"مجله علوم زراعی ایران"
جلد سیزدهم، شماره ۱ بهار ۱۳۹۰

اثرموقعیت و سن برگ بر محتوای نیتروژن و اعداد کلروفیل متردر چغندرقند
Effect of leaf position and age on the nitrogen content and chlorophyll meter values in sugar beet

شادی جواهری[۱]، محمد عبداللهیان نوقابی[۲]، علی کاشانی[۳]، حمید نوشاد[۴] و داوود حبیبی[۵]

چکیده

جواهری،ش.، م. عبداللهیان نوقابی، ع. کاشانی، ح. نوشاد و د. حبیبی. ۱۳۹۰. اثرموقعیت و سن برگ بر محتوای نیتروژن و اعداد کلروفیل متر در چغندرقند. **مجله علوم زراعی ایران. ۱۳ (۱) ۹۸-۸۷.**

این آزمایش به منظور بررسی اثر موقعیت و سن برگ بر میزان نیتروژن کل برگ و اعداد کلروفیل متر با استفاده از کلروفیل متر دستی (SPAD) در تیمارهای کود نیتروژن طی مراحل مختلف رشد چغندرقند در سال ۱۳۸۶ در مزرعه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات اصلاح وتهیه بذر چغندرقند واقع در کمال شهر کرج به صورت کرت‌های دو بار خرد شده در زمان برپایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. نیتروژن پیش کاشت از منبع اوره در مقادیر ۱۲۰، ۱۶۰، ۲۰۰ و۲۴۰ کیلوگرم در هکتار همراه با شاهد (بدون مصرف نیتروژن) به عنوان عامل اصلی و مراحل رشد گیاه به عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. اعداد کلروفیل متر با استفاده ازدستگاه کلروفیل‌متر دستی (SPAD) در برگ‌های شماره ۵، ۱۰ و ۱۵ طی پنج مرحله رشدی چغندرقند بر اساس تعداد برگ در بوته (۶- ۳، ۱۲-۶، ۱۵- ۱۲، ۱۸- ۱۵ و۲۰-۱۸ برگی) قرائت شد. هم زمان در برگ‌هایی که قرائت کلروفیل‌متر صورت گرفته بود، میزان نیتروژن کل برگ به روش کجلدال و غلظت کلروفیل‌های a، b و ab اندازه‌گیری شدند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر کود نیتروژن برای اعداد کلروفیل متر و نیتروژن کل معنی دار ($P<0.01$) بود. اثر مرحله رشد نیز برای نیتروژن کل ($P<0.05$) و وزن مخصوص برگ ($P<0.01$) معنی دار بود. اثر اصلی شماره برگ نیز برای همه صفات اندازه گیری شده معنی دار بود. اثر متقابل مقدار نیتروژن و مرحله رشد و همچنین اثر متقابل نیتروژن و شماره برگ فقط برای نیتروژن کل ($P<0.05$) و اثر متقابل مرحله رشد و شماره برگ برای همه صفات اندازه‌گیری شده معنی‌دار بود. تجزیه رگرسیون برای کلیه مراحل رشد در برگ‌های شماره ۵، ۱۰ و ۱۵ نشان داد که رابطه معنی‌داری بین عدد کلروفیل متر و میزان نیتروژن کل در واحد وزن برگ شماره ۵ وجود داشت. نتایج این آزمایش نشان داد که در گیاه چغندرقند غلظت کلروفیل و میزان نیتروژن برگ موقعیت و سن برگ بوده و برگ شماره پنج به عنوان مناسب‌ترین برگ توسعه یافته برای ارزیابی همبستگی بین میزان نیتروژن کل و اعداد کلروفیل متر در مرحله ۱۵-۱۲ برگی چغندرقند مناسب تشخیص داده شد.

واژه‌های کلیدی: چغندرقند، کلروفیل ab، کلروفیل متر دستی، نیتروژن کل و مرحله رشد.

تاریخ دریافت:۱۳۸۸/۹/۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۹/۷/۷

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۲- دانشیار مؤسسه تحقیقات چغندرقند کرج (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: noghabi@sbsi.ir)
۳- استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج
۴- مربی مؤسسه تحقیقات چغندرقند کرج
۵- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

مقدمه

به دلیل ارزش اقتصادی گیاه چغندرقند برای تامین شکر، کشت این گیاه در کشور، از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. با توجه به این که نیتروژن به دلیل افزایش عملکرد ریشه و شکر یکی از عناصر مهم در زراعت چغندرقند محسوب می‌شود، ارائه یک روش مناسب و دقیق برای توصیه صحیح کود نیتروژن‌دار به منظور جلوگیری از افزایش مصرف آن که موجب اُفت کیفیت ریشه و کاهش میزان قند و همچنین آلودگی آب‌های سطحی و زیر زمینی به نیترات می‌گردد، ضروری به نظر می‌رسد. برای تشخیص کمبود نیتروژن در گیاه، تاکنون روش‌های مختلفی مانند تجزیه خاک و تجزیه گیاه متداول بوده است که غالبا وقت‌گیر و پر هزینه می‌باشند. با توجه به نتایج تحقیقات بسیاری از محققان از جمله ماداکادزی و همکاران (Madakadze *et al.*, 1999)، زبارت و همکاران (Zebarth *et al.*, 2002)، اشسیلمر و همکاران (Schlemmer *et al.*, 2005)، و همچنین این واقعیت که ۷۰ درصد از نیتروژن برگ در کلروپلاست‌ها انباشته می‌شود، نتیجه گرفته می‌شود که میزان کلروفیل و میزان نیتروژن کل در گیاهان ارتباط نزدیکی با هم دارند. استفاده از کلروفیل متر دستی برای پی بردن به وضعیت نیتروژن در گیاهان متعددی از جمله برنج، توسط پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1999) و در ذرت، توسط بریدمایر (Bredmeier, 2005) گزارش شده است.

