

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

حمدیرضا علی عباسی<sup>۱</sup>، مسعود اصفهانی<sup>۲</sup>، مسعود کاووسی<sup>۳</sup> و بابک ربیعی<sup>۴</sup>

مجله علوم زراعي ايران. جلد هفتم، شماره ۲، صفحه ۱۴۵-۱۳۴.

(Oryza sativa L.)

(SPAD)

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

تاریخ دریافت: ۱۳۸۲/۱۰/۱۶

## ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد

### ۳- بُوھشگ مئسیہ تحقیقات پنج کشہ، (دشت)

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

<sup>۴</sup>- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گلستان

برگ تا حد زیادی به مرحله رشد، ژنتیپ و شرایط محیطی و زراعی بستگی دارد. بنابراین پیش‌بینی دقیق وضعیت نیتروژن گیاه با استفاده از کلروفیل متر به کالیراسیون جداگانه برای تعیین ارتباط بین غلظت نیتروژن بر حسب واحد وزن برگ و مقادیر کلروفیل متر 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 بر حسب واحد وزن برگ و مقادیر کلروفیل متر 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). Turner و Jund (1991) نشان دادند که کلروفیل متر با دقت قابل قبولی نیازمندی به کود سرک نیتروژن (بر حسب واحد وزن خشک یا سطح برگ) را در ارقام نیمه پاکوتاه برنج در مراحل خاصی از رشد مانند مراحل قبل از ظهور خوشی یا آغاز شکل‌گیری خوش، پیش‌بینی می‌کند.

پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1995b) طی بررسی ارتباط بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن بر حسب واحد سطح و وزن برگ در ۸۰ ژنتیپ برنج نشان دادند که مقادیر کلروفیل متر همبستگی بالاتری را با غلظت نیتروژن بر آورد شده بر حسب واحد سطح برگ دارد تا زمانی که غلظت نیتروژن بر حسب واحد وزن برگ بیان شود (به ترتیب ۰/۸۸ و ۰/۴۹،  $r=0.49$ ).

پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1993) همبستگی بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن بر حسب واحد وزن برگ در رقم IR72 را برای کلیه مراحل رشد (اواسط پنجه‌زنی، تشکیل مریستم خوش و گلدهی) ضعیف گزارش کردند. آن‌ها همچنین در ۵ ژنتیپ برنج در یک هفته بعد از گلدهی (در ۷۶ روز) اعلام کردند. یانگ و همکاران (Yang *et al.*, 2003) مقادیر کلروفیل متر و جداول‌های 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 کارآیی مصرف آن در این سیستم پایین است. از آن جایی که در برنج بین میزان فوستتر 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 الامکان غیرتخریبی برای تعیین میزان نیتروژن برگ و تعیین زمان دقیق مصرف کود نیتروژن بسیار مفید است (Turner and Jund, 1991).

تاكبه و يونياما، كمپل و همکاران و اسميل و ژانگ (Takebe and Yoneyama, 1989; Campbell *et al.*, 1990; Smeal and Zhang, 1994) در مطالعات جداگانه‌ای گزارش کردند که رگ‌سیون خطی بین مقادیر کلروفیل متر (Soil-Plant Analysis Development: SPAD) کلروفیل برگ و غلظت نیتروژن بر حسب 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 متراستی 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 مترا و تعیین بهترین معادله برای تخمین غلظت نیتروژن برگ برحسب واحد سطح یا وزن برگ با استفاده از مقادیر قرائت شده از دستگاه کلروفیل متراستی 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 پایین تر از سطح دریای آزاد اجرا گردید (جدول ۱). میزان بارندگی سالانه در محل آزمایش بر مبنای میانگین ۳۰ ساله گذشته ۱۳۵۳/۶ میلی متر و متوسط دمای سالانه آن ۱۵/۸ درجه سانتی گراد بود. براساس روش افلیم 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 سانتی متر و طول خوش ۱۸ سانتی متر است. این رقم جزء گروه خیلی مقاوم به ورس طبقه‌بندی

(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 (۰/۷۸ تا ۰/۶۷ = r=).

