

" "

Determination of nitrogen requirement at different growth stages of rice (*Oryza sativa* Cv. Khazar) using chlorophyll meter

حمیدرضا علی عباسی^۱، مسعود اصفهانی^۲، مسعود کاوسی^۳ و بابک ربیعی^۴

تعیین نیاز به کود نیتروژن در مراحل مختلف رشد برنج رقم خزر با استفاده از کلروفیل متردستی. مجله علوم زراعی ایران. جلد هفتم، شماره ۲، صفحه ۱۴۵-۱۳۴.

(*Oryza sativa* L.)

(SPAD)

+ () :
+) + (+ +) + + (+)
() (+ +) + + ()
() .
:
/

تاریخ دریافت: ۱۳۸۲/۱۰/۱۶

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه گیلان

۳- پژوهشگر مؤسسه تحقیقات برنج کشور (رشت)

۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

۴- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

برگ تا حد زیادی به مرحله رشد، ژنوتیپ و شرایط محیطی و زراعی بستگی دارد. بنابراین پیش‌بینی دقیق وضعیت نیتروژن گیاه با استفاده از کلروفیل‌متر به کالیبراسیون جداگانه برای تعیین ارتباط بین غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن برگ و مقادیر کلروفیل‌متر برای ارقام مختلف در مراحل مختلف رشدی و در شرایط محیطی متفاوت نیاز دارد (Peng *et al.*, 1993). گزارش شده است که در برنج همبستگی مثبتی بین نیتروژن برحسب واحد وزن برگ و مقادیر کلروفیل‌متر در حدود ۰/۸۲ تا ۰/۹۸ وجود دارد (Chubachi *et al.*, 1986; Miyashita *et al.*, 1986; Takebe and Yoneyama, 1989; Takebe *et al.*, 1990). ترنر و جوند (Turner and Jund, 1991) نشان دادند که کلروفیل‌متر با دقت قابل قبولی نیازمندی به کود سرک نیتروژن (برحسب واحد وزن خشک یا سطح برگ) را در ارقام نیمه پاکوتاه برنج در مراحل خاصی از رشد مانند مراحل قبل از ظهور خوشه یا آغاز شکل‌گیری خوشه، پیش‌بینی می‌کند.

پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1995b) طی بررسی ارتباط بین مقادیر کلروفیل‌متر و غلظت نیتروژن برحسب واحد سطح و وزن برگ در ۸۰ ژنوتیپ برنج نشان دادند که مقادیر کلروفیل‌متر همبستگی بالاتری را با غلظت نیتروژن برآورد شده برحسب واحد سطح برگ دارد تا زمانی که غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن برگ بیان شود (به ترتیب $r=0/88$ و $r=0/49$).

پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1993) همبستگی بین مقادیر کلروفیل‌متر و غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن برگ در رقم IR72 را برای کلیه مراحل رشد (اواسط پنجه‌زنی، تشکیل مریستم خوشه و گلدهی) ضعیف گزارش کردند. آن‌ها همچنین در ۵ ژنوتیپ برنج در یک هفته بعد از گلدهی (در ۷۶ روز بعد از نشاء کاری) همبستگی دو متغیر فوق را ۰/۷۱ اعلام کردند. یانگ و همکاران (Yang *et al.*, 2003) مقادیر کلروفیل‌متر و جدول‌های رنگ برگ

در سیستم کشت غرقابی برنج به علت تصعید آمونیاک، دنیتریفیکاسیون، آبشویی، تثبیت و غیرمتحرک شدن آمونیوم و خروج آن توسط رواناب، میزان تلفات نیتروژن بالا و در نتیجه کارایی مصرف آن در این سیستم پایین است. از آن جایی که در برنج بین میزان فتوسنتز و نیتروژن برگ ارتباط نزدیکی وجود دارد (Mitsui and Ishi, 1938; Yoshida and Coronel, 1976; Uchida, 1982; Mallino *et al.*, 1988) و از طرفی میزان نیتروژن گیاه ارتباط نزدیکی با میزان عملکرد دارد، بنابراین متعادل نگه داشتن میزان نیتروژن برگ در طی دوره رشد برای به دست آوردن عملکرد بالا قطعاً ضروری است (Yoshida, 1981). به علاوه برخلاف اکثر ارقام محلی، ارقام نیمه پاکوتاه برنج اکثراً مقاوم به ورس، کودپذیر و پر محصول هستند. این خصوصیات امکان افزایش استفاده از کود نیتروژن را به منظور دستیابی به عملکرد بالاتر فراهم خواهد ساخت. البته این امر موجب افزایش هزینه تامین کود و تلفات بالای نیتروژن نیز خواهد شد. بنابراین لازمه دستیابی به عملکرد مناسب و مدیریت صحیح نیتروژن در شالیزارها آگاهی از وضعیت نیتروژن گیاه است. با توجه به این که روش تجزیه بافت گیاه به علت وقت گیر بودن (۱۰ تا ۱۴ روز تا اعلام نتیجه) کمتر مورد استقبال کشاورزان قرار می‌گیرد، معرفی روشی ساده، سریع و حتی امکان غیرتخریبی برای تعیین میزان نیتروژن برگ و تعیین زمان دقیق مصرف کود نیتروژن بسیار مفید است (Turner and Jund, 1991).