در همین رابطه مطالعاتی نیز در چغندرقند توسط برخی از محققان از جمله ممبلی و همکاران (Mambelli *et al.*, 1997)، تاگنولی و بتینی (Tugnoli and Bettini, 2000)، سکستون و همکاران (Sexton *et al.*, 2002)، جوزف‌ووا و همکاران (Jozefvova *et al.*, 2003)، ونایرد و همکاران (Van Eerd *et al.*, 2007)، تسالتاس و همکاران (Tsialtas *et al.*, 2008) صورت گرفته است. نتایج این مطالعات نشان داد که میزان کلروفیل برگ و به تبع آن اعداد کلروفیل متر دستی روشی مناسب جهت ارزیابی وضعیت نیتروژن کل در گیاه بود که این دو عامل تحت تاثیر مقدار نیتروژن مصرفی، مرحله رشدی گیاه، موقعیت، سن و ضخامت برگ قرار گرفت. کمپل و همکاران (Campbel *et al*, 1990) و تامپسون (Thompson, 1996) معتقدند که بخشی از عدم یکنواختی در اعداد خوانده شده توسط کلروفیل متر دستی در گیاهان مختلف، مربوط به اختلاف در ضخامت برگ می‌باشد. که این عامل باعث تغییر رابطه خطّی بین اعداد کلروفیل‌متر و میزان نیتروژن کل بر حسب وزن برگ می شود، به طوری که ضخامت برگ موجب افزایش اعداد قرائت شده توسط کلروفیل متر شده و با افزایش این اعداد، اختلاف بین اعداد کلروفیل متر و نیتروژن کل افزایش یافته و در نهایت ضریب همبستگی بین اعداد کلروفیل متر و نیتروژن کل کاهش می یابد. با افزایش ضخامت برگ، جذب نور به ویژه در طول موج‌های نواحی قرمز و آبی توسط پهنک برگ یکنواخت‌تر می‌شود. بنابراین افزایش وزن مخصوص برگ (نسبت وزن کل به سطح آن) مشابه افزایش میزان کلروفیل باعث جذب بیشتر نور قرمز نسبت به نور مادون قرمز در برگ‌ها شده و در نهایت کلروفیل‌متر اعداد بزرگ‌تری را قرائت می‌کند (Kafi *et al.*, 1999).

پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1992) گزارش کردند که نسبت اعداد کلروفیل‌متر بر وزن مخصوص برگ در برنج تا حد زیادی تخمین میزان نیتروژن کل برگ را در مراحل رشدی و ارقام مختلف بهبود می‌بخشد. ممبلی و همکاران (Mambelli *et al.*, 1997) بعد از اولین تاریخ نمونه‌برداری در چغندرقند، (مرحله ۱۰-۸ برگی) همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان نیتروژن کل برگ و اعداد کلروفیل‌متر مشاهده نمودند. نتایج تحقیقات توگنولی و بتینی (Tugnoli and Bettini, 2000) در چغندرقند نشان داد که در برگ‌های جوان، تا مرحله‌ی ۱۲ برگی، همبستگی بالایی بین اعداد کلروفیل‌متر و میزان نیتروژن کل برگ وجود داشت و

بعد از مرحله‌ی ۱۵-۱۲ برگی، این را بطه معنی‌دار نبوده است، زیرا به دلیل افزایش ضخامت برگ، عدد کلروفیل متر بدون افزایش نیتروژن و غلظت کلروفیل برگ افزایش یافت. آنها گزارش کردند عدد کلروفیل متر کمتر از ۳۸ در چغندرقند، نشانه کمبود نیتروژن در این گیاه است که روی عملکرد ریشه و شکر سفید تاثیر می‌گذارد. کول (Cole, 1975) گزارش کرد وزن مخصوص برگ در چغندرقند در طول مدت رشد گیاه تغییر می‌یابد و برگ‌هایی که دیرتر ظاهر می‌شوند، وزن مخصوص بیشتری نسبت به برگ‌هایی که زودتر ظاهر می‌شوند، دارند.

جوزف‌ووا و همکاران (Jozefvova *et al.*, 2003) در آزمایشی طی سال‌های ۲۰۰۳-۲۰۰۱ همبستگی بین عناصر نیتروژن، فسفر، منگنز و اعداد قرائت شده از کلروفیل متر دستی در مرحله رشدی ۸-۴ برگی چغندرقند را ارزیابی کردند. نتایج آزمایش آنها نشان داد که استفاده از کلروفیل متر در مراحل ابتدایی رشد چغندرقند (مرحله ۸-۴ برگی) جهت ارزیابی عناصر غذایی به اندازه کافی دقیق نمی‌باشد، زیرا غلظت کلروفیل برگ در این مرحله از رشد پایین است. وان ایرد و همکاران (Van Eerd *et al.*, 2007) اظهار داشتند که بالاترین عدد کلروفیل‌متر در چغندرقند بیشترین غلظت کلروفیل و بیشترین میزان سبزینگی را در برگ نشان می‌دهد. آندرسون و همکاران (Anderson *et al.*, 1993) گزارش کردند که به دلیل متغیر بودن وضعیت گیاهان در سنین مختلف رشد، قرائت کلروفیل‌متر بایستی در مراحل مختلف رشد گیاه، در نقاط مشخصی از برگ گیاه، انجام گیرد.