حد آستانه کلروفیل مترا، میزان غلظت نیتروژن بحرانی برگ برحسب واحد سطح یا وزن برگ را نشان می‌دهد. هنگامی که مقادیر قرائت شده از کلروفیل مترا پایین تر از حد آستانه کلروفیل متراشده، 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 مترا متفاوتی وجود دارد (Balasubramanian *et al.*, 2000; Thiyagarajan *et al.*, 2000). حد آستانه کلروفیل مترا برای واریته‌های محلی 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 نازک تر و تا حدی غلظت نیتروژن پایین تری نسبت به اینبردها هستند، حد آستانه کلروفیل مترا معادل یا اندکی پایین تر از حد آستانه کلروفیل مترا اینبردها بوده است (Balasubramanian *et al.*, 2000). بر اساس تحقیقات پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1995a) برای واریته‌های نیمه پاکوتاه برنج ایندیکا با غلظت بحرانی نیتروژن برگ ۱/۴ گرم بر مترمربع، حد آستانه کلروفیل مترا ۳۵ است. در حالی که ترنر و جوند (Turner and Jund, 1991) در ارقام نیمه پاکوتاه برنج، بالاترین مقدار قرائت شده کلروفیل مترا برای تیمارهای کود نیتروژن در مرحله پنجه‌زنی بین ۳۸ تا ۴۳، در مرحله تشکیل مربیستم خوش بین ۳۵ تا ۴۴ و در مرحله ظهور خوش بین ۳۳ تا ۳۸ اعلام کردند. آن‌ها حد آستانه کلروفیل مترا برای مراحل تشکیل مربیستم خوش و شکل‌گیری خوش‌های جهت دستیابی به حد اکثر

## 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 <sup>-1</sup> )	فسفور قابل جذب P (mg.Kg <sup>-1</sup> )	درصد نیتروژن کل N %	درصد کربن آلی Organic C %	اسیدیتیه pH	هدایت الکتریکی Ec (ds.m <sup>-1</sup> )	درصد اثبات 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 کرت‌های 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 خوش (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).

می‌شود 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 بلوک‌های 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	مقدار کود نیتروژن مصرف شده (kg/ ha)		
	پایه Basal	Nitrogen fertilizer rates (kg/ha)	
		اواسط پنجه زنی Midtillering	ابتدا 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 حداقل اندازه خود رسیده بود به طور تصادفی انتخاب و برای هر برگ در سه نقطه از پهنه ک برگ (نوک، وسط و قاعده) در یک سوی رگ برگ 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 مقداری کلروفیل متر برای بالاترین برگ کاملاً توسعه یافته بوته‌ها

(Peng *et al.*, 1993, 1995b) ۹۰ قرائت انجام شد (شکل ۱).

کلروفیل متر دستی (SPAD-502, Minolta Co. Japan) انجام گرفت، به طوری که برای هر کرت



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

Fig. 1. Chlorophyll meter (SPAD-502)

(X) مقادیر کلروفیل متر (متغیر مستقل) و (Y) میزان نیتروژن بر حسب 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  $22/5$  درصد از تغییرات نیتروژن بر حسب 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 ( $R^2=0.185$ ) (Peng *et al.*, 1995b).

پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1993) نیز یک رابطه خطی ضعیف را بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن بر حسب 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 بر حسب واحد وزن برگ به صورت تجمعی برای کلیه مراحل رشد، وجود تفاوت معنی دار (در سطح ۵ درصد) بین شب خط رگرسیونی برای دو متغیر فوق بین مراحل گلدهی، مراحل اواسط پنجه زنی و تشکیل مریstem خوش 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  $70^\circ\text{C}$  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 کجلدال تعیین گردید. در این تحقیق برای برآذش 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 بر حسب واحد وزن و سطح برگ برنج وجود داشت (جدول های ۴ و ۳). روابط رگرسیونی به صورت زیر محاسبه گردید:

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

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

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 ( $R^2=0.75$ ) (R<sup>2</sup>=۰/۷۵) رابطه مستقیم و قوی‌تری از رنگ برگ و غلظت نیتروژن بر حسب واحد وزن برگ ( $R^2=0.46$ ) (R<sup>2</sup>=۰/۴۶) وجود داشت. پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1995b) نیز نشان دادند که در ۸۰ ژنتیپ برنج امکان تخمین غلظت نیتروژن برگ با استفاده از رابطه رگرسیونی بین مقادیر کلروفیل‌متر 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 کلروفیل‌متر به صورت تجمعی سهم بیشتری از تغییرات نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ را نسبت به وزن برگ توجیه کرد (R<sup>2</sup>=۰/۸۱۹) (شکل ۳). با توجه به وجود رابطه نزدیک‌تر بین مقادیر کلروفیل‌متر و کلروفیل استخراج شده بر حسب واحد سطح برگ در مقایسه با کلروفیل استخراج شده بر حسب واحد وزن برگ (Marquard and Tipton, 1987) کلروفیل و غلظت نیتروژن برگ در گیاه برنج (Evans, 1986; Blackmer and Schepers, 1994) می‌توان برآش دقيق‌تر تغییرات نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ را توسط مقادیر کلروفیل‌متر انتظار داشت.

جدول ۳- تجزیه رگرسیون بین غلظت نیتروژن بر حسب واحد وزن (Nd<sub>w</sub>) و مقادیر کلروفیل‌متر (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 (Nd<sub>w</sub>) 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				
Quadratic	2	778.41 **	0.210	-27.4577 ns	0.9212 ns	0.0181 ns
Residuals	51	96.67				

R<sup>2</sup>: adjusted

تصحیح شده

ns و \*\*: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار 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 کلروفیل‌متر (SPAD) برای کلیه مراحل رشد در طی روزهای بعد از نشاء کاری

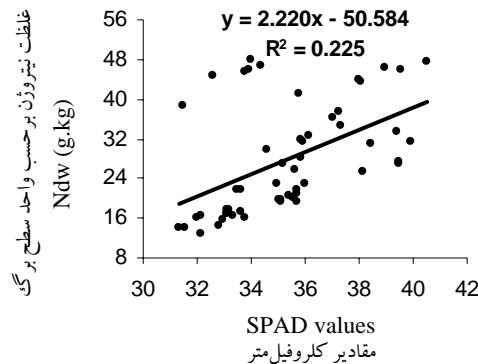
Table 4. Analysis of regression (pooled) of nitrogen concentration based on leaf area (Na) and chlorophyll meter readings (SPAD values) at various days after transplanting (DAT)

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				
Quadratic	2	2.54 **	0.821	2.1534 ns	-0.1665 ns	0.0041 ns
Residuals	51	0.021				

ns و \*\*: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪ احتمال.

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

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

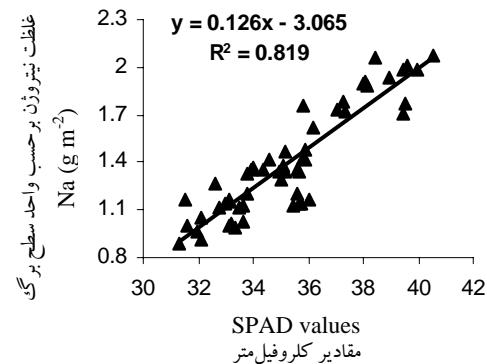


شکل ۲- ارتباط بین غلظت نیتروژن بر حسب و مقادیر کلروفیل متر (Ndw) واحد وزن برگ برای کلیه مراحل رشد

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 بر حسب واحد وزن برگ بود ( $r=0.490$ ). پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1993) همبستگی ضعیف را بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن بر حسب واحد وزن برگ به صورت تجمعی برای سه مرحله اواسط پنجه‌زنی، تشکیل مریستم خوش و گلدھی 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 بر حسب واحد سطح برگ در دو برنج هیرید 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 بر حسب واحد وزن برگ در هر یک از مراحل رشد (ده مرحله) به خصوص در مراحل میانی رشد و بعد از آن را نسبت به غلظت نیتروژن بر حسب واحد وزن برگ گزارش کردند.

افراش 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 بر حسب 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 بر حسب واحد سطح برگ در مقایسه با غلظت نیتروژن رحسب واحد وزن برگ دارد (جدول ۵). پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 1995b) در برنج همبستگی قوی‌تری بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ در هر یک از مراحل رشد (ده مرحله) به خصوص در مراحل میانی رشد و بعد از آن را نسبت به غلظت نیتروژن بر حسب واحد وزن برگ گزارش کردند.