تاکبه و یونیا، کمپل و همکاران و اسمیل و ژانگ (Takebe and Yoneyama, 1989; Campbell *et al.*, 1990; Smeal and Zhang, 1994) مطالعات جداگانه‌ای گزارش کردند که رگرسیون خطی بین مقادیر کلروفیل‌متر (Soil-Plant Analysis Development: SPAD)، مقدار کلروفیل برگ و غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن

عملکرد را ۴۲ و برای تولید تجاری برنج، ۴۰ پیشنهاد کردند.

با توجه به اهمیتی که زمان مناسب مصرف کود سرک برای دستیابی به عملکرد بالاتر برنج دارد و از طرفی کلروفیل متر دستی می‌تواند روشی ساده و غیرتخریبی برای تعیین غلظت نیتروژن برگ و تعیین زمان مناسب نیازمندی به کود سرک نیتروژن در ارقام مختلف برنج فراهم آورد، لزوم انجام مطالعات مختلف در این زمینه آشکار می‌گردد. بنابراین تحقیق حاضر به منظور تشخیص ارتباط بین غلظت نیتروژن برگ و مقادیر کلروفیل متر و تعیین بهترین معادله برای تخمین غلظت نیتروژن برگ برحسب واحد سطح یا وزن برگ با استفاده از مقادیر قرائت شده از دستگاه کلروفیل متر دستی برای تشخیص میزان نیتروژن برگ و زمان دقیق مصرف کود نیتروژن سرک در رقم خزر انجام شد.

این تحقیق در سال ۱۳۸۲ در یک مزرعه شخصی با بافت سبک ساحلی (۸۸ درصد شن، ۸ درصد سیلت و ۴ درصد رس) در آبکنار از توابع شهرستان بندر انزلی با عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۲۸ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۲۸ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۲۰/۲۶ متر پایین‌تر از سطح دریای آزاد اجرا گردید (جدول ۱). میزان بارندگی سالانه در محل آزمایش بر مبنای میانگین ۳۰ ساله گذشته ۱۳۵۳/۶ میلی‌متر و متوسط دمای سالانه آن ۱۵/۸ درجه سانتی‌گراد بود. براساس روش اقلیم بندی کوپن Cf، این منطقه جزء مناطق معتدله نیمه مدیترانه‌ای گرم محسوب می‌شود که تابستان گرم و زمستان‌های ملایم دارند.

در این آزمایش، برنج رقم خزر مورد استفاده قرار گرفت. این رقم دارای طول دوره رشدی حدود ۱۳۰ روز، ارتفاع ۱۲۵ سانتی‌متر و طول خوشه ۱۸ سانتی‌متر است. این رقم جزء گروه خیلی مقاوم به ورس طبقه بندی

(LCC: Leaf Color Chart) را جهت تشخیص وضعیت غلظت نیتروژن برگ در برنج مورد مقایسه قرار دادند. نتایج به دست آمده نشان داد که همبستگی ضعیفی بین رنگ برگ و غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن برگ به صورت تجمعی برای کلیه مراحل رشد وجود دارد ($r = 0.78$ تا 0.77).

حد آستانه کلروفیل متر، میزان غلظت نیتروژن بحرانی برگ برحسب واحد سطح یا وزن برگ را نشان می‌دهد. هنگامی که مقادیر قرائت شده از کلروفیل متر پایین‌تر از حد آستانه کلروفیل متر باشد، باید اقدام به مصرف کود سرک نیتروژن کرد تا گیاه دچار کمبود نیتروژن نگردد. براساس نتایج حاصل از تحقیقات مشخص گردیده است که برای هر گروه واریته‌ای حد آستانه کلروفیل متر متفاوتی وجود دارد (Balasubramanian et al., 2000; Thiyagarajan et al., 2000). حد آستانه کلروفیل متر برای واریته‌های محلی یا واریته‌های اصلاح شده محلی فیلیپین در حدود ۳۰ تا ۳۲ و برای واریته‌های نیمه پاکوتاه در سیستم نشاء کاری بین ۳۵ تا ۳۷ پیشنهاد شده است. در برنج‌های هیبرید استوایی که دارای برگ‌های نازک‌تر و تا حدی غلظت نیتروژن پایین‌تری نسبت به اینبردها هستند، حد آستانه کلروفیل متر معادل یا اندکی پایین‌تر از حد آستانه کلروفیل متر اینبردها بوده است (Balasubramanian et al., 2000). بر اساس تحقیقات پنگ و همکاران (Peng et al., 1995a) برای واریته‌های نیمه پاکوتاه برنج اینسیدیکا با غلظت بحرانی نیتروژن برگ ۱/۴ گرم بر مترمربع، حد آستانه کلروفیل متر ۳۵ است. درحالی که ترنر و جوند (Turner and Jund, 1991) در ارقام نیمه پاکوتاه برنج، بالاترین مقدار قرائت شده کلروفیل متر را برای تیمارهای کود نیتروژن در مرحله پنجه‌زنی بین ۳۸ تا ۴۳، در مرحله تشکیل مریستم خوشه بین ۳۵ تا ۴۴ و در مرحله ظهور خوشه بین ۳۳ تا ۳۸ اعلام کردند. آن‌ها حد آستانه کلروفیل متر برای مراحل تشکیل مریستم خوشه و شکل‌گیری خوشه‌ها جهت دستیابی به حداکثر

