	Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет»	Методические указания к лабораторным работам
		Методы агрохимических исследований

Кафедра почвоведения,
агрохимии и точного
земледелия

Б1.О.28 МЕТОДЫ АГРОХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Методические указания к лабораторной работе по теме:
«Определение содержания элементов питания в растениях экспрес-
лабораторией «Фитоскан»»**

Направление подготовки
35.03.03 Агрохимия и агропочвоведение

Профиль подготовки
Экологический мониторинг в агробизнесе

Квалификация выпускника
Бакалавр

Рекомендовано к изданию методической комиссией факультета
агротехнологий и лесного хозяйства БГАУ

Составитель: ст. преподаватель, к.с.-х.н. Еникиев Р.И.

Тема: Определение содержания элементов питания в растениях экспресс-лабораторией «Фитоскан»

Цель работы: Изучить переносную лабораторию для определения дефицита минерального питания растений «Фитоскан».

Материалы и оборудования. Переносная лаборатория «ФИТОСКАН», образцы растений, карандаши.

Задания для работы: 1) Изучить назначение, область применения и комплектность лаборатории «ФИТОСКАН»;
2) Провести анализ растений переносной лабораторией «ФИТОСКАН» для определения дефицита минерального питания растений;
4) Выполнить расчеты и зарисовать графики;
5) Ответить на контрольные вопросы.

Контроль выполнения работы: Проводится проверка записей в тетради, правильность определения комплектности лаборатории «ФИТОСКАН». Проводится устный опрос определению дефицита минерального питания растений.

1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Переносная лаборатория для определения дефицита минерального питания растений «ФИТОСКАН» предназначена для выявления количества недостающих макро-, мезо- и микроэлементов в питании растений, которые необходимы для их нормального роста и развития. Лаборатория «ФИТОСКАН» позволяет выявить стрессовое состояние растений и дефицит отдельных элементов минерального питания задолго до проявления визуальных симптомов.

Принцип работы лаборатории «ФИТОСКАН» основан на методе определения стрессового состояния растений, вызванного дефицитом в почве макро-, мезо- и микроэлементов, по фотохимической активности хлоропластов листьев растений.

Полученные результаты с помощью лаборатории «ФИТОСКАН» позволяют:

- оперативно определить физиологическое состояние растений;
- выявить дисбаланс макро-, мезо- и микроэлементов;
- устранить возможные потери продуктивности растений;
- подобрать удобрения для внекорневой подкормки, максимально отвечающие потребностям растений в конкретных почвенно-климатических условиях при нормальном уровне физиологических процессов.

Лаборатория «ФИТОСКАН» применяется в полевых условиях и в тепличных хозяйствах в течение вегетационного периода растений. Диагностика растений проводится в критические фазы развития растений (от 2 раз и более за вегетацию в зависимости от биологических особенностей культуры).

2. КОМПЛЕКТНОСТЬ

Комплект поставки переносной лаборатории приведен в таблице 1:

Таблица 1. Перечень оборудования, реактивов и расходных материалов входящих в состав переносной лаборатории «ФИТОСКАН»

№ п/п	Наименование	Кол-во, шт.
1	Кейс для транспортировки	1
2	Фотоколориметр Экотест 2020-1 КДЦТ.414212.010 РЭ	1
3	Источник света с реле времени и лампой накаливания мощностью 60 Вт	1
4	Фонарь	1
5	Ступка фарфоровая с пестиком	1
6	Цилиндр мерный 25 мл с затемненными стенками	1
7	Биологические пробирки 25 мл	3
8	Воронка	1
9	Дозатор пипеточный автоматический 0,1 мл (№1)	1
10	Дозатор пипеточный автоматический 0,2 мл (№2)	1
11	Шприц медицинский 10 мл	1
12	Пробирка пластмассовая с крышкой 15 мл	20
13	Пробирка биологическая в пластмассовом контейнере с крышкой	40
14	Штатив для 40 пробирок	1
15	Штатив для 20 пробирок	1
16	Колба мерная 500 мл	2
17	Кювета для фотоколориметра, пластмассовая	10
18	Бинт медицинский	1
19	Натрий хлористый (сухой, не йодированный), упаковка 500 грамм	1
20	Карбонат кальция, упаковка 10 см ³	3
21	Краситель и концентраты реактивов в одной упаковке на 2500 анализов	1
22	Пластиковый стакан 50 мл	1
23	Пластиковый стакан 250 мл	2
24	Дистиллированная вода, бутылка 500 л	2
25	Промывалка лабораторная для дистиллированной воды 250 мл	1

