时按照样品的編

号顺序进行测定。但最好先测强度低的样品，然后测强度高的样品。每次测量都要用标准源测量计数装置的计数效率。

(8) 同一试验的所有样品应该用同一套计数装置在相同的几何条件下进行测量，若仪器发生故障，则可用事先经过校正的另一套计数装置代替。

四、放射性测量结果及数据处理

每次样品的测量结果应即时处理，作出阶段工作小结。

1. 放射性测量的误差估计^[3]

(1) 计数的标准误差用 $\pm\sqrt{N}$ 表示， N 为测量样品的总计数。

(2) 计数率的标准误差用 $\pm\frac{\sqrt{N}}{t} = \pm\sqrt{\frac{n}{t}}$ 表示，其中 n 为测量样品的计数率； t 为测量时间。

(3) 计数或计数率的相对误差用 $\pm\frac{\sqrt{N}}{N} = \pm\frac{1}{\sqrt{N}}$ 表示。

(4) 若对同一样品测定 m 次，当 m 不太大时，可用均方差表示测量结果的精确性，即用 $\pm\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^m (\bar{n} - n_i)^2}{m(m-1)}}$ 表示，其中 m 为总的测量次数； n_i 为第 i 次测量的计数率； \bar{n} 为 m 次测量的平均计数率。

2. 放射性测量结果的换算^[5,6]

(1) **源液放射性强度的计算** 在使用放射性源液的时候，不能完全依赖说明书上的数据，这些数据仅供参考。要准确得到源液的强度，必须通过对放射性源液的测量和含磷量的分析来确定单位体积源液的放射性强度和源液中单位重量的 P_2O_5 所对应的放射性强度。

(i) 吸取一定体积的通过一定时间衰变后的源液（或将源液稀释），滴在铺有滤纸的铝碟中，烘干测定放射性强度。在同样的情况下，用标准源测定放射性强度，通过换算和时间校正，求出原始溶液的比放射性。

例如：已知 a 次/分的标准源测得的计数率为 n_0 脉冲/分，由 0.1 毫升源液铺成的样品测得的，并通过校正的计数率为 n_1 脉冲/分，求 0.1 毫升源液的实际衰变数 y ，则

$$y = \frac{n_1 a}{n_0} \text{ (脉冲/分)}.$$

设 1 毫升源液的放射性强度为 x 脉冲/分，则

$$x = 10y = \frac{10an_1}{n_0} \text{ (脉冲/分} \cdot \text{毫升)} \text{ 或 } x = \frac{10an_1}{2220000n_0} \text{ (微居里/毫升)}.$$

(1 微居里 = 2220000 脉冲/分.)

(ii) 用比色法测定源液的含磷量，求得每毫升源液的 P_2O_5 的毫克数。

(iii) 由每毫升源液的放射性强度（脉冲/分或微居里数）和每毫升源液的 P_2O_5 的毫克数求得每毫克 P_2O_5 的脉冲/分或微居里数（脉冲/分 \cdot 毫克 P_2O_5 或微居里/毫克 P_2O_5 ）。

(2) **标记肥料的比放射性的计算** 根据使用源液的毫升数和标志肥料的克数，求出每克肥料的放射性强度，再根据肥料的全磷分析，将标志肥料换算成每克 P_2O_5 的放射性强度（脉

冲/分·克 P_2O_5 或微居里/克 P_2O_5 。

(3) 植物从肥料吸收的 P_2O_5 的計算 在測量植物样品放射性的同时,吸取 0.2 毫升由 0.5 克标记过磷酸鈣消化后并稀释至 100 毫升的肥料消化液(若用液体标记,直接用标志溶液)滴入鋁碟中已称好的和測量样品相同重量的非放射性植株样品上,制成标准样品,測量其放射性。肥料中的 P_2O_5 量为已知(由肥料的全磷分析得到)。根据向标准样品中加入肥料消化液的 P_2O_5 含量和測得的放射性强度,再由植物样品測得的放射性强度計算植株样品中从肥料吸收的 P_2O_5 量。

例如:設标准样品的重量和植株放射性測量样品的重量均为 100 毫克,其鋁碟大小、鋪样方法和測量条件均相同,通过測定給出 100 毫克的标准样品中含有 a 毫克来自肥料的 P_2O_5 而測得的放射性强度为 b 脉冲/分,那末 100 毫克的植物样品測得的放射性强度为 c 脉冲/分,相当于多少毫克的 P_2O_5 (其中 a 、 b 、 c 为已知)?

