



Σχολή Γεωπονικών Επιστημών - Τμήμα Γεωπονίας
Εργαστήριο Εδαφολογίας
Μάθημα: Θρέψη Φυτών – Γονιμότητα Εδαφών

Υπεύθυνος καθηγητής Τζανακάκης Βασίλειος



2^η & 3^η Εργαστηριακή Άσκηση: Δειγματοληψία Φυτικών Ιστών

Εισηγητής:
Δρ. Ζηδιανάκης Ιωάννης



Εκτίμηση της Θρεπτικής Διαθεσιμότητας:

1. Ανάλυση εδάφους
2. Ανάλυση φυτικών ιστών
(φυλλοδιαγνωστική ανάλυση)





Ανάλυση εδάφους

- Η ανάλυση εδάφους αποσκοπεί στην απόκτηση πληροφοριών για τις **φυσικές, χημικές και βιολογικές** ιδιότητες του εδάφους
- **ΣΚΟΠΟΣ:** Η βελτίωση της γονιμότητας του εδάφους
- Το δείγμα θα πρέπει να είναι **αντιπροσωπευτικό** (θέση και βάθος εδάφους)
- **Ο αριθμός και η συχνότητα** των δειγμάτων εξαρτάται κυρίως από τη φυσιογραφία της περιοχής, την καλλιέργεια και την επιδιωκόμενη ακρίβεια



Ανάλυση Φυτικών Ιστών Φυλλοδιαγνωστική

Λαμβάνουμε πάντα υπόψη την ηλικία, το χρόνο και τη θέση των φύλλων που θα αναλύσουμε.

Η φυλλοδιαγνωστική ανάλυση ή κοινώς ανάλυση φύλλων αφορά στον προσδιορισμό της θρεπτικής κατάστασης των φυτικών ιστών δηλαδή τον εντοπισμό και αξιολόγηση των θρεπτικών στοιχείων και ιχνοστοιχείων που περιέχουν

Lagatu & Maume 1929
Montpellier Γαλλίας - Αμπέλι



Συγκεκριμένα οι στόχοι της φυλλοδιαγνωστικής είναι:

- ✓ Η διάγνωση της θρεπτικής κατάστασης και η επιβεβαίωση των ορατών συμπτωμάτων τροφοπενίας ή τοξικότητας



Τροφοπενία μαγνησίου (αριστερά) και μαγγανίου (δεξιά) στο αμπέλι



Ανάλυση Φυτικών Ιστών Φυλλοδιαγνωστική

Στόχοι της φυλλοδιαγνωστικής:

- ✓ Επισήμανση τυχόν λανθάνουσας τροφοπενίας (hidden hunger)





Ανάλυση Φυτικών Ιστών Φυλλοδιαγνωστική

Στόχοι της φυλλοδιαγνωστικής:

- ✓ Διενέργεια επισκοπικών καταγραφών θρέψης (nutritional surveys) για τον εντοπισμό καλλιεργειών και περιοχών με προβλήματα θρέψης ώστε να ληφθούν τα απαραίτητα μέτρα πριν οι ελλείψεις αποκτήσουν μεγάλη οικονομική σπουδαιότητα





Ανάλυση Φυτικών Ιστών Φυλλοδιαγνωστική

Στόχοι της φυλλοδιαγνωστικής:

- ✓ Διερεύνηση πρόσληψης θρεπτικών στοιχείων από το έδαφος προερχόμενων ή μη από τα λιπάσματα ή άλλες εφαρμογές



Τροφοπενία βορίου

- Μπλοκαρίστηκαν από διάφορες εδαφικές διεργασίες.
- Κακή εφαρμογή λίπανσης.
- Οι ποσότητες που προστέθηκαν δεν ήταν ικανές να διορθώσουν το πρόβλημα.