جدول ۱- مشخصات خاک مزرعه آزمایش

Table 1. Soil characteristics of the experimental field

بلوک Block	بافت خاک Soil texture	درصد رس Caly %	درصد سیلت Silt %	درصد شن Sand %	پتاسیم قابل جذب K (mg.Kg ⁻¹)	فسفر قابل جذب P (mg.Kg ⁻¹)	درصد نیتروژن کل N %	درصد کربن آلی Organic C %	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی Ec (ds.m ⁻¹)	درصد اشباع S.P %
B1	Sandy	2	4	94	86	41.7	0.070	0.65	6.4	0.68	43
B2	Sandy	4	8	88	95	22.9	0.065	0.61	6.5	0.66	44
B3	Sandy	4	8	88	86	36.9	0.077	0.72	6.5	0.63	49

تریپل و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار پتاسیم خالص از منبع سولفات پتاسیم (برای تمام تیمارها) به زمین اصلی اضافه گردید. در اواسط مرحله پنجه زنی، کود سرک اول در کرت های مربوط به تیمارهای سوم، چهارم، پنجم و ششم به ترتیب به مقدار ۴۰، ۲۰، ۶۰ و ۳۰ کیلوگرم نیتروژن خالص به طور یکنواخت پخش گردید. کود سرک دوم نیتروژن در مرحله تشکیل مریستم خوشه (۵۳ روز بعد از نشاء کاری) به تیمارهای پنجم و ششم (به ترتیب ۲۰ و ۳۰ کیلوگرم نیتروژن خالص) به طور یکنواخت اضافه گردید (جدول ۲).

می شود و مقاوم به ریزش و بیماری بلاست است. وزن هزار دانه آن ۲۴/۵ گرم و متوسط عملکرد آن ۵/۵ تن در هکتار است.

این آزمایش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار و شش تیمار اجرا گردید. یک روز قبل از نشاء کاری کود نیتروژن از منبع اوره به مقدار صفر، ۴۰، ۴۰، ۶۰ و ۶۰ کیلوگرم نیتروژن خالص به ترتیب برای تیمارهای اول یا شاهد (T1)، دوم (T2)، سوم (T3)، چهارم (T4)، پنجم (T5) و ششم (T6) همراه با ۴۵ کیلوگرم در هکتار فسفر خالص از منبع سوپرفسفات

جدول ۲- تیمارهای تقسیط کود نیتروژن

Table 2. Nitrogen fertilizer application treatments

تیمار Treatment	مقادیر کود نیتروژن مصرف شده (kg/ ha) Nitrogen fertilizer rates (kg/ha)		
	پایه Basal	اواسط پنجه زنی Midtillering	ابتدای رشد زایشی Panicle initiation
(T1) شاهد	–	–	–
(T2) تیمار ۲	40	–	–
(T3) تیمار ۳	40	40	–
(T4) تیمار ۴	40	20	20
(T5) تیمار ۵	60	60	–
(T6) تیمار ۶	60	30	30

ثبت شد. برای این منظور در هر کرت تعداد ۳۰ برگ از بالاترین برگ هر بوته که به حداکثر اندازه خود رسیده بود به طور تصادفی انتخاب و برای هر برگ در سه نقطه از پهنک برگ (نوک، وسط و قاعده) در یک سوی رگبرگ اصلی، قرائت دستگاه

در طول اجرای آزمایش، عملیات قرائت کلروفیل متر و نمونه برداری برای تمام تیمارها و تکرارها از ۱۹ روز بعد از نشاء کاری با فاصله هر ۱۰ روز یک بار تا ۱۱ روز قبل از برداشت طی ۹ مرحله انجام گرفت و مقادیر کلروفیل متر برای بالاترین برگ کاملاً توسعه یافته بوته ها

کلروفیل متر دستی (SPAD-502, Minolta Co. Japan) ۹۰ قرائت انجام شد (Peng et al., 1993, 1995b) انجام گرفت، به طوری که برای هر کرت (شکل ۱).



شکل ۱- دستگاه کلروفیل متر دستی (SPAD-502)

Fig. 1. Chlorophyll meter (SPAD-502)

(X) مقادیر کلروفیل متر (متغیر مستقل) و (Y) میزان نیتروژن برحسب واحد وزن و سطح برگ (متغیرهای وابسته) به ترتیب در معادله ۱ و ۲ است. با استفاده از معادله (۱) مقادیر کلروفیل متر به صورت تجمعی تنها حدود ۲۲/۵ درصد از تغییرات نیتروژن برحسب واحد وزن برگ را توجیه کرد (شکل ۲). بر اساس مطالعات قبلی مشخص شده است که رابطه خطی ضعیفی بین دو متغیر فوق به صورت تجمعی برای ده مرحله رشد دو هیبرید نیمه پاکوتاه برنج وجود دارد (Peng et al., 1995b) ($R^2=0/185$).

پنگ و همکاران (Peng et al., 1993) نیز یک رابطه خطی ضعیف را بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن برگ به صورت تجمعی برای سه مرحله رشد برنج رقم نیمه پاکوتاه IR72 گزارش کردند ($R^2=0/49$). آنها معتقد بودند که علت ارتباط ضعیف بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن برگ به صورت تجمعی برای کلیه مراحل رشد، وجود تفاوت معنی دار (در سطح ۵ درصد) بین شیب خط رگرسیونی برای دو متغیر فوق بین مرحله گلدهی، مراحل اواسط پنجه زنی و تشکیل مریستم خوشه بوده است.