قرائت کلروفیل متر در بسیاری از گیاهان، در جوان‌ترین برگ کامل توسعه یافته به دلیل رابطه‌ای که بین فتوسنتز فعال، میزان نیتروژن کل و غلظت کلروفیل با عدد کلروفیل متر در این برگ وجود دارد، صورت می‌گیرد، با توجه به اهمیت این موضوع در برآورد دقیق نتایج، در این آزمایش به بررسی اثر موقعیت و سن برگ با توجه به میزان نیتروژن مصرف شده در چغندرقند پرداخته شده است و با فرض بر این که همه برگ‌های یک گیاه در موقعیت یکسانی قرار ندارند، تعیین مناسب‌ترین برگ در بوته چغندرقند و همچنین مناسب‌ترین نقطه در برگ جهت قرائت کلروفیل متر، از اهداف این تحقیق بوده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۱۳۸۶ در ایستگاه تحقیقاتی مهندس مطهری واقع در کمال‌شهر کرج با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۹ دقیقه‌ی شمالی، طول جغرافیایی آن ۵۱ درجه و ۶ دقیقه‌ی شرقی، ارتفاع از سطح دریا ۱۳۰۰ متر در خاکی با بافت لومی رسی به صورت کرت‌های دو بار خرد شده در زمان بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار انجام شد. در این آزمایش از چغندرقند رقم زرقان که مونوژرم و جزء تیپ‌های بهاره و دارای سازگاری با منطقه است، استفاده شد. زمین مورد اجرای طرح به مدت سه‌سال آیش و میزان نیتروژن نیتراتی خاک در عمق صفر تا ۳۰ سانتیمتری خاک قبل از اعمال تیمارهای کودی نیتروژن ۱۴ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود. چهار تیمار نیتروژن پیش کاشت از منبع اوره در مقادیر ۱۲۰، ۱۶۰، ۲۰۰ و ۲۴۰ کیلوگرم در هکتار همراه با شاهد (بدون مصرف نیتروژن) به عنوان کرت اصلی و سه مرحله رشدی (۱۵-۱۲، ۱۸- ۱۵ و ۲۰-۱۸ برگی) که هرکدام واجد هر سه شماره (۵، ۱۰ و ۱۵) برگ بودند به عنوان کرت فرعی و برگ‌های شماره ۵، ۱۰ و ۱۵ به عنوان کرت فرعی فرعی در نظرگرفته شدند. در هر مرحله نمونه برداری از کرت‌های اصلی، تعداد ۱۰ بوته به عنوان نماینده هر کرت انتخاب و در هر بوته میزان سبزینگی در پهنک برگ‌های شماره ۵، ۱۰ و ۱۵ با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر دستی (Soil–Plant Analysis Development, SPAD-502 Minolta Co., Osaka, Japan) اندازه‌گیری

شد. کلیه برگ‌هایی که قرائت عدد کلروفیل در آنها انجام شده بود، بلافاصله بریده شده و در ظروف در بسته سرد به آزمایشگاه منتقل شدند. از قسمت وسط پهنک هر برگ در حد فاصل حاشیه و رگبرگ اصلی دیسک‌های به قطر ۵ میلی متر تهیه و پس از توزین دقیق با ترازو (با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) و عصاره‌گیری با استون، غلظت کلروفیل‌های a، b و ab و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۷ و ۶۶۴ نانومتر اندازه‌گیری شد (Graan and Ort به نقل از Abdollahian-Noghabi, 1999). پهنک همان برگ‌های شماره ۵، ۱۰ و ۱۵ پس از شستشو با آب مقطر، در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد خشک (Wolf, 1982) و هر کدام جداگانه وزن شده و سپس مجموع آنها آسیاب و میزان نیتروژن کل برگ با استفاده از روش کجلدال اندازه‌گیری شد.

با تعیین مساحت و وزن خشک این برگ‌ها، وزن مخصوص برگ (SLW) و همچنین میزان نیتروژن کل برگ بر اساس واحد وزن برگ (N_{dw}) برحسب گرم در کیلوگرم محاسبه شدند. در این آزمایش با عنایت به ارتباط بالاتر نیتروژن در واحد وزن نسبت به نیتروژن در واحد سطح برگ با میزان کود نیتروژن مصرفی در کل مراحل رشد و همچنین با توجه به اینکه ضخامت پهنک برگ‌های مختلف با هم متفاوت بودند (نتایج ارائه نشده است)، نتایج مربوط به نیتروژن بر مبنای واحد وزن پهنک برگ تبدیل و ارائه گردید. برای برازش رگرسیونی بین میزان نیتروژن کل برگ و مقادیر کلروفیل متر، از نرم افزار SPSS و SAS و برای رسم نمودار از نرم افزار Excel استفاده شد.

تجزیه رگرسیون برای برگ‌های شماره ۵، ۱۰ و ۱۵ به طور مجزا روی داده‌های میانگین چهار تکرار و برای پنج دامنه کود نیتروژن در مراحل مختلف رشد انجام شد. با توجه به تفاوت زمان ظهور برگ‌های شماره ۵، ۱۰ و ۱۵ روی هر بوته تعداد مراحل بسته به شماره برگ متفاوت بود. لازم به ذکر است که عدد کلروفیل متر در اولین مرحله رشدی (۶-۳ برگی) فقط در برگ شماره پنج و دردومین مرحله‌ی رشدی (۱۲-۶ برگی) روی برگ‌های شماره ۵ و ۱۰، ولی در مراحل بعدی با توجه به رشد گیاه در هر سه شماره برگ (۵، ۱۰ و ۱۵) در هر بوته انجام شد. برای تجزیه واریانس اثر مرحله رشد و شماره برگ، مراحل اول و دوم به دلیل عدم وجود برگ شماره ۱۵، لحاظ نگردید. در همه برگ‌ها قرائت کلروفیل متر فقط در یک نیمه در سه نقطه نوک، وسط و پایین پهنک برگ انجام گرفت.

میانگین حسابی اعداد قرائت شده در سه نقطه همراه با نتایج جداگانه هر نقطه به صورت چهار تیمار در قالب طرح کاملا تصادفی برای کل مشاهدات مورد تجزیه واریانس قرار گرفت. لازم به ذکر است در این آزمایش ۹۰ قرائت در هر کرت (از هر شماره، ۱۰ برگ و در سه نقطه از برگ) توسط دستگاه کلروفیل متر در کل مراحل رشد و تیمارهای مختلف کود نیتروژن انجام شد.

