تقدير بعض العناصر المعدنية المُغذية في أوراق أشجار البرتقال لبعض المزارع بالمنطقة الغربية

أ ـ أبوبكر حسين محمد الطالب ،، كلية التربية العجيلات ـ جامعة الزاوية

الملخص :

هنالك العديد من المشاكل التي تعانيها أشجار الحمضيات في بلادنا والتي انعكس سلبًا على كمية وجودة الإنتاج. يرجع السبب لعدة عوامل، منها: انخفاض نسبة العناصر المُغذية التي يحتاجها النبات، والراجع لعدم الاهتمام بهذه الأشجار ومنها المتابعة المخبرية لمعرفة معدل هذه العناصر، وتزويد النبات بها عند الحاجة وحسب ما تظهره التحاليل المخبرية.

ولهذا قمنا بهذه الدراسة التحليلية التي تمَّت على عدد من مزارع الحمضيات بمنطقة أبي عيسى وصرمان وصبراته، حيث تمَّ جمع عينات من أوراق أشجار البرتقال لتعيين نسبة بعض العناصر المُغذية بها، والتي من خلالها معرفة معدلات هذه العناصر، وبهذا يمكن تحديد مدى احتياج هذه الأشجار لهذه العناصر من عدمه، والذي بدوره ينعكس بشكلٍ إيجابيٍّ على الأشجار ومنه على كمية الإنتاج وجودة الثمار.

تتمحور هذه الدراسة التحليلية حول تعيين نسبة عنصر الصوديوم (Na)، البوتاسيوم (K)، النحاس (Cu)، والزنك (Zn) في أوراق أشجار البرتقال، وتتمُّ هذه العملية بتجفيف عينات الأوراق وطحنها على شكل مسحوق، ثم أخذ كمية من كل عينة وتحويلها إلى رماد في فرن حراري مرمد (تحت درجة حرارة 500 مئوية)، ثم إذابة هذه العينات في محلول حمض الهيدروكلوريك (HCL تركيز6%)، وإكمال الحجم حتى العلامة بالماء المقطر، وبهذا تكون العينة جاهزة للتحليل، ويتم تحليل هذه العينات باستخدام جهار التحليل الطيفي باللهب وجهاز التحليل بالطيف الامتصاص الذري.

بشكلٍ عامٍ وفي الغالب عند تقدير نسبة عنصر الصوديوم والنحاس أعطتِ العينات غالبًا نتائج عند مستوى منخفض إلَّا أنَّه في المدى القياسي للمعايير المعتمدة. أمَّا عنصر البوتاسيوم فكانت القراءات منخفضة تحت المدى القياسي المعتمد باستثناء إحدى العينات التي أظهرت معدل طبيعي منخفض. أمَّا عنصر الزنك فكانت قيم القراءات لجميع العينات منخفضة جدًّا ودون المستوى الطبيعي المعتمد.

Title:

Estimate some metal nutrients in the orange trees of some farms in the western region

Abstract:

There are many problems experienced by citrus trees in our country, which negatively affected the quantity and quality of production. The reason is due to several factors, including the low percentage of nutritious mineral elements needed by the plant and the reason for the lack of interest in these trees, including laboratory follow-up to know the rate of these elements and supplying the plant with them when needed, according to what laboratory analyses show. That is why we carried out this analytical study that was carried out on number of citrus farms in abiu Issa, surman, Sabratha, where samples were collected from orange leaves to determine the percentage of some mineral elements in them, through which we know the rates of these element and thus can determine the extent to which these trees need these elements or not, which in turn it is positively reflected on the trees and from it on the quantity and quality of the fruits.

This analytical study revolves around determining the proportion of sodium, potassium, copper, and zinc in the leaves of orange trees. Hydrochloric acid solution has a concentration of 6% and complete the volume up to the mark with distilled water, so the samples is ready for analysis. These samples are analysed using flame spectroscopy and atomic absorption spectroscopy.

In general, and mostly when estimating the proportion of sodium and copper, the samples often gave results at a low level, but it is within the standard range of the approved standards. As for potassium, the readings were low below the approved standard range, except for one of the samples that showed a low normal rate. As for zinc, the readings for all samples were very low and below the approved normal level.