№ п/п	Наименование	Кол-во, шт.
26	USB-флеш-накопитель с видео инструкцией	1
27	Весы Kromatech pocket scale MH-300	1
28	Фильтровальная бумага, упаковка	1
29	Ножницы	1
30	Маркер	1
31	Запасная батарейка АА	4
32	Запасная лампа накаливания 60 Вт	1
33	Дополнительные наконечники для дозаторов	10
34	Полиэтиленовые пакеты для отбора проб	5
35	Образцы бланков для занесения данных	5
36	Люксметр	1
37	Паспорт на переносную лабораторию для определения дефицита минерального питания растений «ФИТОСКАН»	1
37	Руководство по эксплуатации на фотоколориметр «ЭКОТЕСТ 2020-1» КДЦТ.414212.010 РЭ	1
40	Методика поверки на фотоколориметр «Экотест 2020-1» КДЦТ. 414212.010 МП	1
41	Паспорт на дозаторы пипеточные одно- и многоканальные «Лайт»	1
42	Методика поверки на дозаторы пипеточные одно- и многоканальные «Лайт» МП 2301-0132-2013	1
43	Инструкция по коррекции минерального питания растений с использованием многокомпонентных удобрений НВП «БашИнком».	1

Внешний вид переносной лаборатории для определения дефицита минерального питания «ФИТОСКАН» в кейсе приведен на рисунке 1, на рисунке 2 – содержание кейса, на рисунке 3 – пронумерованный состав лаборатории.



Рисунок 1. Внешний вид переносной лаборатории для определения дефицита минерального питания «ФИТОСКАН» в кейсе



Рисунок 2. Содержание кейса с переносной лабораторией для определения дефицита минерального питания «ФИТОСКАН»



Рисунок 3. Пронумерованный состав переносной лаборатории для определения дефицита минерального питания «ФИТОСКАН»

3. ИНСТРУКЦИЯ ПО ЭКСПЛУАТАЦИИ

3.1. Подготовка к анализу

За день до отбора проб и анализа, необходимо подготовить стандартные растворы реактивов, растворы хлорида натрия, проверить батареи фотоколориметра «Экотест 2020-1», учесть погодные условия. Отбор проб (листьев) осуществляется только в солнечный день, в первой половине дня, до полуденного спада фотохимической активности растений (до 11 часов утра). Необходимо, чтобы растения находились при солнечном освещении в естественных условиях в течение 2-2,5 часов. Обязательно взять с собой дополнительное количество дистиллированной воды для промывания пробирок и пипеток, полиэтиленовые мешочки для отбора проб.

Низкие значения активности хлоропластов, следовательно, большая погрешность измерений, возможны по следующим причинам:

-негативное влияние факторов внешней среды: недостаточная освещенность (дождь, туман, пасмурная погода), жара, засуха, переувлажнение, заморозки и др.

-интоксикация средствами защиты растений. Для получения достоверных результатов после обработки пестицидами необходимо подождать неделю.

-инфицирование грибными, бактериальными и вирусными инфекциями.

-механические повреждения. Необходимо соблюдать правила транспортировки проб (подробнее в главе «Отбор пробы»).

3.1.1 Приготовление стандартных растворов

- Возьмите 14 пустых подписанных пластмассовых пробирок (позиция 12).
- Расставьте их в следующем порядке: N, P, KS, KCl; Ca, Mg, B, Cu; Zn, Mn, Fe; Mo, Co, J в штатив (14).
- В таком же порядке расставьте концентраты (21) в штатив (15).
- В каждую пустую пластиковую пробирку налейте по 0,2 мл соответствующего концентрата пипеточным дозатором №2 (10). В пробирку с KS налейте 0,4 мл концентрата. После отбора концентрата каждого элемента, дважды сполосните наконечник дозатора дистиллированной водой.
- Добавьте в каждую пробирку с 0,2 мл концентрата по 10 мл дистиллированной воды шприцом без иглы (11). Закройте пробирки винтовой крышкой и хорошо взболтайте содержимое пробирки. Стандартные растворы к проведению анализа готовы. Храните растворы при температуре от +8 до +25⁰C, в темном месте.