نتایج و بحث

اثر موقعیت پهنک برگ بر اعداد کلروفیل متر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر موقعیت پهنک برگ بر اعداد کلروفیل متر در نقاط مختلف پهنک برگ معنی‌دار بود ($P<0.01$). میانگین اعداد قرائت شده در نوک پهنک برگ همواره بیشترین میزان و کمترین میزان اعداد کلروفیل متر مربوط به پایین پهنک برگ بود. یودینگ (Udding, 2007) گزارش نمود که میزان کلروفیل در نقاط مختلف برگ متغیر می‌باشد. اگر چه میانگین قرائت کلروفیل متر در سه قسمت پهنک برگ با هم اختلاف معنی‌داری ($P<0.01$) داشت، ولی میانگین قرائت کلروفیل متر در قسمت وسط پهنک برگ با میانگین سه نقطه تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱). لذا بر اساس نتایج این آزمایش منطقی‌تر به نظر می‌رسد که به منظور قرائت کلروفیل‌متر در برگ چغندرقند، به جای میانگین سه

نقطه، نقطه وسط پهنک برگ مورد استفاده قرار گیرد.

بیشتر بودن مقدار کلروفیل در قسمت نوک برگ در تحقیقات سایر محققین نیز گزارش شده است. نتیجه آزمایش کاوامیتسو و همکاران (Kavamitsu *et al*., 1999) در بررسی اثر موقعیت برگ بر عدد کلروفیل متر و میزان نیتروژن کل در نیشکر نشان داد که میزان نیتروژن کل در قسمت نوک برگ بیشتر از بقیه قسمت‌ها است و دلیل آن را فتوسنتز فعال برگ عنوان نمودند. آنها گزارش کردند که برگ شماره پنج بالاترین عدد کلروفیل متر (۴۱/۹) و بالاترین میزان فتوسنتز (۳۲/۹ میکرو مول بر متر مربع در ثانیه) را داشت. از آن جا که برگ‌های فوقانی یک جامعه گیاهی در معرض نور بیشتری قرار دارند، میزان نیتروژن بیشتری نیز دارند (Werger and Hirose, 1991).

جدول ۱- مقایسه میانگین عددکلروفیل متر در سه قسمت پهنک برگ چغندرقند (اعداد مرتبط به کل مراحل رشد در برگ های مختلف و تیمار های کود نیتروژن)

Table 1. Mean comparison of SPAD value in three parts of sugar beet leaf blade (data represented growth stages in various leaves nitrogen fertilizer)

محل قرائت در پهنک برگ Reading site on leaf blade		اعداد کلروفیل متر SPAD value	انحراف معیار SD
Tip	نوک	43.5 a	2.29
Middle	وسط	42.1 b	3.09
Bottom	پایین	40.5 c	3.60
Average of 3 points	میانگین سه نقطه	42.4 b	2.90
EMS, dfE = 889		10.02	

میانگین‌های که دارای حروف مشترک هستند، بر اسا س آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

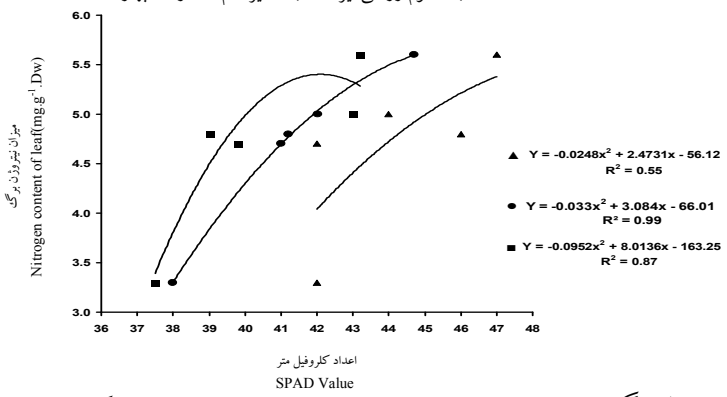
Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level, using Duncan Multiple Rang Test

تجزیه و تحلیل روابط رگرسیونی در این آزمایش نشان داد که بین میزان نیتروژن کل در برگ شماره پنج در مرحله ۱۵-۱۲ برگی چغندرقند با اعداد کلروفیل متر رابطه غیر خطی درجه دو و معنی‌داری وجود داشت، به طوریکه تغییرات اعداد قرائت شده در نقطه وسط پهنک برگ حدود ۹۹ درصد از تغییرات میزان نیتروژن کل برگ را توجیه می‌کند (شکل ۱)، به همین دلیل در تمام محاسبات این آزمایش قرائت کلروفیل‌متر در نقطه‌ی وسط برگ به‌عنوان معیار مقایسه در نظر گرفته شد.

اثر نیتروژن، مراحل رشد و شماره برگ بر اعداد کلروفیل متر

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر مقادیر کود نیتروژن بر عددکلروفیل متر و نیتروژن کل معنی‌دار ($P<0.01$) بود. اثر مرحله رشد نیز بر میزان نیتروژن کل ($P<0.05$) و وزن مخصوص برگ ($P<0.01$) معنی‌دار بود. اثر اصلی شماره برگ نیز برای همه صفات مورد ارزیابی معنی‌دار، اثر متقابل مقدار کود نیتروژن و مرحله رشد و همچنین اثر متقابل کود نیتروژن و شماره برگ فقط بر میزان نیتروژن کل ($P<0.05$) معنی‌دار و اثر متقابل مرحله رشد و شماره برگ نیز برای همه صفات مورد ارزیابی معنی‌دار بودند (جدول۲).

