

Kemijska analiza biljnog tkiva

Prof. dr. sc. Vladimir Vukadinović

Utvrdjivanje koncentracije biogenih, korisnih i toksičnih elemenata u biljnoj tvari važan je dijagnostički postupak za procjenu poremećaja ishrane i praćenje raspoloživosti biogenih elemenata, jer je na taj način moguće pouzdano procijeniti potrebe i efekte pojedinih elemenata ishrane na visinu i kvalitetu prinosa. Kemijska analiza bilja značajno je evoluirala tako da je danas primarni i vrlo učinkovit alat u upravljanju hranjivim tvarima u suvremenom biljnom uzgoju. Iznimno je učinkovita tehnika, jer koristi uzgajane biljke za ekstrakciju hranjivih tvari umjesto različitih ekstrakcijskih sredstava kojima se tek simulira snaga i kapacitet korijena za usvajanje hraniva iz tla. Također, utvrđivanjem koncentracije (udio u % ili ppm) i sadržaja (količine) elemenata u biljkama nadopunjuje se kemijska analiza tla i omogućuje predviđanje manjka ili suviška pojedinih elemenata prije pojave vizualnih simptoma. Naime, premda kemijska analiza tla daje brže podatke o raspoloživoj količini hraniva u tlu u odnosu na analizu biljne tvari, a uz to je najčešće znatno jeftinija, u proizvodnim uvjetima, posebice na plodnim tlima, često ne postoji pouzdana veza između raspoloživosti hranjivih tvari u tlu i njihove koncentracije u biljnom tkivu, jer na usvajanje hraniva iz tla utječu mnogobrojni faktori.

Zbog toga je potrebno integrirati sve tehnike za utvrđivanje statusa biljne ishrane, kemijsku analizu biljaka, kemijsku i fizikalnu analizu tla i vizualnu dijagnozu u cilju maksimiziranja učinkovitosti gnojidbe u smislu troškova, kao i sprečavanju štete po okoliš. Osim toga, suvremena analiza biljne tvari visoko je automatizirana, točan i brz proces, a u visoko razvijenim zemljama njena cijena je zanemariva u odnosu na optimizaciju gnojidbe. Npr., u SAD cijena analize biljaka iznosi 20-ak \$ po uzorku, a uključuje određivanje koncentracije dušika (N), sumpora (S), fosfora (P), kalija (K), magnezija (Mg), kalcija (Ca), natrija (Na), željeza (Fe), mangana (Mn), bakra (Cu), bora (B) i cinka (Zn).

Premda se analize tla najčešće koriste kao temelj za izradu gnojidbenih preporuka, nema pouzdanih dokaza da su učinkovite u planiranju gnojidbe višegodišnjih nasada. Naime, stabla i grmolike višegodišnje biljke s malim plodovima imaju dubok korijenski sustav, uzimaju hranjive tvari iz puno veće dubine od 60 cm do koje se uzimaju uzorci tla u nasadima, usvajaju hraniva veći dio vegetacijske sezone, odnosno puno duže od sezonskih usjeva i imaju učinkovite mehanizme za recikliranje hranjivih sastojaka iz sezone u sezonu.

Učinkovita i pravovremena gnojidba prioritet je u svakom proizvodnom sustavu, jer se gnojidbom, u odnosu na sve ostale agrotehničke zahvate, postiže najveće povećanje prinosa (50-ak %, pa i više), obzirom na njen visok udio u sveukupnim troškovima biljne proizvodnje, potrebu nadoknade iznesenih i izgubljenih hraniva iz tla zbog postizanja i očuvanja potrebne plodnosti tla, odnosno zbog postizanja visoke i stabilne proizvodnje u duljem vremenskom periodu, ali i proizvodnji visokokvalitetne hrane. Također, adekvatnom gnojidbom se izbjegava onečišćenje okoliša (npr., zagađivanje vodonosne, frezijske zone, eutrofikacija voda i dr.) kao i degradacija tla (npr., zakiseljavanje ili zaslanjavanje, narušavanje strukture, gubitak organske i dr.). Potrebno je jasno naglasiti kako samo precizne analitičke metode nisu garancija za ostvarivanje visokoproduktivne i profitabilne biljne proizvodnje, jer je u taj proces, osim gnojidbe, uključen poduži niz različitih biotskih (biljnih), abiotskih (okolišnih) i agrotehničkih (proizvodnih) faktora, a svaki od njih može biti tzv. faktor minimuma tijekom cijele vegetacije, ili samo u određeno vrijeme rasta i razvitka, odnosno tvorbe prinosa. Stoga je za preporuku učinkovite i adekvatne gnojidbe potrebno teorijsko znanje, ali i veliko praktično iskustvo.