設 x 为植物由标志肥料中吸收的 P_2O_5 量,則

$$x = \frac{ac}{b} \text{ (毫克 } P_2O_5\text{)}, \text{ 即 100 毫克植物样品中来自肥料的 } P_2O_5 \text{ 的毫克数。}$$

假定每株植物样品的干物重为 M 克或每盆干物重为 N 克,則植物从肥料中吸收的 P_2O_5 量分别为:

$$\frac{M1000x}{100} = \frac{M1000ac}{100b} = \frac{10acM}{b} \text{ (毫克 } P_2O_5\text{/株),}$$

或

$$\frac{N1000x}{100} = \frac{10acN}{b} \text{ (毫克 } P_2O_5\text{/盆).}$$

(4) 肥料利用率的計算 肥料利用率 K 用下式計算:

$$K = \frac{\text{植物从肥料中吸收的 } P_2O_5 \text{ 的毫克数}}{\text{施入肥料的 } P_2O_5 \text{ 的毫克数}} \times 100.$$

五、放射性样品的保存和废物处理

1. 标记肥料和放射性原始溶液必須保留見証样品。
2. 植株采样烘干称重后,如果样品量大,毋須全部磨碎,于其中选取具有代表性(根据样品数量用四分或八分取样法)的样品磨碎測量。待所有样品磨好置于編号的磨口广口瓶后,方可把多余的样品置于废物箱中。
3. 每次在鋁碟中封固的放射性測量样品,要在測量后数据处理完毕时,方可弃去。磨口广口瓶中的样品应妥善保存,待研究报告写成后弃去。
4. 处理放射性磨碎样品时先用紙包好,放入污物桶。污物桶要編成号码,放滿一个桶后,再放第二个桶。非放射性污物置于特置的污物桶內,以利处理。
5. 强度高的废液保存在废液瓶中,詎其自行衰变,約經 10 个半衰期,再用水稀释,排入污水池。
6. 固体污物可埋于污物坑中,如果在污物桶內保存 10 个半衰期的时间,可当一般污物处理。

六、放射性同位素 P^{32} 盆栽試驗的管理

盆栽試驗,特别是使用放射性同位素的盆栽試驗,必須严格管理,保持植物生长和对外界条件的相对一致性。在用水稻作指示作物的放射性同位素 P^{32} 的盆栽試驗中,必須注意:

1. 試驗場应选择在人畜不常到的地方,同时周围必須設有柵栏或鉄絲网,以保証試驗的进行,并具有保护意义。
2. 移栽的秧苗必須严格选择,尽量消除个体差异,插秧的深度和株間距离需保持一致。
3. 水的管理必須严格,可在盆內插入水层标志,控制水量。
4. 中耕、除草、追肥和其他技术措施必須同时进行,并注意防治病虫害。
5. 在沒有温室的情况下,应备有雨棚,防止暴雨影响。抽穗后应置于鉄絲网下或采取其他措施,防止鼠雀危害。

七、放射性同位素 P^{32} 大田試驗部分

1. 同位素 P^{32} 的埋施法

(1) 放射性同位素 P^{32} 的用量視研究的目的而异,一般每平方米面积上用 2.2—3 毫居里。这种用量对水稻、小麦未发现不正常現象,中稻采样時間可延續至孕穗期,用植株样品鋪样法仍能測到准确的結果。

(2) 大田試驗的放射性肥料标记方法和盆栽試驗同。

(3) 試驗地应选择在人畜不常到的地方,小区面积不宜太大,一般用 1 平方米为宜。

(4) 应用放射性同位素 P^{32} 在水田进行試驗时,小区周围必須作埂,以防止放射性物質进入非放射性区,扩大污染范围。在田間施用放射性物質时,工作人員必須站在上风,施用后立即复土。

(5) 放射性小区必須做上明显的标志。

(6) 田間采样时,事先做好图样,采样必須有代表性,每小区采 3—4 穴(水稻),每穴采一半,留一半,避免小区采样后密度变稀而与大田情况不一致。旱作采样后,可以补苗,将所补的苗做上明显記号,避免以后采样发生錯誤而影响試驗結果。

