- **أخذ عينات النبات و اعدادها للتحليل الكيميائي:**

تعد عملية اخذ العينات النباتية اساساً مهماً في تحليل نباتات التجارب البايولوجية و تقويم نتائجها خصوبياً ، لذلك يجب ان تراعى الدقة العالية و ان يتوخى فيها العناية الفائقة عند اخذ اية عينة نباتية ، لانه اذا حدث أي خطأ في طريقة او كيفية اخذ العينة او قطعها او تحضيرها في المختبر لتجهيزها و تهيئتها للتحليل فان نتائج هذا التحليل تصبح عديمة القيمة او الجدوى و يضيع بذلك الجهد و الوقت و المال المبذول فيها ، و مما تجدر الاشارة اليه ان العينة النباتية يجب ان تكون ممثلة للمادة النباتية و للتجربة المراد تحليلها ، و يمكن توفر هذا الشرط إذا اتبعت النقاط المهمة الاتية :

- تجمع النباتات المكونة للعينة الواحدة من اماكن متفرقة من الندانة او الحوض او الحقل اذا كان معامل بمعاملة واحدة ، اما اذا اشتمل على معاملات مختلفة فتجمع نباتات كل معاملة على حده و ذلك من مكررات المعاملة و لا يكتفى باخذ العينة فقط من مكرر واحد بل يجب ان تشتمل عينات المعاملة الواحدة جميع المكررات الداخلة في التجربة و الحقل مهما بدا متجانساً فانه في الواقع يختلف من مكان لاخر و الذي لا يمكن ملاحظته بمجرد النظر او المشاهدة بالعين المجردة على نمو النباتات .
- يراعى عند اخذ عينات عديدة من النباتات و في اعمار مختلفة من النمو ان لا يكون اخذ العينة او العينات الجديدة من مكان ملاصق لمكان اخذ العينة او العينات السابقة و ذلك لان ازالة النباتات من مكان العينة الاولى من الحقل او الحوض قد يؤدي الى نمو غير طبيعي للنباتات المجاورة نتيجة لتوفر كمية زائدة من الماء او العناصر الغذائية او الضوء ...الخ من عوامل النمو الاخرى .
- يفضل ان يكون عدد النباتات المأخوذة من الاماكن المختلفة او من مكررات المعاملة الواحدة ثابتاً او متقارباً قدر الامكان ، فاذا كان المحصول مزروعاً بطريقة النثر كما في حالة الحنطة و الشعير و البرسيم فتحدد المساحة التي تؤخذ منها النباتات الموجودة في هذه المساحة كأن تكون 30سم*30سم او 1م*1م ثم تؤخذ النباتات النباتات الموجودة في هذه المساحة فقط و من كل مكررات المختلفة ثم تخلط معاً لتكوين العينة النهائية ، اما في حالة الزراعة في جور و على مروز كما في حالة محاصيل القطن و الذرة الصفراء و معظم محاصيل الخضر فيحدد مكان اخذ العينة منها بطريقة منتظمة كأن تؤخذ منها النباتات الموجودة بطول نصف متر مثلاً من الخط او المرز الثاني و من جميع المكررات و عند اخذ عينة نباتية بعد فترة من الزمن تؤخذ النباتات من الخط او المرز الثالث من مكان يبتعد عن المكان الذي اخذت منه العينة الاولى ايضاً من جميع المكررات و هكذا حتى انتهاء مدة التجربة ، اما في حالة الزراعة في سنادين تؤخذ دائماً نباتات كل سندانة و من كل المكررات ، إذ لا مجال لدراسة الاختلاف الناتج بين نباتات السندانة الواحدة و حدوث تأثير على النباتات المتبقية بعد اخذ نباتات العينة الاولى و الذي يطرأ في حالة زراعة النباتات في التجارب الحقلية .
- يجب عدم التمييز و بشكل مطلق عند اخذ العينات النباتية سواء بتأثير معلومات سابقة او نتيجة لكبر او صغر حجم النبات و إلا ادى ذلك الى حصول نتائج غير دقيقة و غير ممثلة لواقع الحقل او النطقة .