Prioritetni zadatak odluke o gnojidbi je postaviti dijagnozu, odnosno identificirati faktore minimuma, a tek onda utvrditi potrebnu dozu hraniva, način i vrijeme primjene te dobar proračun (preporuka) gnojidbe ovisi o pouzdanosti analize tla i/ili biljke te znanju i iskustvu eksperta koji te podatke interpretira, a kad su ispunjeni ti uvjeti očekivana je zadovoljavajuća pouzdanost gnojidbene preporuke od ~75 % slučajeva. Dakle, zbog velike varijabilnosti agroekoloških, ekonomskih, tehnoloških i dr. uvjeta proizvodnje, postoji realan rizik pogrešne procjene potrebne gnojidbe za postizanja očekivanog prinosa. Uz dobru gnojidbenu preporuku treba očekivati pouzdanost (očekivanu reakciju usjeva na gnojidbu) od 70 do 80 %, rijetko više, ali često i niže,

jer poljoprivredna proizvodnja uvijek uključuje nepoznanice te [pouzdanost gnojidbene preporuke pozitivno korelira s porastom broja uključenih relevantnih indikatora produktivnosti biljne proizvodnje](#).

[Nedostatak nekog elementa u biljci razmjeran je njegovoj raspoloživosti u tlu i sposobnosti/mogućnosti biljke da ga usvoji, ali i duljini vegetacije u kojoj biljka može usvajati hraniva iz tla](#). Nedovoljna opskrbljenost neophodnim elementima ishrane djeluje na rast i razvoj biljaka i konačno na visinu i kakvoću prinosa preko različitih fizioloških procesa. Slaba ishranjenost može usporavati sintetske, a ubrzavati oksidacijske, ili potpuno blokirati životno važne biokemijsko-fiziološke procese. Naime, biljke posjeduju fiziološke mehanizme kojima pokušavaju ublažiti nedostatak nekog od esencijalnih elemenata. Npr., pojedini elementi usvajaju se ubrzano u ranim etapama razvoja i ta količina dovoljna je za čitav reprodukcijski ciklus. Kada je element ishrane iz grupe mobilnih elemenata, njegova potreba za razvoj i funkcioniranje novih, mlađih organa podmiruju se premještanjem iz starijih organa, odnosno reutilizacijom. Ipak, pojavu reutilizacije treba shvatiti kao nužno zlo za biljku, a nikako kao poželjan proces. Stoga je usvajanje hranjivih tvari prisutno tijekom čitavog vegetacijskog razdoblja biljaka, naravno u različitim količinama, ovisno o potrebi biljaka, kao i njihovoj raspoloživosti.

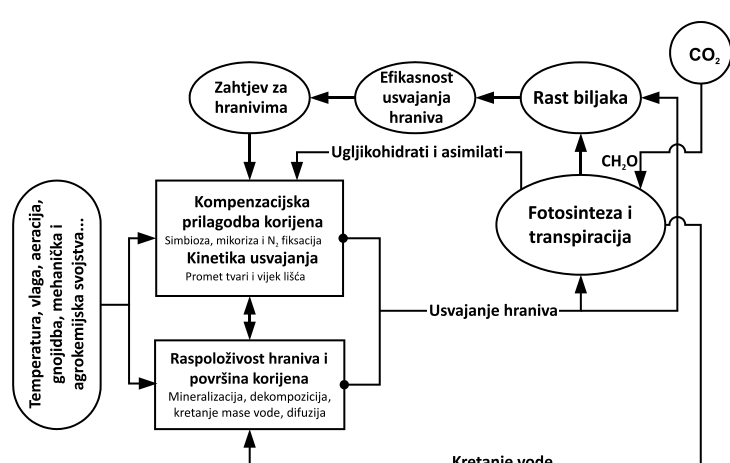
[Kemijski sastav biljaka, ili njihovih pojedinih organa i tkiva odražava djelovanje i interakciju faktora koji djeluju do trenutka uzorkovanja biljne tvari za analizu te je potrebno isključiti biotske i abiotske faktore koji utječu na varijabilnost koncentracije pojedinih elemenata ishrane](#) (npr., nedostatak ili suvišak vode, visoke ili niske temperature, štetočine i bolesti, zbijena i slabo obrađena tla, mehanička oštećenja i toksičnost herbicida itd.), jer oni mogu ometati usvajanje i premještanje hranjivih tvari (Tablica 1.). U takvim okolnostima simptome nedostatka pojedinih elemenata ishrane moguće je ukloniti samo eliminiranjem faktora stresa.