Ανάλυση Φυτικών Ιστών Φυλλοδιαγνωστική

Στόχοι της φυλλοδιαγνωστικής:

- ✓ Διερεύνηση τυχόν αλληλεπιδράσεων ή ανταγωνισμών μεταξύ των θρεπτικών στοιχείων

Ανταγωνισμοί στοιχείων στα φυτά

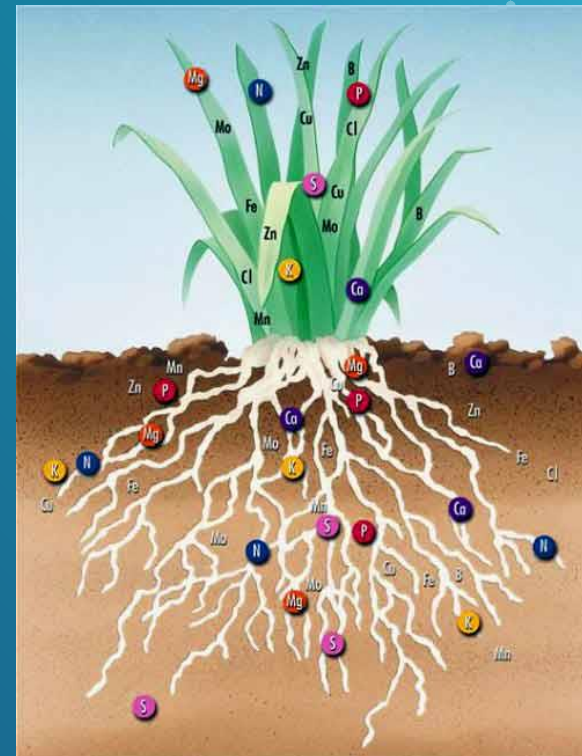
Στοιχείο σε περίσσεια	Προκαλούμενη έλλειψη
N	K
K	N, Ca, Mg
Na	K, Ca, Mg
Ca	Mg
Mg	Ca
Ca	B
Fe	Mn
Mn	Fe



Ανάλυση Φυτικών Ιστών Φυλλοδιαγνωστική

Στόχοι της φυλλοδιαγνωστικής:

- ✓ Κατανόηση των εσωτερικών λειτουργιών των φυτών
- ✓ Διάγνωση σύνθετων προβλημάτων θρέψης





Δειγματοληψία - Βασικές Αρχές

ΠΡΟΣΟΧΗ!

Η φυλλοδιαγνωστική απαιτεί την τυποποίηση των συνθηκών δειγματοληψίας

Οι κυριότερες συνθήκες δειγματοληψίας είναι:

- το φυτικό υλικό της δειγματοληψίας (συνήθως ελάσματα και μίσχοι φύλλων)
- το στάδιο ανάπτυξη του φυτού
- η θέση του δειγματιζόμενου φύλλου ή άλλου φυτικού ιστού στο φυτό
- ο χρόνος - εποχή δειγματοληψίας σε σχέση με την καλλιεργητική περίοδο





Δειγματοληψία - Βασικές Αρχές

Καθορισμός
στόχων της
δειγματοληψίας

Αρχές δειγματοληψίας:

- Η δειγματοληψία θα πρέπει να εντάσσεται σε ένα συγκεκριμένο **πειραματικό σχέδιο** – αγροτεμάχιο - περιοχή δειγματοληψίας - ορισμός δένδρων.
- Το δείγμα να **ληφθεί τυχαία** (π.χ. κάθε δεύτερο ή τρίτο δέντρο).
- Να συλλέγεται συγκεκριμένο φυτικό δείγμα από συγκεκριμένο μέρος της κόμης.
- Ο αριθμός των στοιχείων που λαμβάνονται να είναι τέτοιος ώστε να παρέχει **αντιπροσωπευτικότητα** και να καλύπτεται η παραλλακτικότητα.
- Να λαμβάνεται υπόψη το **είδος του φυτού, το στάδιο ανάπτυξης του**
- Να είναι **γνωστές οι λεπτομέρειες** της διαδικασίας της δειγματοληψίας καθώς επηρεάζει την ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Δειγματοληψία ελιάς:
-τον Χειμώνα φύλλα με μίσχο
-τον Ιούλιο φύλλα με μίσχο



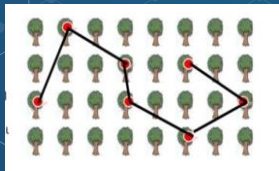
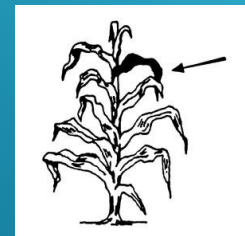