- **قطع العينات النباتية:**

في معظم الاحيان يكتفى بدراسة الاجزاء الهوائية ، ألتي تقع على ارتفاع مناسب (5–10سم) من سطح التربة بوساطة مقص كبير او سكين حادة ، و لايجوز مطلقاً قطع النباتات من فوق سطح التربة مباشرةً او استعمال الفأس في الحفر في التربة لاخذ العينة النباتية من التربة لان ذلك يؤدي الى تلوثها بحبيبات التربة مما يؤدي في كثير من الاحيان الى عدم دقة النتائج المتحصل عليها من التحليل الكيمياوي .

و هناك مصدر تلوث و ذلك عند نثر الاسمدة الكيميائية فكثيراً ما تلتصق حبيبات السماد المضاف على الاوراق و السيقان ، لذا من الواجب عدم اخذ اية عينة نباتية للدراسة بعد اضافة مثل هذه الاسمدة مباشرةً بل الانتظار عدة ايام لضمان زوال الاسمدة اما بتاثير الندى الذي يغطي النبات في الصباح او نتيجة سقوط الامطار .

اما في دراسة الجذور او الدرنات ففي هذه الحالة تستبعد النباتات المجاورة للنبات الذي سيؤخذ منه النموذج ثم تخلخل التربة من حوله و اسفله بوساطة فأس او مسحاة لضمان الحصول على الاجزاء النباتية سليمة و خالية من اية اضرار .

و بعد اخذ العينات النباتية من الحقل يجمع المتشابه منها في كيس من نوع الورق او القماش او البلاستك و يكتب عليها من الخارج جميع النباتات الدالة على نوع و صنف و مرحلة النمو الفسلجي للنبات و نوع المعاملة ...الخ ، و كذلك يكتب على ورقة اخرى و توضع بداخل الكيس خوفاً من فقد الورقة او ازالة البيانات الخارجية اثناء نقل العينات ثم ترسل العينات الى المختبر على وجه السرعة لتحليلها كيميائياً .

- **تحضير العينات النباتية في المختبر :**

لتهيئة العينات و تجهيزها في المختبر لغرض اجراء التحليلات الكيميائية و الدراسات المطلوبة يتبع ألآتي :

1.عند وصول العينات النباتية من الحقل فانها ترسل مباشرةً الى المختبر لتقدير وزنها الرطب Fresh Weight بعد التاكد من ازالة أي تلوث سبق ان التصق بها اثناء الحصاد او القطع .

2.ثم تقطع العينة النباتية الى اجزاء صغيرة بوساطة المقص او السكين و توضع في فرن التجفيف على درجة حرارة 70 مْ لمدة 24–48 ساعة .

3. ثم تجفف العينات و ان الغرض من عملية التجفيف هو لقتل الانزيمات في المادة النباتية في وقت قصير حتى لا تحدث هذه الانزيمات نتيجة استمرار فعاليتها أية تغيرات في تركيب المواد العضوية فيها.

4.يراعى عند وضع العينات النباتية في أوعية التجفيف الخاصة بالفرن بألاّ تُملأ هذه الأوعية أو تكبس على بعضها لأن ذلك يؤدي الى صعوبة خروج الماء من العينات ، كما يجب ان تقلب العينات بين فترة و أخرى لزيادة التأكد من خروج الماء من العينات و الا ادى عدم خروج الماء الى احداث ظاهرة السلق ، اذ تلتصق العصارة النباتية بجدران اوعية التجفيف و تؤدي الى احداث تغير في لون العينة .

5. توزع العينات بعد اخراجها من فرن التجفيف لتقدير الرطوبة الاولية Primary Moisture و يطلق على الوزن الجاف الناتج عند هذه الدرجة من التجفيف بالوزن الجاف الخام Crude Weight .

6.تطحن العينات و و تحفظ في اكياس من البلاستك او زجاجيات نظيفة و ذات غطاء محكم و يدون عليها او بداخل الاكياس كل البيانات التي تهم الباحث ، ثم تحفظ العينات في مكان بارد اما في الثلاجة او في جهاز التجميد لحين البدء في اجراء عمليات التحليل الكيميائي عليها .