(7) 其他步驟同盆栽試驗。

在水田埋施放射性同位素 P^{32} 的試驗中,我們对放射性 P^{32} 的污染情况曾进行了一些測定,其过程如下:在 P^{32} 埋于 0—5 寸土壤中的小区内,灌水后第二天,在小区内取水样 100 毫升,逐步滴在鋁碟中浓缩至干,測定其放射性。結果仅比自然本底(13 脉冲/分)高出一倍左右,即 28—30 脉冲/分。同时測定小区附近田間及排水沟內水样,結果与本底接近,表示放射性极微。

在旱田埋施放射性 P^{32} 的試驗中,埋施后第二天用田間輻射仪測量地表放射性,結果与自然本底无差异。不过这样的測量比較粗糙,且数据較少,有待进一步研究。

2. 应用放射性同位素涂叶片的标记方法

植物对营养物质的吸收主要是通过根系的作用,但叶片也有吸收某些营养物质的能力,并且在一定程度上对植物营养有輔助作用。涂叶片法就是利用这一作用,将适宜的植物营养元素同其放射性化合物进行叶部飼喂。在这方面 P^{32} 是常用的一种放射性同位素,一般在研究作物根外追肥問題时,栽培措施对植株中营养物质的运轉和分配等有一定的效果。近年来我們由于研究棉花的根外追肥、水稻灌溉期营养物质的运轉,曾作过一些試驗,在一般情况下还可供参考。应用涂叶片标记法主要应注意以下几个問題:(1)所用营养物质的浓度与其放射性強度应不損伤其叶片或阻碍其生长,并且在所需的时间內,能在研究的植物器官中用一般計数装置进行准确的放射性測量;(2)所涂的溶液要能在叶面均匀附着;(3)在不同叶片上溶液的用量应相对一致;(4)防止自然雨水的冲失。其基本方法如下:

(1) **涂液的配制** 按照一般定量放射性溶液的配制方法进行。

(2) **涂液的浓度及比强** 在进行根外施肥的研究中,按照根外施用的浓度配制磷酸盐溶液,然后加入放射性 P^{32} 源液得到所需要的比放射性;在一般观察磷素运转和分配的研究中,可直接用源液稀释到所需要的比强。对棉花现蕾期用 40 微居里/毫升的源液,每株棉花涂三个叶片,每个叶片用 0.5 毫升;水稻抽穗期用 30.44 微居里/毫升源液,每个叶片用 0.1 毫升,均未发现有不良的影响。为了满足在一定时间之后植株上供试部位的器官内有一定的放射性强度,能够在一般的计数装置中作准确的测量,可以在一棵植株上涂几个叶片,或在同一叶片上隔二日重涂一次。实验所得的结果参看表 6^[11]及表 7^[8]。

表 6 棉花涂叶片标记后 6 天采样植株各部位放射性测定结果(脉冲/分·100 毫克)

处 理	部 位	中部叶	上部叶	中部柄	上部柄	茎 皮 (上、中、下)
每株涂三片叶, 溶液比放射性为 40 微居里/毫升, 每片叶用 0.5 毫升, 即每株总强度为 60 微居里		1215	115	219	42	132

表 7 水稻涂叶片标记后 23 天采样植株各部位放射性测定结果(脉冲/分·100 毫克)

处 理	部 位	灌浆子粒	旗叶鞘	旗叶下叶片	穗下茎节	穗 梗
每株涂一个叶片, 2 日后重复涂一次, 溶液比放射性为 30.44 微居里/毫升, 每次涂 0.1 毫升, 每株共 6 微居里		3250	5240	652	888	580

(3) **涂叶方法** 在不同作物的叶片上常有一层蜡质或茸毛,因而在涂叶时溶液不易附着或附着不均匀。为了使涂叶时营养物质很好地为叶片所吸收,并达到均匀的目的,在涂叶时常用以下方法:

(i) 用稀肥皂水轻轻刷洗被涂叶片的表面,去除蜡质,然后再用棉花蘸蒸馏水擦洗 2—3 次,洗去附着的肥皂水,实用中得到良好效果。但若使用的肥皂水较浓,或刷洗后不用蒸馏水擦洗,叶片易呈现枯萎,同时肥皂液还能有促进磷液被植物吸收等不良作用。