[Biljke iz različitih razloga iskoriste samo jedan dio hraniva iz gnojiva, dok drugi dio potječe iz prirodnih rezervi tla te se mora voditi računa o učinkovitosti gnojidbe](#), ovisno o svojstvima tla, gnojiva, svojstvima i ponašanju elementa ishrane u tlu, specifičnostima biljne vrste, kultivara ili hibrida i drugim faktorima biotske i abiotske prirode. Zbog toga se elementarni sastav biljaka mijenja u prilično širokim granicama pa je potrebno češće koristiti podatke kemijskih analiza biljaka (vrste, kultivara, hibrida dobivenih analizom aktualnih kultivara (sorti i hibrida) na konkretnom agroekološkom području/regiji).

Tablica 1. [Biotski i abiotski faktora koji mogu izravno ili neizravno inducirati nedostatak ili toksičnost elemenata](#)

Faktori	Uzroci
Biotski	<ul style="list-style-type: none"> Pojava bolesti i/ili štetočina koji uzrokuju oštećenje zračnog ili korijenskog sustava i izazivaju simptome slične nedostatku elemenata ishrane, Prirodno starenje lišća, osim vizualnih promjena u izgledu i boji, što je strogo reguliran proces koji uključuje koordiniranu ekspresiju specifičnih gena i hormonalnu participaciju, uglavnom <i>citokinina</i> i <i>etilena</i> u sekvencijalnim događajima i fiziološkim mehanizmima koji još nisu dobro poznati.
Abiotski	<ul style="list-style-type: none"> Ekstremni uvjeti okoliša (temperatura, suša, poplave, jaki vjetrovi), posebno 10 do 15 dana prije uzorkovanja biljnog materijala, kultivacije i uklanjanja korova, Neadekvatna primjena i interakcija gnojiva, posebno mineralnih i folijarnih, organskih tvari, fungicida, insekticida, herbicida, antibiotika, regulatora rasta, koje bi mogle spriječiti apsorpciju hranjivih tvari i izazvati simptome nedostatka elemenata ishrane,, Loši fizički i/ili kemijski uvjeti u tlu izazvani obradom, erozijom, oštrim nagibima, suviškom aluminija, željeza ili mangana, niska razina dostupnih hranjivih tvari i dr., Pogrešna i/ili intenzivna primjena agrotehnike, poput lošeg navodnjavanja, unos svježih organskih tvari (širokog C:N omjera) neposredno ili tijekom vegetacije, obrada i/ili kultivacija koja oštećuje korijen i sl.

Pouzdanost kemijske analize biljaka istraživao je još davno (1945.) [švedski biljni fiziolog i nobelovac Henrik G. Lundegårdh, uspoređujući točnost preporuke za gnojidbu pšenice na temelju kemijske analize tla i biljnog materijala](#) i pokazao kako je analiza biljaka imala 60,5 % točnih, 34,3% nesigurnih i svega 5,2% netočnih preporuka, naspram analize tla gdje je bilo 40,0% točnih, 36,4% nesigurnih i 26,0% netočnih gnojidbenih preporuka.









Slika 1. [Usvajanje i tok elemenata ishrane u biljci](#)

Sadržaj (količina) biogenih elemenata u biljkama ovisi o intenzitetu dvaju povezanih

procesa: a) njihovog usvajanja i b) sinteze organske tvari (Slika 1.). Iako su ti procesi međusobno povezani (porast biljaka ovisi o usvajanju hraniva, a zatim biljke većeg korijenovog sustava, asimilacijskog aparata i intenzivnijeg metabolizma lakše i više usvajaju hraniva), na sadržaj elemenata djeluju suprotno. Naime, povećanim usvajanjem biogenih elemenata raste sinteza organske tvari pa se uslijed "razblaženja" (tzv. Steembjerg efekt) snižava koncentracija elemenata, ali je pritom njihov sadržaj (ukupna količina) u biljkama veći.