Key word; citrus, Mineral Nutrition, macronutrients, micronutrients.

المقدمة:

تتميز منطقة حوض البحر المتوسط والتي من ضمنها ليبيا بمناخ معتدل مناسب لنمو أشجار الحمضيات، حيث تُعدُّ بلادنا من ضمن الدول المنتجة لأجود ثمار الحمضيات على المستوى العالمي، وخصوصًا المنطقة الغربية من البلاد، حيث يُعدُّ هذا المنتج مصدر اقتصادي واعد للدخل الوطني، إذ تأتي الموالح في المرتبة الثالثة في الفاكهة عالميًا بعد العنب والتفاح.

ولما لاحظناه من وجود العديد من المشاكل التي تواجهها أشجار الحمضيات التي أدَّى إلى تراجع وانخفاض في الكميات المنتجة على الصعيد الوطني، وذلك بسبب العديد من العوامل والتي منها عدم الاهتمام بالأشجار وعدم تزويدها بالعناصر المغذية اللازمة للنمو بشكلٍ جيدٍ.

حيث استلزمتِ الحاجة لضرورة وجود حل لهذه المشاكل، والتي من ضمنها تراجع معدل إنتاج هذه المحاصيل بسبب العديد من المشاكل، والتي أبرزها انخفاض معدل تركيز العناصر المُغذية اللازمة لنمو هذه الأشجار بشكلٍ طبيعيٍّ، والذي يؤدي إلى انخفاض جودة وكمية الإنتاج، ولهذا لزمتِ الحاجة لإجراء تحليل لهذه العناصر في أوراق الأشجار ومعرفة معدلاتها، وبالتالي يتم تزويد تلك الأشجار بالعناصر اللازمة حسب الحاجة التي تظهرها نتائج التحليل، ومن ضمن هذه العناصر المُغذية عنصر الصوديوم (Na)، البوتاسيوم (K)، النحاس (Cu)، والزنك (Zn) والتي في إطار بحثنا.

قمنا بأخذ عدة عينات لأوراق أشجار البرتقال، حيث أُخذت عينة من كل مزرعة بمعدل مزرعتين من كل مدينة (أبي عيسى، صرمان، صبراته)، وأُجريت بعض التحاليل لبعض العناصر في أوراق أشجار البرتقال لهذه المزارع، وذلك باستخدام جهاز التحليل الطيفي بالامتصاص الذري والتحليل الطيفي باللهب، والتي تم تحليلها **بالمركز النوعي بمصفاة الزاوية**، حيث أظهرتِ النتائج المتحصل عليها للعينات المأخوذة للأوراق مستوى متدني لتلك العناصر. وهذا يتفق مع ما لاحظناه أثناء زيارتنا لهذه المزارع، وهو ظهور اصفرار وتبقع ملحوظ ومتفاوت على الأوراق وضعف في النمو بشكلٍ عامٍ.

أهداف الدراسة:

1- توفير الكثير من الجهد والمصاريف التي ليس في محلها ولا تعطي النتائج المرجوة.

2- - مقاومة الآفات والأمراض المُسببة للتدهور الصحي للنبات، بسبب نقص العناصر الغذائية اللازمة للنمو بشكل جيد.

3- الحصول على محاصيل ذات إنتاجية جيدة، وحسب الشروط والمواصفات المطلوبة.

منهجية الدراسة:

اعتمدتِ الدراسة على المنهج التحليلي من خلال جمع العينات، وتحليلها ومقارنة النتائج بالمعايير القياسية المعتمدة.

الإطار النظري:

العناصر المعدنية المُغذية:

تحتاج النباتات بشكلٍ عامٍ إلى العناصر الغذائية لبناء أنسجتها المختلفة، وهو ما يُعرف بالتغذية المعدنيةMineral Nutrition ، وتتضمن التغذية المعدنية عناصر غذائية ضرورية لحياة النبات، وتنقسم بدورها إلى قسمين: (1، 2)

مجموعة العناصر الغذائية الكبرى:

وهي العناصر الغذائية التي يحتاجها النبات بكميات كبيرة، ويقدر محتواها في المادة الجافة بحدود 0.1 – 0.6 % (أي بحدود 1-60 ملغم/ غم) وتشمل :(الكربون، الهيدروجين، الأوكسجين، النيتروجين، الفسفور، البوتاسيوم، الكالسيوم، المغنيسيوم، الكبريت).