(ii) 用水先将被涂叶片的表面轻轻刷洗,亦可达到清洁的目的。

(iii) 加入附着剂,在标记液中加入 0.5% 的“拉开粉”混合使用,可以使涂液和叶面接触较好,并可防止标记液从叶片上流失或沾污环境。使用附着剂的效果较为良好。

(iv) 在有茸毛的叶片上(如水稻叶片)最好顺茸毛方向涂液,即由叶的基部向叶尖方向顺叶脉涂液。为了避免涂液的流失,可以涂在叶的背面。

(4) **其他** 采样、制样和测量方法,应根据试验要求采用以上有关各节所介绍的方法进行。

八、放射性操作用具的清洗及安全防护

1. 放射性操作用具的清洗

(1) 在工作结束时,应将操作放射性同位素 P^{32} 的三角瓶、容量瓶、吸管、移液管、拌土用的大搪瓷盆、手套及操作放射性用的工具,立即用 5% 的 NaH_2PO_4 (或其他形式的磷酸盐) 溶液清洗。第一次清洗的废液,若放射性强度较大就倒入废液瓶;第二次洗涤液即可放入污水池。经验证明,用这种方法去除沾污在容器上的同位素 P^{32} 的效果比较好。

(2) 盛放或操作放射性的容器和用具,在使用后立即清洗,容易洗净。若放置时间一长,

便大大增加了清洗的困难。清洗后容器必须经过仪器测定方可收藏。

(3) EDTA-Na 的去污效果是好的,但价格较贵。在难以去污的用具表面,可用 0.5% 的 EDTA-Na 溶液去污。柠檬酸去污剂一般只能现配现用,不宜保存,即使在其中加入盐酸,时间一长,也会由于微生物的作用,而产生白色絮状沉淀,使去污剂变质,去污效率降低。

(4) 对清洗后强度仍然较高的容器和用具,需放置一段时间让其自行衰变。在下次使用前,再行清洗并经仪器检查。

2. 安全防护

(1) 进行放射性操作之前必须做好一切物质准备和思想准备,以保证工作的顺利进行。

(2) 全部放射性操作过程必须严格注意安全防护:

(i) 放射源运到以后立即检查包装外部的放射性情况。

(ii) 开瓶分装、标记肥料等必须在通风橱内进行,并选用适宜的物质防护屏。

(iii) 同位素与土壤混合、放射性植株样品的剪碎、研磨、植株放射性测量样品的制备等必须在手套箱中进行。

(iv) 从事以上工作必须穿戴个人防护衣具,如布料工作服、塑料工作服、橡皮手套、帽子、口罩、防护鞋、防护眼镜等。

(3) 一切放射性操作均应在垫有吸水纸的托盘中进行。

(4) 吸取放射性溶液均应在通风橱中用自动移液管进行,绝对禁止用口吸取。

(5) 工作人员在工作结束离开实验室前,必须洗净所用器皿、防护用具,做好室内卫生,经万能辐射仪检查后,方得离开实验室。

参 考 文 献

- [1] 中国农业科学院,关于原子能农业利用研究中若干问题的建议(油印稿),1962。
- [2] 康津等,生物学中的示踪原子法,1958。
- [3] 中国科学院原子能研究所,同位素应用实验方法讲义,1960。
- [4] 中国农业科学院原子能研究室,放射性磷在土壤肥料研究工作上的使用方法,1959。
- [5] 索科洛夫、谢尔多科夫斯基,在农业化学研究中磷同位素的应用,1955。
- [6] 泽利舍夫,在农业生物学中放射性指示剂应用方法的有关问题,1955。
- [7] 南京农学院,土壤农化分析(油印讲义)。
- [8] 中国农业科学院江苏分院,应用放射性同位素 P^{32} 测定水田土壤磷素供应状况和磷肥利用效率的研究(未发表),1962—1963。
- [9] 中国农业科学院江苏分院,应用放射性同位素 P^{32} 和 C^{14} 研究高产栽培下晚稻营养生理规律(未发表),1961。
- [10] 彼坚布尔斯基,农业化学分析法,1955。
- [11] 中国农业科学院江苏分院,应用 P^{32} 研究棉花根外的磷素营养(未发表),1959。

(编辑部收稿日期 1964年5月11日)