Δειγματοληψία

Λήψη
αντιπροσωπευτικών
δειγμάτων

Ο τρόπος δειγματοληψίας εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τους στόχους της δειγματοληψίας. Στη γενική περίπτωση:

- Το χωράφι χωρίζεται σε ομοιόμορφα τεμάχια, συνήθως **όχι μεγαλύτερα των 8 στρεμμάτων**
- Ένα δείγμα αποτελείται συνήθως **από 50 – 100 φύλλα**
- Από κάθε δένδρο συλλέγονται συνήθως **4 φύλλα** (σύνθετο δείγμα), **υγιή, μεσαίου μεγέθους**, από την **περιφέρεια της κόμης** και από **ύψος περίπου 1,5m**.
- Αναφορικά με το **στάδιο ανάπτυξης** του και την εποχή δειγματοληψίας ο γενικός κανόνας είναι:
 - Δενδρώδεις καλλιέργειες: φύλλα από τη μέση ενός ετήσιου βλαστού (πάντα ώριμα φύλλα)*
 - Ετήσιες καλλιέργειες: φύλλα που πρόσφατα ωρίμασαν*



Δειγματοληψία – παράδειγμα οδηγιών ιδιωτικού εργαστηρίου

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ	ΧΡΟΝΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ	ΜΕΡΟΣ ΦΥΤΟΥ /ΑΡΙΘΜΟΣ ΦΥΛΛΩΝ
ΕΣΠΕΡΙΔΟΕΙΔΗ	15 Αυγούστου μέχρι 15 Οκτωβρίου	Φύλλα ανοιξιάτικης βλάστησης, πλήρως ανεπτυγμένα από μη καρποφόρους βλαστούς (50 - 70 φύλλα) Αριθμός δέντρων δειγματοληψίας 2-3 δέντρα/στρέμμα Ελάχιστος αριθμός δέντρων δειγματοληψίας: 10 δέντρα
ΕΛΙΕΣ	Πλήρης άνθηση/μετά την καρπόδεση ή Νοέμβριος – Δεκέμβριος. Ιδανικά 6-8 εβδομάδες μετά την πλήρη άνθηση (15/7-15/8)	Από το μέσο κλάδων ετήσιας βλάστησης (100 - 150 φύλλα ηλικίας 5-8 μηνών). Αριθμός δέντρων δειγματοληψίας 2-3 δέντρα/στρέμμα Ελάχιστος αριθμός δέντρων δειγματοληψίας: 10 δέντρα
ΦΥΛΛΟΒΟΛΑ	Ιούνιος - Ιούλιος	Πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα από τα μέσα των ετήσιων βλαστών (60 - 80 φύλλα). Αριθμός δέντρων δειγματοληψίας 2-3 δέντρα/στρέμμα Ελάχιστος αριθμός δέντρων δειγματοληψίας: 10 δέντρα

Η κινητικότητα των θρεπτικών συστατικών εντός του φυτού μας υποχρεώνουν να λάβουμε υπόψη την ηλικία, το χρόνο και τη θέση των φύλλων που θα αναλύσουμε!