مجموعة العناصر الغذائية الصغرى: وهي العناصر الغذائية التي يحتاجها النبات بكميات قليلة ويقدر محتواها في المادة الجافة بحدود 1 – 200 جزء بالمليون وتشمل: (الحديد، النحاس، المنغنيز، الزنك، البورون، المولبدنم و الصوديوم والكلور).

وظائف العناصر الغذائية الضرورية في النبات: كل عنصر غذائي ضروري له وظيفة أو وظائف معينة في النبات، ويمكن ذكر الوظائف العامة
للعناصر الغذائية في النقاط التالية:

1. بناء بروتوبلازم الخلية الذي يتكوَّن من البروتين والدهون والكربوهيدارت وغيرها.
2. تكوين معظم الأنزيمات اللازمة للعمليات الحيوية والنمو.
3. بناء الأنسجة النباتية التي تدعم وتحمي الخلايا.
4. العناصر الغذائية تؤثر على خواص عديدة في الخلايا النباتية مثل: الأسموزية ونفاذية الأغشية الخلوية وال pH [3]

ومن العناصر الضرورية والتي لها دور أساسي في تغذية النبات والتي تتمحور حولها هذه الدراسة، وهي الصوديوم، البوتاسيوم، النحاس والزنك، والتي يمكن التطرق لدورها الحيوي فما يلي: (1، 2، 4)

الصوديوم Na : تحتاجه النباتات بنسبة بسيطة للغاية في العمليات الحيوية، كما تستخدمه بعض النباتات لتحفيز تركيز ثاني أكسيد الكربون بها، وعلى العموم فإنَّ للصوديوم دور مهم للمحافظة على التوازن الأيوني داخل النبات وحركة المياه داخل الخلية.

البوتاسيوم K : للبوتاسيوم العديد من الأدوار الحيوية التي يقوم بها في النبات، حيث يمكن ذكرها في العديد من النقاط التالية:

- يلعب البوتاسيوم دور هام في العمليات الحيوية فهو ضروري في تكوين البروتينات والمواد الكربوهيدراتية واختزال النترات في النباتات، ويساعد في تحويل الكربوهيدرات إلى دهون، وهو عامل مساعد له أهمية كبيرة في العمليات الكيميائية داخل النبات، وينشط بعض الأنزيمات المنتجة للبروتين كما يساعد في تمثيل البروتين.
- يلعب البوتاسيوم دورًا مهمًا في حركة السكريات من الأوراق إلى أجزاء النبات الأخرى.
- البوتاسيوم مسؤول عن ضبط حركة الخلايا الحارسة في الثغور التنفسية، وكذلك محتوى الماء في النبات.
- البوتاسيوم له تأثير في زيادة مقاومة النبات للأمراض، وكذلك في زيادة المقاومة لدرجات الحرارة المرتفعة والصقيع. كما أنَّ له دور في قيام عنصر الحديد بوظائفه الحيوية في تكوين الكلوروفيل.

النحاس Cu : لعنصر النحاس عدة وظائف حيوية يقوم بها في النبات، والتي يمكن تحديدها في النقاط التالية:

- عامل مساعد في تكوين أنزيمات التنفس والأكسدة وتكوين اليخضور.
- يلعب دوراً في تفاعل الآزوت داخل النبات.
- يزيد في مقاومة النبات للأمراض الفطرية.

الزنك Zn : الزنك عنصر له وظائف حيوية عديدة يقوم بها في النبات ومنها:

- يلعب دورًا في تشكيل الهرمونات النباتية.
- يلعب دورًا أساسيًا في تشكيل التريتوفان المركب النباتي الذي يتركب منه الأكسجين.
- يدخل في تركيب بعض الخمائر وحده أو بالاشتراك مع بعض العناصر الأخرى كالنحاس.