پس از قرائت مقادیر کلروفیل متر در هر مرحله، مساحت برگ های نمونه برداری شده به روش وزنی تعیین و وزن تر و خشک (پس از خشکانیدن در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد) برگ های انتخاب شده اندازه گیری شد. سپس نمونه ها به آزمایشگاه بخش خاک و آب موسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) منتقل شدند و میزان غلظت نیتروژن آن با استفاده از روش کج لیدال تعیین گردید. در این تحقیق برای برآزش بهترین مدل رگرسیونی (خطی و غیر خطی) بین غلظت نیتروژن (بر حسب سطح و وزن برگ) و مقادیر کلروفیل متر و ضرایب همبستگی از نرم افزار SPSS و برای رسم نمودار از نرم افزار EXCEL استفاده شد.

نتایج حاصل از تجزیه رگرسیون برای کلیه مراحل رشد به صورت تجمعی (۶ تیمار و ۹ مرحله = ۵۴ داده)، نشان داد که یک رابطه خطی و معنی دار بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن و سطح برگ برنج وجود داشت (جدول های ۴ و ۳). روابط رگرسیونی به صورت زیر محاسبه گردید:

$$\text{معادله (۱)} \quad Y = 2.22X - 50.584 \quad R^2 = 0.225$$

$$\text{معادله (۲)} \quad Y = 0.126X - 3.065 \quad R^2 = 0.819$$

یانگ و همکاران (Yang et al., 2003) گزارش کردند که به صورت تجمعی برای سه مرحله رشد بین رنگ برگ (جدول‌های رنگ برگ) و غلظت نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ ($R^2=0/75$ تا $0/80$) رابطه مستقیم و قوی تری از رنگ برگ و غلظت نیتروژن بر حسب واحد وزن برگ ($R^2=0/46$ تا $0/62$) وجود داشت. پنگ و همکاران (Peng et al., 1995b) نیز نشان دادند که در ۸۰ ژنوتیپ برنج امکان تخمین غلظت نیتروژن برگ با استفاده از رابطه رگرسیونی بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ در مقایسه با غلظت نیتروژن بر حسب وزن برگ از ۲۴ به ۷۷/۴ درصد

بر اساس معادله (۲) مقادیر کلروفیل متر به صورت تجمعی سهم بیشتری از تغییرات نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ را نسبت به وزن برگ توجیه کرد ($R^2=0/819$) (شکل ۳). با توجه به وجود رابطه نزدیک تر بین مقادیر کلروفیل متر و کلروفیل استخراج شده بر حسب واحد سطح برگ در مقایسه با کلروفیل استخراج شده بر حسب واحد وزن برگ (Marquard and Tipton, 1987) و ارتباط نزدیک بین کلروفیل و غلظت نیتروژن برگ در گیاه برنج (Evans, 1986; Blackmer and Schepers, 1994)، می توان برازش دقیق تر تغییرات نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ را توسط مقادیر کلروفیل متر انتظار داشت.

جدول ۳- تجزیه رگرسیون بین غلظت نیتروژن بر حسب واحد وزن (Ndw) و مقادیر کلروفیل متر (SPAD) برای کلیه مراحل رشد در طی روزهای بعد از نشاء کاری

Table 3. Analysis of regression (pooled) of nitrogen concentration based on leaf dry weight (Ndw) and chlorophyll meter readings (SPAD values) at various days after transplanting (DAT)

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS	R^2_{adj}	عرض از مبدأ Intercept	ضریب رگرسیون	
					درجه یک	درجه دو
Linear	1	1556.15 **	0.225	-50.5843**	2.2198**	-
Residuals	52	94.83				
Quadrati	2	778.41 **	0.210	-27.4577 ^{ns}	0.9212 ^{ns}	0.0181 ^{ns}
Residuals	51	96.67				

R^2 : adjusted

R^2 : تصحیح شده

ns و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح ۱٪ احتمال.

ns and **: Non significant, significant at the 1% level of probability respectively.

جدول ۴- تجزیه رگرسیون بین غلظت نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ (Na) و مقادیر کلروفیل متر (SPAD) برای کلیه مراحل رشد در طی روزهای بعد از نشاء کاری

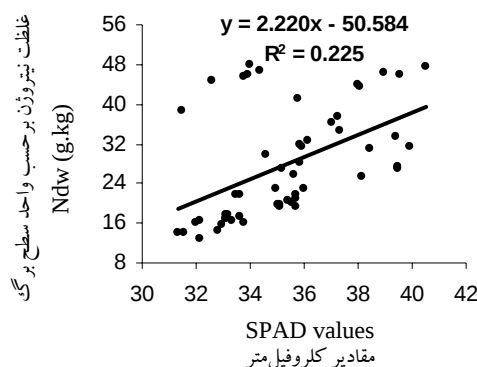
Table 4. Analysis of regression (pooled) of nitrogen concentration based on leaf area (Na) and chlorophyll meter readings (SPAD values) at various days after transplanting (DAT)

منبع تغییرات Source of variation	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS	R^2_{adj}	عرض از مبدأ Intercept	ضریب رگرسیون	
					درجه یک	درجه دو
Linear	1	5.05 **	0.819	-3.0647*	0.1264**	-
Residuals	52	0.021				
Quadrati	2	2.54 **	0.821	2.1534 ^{ns}	-0.1665 ^{ns}	0.0041 ^{ns}
Residuals	51	0.021				

ns و **: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪ احتمال.

ns, * and **: Non significant, significant at the 5% and 1% level of probability respectively.