Παράδειγμα αποτελέσματος αναλύσεων φυλλοδιαγνωστικής

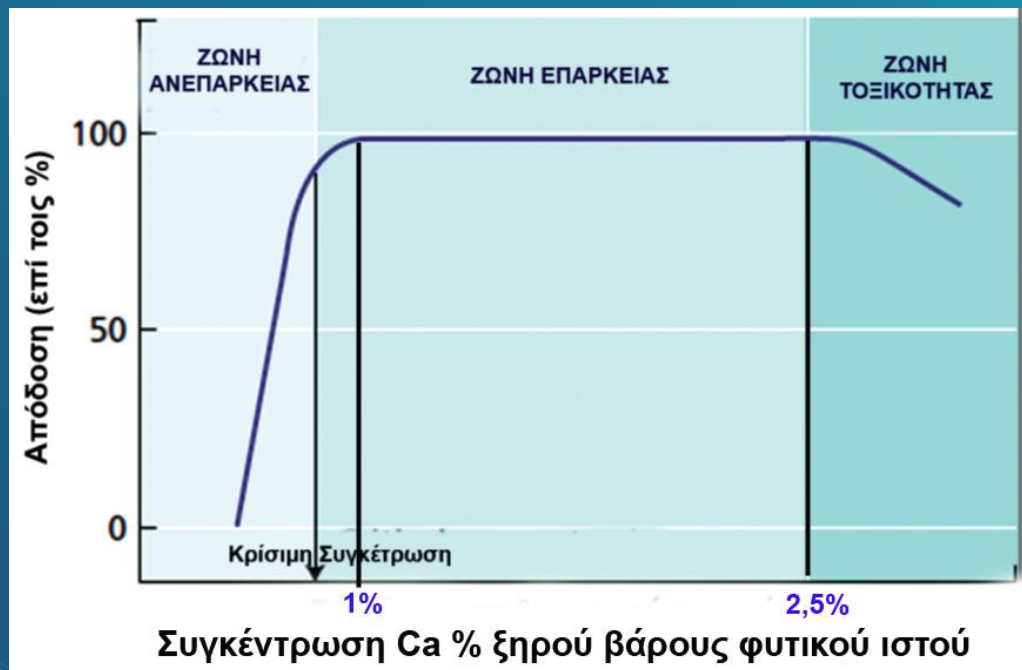
ΠΙΝΑΚΑΣ

Αποτελεσμάτων Ανάλυσης Δείγματος Φύλλων.
Ελιά (Χειμώνας) 25 ετών

Μακροστοιχεία %												
	Ολικό N		P		K		Ca		Mg		S	
Τμές Επάρκειας:	1.60	2.00	0.09	0.12	0.70	1.00	1.00	2.50	0.10	0.30		
Αποτέλεσμα:	1.554		0.41		0.77		2.12		0.24			
Χαρακτηρισμός:	MA		Y		E		E		E			
Ιχνοστοιχεία ppm												
	B		Mn		Zn		Fe		Cu		Mo	
Τμές Επάρκειας:	20	50	50	150	10	30	50	150	5.00	20.00		
Αποτέλεσμα:	18.57		46.35		10.87		128.80		6.8			
Χαρακτηρισμός:	MA		MA		ME		E		E			
ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΘΡΕΠΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ: A: Ανεπάρκεια, MA: Μερική Ανεπάρκεια, ME: Μερική Επάρκεια, E: Επάρκεια, Y: Υπερεπάρκεια												



Σχέσεις θρεπτικής διαθεσιμότητας και φυτικής παραγωγής – παράδειγμα ελιά





- **Κρίσιμη συγκέντρωση** στον φυτικό ιστό είναι εκείνη η συγκέντρωση κατά από την οποία η ανάπτυξη του φυτού-απόδοση περιορίζεται σημαντικά (αντιπροσωπεύει το 90-95% της μέγιστης απόδοσης).
- **Άριστη συγκέντρωση** είναι εκείνη η συγκέντρωση κατά από την οποία επιτυγχάνεται σχεδόν η μέγιστη απόδοση.
- Κάτω από την κρίσιμη συγκέντρωση δημιουργείται μία **ζώνη ανεπάρκειας** στην οποία η απόδοση μειώνεται σημαντικά.
- Η **ζώνη επάρκειας** έπεται της κρίσιμης συγκέντρωσης και στην οποία η αύξηση της συγκέντρωσης ενός στοιχείου σχετίζεται με την μέγιστη απόδοση.
- Περαιτέρω αύξηση της συγκέντρωσης του θρεπτικού στοιχείου στους φυτικούς ιστούς προκαλεί ελάττωση της απόδοσης πιθανότατα λόγω τοξικότητας από το θρεπτικό στοιχείο γι' αυτό και ονομάζεται **ζώνη τοξικότητας**.