أعراض النقص: إنَّ النقص في العناصر المغذية الأساسية يؤثر على النبات وتظهر أعراض النقص، والتي أحيانًا يمكن تمييزها بسرعة، ولكن أغلب الأحيان لا يكفي التشخيص العيني خاصة عندما يتطلب الأمر علاجًا، إذ قد يؤدي إضافة عنصر ما إلى الإضرار بالنبات، ويمكن توضيح أعرض النقص لبعض العناصر: (1، 2، 5)

الصوديوم: غالبًا لا توجد أعراض نقص لعنصر الصوديوم، حيث يوجد في المياه المستخدمة في الري. وفي حالة كانت المياه عالية الملوحة يحدث ما يسمَّى بالتسمم بأملاح الصوديوم والكلور، وهو يعني ارتفاع تركيز هذه العناصر في النبات كما هو موضح في الشكل 1.

الشكل 1 يوضح التسمم بالأملاح الصوديوم والكلور

البوتاسيوم:

أعراض نقص البوتاسيوم تظهر على الأوراق الحديثة بشكل بقع بنية والفريعات الحديثة تكون رفيعة وطويلة، أما الأوراق القديمة تصفر حوافها ثم تتحول إلى اللون البني ثم الجفاف والسقوط المبكر، كما هو موضح في الشكل 2، وبالتالي تكون مواصفات الثمار الناتجة سيئة.

الشكل 2 يوضح اعرض نقص البوتاسيوم

النحاس: ظهور جيوب الصمغ تحت القلف مع بقع ملونة على القلف في أطراف الأغصان مع سقوط الأوراق، وقصر في المسافة بين عقد الأغصان وموت يبدأ من الأطراف إلى الخلف، مع تأخر النمو واصفرار الأوراق وموت البراعم كما يظهر في الشكل 3.

الشكل 3 يوضح أعراض نقص النحاس

الزنك: يظهر على النموات الحديثة اصفرار بين العروق مع بقاء أجزاء حول العروق خضراء، تقزم الأوراق واستطالها وقصر السلاميات بين العقد مع ضعف قدرة الأشجار على تكوين البراعم الثمرية، الشكل 4، وكذلك صغر في حجم الثمار وسمك قشرتها.

الشكل 4 يوضح أعراض نقص عنصر الزنك

الطريقة والمواد:

جمع العينات:

تم أخذ عينات من الأوراق الناضجة حديثًا لأشجار البرتقال، ومن ست مزارع بمنطقة أبي عيسى وصرمان وصبراتة، وبمعدل مزرعتين من كل مدينة، وتم وضع كل عينة في كيس ورقي والتي تسمح بعملية النتح لتقليل احتمالية التعفن.

المعالجة المخبرية للعينات (تحضير العينات):

1- ينظف النسيج الورقي للنبات بغية إزالة الغبار وبقايا مبيدات الآفات والأسمدة، وذلك بغسل أوراق النبات بالماء المقطر عدة مرات.

2- تم تجفيف عينات أوراق النبات بشكل فوري في الفرن، لوقف النشاط الأنزيمي وذلك تحت درجة حرارة 65 مئوية لمدة 24 ساعة.

3- تم طحن العينات أليًّا حتى تحصلنا على مسحوق، ثم مرر على منخل قطر فتحته 60 mesh. مع اتخاذنا الحيطة لتجنب التلوث بالعناصر التي هي قيد التحليل، وبهذا تكون العينات جاهزة للتحليل. الشكل 5

المحاليل المستخدمة:

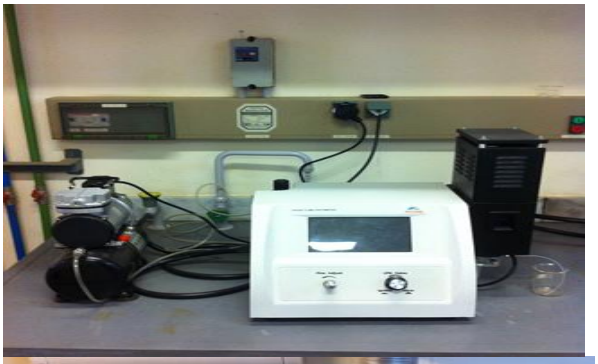
نأخذ 82.8 مل من حمض HCL (36% تركيز) ونخفف بالماء المقطر، ثم نكمل الحجم إلى 500 مل حتى العلامة، وبهذا نحصل على الحمض بتركيز 6%. ثم تم تحضير المحاليل القياسية للعناصر المراد تحليلها (Zn, Cu, K, Na) من أملاحها (ZnCL2, CuCL2 ,KCL , NaCL)، حيث تم تحضير تركيز 1000 ppm لكل هذه العناصر،