3.1.2. Приготовление окрашивающего раствора

Окрашивающий раствор готовится из порошка красителя. Для этого:

- В пустую пластмассовую пробирку с крышкой пересыпьте несколько гранул красителя.
- Добавьте 10-15 мл дистиллированной воды.
- Закройте винтовой крышкой и взболтайте.
- Включите фотоколориметр «Экотест-2020-1» (см. руководство по эксплуатации фотоколориметра).
- Измерьте в кювете сначала фон – дистиллированную воду, затем раствор красителя. Значение оптической плотности должно быть в интервале 1,700-1,900 (по шкале фотоколориметра).

- Если значение больше нормы, разбавьте раствор красителя дистиллированной водой. Если меньше – добавьте в раствор один кристалл красителя, хорошо перемешайте и повторите замеры.

3.1.3. Приготовление раствора хлорида натрия концентрацией 2 г/л

- На весах взвесьте 1 г хлорида натрия (обычная поваренная соль, **не йодированная**).
 - Перенесите соль в мерную колбу объемом 500 мл (16).
 - Доведите до метки дистиллированной водой.
 - Закройте рукой горлышко и взбалтывайте до полного растворения соли.
 - Перелейте в пластиковую тару (бутылку) для удобства транспортировки.
- Подпишите «NaCl 2г/л».

Данный раствор используется для приготовления рабочих растворов в биологических пробирках.

3.1.4. Приготовление раствора хлорида натрия концентрацией 20 г/л

- На весах взвесьте 10 г хлорида натрия. Далее действуйте также как в пункте 3.1.3.
- Подпишите «NaCl 20 г/л».

Данный раствор используется для приготовления суспензии хлоропластов.

3.2. Порядок работы

По прибытию на место отбора проб определитесь с местом размещения лаборатории. Если есть помещение с доступом к электричеству, используйте лампу и подключите фотоколориметр «Экотест 2020-1» к сети. Если такая возможность отсутствует, используйте фонарь. Фотоколориметр работает на батареях. Приборы и реактивы разложите в багажнике машины или приобретайте походный стол. Необходимо работать в тени.

3.2.1. Приготовление рабочих растворов элементов минерального питания

Гнезда штатива (14) подписаны в следующем порядке: **K1, K2, N, P, K, KCl, K3, Ca, Mg, B, Cu, K4, Zn, Mn, Fe, K5, Mo, Co, J, K6.**

- Стекланные биологические пробирки (13) поместите в штатив (14). Для одного анализа требуется 20 пробирок.
- Заранее приготовленные стандартные растворы реактивов расставьте в штатив (15) по порядку N, P, K5, KCl, Ca, Mg, B, Cu, Zn, Mn, Fe, Mo, Co, J.
- В стекланные пробирки добавьте по 0,2 мл (200 мкл) соответствующих стандартных растворов пипеточным дозатором №2 (10). В пробирки **K1-K6** ничего добавлять не надо. После добавления каждого элемента наконечник дозатора дважды споласкивайте дистиллированной водой.
- В каждую из пробирок медицинским шприцом добавьте по 10 мл раствора хлористого натрия концентрацией **2 г/л**.

3.2.2. Отбор проб

Непосредственно на месте отбора проб (листьев) в поле измерьте освещенность люксметром. Оптимальный диапазон значений 20000-30000 Люкс. Допустимый диапазон значений 10000-40000 Люкс.

Поле, в зависимости от состояния растений и почвы, поделите на сектора. С каждого сектора по диагонали через каждые 5 метров отбирайте среднюю пробу. В среднюю пробу входят растения наиболее характерные для исследуемой площади. Отбирают 3-4-й лист сверху у хорошо освещенных растений. В случае, когда трудно определить 3-4-й лист, отбирайте молодые, не загрубевшие листья. Срок доставки листьев для анализа должен быть по возможности коротким – не более 30-40 мин. При хранении проб в холодильнике при температуре от +5 до +6°C он может быть увеличен до 2-3 часов.

3.2.3. Приготовление суспензии хлоропластов

После отбора пробы, выберите средние и характерные листья (8-15шт в зависимости от размера) для данного участка, оставьте среднюю часть, отрезая верхнюю и нижнюю части. Вес пробы: 7-20 г. Затем листья мелко порежьте в ступку (5), залейте раствором хлорида натрия 20 г/л (20-25 мл), добавьте на кончике ножниц стабилизатор карбонат кальция CaCO₃. Затем аккуратно пестиком сдавливающими, а не растирающими движениями выдавливайте суспензию хлоропластов. Получившуюся суспензию отфильтруйте. Для этого в мерный цилиндр (6) опустите биологическую пробирку (7), вставьте воронку (8). Отрежьте кусок бинта, сложите в 4 слоя и уложите в воронку. Аккуратно перелейте суспензию из ступки. Дайте отстояться взвеси 5 мин и приступайте к анализу.