Uzorkovanje biljne tvari obavlja se prema protokolu koji uvažava doba vegetacije (*etape organogeneze*), doba dana i specifične dijelove biljaka kako bi se rezultati kemijske analize mogli ispravno interpretirati (Tablica 2.),

 <p>Leguminoze: U cvatnji 25-30 gornjih dijelova lucerne (ili drugih leguminoza) visokih 15 cm ili gornja polovica biljaka kad su visoke do 20 cm.</p>	 <p>Kukuruz:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Prije N-prihrane (visina 10-50 cm) 20-25 gornjih polovica biljaka. • Prije metličnja (visina >50 cm) 20-25 gornjih, potpuno razvijenih cijelih listova. • Metličnja/oprašivanje, 20-25 cijelih listova, odmah ispod i nasuprot klipa.
 <p>Soja i niski grah: Kad je soja viša od 10 cm, a najbolje u cvatnji, uzmite 20-25 potpuno razvijenih trolista.</p>	 <p>Krumpir: U cvjetanju ili početku formiranja gomolja s 20-25 biljaka odsjecite prvi potpuno razvijeni i zreli list (3-5 listova od vrha), a za analizu peteljki 60-70 peteljaka s istog mjesta.</p>
 <p>Sitne žitarice i trave za krmu: Do 10 cm visine odsjecite 60-80 prvih, potpuno razvijenih listova.</p>	 <p>Šećerna repa: U bilo koje vrijeme tijekom vegetacije 40 potpuno razvijenih listova s</p>

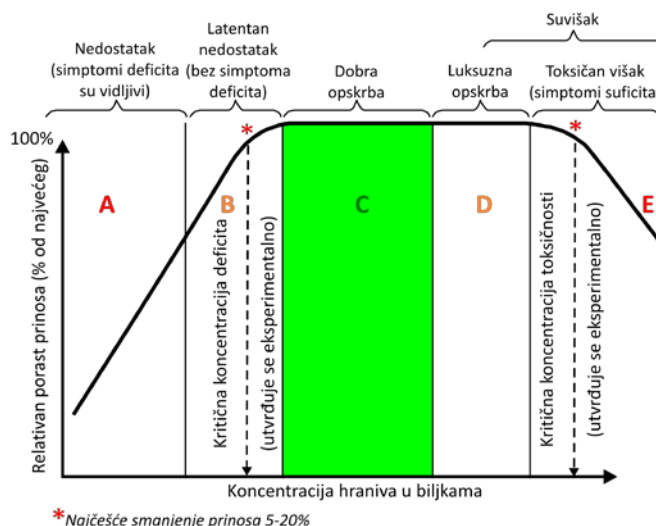
uspoređivati, ali i pratiti status hraniva tijekom duljeg vremenskog perioda, posebice zbog monitoringa i stvaranja baze podataka. Naime, status hraniva u tlu i/ili biljkama je nevidljiv pokazatelj, osim kada nedostaci elemenata ishrane nisu akutni toliko da vizualni simptomi nedostatka postaju jasno uočljivi na biljkama.

Uzorke biljne tvari potrebno što brže osušiti do konstantne mase (obično 48-72h) na relativno niskoj temperaturi (65-70°C) koja će brzo zaustaviti metaboličke i mikrobiološke procese, odnosno zaustaviti biološke i kemijske promjene. Uzorci se čuvaju u papirnatim vrećicama u suhom prostoru do usitnjavanja i analize. U nekim, specifičnim slučajevima, biljna tvar se može analizirati i u svježem stanju, posebice kad se koriste brzi, *semikvantitativni analitički testovi*, npr. za potrebe N-prihrane, ili

rješavanja *akutnog deficita* nekih drugih biogenih elemenata. Tumačenje rezultata analize biljaka temelji se na principu da zdrave i dobro ishranjene biljke sadrže očekivanu (predvidivu) koncentraciju biogenih elemenata.

Rezultati folijarne analize (analiza lišća) pokazuju samo trenutnu koncentraciju (maseni udio, postotak težine suhe ili svježe tvari) elemenata u biljci, ali ne i potrebne doze gnojiva, odnosno količinu aktivne tvari koju treba primijeniti uvažavajući potrebe usjeva u daljnjem tijeku vegetacije. Naime, iako između koncentracije pojedinog elementa u lišću i njegove raspoloživosti u tlu, posebice tlu ispod optimalne plodnosti, najčešće postoji pozitivna korelacijska sprega, usvojena količina svakako je rezultat prethodne raspoloživosti (do trenutka analize) elemenata ishrane. Međutim, u trenutku analize tog hraniva, npr., kad se analiza obavlja znatno prije žetve ili ubiranja plodova, više ga ne mora biti dovoljno na raspolaganju u tlu, posebice za povećane potrebe u narednom razdoblju rasta.