ومنه تم تحضير العينات القياسية بتراكيز على النحو التالي: 10، 50، 100 ppm.
الشكل 6

الشكل 5 عينات الورق جافة ومطحونة **الشكل 6 العينات القياسية المحضرة**

الأجهزة المستخدمة:

جهاز التحليل الطيفي بالامتصاص الذري، جهاز التحليل الطيفي باللهب الشكل 7، 8، فرن حراري (مرمدة) وجفنات من البرسلين (سعة 30-50 مل).



الشكل 7 جهاز التحليل الطيفي بالامتصاص الذري **الشكل 8 جهاز التحليل الطيفي باللهب**

طريقة العمل: طريقة الترميد الجاف:

1- وزن 1 جم من المادة المطحونة لكل عينة من العينات الورقية للنبات، ونضع كل عينة في جفنة من البورسلين سعتها 30-50 مل. الشكل 9

2- نضع الجفنات في المرمدة muffle furnace ثم نرفع درجة الحرارة تدريجيا حتى تصل إلى 500 درجة مئوية.

3- نستمر في عملية الترميد لمدة 5 ساعات ثم نطفي المرمدة ونفتح الباب حتى تبرد العينات بسرعة. الشكل 10

الشكل 9 العينات الورقية للنبات في جفنات من البرسلين **الشكل 10 الفرن الحراري (المرمدة)**

4- نخرج الجفنات من المرمدة ونظيف 5 مل HCL (تركيز 6%) بلطف لكل عينة مع المزج بقضيب بلاستيكي.

5- بعد مرور 15 دقيقة نفرغ العينات من البوتقات في دوارق مسطحة القاع، ونكمل الحجم إلى 50 مل بالماء المقطر، ونتركها لمدة 30 دقيقة ثم نرشح باستخدام ورقة ترشيح حجم Whatman NO 42.

وبالتالي تكون العينات جاهزة للتحليل باستخدام جهاز الطيفي باللهب للـ (Na, K) بوحدة (%)، وجهاز الطيفي بالامتصاص الذري للـ (Zn, Cu) بوحدة (mg/l).

وتم تقدير تركيز العناصر المراد تعيينها في العينات بمعايرتها مع المحاليل القياسية المحضرة سلفًا، وعينة الشاهد (حمض HCL تركيز 6% بدون عينة). (6، 7، 8)

النتائج ومناقشتها:

تم تحليل ست عينات لتقدير كمية كلا من الصوديوم (Na)، البوتاسيوم (K)، النحاس (Cu) والزنك (Zn) في أوراق أشجار البرتقال، حيث تم أخذ العينات بمعدل مزرعتين من كل مدينة وعلى النحو التالي: العينة رقم 1، 2 (أبي عيسى)، العينة 3، 4 (صرمان)، العينة رقم 5، 6 (صبراتة). والموضحة حسب الجدول رقم 1 التالي..