3.2.4. Подготовка к работе источника света и реле

- Источник света включите в сеть переменного напряжения 220 В.
 - При помощи секундомера проверьте установленное время работы лампы(20-30 секунд). При необходимости можно провести настройку реле времени.

3.2.5. Подготовка фотоколориметра Экотест 2020-1 к работе (см. руководство по эксплуатации фотоколориметра).

- Включите фотоколориметр Экотест 2020-1 в сеть.
- В кювету (10) налейте дистиллированную воду и измерьте фон.
 - Теперь можете приступать к измерению фотохимической активности суспензии хлоропластов.

3.2.6. Анализ

- В контрольную пробирку **К1** прилейте 0,1 мл раствора красителя пипеточным дозатором №1.
- Туда же добавьте 0,2 мл суспензии хлоропластов пипеточным дозатором №2.
 - Перемешайте встряхиванием зажав горлышко пробирки пальцем.
 - Перелейте получившийся раствор в кювету (17) и измерьте его оптическую плотность на фотоколориметре Экотест 2020-1 при длине волны 620 нм.

- Достаньте кювету из фотоколориметра и 20-30 секунд освещайте кювету источником света. Расстояние между источником света и кюветой должно быть 15 см.
- Вторично измерьте оптическую плотность.

По разности оптической плотности между двумя измерениями судят об активности хлоропластов. Эта разница должна быть не менее 10 условных единиц. За условную единицу следует принимать 0,001 величины, показанной прибором. Если фотосинтетическая активность хлоропластов окажется недостаточной, продолжительность работы лампы можно увеличить до 40-50 секунд.

Аналогично, для каждого элемента минерального питания поочередно проводите определение активности хлоропластов. Так как, хлоропласты в суспензии недостаточно устойчивы, контрольные определения **K2-K6** повторяются через 3-4 определения с добавлением элементов питания. Продолжительность анализа одного образца не более 1 часа. Данные анализа заносятся в таблицу.

Форма записи показана на конкретном примере, указанном в таблице 2. Первое число после каждого элемента – оптическая плотность до засветки, второе число – оптическая плотность после засветки, третье число – разность между первым и вторым. Для удобства записи опущены нули и запятые (на самом деле $0,256 - 0,232 = 0,024$).

После анализа сполосните пробирки дистиллированной водой с помощью промывалки (25). Ступку и пестик сначала промойте водопроводной водой, затем дистиллированной. Соберите реактивы и оборудование в кейс согласно рекомендованной укладке (рис 2). Рекомендуется после приезда с места анализа стеклянные пробирки еще раз промыть сначала водопроводной с моющим средством для посуды, затем дистиллированной водой и высушить.

Таблица 2. Пример формы записи результатов анализа

Элемент	Опт. плотность до засветки А1	Опт. плотность после засветки А2	Активность хлоропластов А1-А2
К2	259	235	24
N	247	221	26
P	253	232	21
KS	247	220	27
KCl	244	224	20
К3	253	230	23
Ca	248	224	24
Mg	252	231	21
B	245	220	25
Cu	248	229	19
К4	252	228	24
Zn	240	216	24
Mn	253	230	23
Fe	249	223	26
К5	240	216	24
Mo	258	232	26
Co	251	228	23
J	244	222	22
К6	254	232	22

*) K1-K6 – контрольные определения, N, P, Ca и т.д. – определения с добавлением исследуемых элементов.

**) в начале анализа делают два контрольных определения активности (первое – пробное) для построения графика используют контроль 2 – K2.

***) при проведении анализа определяют потребность в двух формах калия – сульфатной K_2SO_4 (KS) и хлоридной – KCl.

3.3. Обработка результатов анализа

На основании полученных данных строится график. Образец графика показан на конкретном примере на рис 4.