Analiza elemenata ishrane u nekim slučajevima se obavlja u svježim peteljka lišća jer su dobar indikator ishranjenosti nitratnim dušikom koji biljke koriste kao N-rezervu (amonijski dušik je toksičan i odmah se



Slika 2. Odnos koncentracije hranjivih tvari u biljkama i relativna proizvodnja.

ugrađuje u procesu sinteze bjelančevina), a mogu se utvrditi u peteljkaama nakon 3-4 dana od primjene N-NO₃. Npr., u lišću ozimih žita pred N-prihrane, ali i u navodnjavanom krumpiru, šećernoj repi itd., peteljke su izvrstan indikator opskrbljenosti dušikom.

Rezultati kemijske (elementarne) analize biljne tvari se interpretiraju najčešće usporedbom vrijednosti koncentracije pojedinog biogenog elementa (CNL; Critical Nutrient Level, Tablica 3.), rjeđe omjerom dva (tzv. DRIS metoda; Diagnosis and Recommendation Integrated System, Tablica 4.), ili više elemenata (tzv. CND metoda; Compositional Nutrient Diagnosis) s odgovarajućom standardnom vrijednošću koja se smatra optimalnom za konkretno agroekološko područje i aktualni sortiment. CND i DRIS metoda

temeljem utvrđenog omjera pojedinih elemenata smanjuju nekontrolirane učinke akumulacije biomase (rasta) te se često koriste neovisno od agroekološkog područja. CND metoda temelji se na omjeru koncentracije u listu jednog elementa ishrane sadržaja i geometrijske srednje vrijednosti ostalih elemenata (multivarijabilni odnosi), uključujući razine koje nisu analitički određene u svrhu izraza ravnoteže. CND standardi pokazali su se osjetljivijim i pouzdanijim od DRIS standarda, ali se te metode još uvijek intenzivno

Tablica 3. DRIS norma za kukuruz

Omjer	Prosjek	Kv%
N/P	10,04	15
N/K	1,49	22
Ca/N	0,18	47
Mg/N	0,10	45
K/P	6,74	25
Ca/P	1,88	50
P/Mg	1,07	48
Ca/K	0,32	59
Mg/K	0,14	67
Mg/Ca	0,53	36

N, P, K, Ca, Mg (g kg⁻¹)

između njegove koncentracije i visine prinosa (Slika 2.). Kada koncentracija biljnih hraniva dopušta 80-95% maksimalne visine prinosa ona odgovara tzv. kritičnoj razini, a raspon koncentracije hraniva između kritične razine i maksimalne proizvodnje označava se kao dobra, adekvatna ili dostatna ishrana (Slika 2.).

Tablica 4. Raspon dovoljnosti N, P i K za pet odabranih kultura

Usjev	N (%)		P (%)		K (%)	
	min.	max.	min.	max.	min.	max.
Kukuruz	2.70	4.00	0.25	0.50	1.70	3.00
Pšenica	1.75	3.00	0.21	0.50	1.50	3.00
Soja	4.00	5.50	0.26	0.50	1.70	2.50
Krastavac	4.50	6.00	0.34	0.75	3.90	5.00
Rajčica	4.50	6.00	0.25	0.75	2.90	5.00

proučavaju i nadograđuju. Međutim, važno je naglasiti kako niti jedna metoda neće ispraviti pogreške nastale zbog promjenjivog utjecaja biotskih (biljnih), abiotskih (okolišnih) i agrotehničkih (proizvodnih) faktora tijekom vegetacije.

Većina biljaka nema jedinstvenu koncentraciju biogenih elemenata za optimalnu proizvodnju, već je to najčešće relativno širok raspon (Tablica 3.) pa je to osnovni razlog zašto su preporuke gnojidbe gotovo uvijek malo iznad kritične razine, ali je preporučena razina unutar raspona dobre opskrbe, odnosno dostatnosti (Slika 2., označeno zeleno). Korištenje raspona proširuje optimalnu točku u optimalan raspon koji se tako prilagođava varijabilnim uvjetima uzgoja. Općenito, raspon dostatnosti odgovara 90-100% maksimalne proizvodnje. U prijelaznom području ili zoni simptoma, nedostatak nekog elementa ishrane nije vidljiv (tzv. latentni poremećaj ishrane; skrivena glad), ali ipak postoji izravna veza

U Osijeku, 28. svibnja 2020. god.