برحسب واحد سطح برگ با دقت بالایی پیش‌بینی می‌کند (Peng et al., 1996; Garcia et al., 1996; Balasubramanian et al., 1999; Hussain et al., 2000).

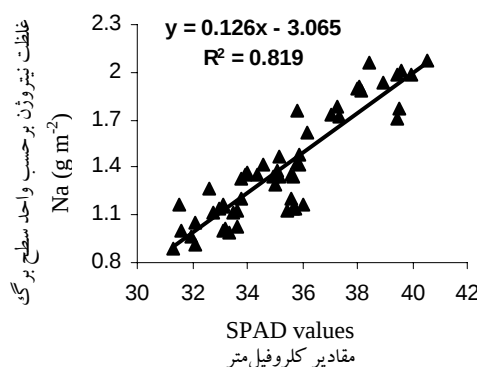


شکل ۲- ارتباط بین غلظت نیتروژن برحسب و مقادیر کلروفیل متر (NdW) واحد وزن برگ برای کلیه مراحل رشد

Fig.2. Relationship (pooled) between nitrogen concentration based on leaf dry weight and chlorophyll meter readings

ضریب همبستگی بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن برگ بود ($r=0/490$). پنگ و همکاران (Peng et al., 1993) همبستگی ضعیف را بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن برگ به صورت تجمعی برای سه مرحله اواسط پنجه‌زنی، تشکیل مریستم خوشه و گلدهی برنج گزارش کردند ($R^2=0/70$). اما زمانی که آنها در آزمایش دیگر در سال ۱۹۹۵ همبستگی دو متغیر فوق را به صورت تجمعی در ده مرحله رشد مورد محاسبه قرار دادند این همبستگی به $0/43$ کاهش یافت، در حالی که همبستگی بالاتری بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برحسب واحد سطح برگ در دو برنج هیبرید نیمه پاکوتاه مشاهده شد ($r=0/81$) (Peng et al., 1995b). با توجه به این که ضریب همبستگی بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن برگ در هر یک از مراحل رشد بالاتر از $0/88$ بود احتمالاً علت همبستگی ضعیف این دو

افزایش می‌یابد. در سایر مطالعات انجام شده نیز گزارش‌های موجود حاکی از این است که مقادیر کلروفیل متر در برنج، غلظت نیتروژن را



شکل ۳- ارتباط بین غلظت نیتروژن برحسب و مقادیر کلروفیل متر (Na) واحد سطح برگ برای کلیه مراحل رشد

Fig.3. Relationship (pooled) between nitrogen concentration based on leaf area and chlorophyll meter readings

با مقایسه ضرایب همبستگی بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برگ در ۹ مرحله اندازه‌گیری غلظت نیتروژن بافت برگ در مراحل مختلف رشد روز بعد از نشاء کاری مشخص گردید که در کلیه مراحل مقادیر کلروفیل متر همبستگی بالاتری با غلظت نیتروژن برحسب واحد سطح برگ در مقایسه با غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن برگ دارد (جدول ۵). پنگ و همکاران (Peng et al., 1995b) در برنج همبستگی قوی‌تری بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برحسب واحد سطح برگ در هر یک از مراحل رشد (ده مرحله) به‌خصوص در مراحل میانی رشد و بعد از آن را نسبت به غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن برگ گزارش کردند.

در این تحقیق، ضریب همبستگی برای کلیه مراحل رشد به صورت تجمعی بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برحسب واحد سطح برگ ($r=0/907$) بالاتر از

با غلظت نیتروژن برحسب واحد سطح برگ در اکثر مراحل رشد و به صورت تجمعی همبستگی بالا و قابل قبول است. با توجه به این که روش برآورد میزان نیتروژن برحسب واحد سطح برگ توسط مقادیر کلروفیل متر روشی غیر تخریبی و ساده است، لذا برای تعیین وضعیت نیتروژن گیاه برنج مناسب است.

متغیر به صورت تجمعی ($r=0.490$) وجود شیب‌های متفاوت بین دو متغیر فوق و تفاوت غلظت نیتروژن در مراحل مختلف رشد بوده است (Yang et al., 2003; Peng et al., 1993).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با وجود این که مقادیر کلروفیل متر به صورت تجمعی با غلظت نیتروژن برحسب واحدوزن برگ رابطه ضعیفی دارد، اما

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین غلظت نیتروژن برحسب واحد وزن (Ndw) و سطح برگ (Na) و مقادیر کلروفیل متر (SPAD) در طی روزهای بعد از نشاء کاری

Table 5. Correlation coefficients (r) of nitrogen concentration [based on leaf dry weight (Ndw) and area (Na)] and chlorophyll meter readings (SPAD values) at various days after transplanting (DAT)

روز بعد از نشاء کاری DAT	تعداد مشاهدات Number of observations	ضرایب همبستگی (Correlation coefficients)	
		SPAD and Ndw	SPAD and Na
19	6	0.933**	0.988**
29	6	0.974**	0.994**
39	6	0.887**	0.988**
49	6	0.892**	0.985**
59	6	0.964**	0.999**
69	6	0.981**	0.981**
79	6	0.975**	0.995**
89	6	0.969**	0.994**
99	6	0.965**	0.995**
pooled	54	0.490**	0.907**