مصرف مقادیر مختلف کود نیتروژن اگر چه بر وزن مخصوص برگ و غلظت کلروفیل ab برگ چغندرقند تاثیر معنی‌داری نداشت، ولی با افزایش مصرف کود نیتروژن، میزان نیتروژن کل برگ و همچنین اعداد کلروفیل متر نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری داشتند (جدول ۳). آندرسون و همکاران



شکل ۱- رابطه رگرسیونی بین میزان نیتروژن کل با مقادیر قرائت شده از کلروفیل متر در مرحله ۱۵-۱۲ برگی در قسمت‌های مختلف پهنک برگ شماره ۵ چغندرقند(▲نوک، ● وسط و پایین ■ پهنک برگ)

Fig. 1. Relationship between leaf nitrogen content and SPAD values in various parts of leaf blade number 5 in growth stage 12-15 leaves in sugar beet (▲ Tip, ● Middle and ■ Bottom of blade leaf)

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر مقادیر کود نیتروژن، مراحل رشد و شماره برگ بر اعداد کلروفیل متر، نیتروژن کل، میزان کلروفیل ab و وزن مخصوص برگ چغندرقند

Table .2 Analysis of variance for SPAD value, nitrogen content, chlorophyll ab concentration and specific leaf weight (SLW) in nitrogen fertilizer growth stage and leaf number treatments in sugar beet.

			میانگین مربعات (MS)			
S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	اعداد کلروفیل متر SPAD value	نیتروژن کل برگ Leaf total N	کلروفیل ab Chl. ab	وزن مخصوص برگ S LW
Rep.	تکرار	3	5.9 ns	0.131ns	0.337ns	753ns
Nitrogen fertilizer	کود نیتروژن	4	44.7**	12.1**	0.263ns	2688 ns
Error (MP)	خطای کرت اصلی	12	4.3	0.16	0.150	1649
Growth stage	مرحله رشد	2	24.6 ns	0.99 *	0.137ns	146701*
Nitrogen×Growth stage	نیتروژن×مرحله رشد	8	14.4 ns	0.91**	0.471ns	2473 ns
Growth stage×Rep	مرحله رشد× تکرار	6	6.5*	0.76 *	0.154ns	4390ns
Error (SP).	خطای کرت فرعی	24	7.5	0.23	0.310	2164
Leaf No.	شماره برگ	2	197**	18.05 **	18.1**	8603 *
Nitrogen×Leaf No.	نیتروژن×شماره برگ	8	3.2ns	1.21 **	0.24ns	768ns
Growth stage×Leaf No.	مرحله رشد× شماره برگ	4	8.4*	1.01 **	1.2**	6548*
Nitrogen×Growth stage×Leaf No.	نیتروژن×مرحله رشد×شماره برگ	16	3.6ns	0.32ns	0.36ns	2501ns
Error (SSP)	خطای کرت فرعی فرعی	83	2.50	0.283	0.278	2109
CV (%)	ضریب تغییرات	-	3.7	13.2	26	31

ns: Non significant — ns: غیر معنی‌دار

*, **: Significant at 5% and 1% probability levels, respectively — *، ** به ترتیب معنی‌دار درسطوح احتمال پنج و یک درصد

(Anderson *et al.*, 1993) در آزمایشی گزارش نمود که مقادیر کود نیتروژن مصرفی بر اعداد کلروفیل متر در گیاه تاثیرگذار بوده است. آندرسون و همکاران (Anderson *et al*., 1993) در آزمایشی روی ذرت در تیمارهای کود نیتروژن اثر شماره برگ، موقعیت و سن برگ را بر اعداد کلروفیل متر مورد ارزیابی قرار دادند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اعداد کلروفیل متر (SPAD)، نیتروژن کل برگ در تیمارهای کود نیتروژن (متوسط سه مرحله رشدی و سه شماره برگ چغندرقند)

Table 3. Mean comparison of SPAD value and leaf total nitrogen content of sugar beet in nitrogen fertilizer treatments (mean over three growth stages and three leaf numbers)

Nitrogen fertilizer(kg.ha^{-1})	کود نیتروژن	اعداد کلروفیل متر SPAD value	نیتروژن کل برگ Leaf total N (mg.g $_{Dw}^{-1}$)
شاهد (عدم مصرف کود)	Control (No)	41.2 c	3.1 d
۱۲۰ کیلوگرم در هکتار	120 kg.ha^{-1}	42.1 bc	3.7 c
۱۶۰کیلوگرم در هکتار	160 kg.ha^{-1}	42.3 bc	4.1 b
۲۰۰کیلوگرم در هکتار	200 kg.ha^{-1}	44.4 a	4.4 ab
۲۴۰کیلوگرم در هکتار	240 kg.ha^{-1}	43.2 ab	4.5 a

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اسا س آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

Means in each column flowed by similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level, using Duncan Multiple Range Test

تجزیه اثرات اصلی نشان داد که شماره و سن برگ و میزان نیتروژن مصرف شده بر کلروفیل متر تاثیرگذار بوده است، اما اثر متقابل آنها معنی دار نبود. آنها اظهار داشتند که میانگین اعداد قرائت شده از کلروفیل متر با افزایش مقدارکود نیتروژن افزایش و با افزایش شماره و سن برگ کاهش یافت. در آزمایش حاضر در چغندرقند نیز مشاهده شد که با افزایش شماره برگ در برگ‌های شماره (۱۰ و ۱۵) میزان همبستگی بین نیتروژن و اعداد قرائت شده از کلروفیل متر کاهش یافت. آندرسون و همکاران (Anderson *et al*., 1993) دلیل این موضوع را سبزتر بودن برگ‌های جوان و بیشتر بودن میزان نیتروژن کل در این برگ‌ها عنوان کردند.