- **الحرق Ashing :**

ان الهدف من حرق المادة الجافة للنسيج النباتي هو لازالة كافة المركبات العضوية التي قد تؤثر على عمليات تقدير العناصر مثل البورون و الكلور و من الضروري اجراء عملية الحرق تحت ظروف قلوية ، اذ يضاف هيدروكسيد الكالسيوم او الصوديوم الى مسحوق العينة النباتية قبل اجراء عملية الحرق في فرن Muffle Furnace بدرجة 480 مْ .

- **الهضم الرطب Wet Digestion :**

تزال المركبات العضوية باستعمال بعض الاحماض القوية مثل حامض الكبريتيك و حامض البيروكلوريك و حامض النتريك وتعد هذه الطريقة مفضلة على طريقة الحرق الجاف فدرجة الحرارة فيها لا تتجاوز درجة حرارة غليان خليط العينة و الاحماض المستعملة و معدل تحطم المركبات اعلى من عملية الحرق ، فضلاً عن عدم تكون مركبات غير قابلة للذوبان كما في عملية الحرق الجاف ، و هذه العملية تتم بحرق العينة النباتية بحامض الكبريتيك او النتريك ثم يضاف حامض البيروكلوريك لاتمام عملية الهضم و ذلك لازالة التفحم و جعل المحلول رائقاً .

- **تقدير العناصر الغذائية الكبرى :**

☜ ألمواد المطلوبة :

– حامض الكبريتيك المركز .

–تغسل 2–3 من حبيبات الرمل بمحلول مخفف من حامض الهيدروكلوريك N6 ثم تغسل بمزيد من الماء المقطر .

–الخليط الحامضي الذي يحضر من خلط 4 مل من حامض البيروكلوريك مع 96 مل من حامض الكبريتيك المركز .

☜ طريقة العمل :

1.ضع 200 ملغم من المادة النباتية الجافة في دورق خاص بعملية الهضم سعة 100 مل .

2.اضف 5مل من حامض الكبريتيك المركز .

3.اضف 2-3 من حبيبات الكوارتز المغسولة بالحامض حرك الدورق ثم اتركه فترة 20 دقيقة .

4.سخن الدورق لمدة 5 دقائق لدرجة الغليان مع اخذ الحذر من حدوث أي فوران مفاجئ .

5.سخن مرة اخرى لمدة نصف ساعة اضف بعد ذلك 1 مل من الخليط الحامضي 4% من حامض البيروكلوريك .

6.حرك الخليط ثم سخن لمدة عشر دقائق مع ملاحظة ان الخليط سيصبح رائقاً بعد 5 دقائق .

7.برد الخليط ثم انقله الى دورق حجمي سعة 50 مل نقلاً كمياً ثم اكمل الحجم الى حد العلامة مستعملاً الماء المقطر .

8.المحلول الناتج يمكن استعماله لتقدير النتروجين و الفسفور و البوتاسيوم و المغنيسيوم و الصوديوم و الكالسيوم بنفس الاجهزة الملائمة لتقدير هذه العناصر في التربة مع ضرورة تحضير عينة تنظيم لتقدير كل عنصر .

- **تقدير العناصر الغذائية ألصغرى :**

☜ ألمواد المطلوبة :

- حامض ألنتريك المركز .

-62% حامض البيروكلوريك .

☜ طريقة العمل :

1.ضع 500 ملغم من المادة النباتية الجافة في انبوبة اختبار سعة 25 مل ثم اضف 5 مل من حامض النتريك المركز ثم اترك الانبوبة نصف ساعة .

2.اضف 2.5 مل من 62% حامض البيروكلوريك ، ثم اترك الانبوبة فترة 10 دقائق ثم سخن مبتدأً برفع درجة الحرارة من 20-60 مْ خلال 30 دقيقة .

3.ارفع درجة الحرارة الى 140 مْ خلال 60 دقيقة و ان حدث أي فوران مفاجئ أخفض حرارة التسخين .

4.ارفع درجة الحرارة الى 210 مْ مع استمرار التسخين سيتكون بخار ابيض اللون داخل انبوبة الاختبار و سيبقى من المحلول 2.5 مل .

5.انقل ما تبقى في داخل انبوبة الاختبار الى دورق حجمي سعة 50 مل ثم خفف الى حد العلامة مستعملاً الماء المقطر النقي.