** : Significant at the 1% probability level.

** : معنی دار در سطح احتمال ۱٪.

غلظت نیتروژن برحسب واحد سطح برگ در این دو تیمار نیز برآزش گردید (معادله‌های ۳ و ۴) اما با توجه به نزدیک بودن مقادیر عرض از مبدأ و ضریب رگرسیونی معادله‌های ۳ و ۴ با معادله ۲ و مشابه بودن مقادیر برآورد شده کلروفیل متر در سه معادله، ترجیحاً از معادله ۲ که اثر زمان و تیمارها در آن حذف شده است استفاده گردید. در نتیجه بر اساس معادله ۲ مقادیر کلروفیل متر در تیمارهای چهارم و ششم برای مصرف کود سرک اول نیتروژن (۳۴ روز بعد از نشاء کاری) حدود ۳۹/۲ تا ۳۹/۸ برآورد گردید (جدول ۶). ترنر و جوند (Turner and Jund, 1991) در ارقام نیمه پاکوتاه

در تحقیق حاضر با توجه به این که بر خلاف سایر تیمارها، کود نیتروژن به صورت پایه در تیمار شاهد مصرف نشد در نتیجه در اواسط مرحله پنجه‌زنی غلظت نیتروژن برگ در این تیمار می‌تواند در حد غلظت بحرانی نیتروژن باشد، بنابراین با قرار دادن غلظت نیتروژن برگ (۲۹ روز بعد از نشاء کاری) تیمار شاهد در معادله ۲ مقادیر کلروفیل متر حدود ۳۸/۱ برآورد گردید (جدول ۶). از آنجایی که بالاترین میزان عملکرد و اجزای عملکرد دانه در تیمارهای چهارم و ششم با سه تقسیط نیتروژن مشاهده شد (۴۶۷۰ و ۴۸۳۰ کیلوگرم در هکتار) و این دو تیمار از نظر عملکرد تفاوت معنی داری نداشتند (جدول ۷)، رابطه بین مقادیر کلروفیل متر و

برنج، مقادیر کلروفیل متر را برای تیمارهای کود نیتروژن در اواسط مرحله پنجه زنی بین ۳۸ تا ۴۳ گزارش کردند. با در نظر گرفتن غلظت نیتروژن برگ در تیمارهای چهارم و ششم (بهترین تیمار از نظر عملکرد) در ابتدای مرحله رشد زایشی (۵۳ روز بعد از نشاء کاری) و قرار دادن آن در معادله (۲) مقادیر کلروفیل متر برای این دو تیمار حدود ۳۴ تا ۳۴/۴ تعیین گردید (جدول ۶).

$$Y_{T4} = 0.1309X - 3.2424 \quad R^2 = 0.691 \quad (۳)$$

$$Y_{T6} = 0.1273X - 3.1017 \quad R^2 = 0.788 \quad (۴)$$

جدول ۶- مقادیر کلروفیل متر بر آورد شده بر پایه معادله (۲) و غلظت نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ در طی روزهای بعد از نشاء کاری

Table 6. Estimated SPAD values based on equation [2] and nitrogen concentration based on leaf area (Na) at various days after transplanting(DAT)

تیمار Treatment	غلظت نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ (Na) DAT										
	19	29	34	39	49	53	59	69	79	89	99
(T1) شاهد	1.17	1.76	1.63	1.41	1.13	1.06	1.01	1.05	0.99	0.89	1.14
(T2) تیمار ۲	1.27	1.90	1.78	1.47	1.12	1.07	1.03	0.97	1.01	0.92	1.20
(T3) تیمار ۳	1.36	1.90	1.81	1.62	1.42	1.30	1.16	1.35	1.29	1.16	1.00
(T4) تیمار ۴	1.34	1.93	1.89	1.72	1.36	1.23	1.14	1.71	1.98	2.05	1.35
(T5) تیمار ۵	1.36	2.01	1.96	1.78	1.48	1.33	1.14	1.21	1.34	1.16	1.12
(T6) تیمار ۶	1.37	2.07	1.97	1.73	1.43	1.27	1.13	1.77	1.99	1.88	1.37
(Estimated SPAD values) مقادیر کلروفیل متر بر آورد شده											
(T1) شاهد	33.5	38.1	37.1	35.4	33.2	32.6	32.2	32.6	32.1	31.3	33.3
(T2) تیمار ۲	34.2	39.2	38.3	35.8	33.1	32.7	32.4	31.9	32.2	31.5	33.7
(T3) تیمار ۳	35.0	39.3	38.6	37.0	35.4	34.5	33.4	34.9	34.4	33.4	32.2
(T4) تیمار ۴	34.8	39.5	39.2	37.9	35.0	34.0	33.2	37.8	39.9	40.5	34.9
(T5) تیمار ۵	35.0	40.1	39.7	38.3	36.0	34.8	33.3	33.8	34.8	33.4	33.1
(T6) تیمار ۶	35.0	40.6	39.8	37.9	35.6	34.3	33.2	38.2	40.0	39.1	35.1

اعداد ایتالیک نشان دهنده مراحل مصرف کود سرک نیتروژن هستند.

Italic digits shows N fertilizer application topdressing.