تجزیه رگرسیون بین اعداد کلروفیل‌متر و میزان نیتروژن

در این آزمایش اعداد کلروفیل‌متر به‌عنوان متغیر مستقل و میزان نیتروژن کل در واحد وزن برگ به عنوان متغیّر وابسته در نظر گرفته شدند. نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون برای کل مراحل رشد به‌صورت تجمعی نشان داد که یک رابطه غیر خطّی و معنی‌دار بین اعداد کلروفیل‌متر و میزان نیتروژن کل بر اساس واحد وزن برگ در کل مراحل رشد برای برگ شماره پنج وجود داشت (R^2 =۰/۴) (جدول ۶). رگرسیون بین میزان نیتروژن کل در واحد وزن برگ و مقادیر کلروفیل‌متر در کلیه مراحل رشد برای برگ‌های ۱۰ و ۱۵ غیر معنی‌دار بود.

میزان همبستگی بین اعداد قرائت شده از کلروفیل‌متر و میزان نیتروژن کل برگ در این آزمایش در سومین مرحله نمونه‌برداری (۱۵-۱۲ برگی) در برگ شماره پنج به بالاترین میزان رسید (R^2 =۰/۹۸) ولی میزان همبستگی بین اعداد قرائت شده از کلروفیل‌متر و میزان نیتروژن کل برگ در سایر مراحل رشدی (۱۸-۱۵ برگی و ۲۰-۱۸ برگی) کمتر بود. نتایج این آزمایش نشان داد که در مرحله رشدی ۱۵-۱۲ برگی چغندرقند حدود ۹۹ درصد از تغییرات نیتروژن کل در برگ شماره پنج توسط تغییرات اعداد قرائت شده از کلروفیل‌متر دستی توجیه می‌شود (شکل ۲). به طورکلی، با توجه به اهداف پژوهش در ارتباط با کاربرد دستگاه کلروفیل متر دستی برای تشخیص کمبود نیتروژن در چغندرقند و نتایج حاصل از این آزمایش مشخص گردید که رابطه بین میزان نیتروژن

جدول۴– مقایسه میانگین میزان کلروفیل ab و اعداد کلروفیل متر برای اثر متقابل تیمارهای مرحله رشد و شماره برگ در چغندرقند (میانگین پنج سطح نیتروژن)

Table 4. Mean comparison of chlorophyll ab concentration and SPAD values for the interaction effect of growth stage and leaf number in sugar beet (mean of five nitrogen levels)

		Chlorophyll ab concentration ($mg.g^{-1}Fw$) ab میزان کلروفیل			SPAD value اعداد کلروفیل متر		
Growth stage	مراحل رشد	برگ شماره ۵ Leaf No. 5	برگ شماره ۱۰ Leaf No. 10	برگ شماره ۱۵ Leaf No. 15	برگ شماره ۵ Leaf No. 5	برگ شماره ۱۰ Leaf No. 10	برگ شماره ۱۵ Leaf No. 15
12-15 leaves	۱۲-۱۵ برگی	2.7 (±0.5)	1.5 (±0.7)	1.7 (±0.4)	41.4 (±2.9)	45.2 (±3.1)	43.8 (±2.9)
15-18 leaves	۱۵-۱۸ برگی	2.6 (±0.8)	1.9 (±0.4)	1.5 (±0.3)	40.6 (±1.7)	43.8 (±1.4)	43.2 (±2.0)
18-20 leaves	۱۸-۲۰ برگی	2.4 (±0.6)	2.0 (±0.5)	1.4 (±0.3)	39.8 (±2.5)	43.1 (±1.9)	43.7 (±2.0)
		$LSD_{0.05;\ Edf=83}$ for interaction =0.33			$LSD_{0.05;\ Edf=83}$ for interaction =0.99		
Mean	میانگین	2.6 a	1.8 b	1.5 c	40.6 b	44.5 a	43.5 a

در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اسا س آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند (اعداد داخل پرانتز انحراف از انحراف معیار هر میانگین می‌باشد)

Means in each row followed by similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level, using Duncan,s Multiple Range Test Values in bracket are ± standard deviation of mean

جدول۵– مقایسه میانگین میزان نیتروژن کل و وزن مخصوص برگ برای اثر متقابل تیمارهای مرحله رشد و شماره برگ چغندرقند (میانگین پنج سطح نیتروژن)

Table 5. Mean comparison of total nitrogen content and specific leaf weight for the interaction effect of growth stages and leaf number in sugar beet (mean of five nitrogen levels)

		Total nitrogen ($mg.g^{-1}Dw$)(میلی گرم در گرم وزن خشک) میزان نیتروژن کل			Specific leaf weight ($g.m^{-2}$) وزن مخصوص برگ		
Growth stage	مرحله رشدی	برگ شماره ۵ Leaf No. 5	برگ شماره ۱۰ Leaf No. 10	برگ شماره ۱۵ Leaf No. 15	برگ شماره ۵ Leaf No. 5	برگ شماره ۱۰ Leaf No. 10	برگ شماره ۱۵ Leaf No. 15
12-15 leaves	۱۲-۱۵ برگی	4.7 (±0.9)	3.9 (±0.7)	3.8 (±0.4)	83 (±34)	107 (±31)	94 (±29)
15-18 leaves	۱۵-۱۸ برگی	4.3 (±0.9)	3.9 (±0.6)	3.4 (±0.7)	165 (±58)	189 (±33)	226 (±88)
18-20 leaves	۱۸-۲۰ برگی	4.5 (±1.3)	4.4 (±0.7)	3.3 (±0.6)	151 (±39)	147 (±37)	150 (±35)
		$LSD_{0.05;\ Edf=83}$ for interaction =0.33			$LSD_{0.05;\ Edf=83}$ for interaction =28.9		
Mean	میانگین	4.5 a	4.0 b	3.4 c	133 b	148 a	157 a