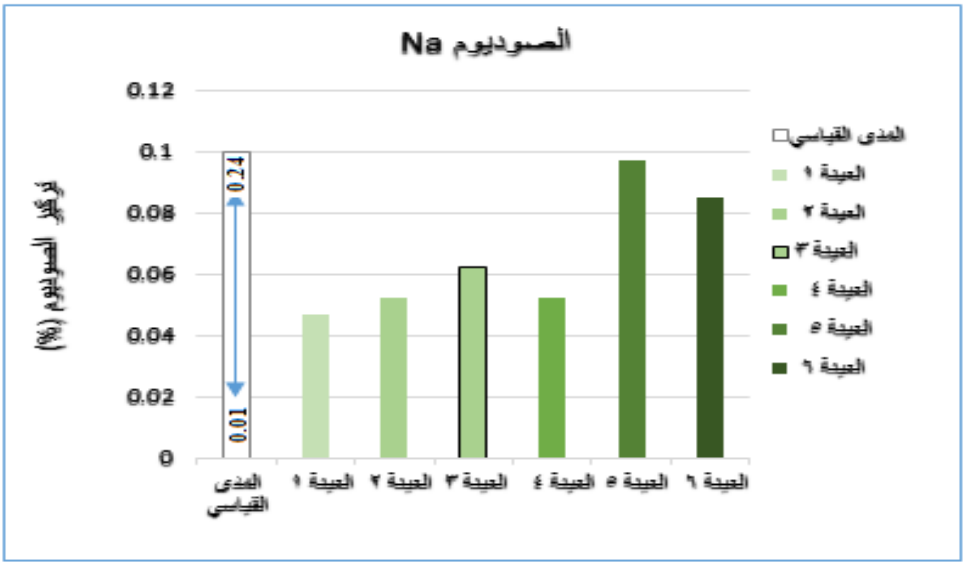
الجدول رقم 1 يوضح النتائج المتحصل عليها للعينات التي تم اختبارها والمدى الطبيعي المسموح به

Element (unit) / Sample NO	1	2	3	4	5	6	Range
Na (%)	0.047	0.052	0.062	0.052	0.097	0.085	0.01 ---- 0.40
K (%)	0.134	0.116	0.164	0.185	0.448	0.186	0.42---- -1.92
Cu (mg/l) ppm	0.188	1.667	1.142	1.243	1.815	1.792	0.83---- -11.24
Zn (mg/l) ppm	0.4304	0.0792	0.4964	0.6931	0.9605	1.0277	9.01---- 43.92

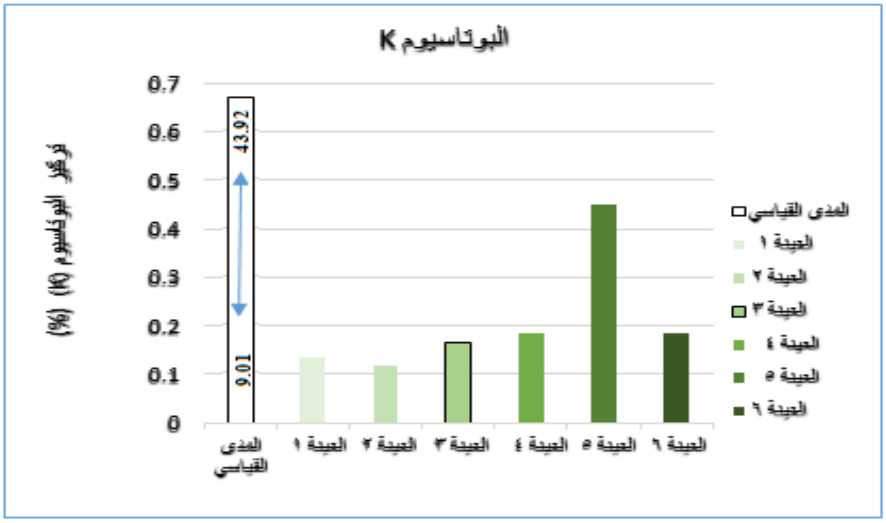
لقد أظهرتِ النتائج من خلال الجدول أنَّ هنالك تفاوت نسبي في قيم معظم قراءات نتائج العينات التي تم تقديرها. التي قُورنت بالمدى القياسي التي تم اعتماده بناءً على النتائج المأخوذة كمعيار من خلال تحليل 217 عينة لهذه العناصر. [2]

عنصر الصوديوم:

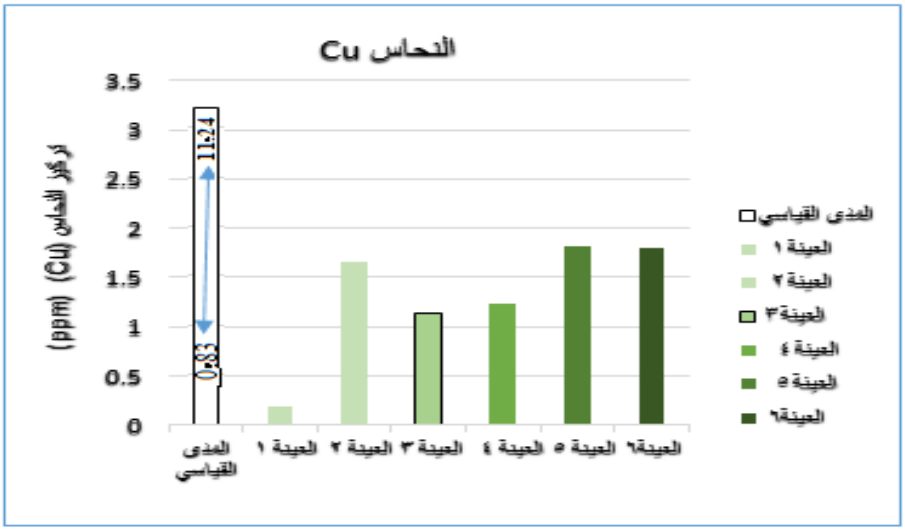
يوضح المخطط 1 القراءات المأخوذة للعينات المختبرة لتقدير عنصر الصوديوم وبوحدة (%).



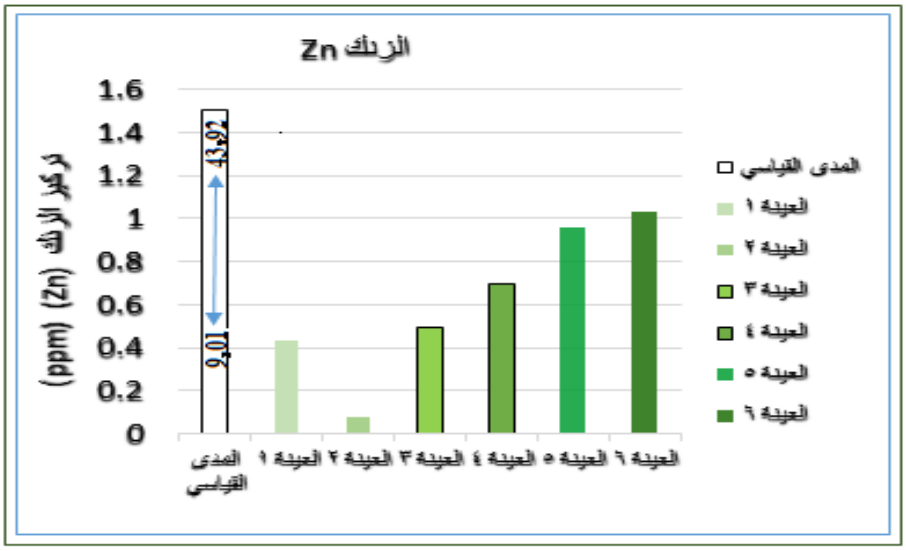
عنصر البوتاسيوم: يوضح المخطط 2 القراءات المأخوذة لتقدير عنصر البوتاسيوم في العينات المختبرة وبوحدة (%).



عنصر النحاس: يُوضح المخطط 3 القراءات المأخوذة لتقدير عنصر النحاس في العينات المختبرة بوحدة mg/l (ppm).



عنصر الزنك: يوضح المخطط 4 القراءات المأخوذة لتقدير عنصر الزنك في العينات المختبرة بوحدة mg/l (ppm).



النتائج التي سيتم مناقشتها للعينات التي تم اختبارها لأوراق أشجار البرتقال، والتي تم أخذها من عدة مزارع بالمنطقة الغربية (أبي عيس، صرمان وصبراتة).

من النتائج المتحصل عليها للعينات لتقدير النسبة المئوية (%) لعنصر الصوديوم في العينات المختبرة أظهرت أنَّ القراءات كانت متدنية إلَّا أنَّها في المدى الطبيعي للقيم القياسية المعتمدة.