جدول ۷- مقایسه میانگین عملکرد و اجزای عملکرد دانه برنج رقم خزر

Table 7. Mean comparison of yield and yield components of rice cv. Khazar

عملکرد دانه	وزن هزار دانه	تعداد دانه در خوشه	تعداد خوشه‌ها	نیتروژن مصرف شده	تیمار
Grain yield	1000 grain wt.	Grains . Panicle ⁻¹	Panicles . m ⁻²	N applied (Kg/h)	Treatment
(kg/h)	(g)				
				Ba MT PI	
3.06 e	22.10 d	93.2 a	173.0 d	0 0 0	شاهد (T1)
3.45 d	22.63 d	94.4 a	187.7 d	40 0 0	تیمار ۲ (T2)
4.19 c	24.23 c	96.4 a	209.0 c	40 40 0	تیمار ۳ (T3)
4.67 ab	25.87 ab	94.2 a	223.0 bc	40 20 20	تیمار ۴ (T4)
4.37 bc	25.40 b	84.7 a	236.0 ab	60 60 0	تیمار ۵ (T5)
4.83 a	26.17 a	86.7 a	248.0 a	60 30 30	تیمار ۶ (T6)

میانگین های دارای حروف مشترک در هر ستون از نظر آماری اختلاف معنی داری ندارند.

* Mean with similar letters in each column have statistical insignificant different (Duncan's MRT).

Ba: مصرف به صورت پایه، MT: اواسط پنجه زنی، PI: شروع مرحله زایشی

Ba: Basal, MT: Midtillering, PI: Panicle Initiation

شالیزارها، انجام تحقیقات مختلف جهت تقسیم کود نیتروژن با استفاده از اعداد ۳۸ تا ۴۰ کلروفیل متر برای مرحله اواسط پنجه زنی و اعداد ۳۴ تا ۳۶ کلروفیل متر برای مرحله ابتدای رشد زایشی با در نظر گرفتن میزان عملکرد دانه و کارایی مصرف نیتروژن جهت دستیابی به حد آستانه کلروفیل متر (مربوط به هر مرحله) ضروری به نظر می‌رسد.

از کلیه کارکنان موسسه تحقیقات برنج کشور (رشت) به خصوص کارکنان آزمایشگاه بخش خاک و آب که امکان تعیین میزان غلظت نیتروژن برگ برنج را در این تحقیق فراهم کردند تشکر می‌گردد.

پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1995a) غلظت بحرانی نیتروژن برحسب واحد سطح برگ را برای رقم نیمه پاکوتاه ایندیکا IR72، ۱/۴ گرم بر متر مربع و حد آستانه کلروفیل متر ۳۵ تعیین کردند. همچنین در فیلیپین برای ارقام نیمه پاکوتاه با غلظت بحرانی نیتروژن برحسب واحد سطح برگ ۱/۴ تا ۱/۵ گرم بر متر مربع، حد آستانه کلروفیل متر بین ۳۵ تا ۳۷ تعیین گردید (Balasubramanian *et al.*, 2000). در صورتی که غلظت بحرانی نیتروژن معرفی شده توسط این محققان در معادله برآورد شده در این تحقیق (معادله ۲) قرار داده شود، حد آستانه کلروفیل متر برای رقم خزر حدود ۳۵/۳ تا ۳۶/۱ به دست خواهد آمد. بنابراین در ادامه این مطالعه به منظور مدیریت نیتروژن با استفاده از کلروفیل متر در

References

- Balasubramanian, V., A. C. Morales, R. T. Cruz, and S. Abdulrahman. 1999. On-farm adaptation of knowledge-intensive nitrogen management technologies for rice systems. *Nutr. Cycling Agroecosyst.* 53: 93-101.
- Balasubramanian, V., A. C. Morales, R. T. Cruz, T. M. Thiyagarajan, R. Nagarajan, M. Babu, S. Abdulrahman, and L. H. Hai. 2000. Adaptation of the chlorophyll meter (SPAD) technology for real-time N management in rice: A review. *Institute Rice Research. Notes*, 25 (1): 4-8.
- Blackmer, T. M., and J. S. Schepers. 1994. Techniques for monitoring crop nitrogen status in corn. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 25: 1791-1800.
- Campbell, R. J., K. M. Mobley, R. P. Marini, and D. G. Pfeiffer. 1990. Growing conditions alter the relationship between SPAD-510 values and apple leaf chlorophyll. *Hort Science*, 25: 330-331.
- Chubachi, T., I. Asano, and T. Oikawa. 1986. The diagnosis of nitrogen nutrition of rice plant (Sasanishki) using chlorophyll meter. *Jpn. J. Soil Sci. Plant Nutr.* 57 (20): 190-193.
- Evans, J. R. 1983. Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat. *Plant Physiol.* 72: 297-302.
- Hussain, F., K. F. Bronson, Y. Singh, B. Singh, and S. Peng. 2000. Use of chlorophyll meter sufficiency indices for nitrogen management of irrigated rice in Asia. *Agron J.* 92: 875-879.
- Mallino, A., T. Mae, and K. Ohira. 1988. Differences between wheat and rice in the enzymic properties of ribulose1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and the relationship to photosynthetic gas exchange. *Planta*, 174: 30-38.