Σχέσεις θρεπτικής διαθεσιμότητας και φυτικής παραγωγής



Συγκέντρωση θρεπτικού στοιχείου στον φυτικό ιστό ($\mu\text{mol}/\text{gr}$ ξηρού βάρους)





Συλλογή δείγματος φυτικού ιστού - Μεταφορά - φύλαξη

Κατά την συλλογή και μεταφορά του δείγματος πρέπει να:

- Μη μολυνθεί ή να μεταβληθεί η χημική του σύσταση από «ξένα» υλικά, π.χ. εργαλεία, δοχεία συσκευασίας κ.α.
- Τα δείγματα τοποθετούνται σε **χάρτινες ή πάνινες σακούλες** όπου αναγράφεται ο αριθμός του δείγματος. Οι πλαστικές σακούλες θα πρέπει να αποφεύγονται.
- **Μεταφορά** το συντομότερο δυνατό στο εργαστήριο για τους περαιτέρω χειρισμούς, **λιγότερο από 12 ώρες**.
- **Κατεργασία του δείγματος** στο εργαστήριο **άμεσα** ή διαφορετικά διατήρηση στο ψυγείο σε θερμοκρασία 4°C έως 48 ώρες.





Προετοιμασία δείγματος για ανάλυση

Στόχος: Το δείγμα να πάρει την κατάλληλη μορφή προκειμένου να γίνουν οι εργαστηριακές αναλύσεις

A. Πλύσιμο φυτικών ιστών για την απομάκρυνση ξένων υλικών (σκόνη, υπολείμματα φυτοφαρμάκων κ.λ.π) που ενδεχομένως να επηρεάσουν το αποτέλεσμα της ανάλυσης (απαραίτητο ιδιαίτερα αν πρόκειται να προσδιοριστούν ο Fe ή το Al).

Για το πλύσιμο των δειγμάτων χρησιμοποιούνται 4-5 λεκάνες πλύσης των 10-15 λίτρων:

1η λεκάνη: Νερό βρύσης με διάλυμα απορρυπαντικού 2%.

2η λεκάνη: Ξέπλυμα με νερό βρύσης

3η λεκάνη: Ξέπλυμα με απιονισμένο νερό

4η λεκάνη: Επανάληψη ξεπλύματος με απιονισμένο νερό

5η λεκάνη: Παραμένει άδεια και τοποθετείται πάνω της μια πλαστική σήτα ή ξύλινη σχάρα όπου τοποθετούνται τα δείγματα να στραγγίσουν.

Τοποθέτηση σε ειδικό χαρτί στεγνώματος (διηθητικό)



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Το πλύσιμο θα πρέπει να διαρκεί όσο το δυνατόν μικρότερο χρονικό διάστημα ώστε να ελαττωθεί ο κίνδυνος απομάκρυνσης στοιχείων από τους ιστούς, όπως των K και B



Προετοιμασία δείγματος για ανάλυση

Β. Ξήρανση του δείγματος. Το δείγμα τοποθετείται σε ειδικό πυριαντήριο με μηχανικό αερισμό (συνήθως 65°C για 48 ώρες) για:

- Απομάκρυνση της υγρασίας που περιέχει.
- Διακοπή των ενζυματικών διεργασιών στο φυτικό υλικό.
- Αποφυγή ανάπτυξης μυκήτων (μούχλα).
- Διευκόλυνση της περαιτέρω κατεργασία τους (κονιορτοποίηση).

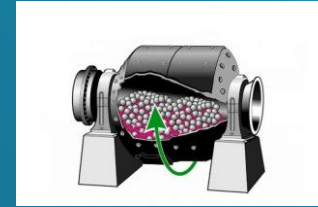


Προετοιμασία δείγματος για ανάλυση



Γ. Άλεσμα φυτικών ιστών. Πραγματοποιείται με:

- Γουδί από πορσελάνη, αχάτη κ.λ.π.
- Blender
- Μύλο με σφαιρίδια (Ball mill),
- Μύλο με ανοξείδωτα μαχαίρια (Willey mill)



Στόχος:

- Η ομογενοποίηση του δείγματος,
- Η διευκόλυνση της αποθήκευσης και μετέπειτα επεξεργασίας του δείγματος.



ΠΡΟΣΟΧΗ!

Η συγκέντρωση Fe μπορεί να επηρεαστεί από τα μέσα άλεσης που χρησιμοποιούν μεταλλικά μέρη



Αποθήκευση δείγματος

Το αλεσμένο δείγμα τοποθετείται σε ειδικό πλαστικό δοχείο που κλείνει αεροστεγώς (ή εναλλακτικά σε σακουλάκι και τοποθετείται σε δοχείο που περιέχει silica gel).