در این تحقیق، ضریب همبستگی برای کلیه مراحل رشد به صورت تجمعی بین مقادیر کلروفیل متر و غلظت نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ ( $r=0.907$ ) بالاتر از

با غلظت نیتروژن بر حسب 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 بر حسب واحد سطح برگ توسط مقادیر کلروفیل متر روشنی غیر تخریبی و ساده است، لذا برای تعیین وضعیت نیتروژن گیاه برنج مناسب است.

متغیر به صورت تجمعی ( $r=0.490$ ) وجود شیوهای متفاوت بین دو متغیر فوق و تفاوت غلظت نیتروژن در 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 بر حسب واحد وزن برگ رابطه ضعیفی دارد، اما

#### جدول ۵- ضرایب همبستگی بین غلظت نیتروژن بر حسب واحد وزن (Nd<sub>w</sub>) 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 (Nd<sub>w</sub>) 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	(Correlation coefficients)		ضرایب همبستگی SPAD and Nd <sub>w</sub> SPAD and Na
		SPAD and Nd <sub>w</sub>	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 بر حسب واحد سطح برگ در این دو تیمار نیز برآنش گردید (معادله های ۳ و ۴) اما با توجه به نزدیک بودن مقادیر عرض از مبدأ و ضریب رگرسیونی معادله های ۳ و ۴ با معادله ۲ 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 اوی 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 پنجه زنی غلظت نیتروژن برگ در این تیمار می تواند 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

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 ۳۴/۴ تا ۳۴ گرفته شدند (جدول ۶).

برنج، مقادیر کلروفیل متر را برای تیمارهای کود نیتروژن در اواسط مرحله پنجه‌زنی بین ۳۸ تا ۴۳ گزارش کردند.

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

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

### جدول ۶- مقادیر کلروفیل متر برآورد 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)

Treatment	DAT										
	غلظت نیتروژن بر حسب واحد سطح برگ (Na)										
	19	29	34	39	49	53	59	69	79	89	99
(T1) تیمار ۱	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
مقادیر کلروفیل متر برآورد شده (Estimated SPAD values)											
(T1) تیمار ۱	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 ایاتلیک شانده‌نه 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

Treatment	نیتروژن مصرف شده			تعداد خوشها	تعداد دانه در خوشها	وزن هزار دانه	عملکرد دانه	
	N applied (Kg/h)				Panicles . m <sup>-2</sup>	Grains . Panicle <sup>-1</sup>	1000 grain wt.	
	Ba	MT	PI		(g)	(kg/h)		
(T1) تیمار ۱	0	0	0	173.0 d	93.2 a	22.10 d	3.06 e	
(T2) تیمار ۲	40	0	0	187.7 d	94.4 a	22.63 d	3.45 d	
(T3) تیمار ۳	40	40	0	209.0 c	96.4 a	24.23 c	4.19 c	
(T4) تیمار ۴	40	20	20	223.0 bc	94.2 a	25.87 ab	4.67 ab	
(T5) تیمار ۵	60	60	0	236.0 ab	84.7 a	25.40 b	4.37 bc	
(T6) تیمار ۶	60	30	30	248.0 a	86.7 a	26.17 a	4.83 a	

میانگین‌های 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 پنجه‌زنی، PI: شروع مرحله زایشی

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

شالیزارها، انجام تحقیقات مختلف جهت تقسیط کود نیتروژن با استفاده از اعداد ۳۸ تا ۴۰ کلروفیل متر برای مرحله اواسط پنجه زنی و اعداد ۳۶ تا ۳۴ 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 بر حسب 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 بر حسب 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. Thiagarajan, 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. Yoneyama. 1989.** Measurement of leaf color scores and its implication to nitrogen nutrition of rice plants. JARQ, 23: 86-93.
- Takebe, M., T. Yoneyama, 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-Abasi<sup>1</sup>, H. M., M. Esfahani<sup>2</sup>, M. Kavoosi<sup>3</sup> and B. Rabiee<sup>4</sup>

### 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.