- Marquard, R. D., and J. L. Tipton. 1987.** Relationship between extractable chlorophyll and an in situ method to estimate leaf greenness. *Hort Science*, 22 (6): 1327.
- Mitsui, S., and Y. Ishii. 1938.** Effects of supply of three major nutrients on photosynthetic rate of rice seedlings. *J. Sci. Soil Manure (Japan)*, 12: 287-289.
- Miyashita, K., H. Shinke, M. Endo, and M. Takahashi. 1986.** Vegetative diagnosis and growth forecast of rice: I. Adaptability of SPAD- chlorophyll meter. *Tohoku Agric. Res.* 39: 53-54.
- Peng, S., F. V. Garcia, R. C. Laza, and K. G. Cassman. 1993.** Adjustment for specific leaf weight improves chlorophyll meter's estimation of rice leaf nitrogen concentration. *Agron. J.* 85: 987-990.
- Peng, S., F. V. Garcia, R. C. Laza, A. L. Sanico, R. M. Visperas, and K. G. Cassman. 1996.** Increased N-use efficiency using a chlorophyll meter on high-yielding irrigated rice. *Field Crops Res.* 47: 243-252.
- Peng, S., K. G. Cassman, and M. J. Kropff. 1995a.** Relationship between leaf photosynthesis and nitrogen content of field-grown rice in the tropics. *Crop Sci.* 35: 1627-1630.
- Peng, S., R. C. Laza, F. C. Garcia, and K. G. Cassman. 1995b.** Chlorophyll meter estimates leaf area-based N concentration of rice. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 26: 927-935.
- Smeal, D., and H. Zhang. 1994.** Chlorophyll meter evaluation for nitrogen management in corn. *Commun. Soil. Sci. Plant Anal.* 25: 1495-1503.
- Takebe, M., and T. Yoneyma. 1989.** Measurement of leaf color scores and its implication to nitrogen nutrition of rice plants. *JARQ*, 23: 86-93.
- Takebe, M., T. Yoneyma, K. Inada, and T. Murakam. 1990.** Spectral reflectance ratio of rice canopy for estimating crop nitrogen status. *Plant Soil*, 122: 295-297.
- Tenga, A. Z., B. A. Marie, and D. P. Ormrod. 1989.** Leaf greenness meter to assess ozone injury to tomato leaves. *Hort Science*, 24 (3): 514.
- Thiyagarajan, M., S. Aruna Geetha, and V. Balasubramanian. 2000.** Assessing genotypic variation in N requirements of rice with chlorophyll meter. *Int. Rice Res. Notes*, 25 (1): 23.24.
- Turner, F. T., and M. F. Jund. 1991.** Chlorophyll meter to predict nitrogen topdress requirement for semidwarf rice. *Aust. J. Exp. Agric.* 34: 1001-1005.
- Uchida, N., Y. Wada, and Y. Murata. 1982.** Studies on the changes in the photosynthetic activity of a crop leaf during its development and senescence. II. Effect of nitrogen deficiency on the changes in the senescing leaf of rice. *Jpn. J. Crop Sci.* 51: 577-583.
- Yang, W. H., S. B. Peng, J. Huang, A. L. Sanico, R. J. Buresh, and C. Witt. 2003.** Using leaf color charts to estimate leaf nitrogen status of rice. *Agron. J.* 30: 261-270.
- Yoshida, S. 1981.** Fundamentals of rice crop science. International Rice Research Institute, los Bonos.
- Yoshida, S., and Coronel V. 1976.** Nitrogen nutrition leaf resistance, and leaf photosynthetic rate of the rice plant. *Soil. Sci. plant Nutr.* 22: 207-211.

Determination of nitrogen requirement at different growth stages of rice (*Oryza sativa* Cv. Khazar) using chlorophyll meter (SPAD)

Ali-Abasi¹, H. M., M. Esfahani², M. Kavosi³ and B. Rabiee⁴

ABSTRACT

In order to estimate the leaf nitrogen (N) status of rice plant (*Oryza sativa* L. Cv. Khazar) and to recommend the precise timing of N-fertilizer topdressing by using chlorophyll meter (SPAD-502), a field experiment was carried out in a RCBD with 6 treatments and three replications in a coastal light texture soil in Guilan province - Iran in 2003 cropping season. Six N rates using Urea T1-control (no N fertilizer), T2-40 kg/ha (Basal), T3-40+40 kg/ha (Basal + Mid-tillering), T4-40+20+20 kg/ha (Basal + Midtillering + Panicle initiation), T5- 60+60 kg/ha (Basal + Midtillering) and T6-60+30+30 kg/ha (Basal + Midtillering + Panicle initiation) Kg/ha were applied. The chlorophyll meter (SPAD) values and leaf N concentration (by Kjeldahl procedure) were determined at 9 stage: 19, 29, 39, 49, 59, 69, 79, 89 and 99 days after transplanting on the uppermost fully expanded leaf in rice plant. Regression analysis showed that, when data for all growth stages were pooled, SPAD values predicated only about 23% of variation of leaf N concentration on a dry-weight basis, but SPAD values predicated about 80% of variation of leaf N concentration on a leaf area basis. At each growth stage, SPAD values correlated with leaf N concentration on a leaf area basis better than leaf N concentration on a dry-weight basis. Thus, chlorophyll meter provides a simple, quick, and nondestructive method to estimate the leaf N concentration on a leaf area basis and can be used to predict the appropriate timing for N fertilizer topdressing in rice.

Key word: Rice, Nitrogen, Topdressing, Chlorophyll meter (SPAD), Leaf area, Dry weight.

1. MSc. Student, the university of Guilan, Rasht, Iran.

2. Assistant Prof. Crop Sciences Department. The University of Guilan, Rasht, Iran.

3. Faculty member, Iranian Rice Research Institute, Rasht, Iran.

4. Assistant Prof. Crop Sciences Department. The University of Guilan, Rasht, Iran.