در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اسا س آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند (اعداد داخل پرانتز انحراف از انحراف معیار هر میانگین می باشد)

Means in each row followed by similar letter(s) are not significantly different at 1% probability level, using Duncan Multiple Range Test Values in bracket are ± standard deviation of mean

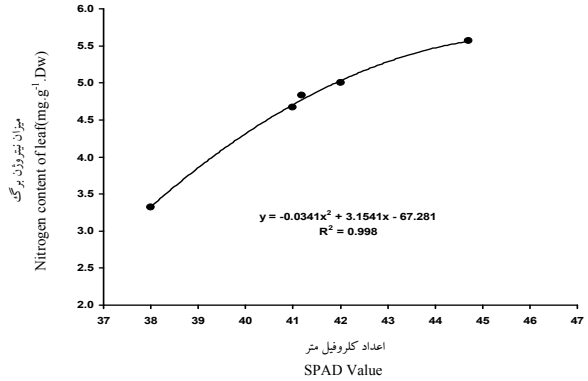
جدول ۶- تجزیه رگرسیون بین میزان نیتروژن کل (بر حسب واحد وزن برگ) و اعداد کلروفیل متر (برگ شماره پنج) طی پنج مرحله رشدی چغندرقند و تیمارهای کود نیتروژن

Table 8. Regression analysis between leaf nitrogen content (N_{dw}) and SPAD values for leaf number five, over treatments five growth stages of sugar beet and nitrogen fertilizer

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی d.f	میانگین مربعات MS	ضریب تبیین R^2	عرض از مبدا Intercept (b_0)	ضریب رگرسیون (Regression coefficient) درجه یک (b_1)	درجه دو (b_2)
Linear	خطی	1	25.15*	0.267	-13.7**	1.4**	-
Residuals	خطا	23	5.4				
Quadratic	درجه دوم	2	20.46*	0.42	446.5**	-22.01**	0.29**
Residuals	خطا	22	5.09				
Total	کل	24					

* and **: Significant at 5% and 1% of probability levels, respectively

* و **: به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد



شکل ۲- رابطه رگرسیونی بین میزان نیتروژن کل پهنک برگ شماره پنج با اعدادکلروفیل متر در مرحله رشد ۱۵-۱۲ برگی در چغندرقند

Fig 2. Relationship between leaf nitrogen content of leaf number five and SPAD values in the 12-15 leaves growth stages of sugar beet

کل برگ و اعداد کلروفیل متر تحت تاثیر مرحله رشدی و موقعیت برگ قرار می‌گیرد. بر اساس نتایج به دست آمده در این آزمایش نقطه وسط (فاصله بین دو رگبرگ در یک نیمه پهنک) هر برگ معیاری مناسب از کل پهنک جهت قرائت کلروفیل متر می‌باشد. با توجه به فیلوتاکسی چغندرقند، برگ شماره پنج به عنوان برگ جوان و کاملا توسعه یافته در مقایسه با برگ‌های شماره ۱۰ و ۱۵ جهت اندازه گیری نیتروژن و قرائت کلروفیل متر مناسب‌تر تشخیص داده شد. نتایج این آزمایش نشان داد که مرحله رشدی ۱۵-۱۲ برگی برای ارزیابی میزان نیتروژن کل برگ و قرائت توسط دستگاه کلروفیل متر مناسب‌تر است. در صورت تشخیص کمبود نیتروژن، مصرف کود نیتروژن به صورت سرک در این مرحله قابل توصیه می‌باشد.

منابع مورد استفاده

References

Abdollahian-Noghabi, M. 1999. Ecophysiology of sugar beet cultivars and weed species subjected to water

deficiency stress. Ph. D. Thesis, The University of Reading. 227 PP.

Anderson, D., D. Bullock, G. Johnson and C. Taets. 1993. Evaluation of the Minolta SPAD-502 chlorophyll meter for on farms N management of corn in Illinois. Proceedings of the Fertilizer Conference, January 25-27. Illinois.

Bredemeier, C. 2005. Leaf –induced chlorophyll fluorescence sensing as a tool for site specific nitrogen fertilizer evaluation under controlled environmental and field conditions in wheat and maize. Ph. D. Thesis. Technical University Munich, Germany.

Campbell, R. J., K. M. Mobley, R. P. Marini, and D. G. Pfeiffer. 1990. Growing conditions alter the relationship between SPAD-502 values and apple leaf chlorophyll. Hort. Sci., 25: 330-331.

Cole, 1975. Changes in leaf area and specific leaf weight of sugar beet leaves during the growing season. Crop Sci, 15: 882-883.

Jozefvova, L., J. Pulkrabek and J. Urban. 2003. Possibility of chlorophyll meter use for sugar beet's nitrogen fertilizing optimization. Dusikateho hnoieni cukrovkv. [Online]. Available at http://agris.czu.cz (accessed 20 July 2009).

Kafie, M., M. Lahouti, A. Zand, H. R. Sharif and M, Gholdani.1999. Plant Physiology. Jahad-e-Daneshghahi Press, Mashhad (In Persian).

Kawamitsu, Y. R. K. Sinh, B. J. Nelson, Y. Tamaki and S. Murayama. 1999. Effects of nitrogen supply growth characteristics and leaf photosynthesis in sugarcane. Faculty of Agriculture, University of the Ryukys. 46: 1-14.

Madakadze, I. C., K. Stewart, R. M. Madakadze, P. R. Peterson, B. E. Coulman and D. L. Smith. 1999. Field evaluation of the chlorophyll meter to predict yield and nitrogen concentration of switch grass. J. Plant Nutr. 22(6): 1001-1010.

Mambelli, S., M. P. Dal Rio, M. T. Amaducci and G. Venturi. 1997. Method of plant analysis to evaluate nitrogen status in sugar beet. Proceedings of the 60th IIRB Congress, Cambridge (UK), P. 321-326.