6. المحلول الناتج يمكن استعماله لتقدير ألحديد و الزنك و النحاس و البورون و الكلور و المولبيدينوم بنفس الاجهزة الملائمة لتقدير هذه العناصر في التربة مع ضرورة تحضير عينة تنظيم لتقدير كل عنصر .

- **إختبار ألنبات:**

أُعتمد النبات وسيلة لتقويم خصوبة التربة و جاهزية العناصر الغذائية للنبات و ألأساس العلمي في هذا ألإتجاه إن العنصر الغذائي لايعد جاهزاً حتى يمتصه النبات و يؤدي دوره التخصصي في نمو النبات و قد ظهرت إتجاهات عدة في اختبار النبات يمكن تبيانها بألآتي :

- أعراض نقص العنصر الغذائي على النبات :

يُعتمد على التغاير اللوني و المورفولوجي على المجموع الخضري للنبات للاستدلال على ضعف امداد التربة له بعنصر غذائي ما ، و مع انها طريقة سريعة وغير مكلفة ، إلا انها لاتعد طريقة دقيقة لتشخيص حالة العنصر المغذي في النبات لتداخل اعراض نقصه مع اعراض الاصابة ببعض المسببات المرضية أو ألحشرات او الاعراض الناجمة عن عدم ملائمة خصائص التربة لنمو النبات ، فضلاً عن ان ظهور اعراض نقص بعض العناصر الغذائية لا يمكن اسعافها مما يؤدي الى تدهور الانتاج كما هي الحال في نقص بعض العناصر الغذائية الصغرى ، كما انه في بعض الاحيان لا تظهر اعراض النقص بعنصر غذائي

ما مع انه دون المقدار الذي يحتاجه النبات و لكنه يترك اثر سلبي في كمية الحاصل و نوعيته و هو ما يصطلح عليه بالجوع الخفي Hidden Hunger .

- **تحليل النبات :**

هو اسلوب يمكن الاعتماد عليه في تقدير جاهزية العناصر الغذائية في التربة و يستند الى ان كمية عنصر معين في النبات تؤشر مستوى تجهيزه من التربة للنسيج النباتي أي دليل على مقدار كميته الجاهزة في التربة ، و هنالك اتجاهان لتحليل النبات هما :

-الاتجاه الاول:

هو التحليل السريع للانسجة أي تحليلها و هي طرية في الحقل باستعمال الالات بسيطة و الإستدلال عن حالة المغذي من فحص عصارة النبات ، و على الرغم من انها طريقة سريعة الا ان من معوقاتها ان نقص العنصر الغذائي في النسيج النباتي لا يتوقف على مدى توفره في بيئة النمو فحسب ، و انما تتداخل معه ظروف المناخ و العوامل الوراثية ، و الجزء المأخوذ من النبات لغرض التحليل و عمره الفسيولوجي .

-ألإتجاه الثاني:

ألتحليل الكلي للنبات و هو تحليل النبات بكامله او جزء منه في المختبر تحليلاً دقيقاً ، و أساس هذه الطريقة إن كمية ألعنصر الغذائي في النبات تساوي نفس كميته الجاهزة للامتصاص في التربة وقد استعملت عدة معايير في هذا الاتجاه منها:

1. ألتركيز الحرج للمغذي .C.N.C : هو اقل تركيز للعنصر الغذائي في النبات يتحقق عنده اعلى انتاج او هو تركيز العنصر في جزء معين و لمرحلة معينة من نمو النبات الذي عنده يحصل انخفاض في الانتاج قدره 5-10% .
2. المدى الحرج للمغذي .C.N.R : لا يختلف المدى الحرج لتركيز العنصر الغذائي عن تركيزه الحرج من حيث الاساس العلمي ، الا ان من الصعوبة تحديد الحد الحرج لعنصر غذائي ما ، لاختلاف تركيز العنصر باختلاف مراحل نمو النبات ، و لتأثره بعوامل عدة كظروف المناخ و الجزء المأخوذ من النبات لغرض التحليل الكيميائي ، لذا استعمل المختصون معايير وصفية لتقويم المدى الحرج لعنصر ما ، و من هذه المعايير (نقص – واطئ – مناسب – عالي – مفرط) ، و لكون ألمدى الحرج للعنصر الغذائي واسع نسبياً ، ولتأثره بظروف البيئة و الاتزان الغذائي و عمر النبات و قابلية التربة على امداد النبات بالمغذيات ، فضلاً عن ان النبات يعاني احياناً من نقص عنصر غذائي ما و ان تركيز ذلك العنصر ضمن المدى الحرج لذا تم تبني حساب ألإتزان الغذائي داخل النسيج النباتي.
3. ألإتزان الغذائي : تميل النباتات تحت ظروف بيئية منتظمة الى اخذ عدد ثابت من الايونات الموجبة على اساس متكافئ ، و بالمثل فان مجموع الايونات السالبة يبقى ثابتاً ، فاذا زاد تركيز البوتاسيوم في النبات فسوف يميل تركيزي الكالسيوم و الغنيسيوم الى الانخفاض ، أي ان محتوى النبات من العناصر الغذائية (محتوى عنصر = تركيزه * وزن المادة النباتية الجافة) يجب ان تحكمه حالة من الاتزان الدقيق و ان لكل نبات بصمة مثالية من اتزان العناصر الغذائية بعضها لبعض و التي تقترن بافضل نمو و اعلى انتاج للمحصول . و من معايير تحديد الاتزان الغذائي الملائم للنبات ألآتي :

– ألنسبة بين العناصر الغذائية : و يستند الى ان انخفاض النسبة بين عنصرين غذائيين ، يعني ان الاستجابة للعنصر الغذائي الذي في البسط عالية و العكس صحيح ، و بسبب بعض خصائص الاتزان الغذائي ان معيار النسبة بين عنصرين لوحده غير كافٍ لتحديد العنصر الغذائي المؤثر في نمو و انتاج المحصول لذا أُعتمد نظام التشخيص و التوصية المتكامل.

– نظام التشخيص و التوصية المتكامل.D.R.I.S : هو نظام شُخصت فيه عوامل التغذية النباتية المحددة لانتاج المحصول مع ايجاد معايير مناسبة يتم بوساطتها صياغة التوصيات المناسبة اعتمادا على التصحيح الدائم لهذه المعايير و مفاد هذا النظام انه اذا كانت تراكيز كل من النتروجين و الفسفور و البوتاسيوم على سبيل المثال و المقاسة على اساس الوزن الجاف تنخفض مع تقدم العمر فان نسبها أي N:P ،N:K ،P:K او معكوساتها ستبقى ثابتة . ان تتشخيص حالة العنصر الغذائي

في النبات بهذا النظام لا يعتمد تركيزه فحسب و انما دالة نسبه الى بقية العناصر التي تقارن اساساً مع تلك النسبة التي يتحقق عندها افضل انتاج و حسب صيغ رياضية مبنية على مفاهيم احصائية و التي بتطبيقها ستعطي قيمة دليل العنصر الغذائي Nutrient Index Value ، و ان قيم دلائل العناصر الغذائية يمكن ترتيبها حسب وفرتها في النسيج النباتي و تتغاير حسب هذا النظام بين القيم السالبة و الموجبة ، فالعنصر ذا القيمة الاكثر سالبية يعد اكثر تحديداً للانتاج و تكون الحاجة لاضافته اكثر ضماناً للنمو و الانتاج الافضل للنبات يليه في تحديد نمو العنصر ذا القيمة الاقل سالبية ، إذ ان الاقتراب من الصفر يعني الاقتراب من الحالة المثالية (افضل اتزان و اقل تحديد) لنمو النبات و يكون مقترناً باعلى انتاج للمحصول و ينتج من هذه الحالة و يرافقها اقل مجموع لقيم دلائل العناصر الغذائية او ما يسمى بالمجموع المطلق Absolute Totel اما الحالات التي تكون فيها قيم دلائل العناصر الغذائية موجبة ، فانها تشير الى وفرة العناصر و استهلاكها بكميات عالية قد تصل درجة السمية أي ان زيادة ايجابية قيم دلائل العناصر الغذائية هي ايضاً حالة غير مرغوب فيها ، و تعني الابتعاد عن الاتزان المثالي للعناصر الغذائية داخل النبات .