Με τον τρόπο αυτό το δείγμα μπορεί να διατηρηθεί για 2-3 μήνες σε ξηρό και σκοτεινό μέρος ή για 3-4 μήνες στην κατάψυξη.





Προσδιορισμός της υγρασίας του δείγματος

- Απαιτείται να γνωρίζουμε την περιεκτικότητα του αλεσμένου δείγματος σε υγρασία ώστε να γίνεται αναγωγή και να προσδιορίζεται με ακρίβεια το ξηρό βάρος (γραμμάρια) του δείγματος που χρησιμοποιήθηκε για τις αναλύσεις.
- Χρησιμοποιούνται: Αναλυτικός ζυγός, χωνευτήρια πορσελάνης ή κάψες, σπάτουλα απλή, ξηραντήρας.
- Ο υπολογισμός της υγρασίας βασίζεται στην απώλεια βάρους του δείγματος μετά την ξήρανση. Αν σε ένα 1 γραμμάριο δείγματος μετά την ξήρανση το βάρος είναι 0.9 γραμμάρια, τότε το ξηρό μέρος αποτελεί το 90% του συνόλου.



Παράδειγμα υπολογισμού της υγρασίας

Υγρασία που προσδιορίστηκε κατά τα γνωστά 10%

Βάρος χωνευτηρίου $BX=20,5g$

Βάρος μικό $BM=22,5g$

Ζητείται το πραγματικό ξηρό βάρος.

Όπου:

BX = Βάρος Χωνευτηρίου

BM = Βάρος Μικό ($BX + B\Phi I$).

Βάρος δείγματος με υγρασία ($B\Phi I$)= $BM - BX = 22,5g - 20,5g = 2g$

Τα 100g έχουν 10g υγρασία.

Τα 2g x

$x = 10 \times 2/100 = 0,2 g$ υγρασία

Άρα τα 2g $B\Phi I$ περιέχουν 0,2g υγρασία

Αφαιρώντας την υγρασία αυτή από το βάρος του δείγματος (2g) που την περιέχει προκύπτει το πραγματικό ξηρό βάρος:

Βάρος ξηρού δείγματος = $B\Phi I - \text{Βάρος υγρασίας} = 2g - 0,2g = 1,8g$





Καταστροφή της οργανικής ουσίας του δείγματος - Καύση

- **Ξηρή καύση (Dry ashing):** Το αλεσμένο δείγμα (0,5-2 γραμμάρια) τοποθετείται σε καψίδιο πορσελάνης και καίγεται σε φούρνο αποτέφρωσης στους 480 °C για 2-8 ώρες.

Μετά την καύση προστίθενται στη στάχτη 5ml HCl 6N. Το διάλυμα μετά από διήθηση μεταφέρεται σε φιάλη των 50ml και συμπληρώνεται με απιονισμένο νερό. Έτσι παρασκευάζεται το λεγόμενο **STOCK ΔΙΑΛΥΜΑ**.

- **Υγρή καύση (Wet oxidation):** Το δείγμα οξειδώνεται με οξέα (HNO₃, H₂SO₄, HClO₄) σε αναλογία 10:1:1



Ορισμένα στοιχεία μπορούν να παραληφθούν από τους φυτικούς ιστούς όχι με καύση αλλά με εκχύλιση



Αναλύσεις στο stock διάλυμα

✓ **Κλασική χημική ανάλυση:** Ογκομετρική μέθοδος

✓ **Ενόργανη χημική ανάλυση:**

- ◆ Φλογοφωτόμετρο
- ◆ Φασματοφωτόμετρο
- ◆ Φασματοφωτόμετρο Ατομικής Απορρόφησης
- ◆ Φασματοφωτόμετρο Πλάσματος
- ◆ Αυτόματι Αναλυτές

- Τα **μακροστοιχεία** εκφράζονται σε επί τοις % επί της ξηρής ουσίας των φυτικών ιστών

- Τα **ιχνοστοιχεία** εκφράζονται σε μέρη στο εκατομμύριο (ppm) επί της ξηρής ουσίας των φυτικών ιστών





Σας ευχαριστώ για
την προσοχή σας !!!