أمَّا القراءات المتحصل عليها لتقدير النسبة المئوية (%) لعنصر البوتاسيوم في العينات التي تم اختبارها، كانت تحت المعدل الطبيعي التي يجب أن تحتويه العينات المختبرة باستثناء العينة رقم 5، والمأخوذة من أحد المزارع بمنطقة صبراتة، والتي أظهرت معدل طبيعي أدنى مقارنة بالمعدل القياسي المعتمد الذي يتراوح بين (0.42 – 1.92 %).

من القراءات المتحصل عليها لتقدير عنصر النحاس وبوحدة mg/l (ppm) لهذه العينات أنَّ نسبة عنصر النحاس في كل العينات في المدى الطبيعي الأدنى عند مقارنته مع قراءات المدى القياسي المعتمد الذي يتراوح بين (0.83 – 11). باستثناء العينة رقم 1، والمأخوذة من أحد المزارع بمنطقة أبي عيسى والتي أظهرت معدل منخفض جدًّا مقارنة بباقي العينات الأخرى.

أمَّا النتائج المتحصل عليها لتقدير عنصر الزنك في العينات المختبرة وبوحدة mg/l (ppm) أظهرت أنَّ قيم عنصر الزنك لكل العينات منخفضًا جدًّا، ودون المستوى الطبيعي وخصوصًا العينة رقم 2 المأخوذة من أحد المزارع بمنطقة أبي عيسى وعند مقارنتهم مع المدى الطبيعي للقراءات القياسية، والتي تتراوح بين (9.01 – 43.92).

بشكل عام ومن قيم النتائج أنَّ نسبة العناصر في كل العينات في معدل المدى الطبيعي متدني أو أدني منه، وهذا يظهر أنَّ أشجار البرتقال تفتقر للعناصر المغذية التي تحتاجها للنمو بشكلٍ جيدٍ. هذا ما تمَّ ملاحظته عند مشاهدة الأوراق والتي يظهر عليها اصفرار وتبقع ملحوظ ومتفاوت، وكذلك ضعف النمو بشكلٍ عامٍ الذي يوحي الى وجود نقص في هذه العناصر.

التوصـــــيات:

1- الاهتمام والمتابعة الدورية لهذه المحاصيل عن طريق الخبراء الزراعيين، وإبــداء الإرشادات الزراعية لمعالجة المشاكل الملاحظة في الوقت المبكر قبل تفاقمها.

2- توعية صاحب المزرعة وذلك لاكتساب الخبرة ومعرفة التعامل مع العقبات التي قد توجهه.

3- يجب تزويد أشجار البرتقال بالعناصر المغذية سوى الكبرى أو الصغرى عن طريق الأسمدة العضوية أو الكيميائية سواء في التربة أو عن طريق الرش وفي الفترات الزمنية المناسبة.

4- إنشاء وحدات بحثية متخصصة في هذا المجال في المناطق التي تنمو فيها هذه المحاصيل.

الهوامـــــــــــش:

References:

1- P.Abesekara , Review on the impact of micro-nutrients on the growth, yield and post-harvest quality of citrus. January 20. https://www.researchgate.net/publication/277735241.

2- F. García-Sánchez, J.Pérez-Pérez, V. Gimeno, J. M Navarro. Rapid estimation of nutritional elements on citrus leaves by near infrared reflectance spectroscopy. https://www.researchgate.net/publication/280305015.

3- ياسين: بسام طه. 2001 . أساسيات فسيولوجيا النبات – كلية العلوم – جامعة قطر.

4- chapter3; Essential Nutrients for Plant Growth: Nutrient Functions and Deficiency Symptoms**.** J. A. Silva and R. Uchida, eds. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa, ©2000.

4- دور العناصر الغذائية في حياة النبات، د. ناصر خميس الجيزاوي :E-mail
Nasser.elgizawy@fagr.bu.edu.eg

6- الدليل المختبري لتحليل التربة والنبات. جون راين، جورج اسطفان وعبد الرشيد. المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (ايكاردا) 2003. email; icarda@cgiar.org

7- plant analysis reference procedures for the southern region of the united states. C. Owen plank, editor. The university of Georgia.

8- analysis of mineral nutrients; sampling techniques and method of digestion for plant samples. V.plaul, R.plandy. https://www.researchgate.net/publication/321268329**.**