Peng, S., F. V. Garcia, R. C. Laza and K. G. Cassman. 1992. Leaf thickness affects the estimation of leaf nitrogen concentration using a chlorophyll meter. Intl. Rice Res. Notes, 17: 19-20.

Peng, S., A. L. Sanico, F. V. Garcia and R. C. Laza. 1999. Effect of leaf phosphorus and potassium concentration on chlorophyll meter reading in rice. Plant Prod. Sci. 2: 227-231.

Schlemmer, M. R., D. D. Francis, J. F. Shanahan and J. S. Schepers. 2005. Remotely measuring chlorophyll content in corn leaves with differing nitrogen levels and relative water content. Agron. J. 97: 106-112.

Sexton, P. and J. Carroll. 2002. Comparison of SPAD chlorophyll meter reading vs. petiole nitrate concentration in sugar beet. J. Plant Nutr. 25 (9): 1975-1986.

Thompson, J. A., L. E. Schweitzer and R.L. Neison. 1996. Association of specific leaf weight, an estimate of chlorophyll and chlorophyll concentration with apparent photosynthesis in soybean. Photosynthesis Res. 49:

1-10.

Tsialtas, J. T. and N. Maslaris. 2008. Sugar beet response to N fertilization as assessed by late season chlorophyll and leaf area index measurements in a semi-arid environment. Int. J. Plant Prod. 2 (1): 57-66.

Tugnoli, V. and G. Bettini. 2000. Nitrogen fertilizers in sugar beet spring sowing: use of the SPAD optical instrument. Proceedings of the 63rd IIRB Congress (Switzerland). p. 419-424**.**

Udding, J., J. Gelang –alfredsson, K. Piikki and H. Pleijel. 2007. Evaluating the relationship between Leaf chlorophyll concentration and SPAD 502 chlorophyll meter readings. Photosynthesis. Res. 91:37-46.

Van Eerd, L. L. and J. W. Zandstra. 2007. Enhancing sugar beet storage quality. Interim report No. ADVO253, Agriculture of Adaptation council. University of Guelph Ridge Town Campus. Agriculture and Agri –Food Canada. P. 2-15.

Werger, M. J and. A. A. Hirose. 1991. Leaf nitrogen distribution and whole canopy photosynthetic carbon gain in herbaceous stands. Vegetatio. 97: 11-20**.**

Wolf, B. 1982. A comprehensive system of leaf analysis and its use for diagnosing crop nutrient analysis. Comm. Soil SC. Plant Anal. 13: 1035-1059.

Zebarth, B. J., M. Younie, J. W. Paul and S. Bittman. 2002. Evaluation of leaf chlorophyll index for making fertilizer nitrogen recommendations for silage corn in a high environment. Common Soil Sci. Plant Aanal. 33: 665-684.

Effect of leaf position and age on the nitrogen content and chlorophyll meter values in sugar beet

Javaheri, Sh.[1], M. Abdollahian-Noghabi[2], A. Kashani[3], H. Noshad[4] and D. Habibi[5]

ABSTRACT

Javaheri, Sh., M. Abdollahian-Noghabi, A. Kashani, H. Noshad and D. Habibi. 2011. Effect of leaf position and age on the nitrogen content and chlorophyll meter value in sugar beet. **Iranian Journal of Crop Sciences. 13 (1) 87-98. (In Persian).**

To investigate the effect of sugar beet leaf age and position on nitrogen content and chlorophyll meter readings (SPAD value) using chlorophyll meter in sugar beet, a field experiment was conducted in the experimental field of Sugar Beet Seed Institute (SBSI) in 2007 cropping serason, using a split-spli plot in time arrangement in RCBD with four replications. Five levels of pre-sowing nitrogen in the form of urea 0 (as control), 120, 160, 200 and 240 $kg.ha^{-1}$ were assigned to main plots and five plant growth stages considred as sub plots. Chlorophyll meter readings of sugar beet leaf blade number 5, 10 and 15 were determined by chlorophyll meter (SPAD-502) at five growth stages based on the number of leaves including 3-6, 6-12, 12-15, 15-18 and 18-20 leaves of each plant. In the same leaves, concentrations of nitrogen content (Kjeldahl method) and chlorophyll a & b were measured. Analysis of variance showed that main effect of nitrogen fertilizer was significant for SPAD value ($P<0.01$) and nitrogen content($P<0.05$). The main effect of growth stage was also significant for nitrogen content ($P<0.05$) and specific leaf weight ($P<0.01$). All measured sugar beet traits were affected by the main effect of plant growth stage. The interaction between nitrogen fertilizer × growth stage was only significant ($P<0.05$) for leaf nitrogen content. However, the interaction between growth stage × leaf number was significant for all measured traits of sugar beet. There was significant correlation between the SPAD value and nitrogen content of leaf, based on dry weight, in leaf nuber 5, while there was no significant correlation between the SPAD value and nitrogen content of leaf in the leaf number 10 and 15. In conclusion, chlorophyll meter reading and nitrogen content of sugar beet leaves were influenced by leaf age and position. Thus, fully expanded leaf number five may be used for chlorophyll meter reading and determination of nitrogen content in sugar beet in 12-15 leaves stages.

Key Words: Chlorophyll a & b, Chlorophyll meter, Growth stage, Sugar beet and Total nitrogen.

Received: November, 2009 Accepted: October, 2010

1- Former MSc. student, Islamic Azad Univeristy of Karaj, Karaj, Iran
2-Associate Prof., Sugar Beet Seed Research Institute, Karaj, Iran. (Corresponding author)
(Email: noghabi@sbsi.ir)
3- Prof., Islamic Azad Univeristy of Karaj, Karaj, Iran
4- Researcher, Sugar Beet Seed Research Institute, Karaj, Iran
5- Assistant Prof., Islamic Azad Univeristy of Karaj, Karaj, Iran