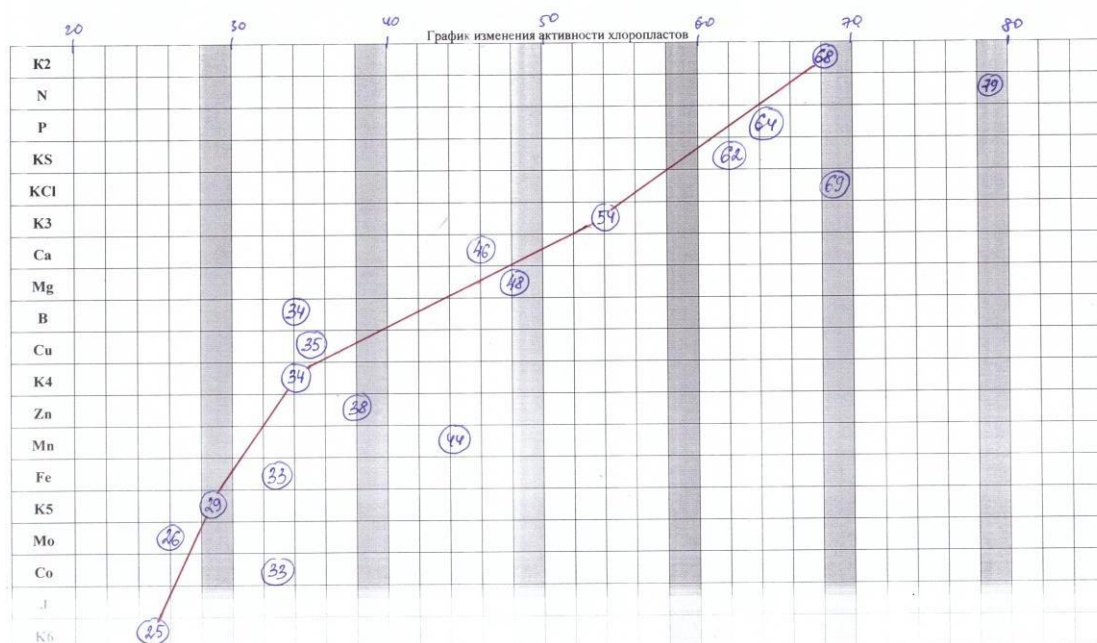


Рисунок 4. Пример графика построенного на основании данных о дефиците минерального питания полученных с помощью переносной лаборатории «ФИТОСКАН»

Уровень активности, лежащий на линии, соединяющей соседние контролы, принимается за 100%. Элементы минерального питания, показатели значений которых на графике находятся слева от контрольной линии, содержатся в растениях в избытке, справа – в недостатке, совпадающие с контрольной линией – в оптимуме.

Контрольные вопросы

1. Какой принцип работы лаборатории «ФИТОСКАН» ?
2. Где применяется лаборатория «ФИТОСКАН»?
3. Что входит в состав лаборатории «ФИТОСКАН»?
4. Как готовят стандартные растворы?
5. Как отбирают пробы?
6. Приготовление суспензии хлоропластов?
7. Приготовление рабочих растворов элементов минерального питания?
8. Приготовление раствора хлорида натрия концентрацией 2 г/л?
9. Приготовление окрашивающего раствора?

Библиографический список

1. Труфляк, Е.В. Точное земледелие: учебное пособие / Е.В. Труфляк, Е.И. Трубилин. - 2-е изд., стер. - Санкт-Петербург: Лань, 2021. - 376 с. – Режим доступа: <https://e.lanbook.com/book/154398>.
2. Труфляк Е. В., Курченко Н. Ю., Тенеков А. А., Якушев В. В. [и др.] Точное сельское хозяйство: учебник для вузов / под редакцией Е. В. Труфляка. — 2-е изд., стер. — Санкт-Петербург: Лань, 2021. — 512 с.
3. Агрохимия : учебное пособие для вузов / Г. Г. Романов, Г. Я. Елькина, А. А. Юдин, Н. Т. Чеботарев. — Санкт-Петербург : Лань, 2021. — 148 с. — ISBN 978-5-8114-6524-8. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/159493>. — Режим доступа: для авториз. пользователей.
4. Ягодин, Б. А. Агрохимия : учебник для вузов / Б. А. Ягодин, Ю. П. Жуков, В. И. Кобзаренко. — 3-е изд., стер. — Санкт-Петербург : Лань, 2021. — 584 с. — ISBN 978-5-8114-8478-2. — Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. — URL: <https://e.lanbook.com/book/176891>. — Режим доступа: для авториз. пользователей.
5. Сигида, М.С. Почвенная и растительная диагностика: Учебное пособие / Сигида М.С., Лобанкова О.Ю., Есаулко А.Н. - Москва :СтГАУ - "Агрус", 2017. - 128 с.: ISBN 978-5-9596-1379-2. - Текст : электронный. - URL: <https://znanium.com/catalog/product/976624> (дата обращения: 12.05.2022). – Режим доступа: по подписке.

