بررسی رابطه بین عدد دستگاه کلروفیل‌متر با محتوای کلروفیل، فتوسنتز و میزان نیتروژن برگ در سویا (*Glycine max* L.)

گلثومه عزیزی[۱]، لیلا علیمرادی*[۲]، آسیه سیاهمرگویی[۳]

۱. گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور واحد سبزوار، مشهد، ایران

۲. گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

۳. گروه کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۶/۱۶ **تاریخ پذیرش:۱۳۹۰/۰۸/۱۵**

چکیده

جهت تعیین رابطه همبستگی بین میزان قرائت دستگاه کلروفیل متر و میزان کلروفیل برگ و نیز تعیین رابطه آن با میزان نیتروژن و فتوسنتز برگ گیاه سویا، رقم سحر، آزمایشی به صورت کاملا تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام گردید. جهت انجام آزمایش ابتدا برگهای بوته‌های سویا که در مزرعه کشت شده بودند، از لحاظ اندازه، شکل، ضخامت، وزن و رنگ مقیاس بندی شده و میزان فتوسنتز، تعرق، هدایت روزنه‌ای و نیز میزان کلروفیل توسط دستگاه کلروفیل متر اندازه گیری گردید، سپس برگها از بوته جدا شده و به آزمایشگاه منتقل و محتوای کلروفیل آنها اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که بین عدد کلروفیل متر و میزان فتوسنتز برگ ارتباط مستقیم و معنی‌داری وجود داشت، همچنین با افزایش اعداد مربوط به دستگاه کلروفیل متر که نشانگر افزایش میزان کلروفیل برگ می‌باشد، میزان تعرق برگ افزایش یافت. با افزایش عدد کلروفیل متر، محتوای کلروفیل کل، کلروفیل a،b و میزان نیتروژن برگ افزایش یافت و بین این متغیرها رابطه مثبت با همبستگی بالا بدست آمد.

کلمات کلیدی: سویا، فتوسنتز، کلروفیل متر، محتوای کلروفیل، نیتروژن برگ،

مقدمه

میزان کلروفیل در واحد سطح برگ شاخص مناسبی ار فتوسنتز و تولید در گیاه می‌باشد. بطور کلی انتظار می‌رود برگهای گیاهان سالم رشد بیشتری داشته و از محتوای کلروفیل بالاتری برخوردار باشند. بنابراین اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ می‌تواند برای تعیین و مطالعه وضعیت مواد غذایی گیاه و نیز شرایط تنش بکار رود (Krugh et al., 1994). جهت ارزیابی میزان کلروفیل برگ به روش غیرتخریبی می‌توان از دستگاه کلروفیل‌متر استفاده کرد. عدد قرائت شده توسط دستگاه، مجموع میزان کلروفیل a و b موجود در گیاه را نشان می‌دهد (Feibo et al., 1998; Ichie et al., 2002; Ramesh et al., 2002; Schlemmer et al., 2005). Marquarad and Tipton (۱۹۸۷) اظهار داشتند که دستگاه کلروفیل متر یک وسیله مناسب برای توان فتوسنتزی برگ‌های گیاه قهوه بوده و در تفسیر مراحل فتوشیمیایی گیاه می‌توان از آن استفاده نمود. نامبردگان گزارش کردند زمانی که دستگاه کلروفیل متر، عدد کمتر از ٤٠ را نشان دهد، می‌توان نتیجه گرفت که سیستم فتوسنتزی و رنگدانه‌های فتوسنتزی در معرض آسیب و کاهش هستند.

* Email:Lealimoradi@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

Wang و همکاران (۲۰۰۵) امکان استفاده از دستگاه کلروفیل متر را به عنوان شاخصی برای ارزیابی کیفی گیاه مورد بررسی قرار دادند. نامبردگان در ۱۰ گونه گیاه علوفه‌ای مورد بررسی، همبستگی بالا و معنی‌داری بین عدد کلروفیل متر و محتوی کلروفیل a، b و کلروفیل کل مشاهده نمودند. Kapotis و همکاران (۲۰۰۳) نیز گزارش کردند عدد دستگاه کلروفیل متر، رابطه رگرسیونی مثبتی با کلروفیل کل برگها داشت. همچنین رابطه مشابهی بین عدد کلروفیل متر و نیز تعدادی از پارامترهای فیزیولوژیکی برگ، نظیر فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه‌ای وجود داشت. Krugh و همکاران (۱۹۹٤) دریافتند که در برگ‌های گیاهچه ذرت رابطه ای خطی بین اعداد دستگاه کلروفیل‌متر و محتوی کل کلروفیل وجود داشت. نامبردگان اظهار داشتند که از این رابطه می‌توان به عنوان یک منحنی استاندارد برای تشخیص مقدار واقعی کلروفیل در واحد سطح استفاده نمود.

از آنجا که کلروفیل متر، میزان کلروفیل برگ گیاهان را ارزیابی می‌کند، از طریق مقایسه عدد کلروفیل متر و میزان کلروفیل برگ در گیاهان شاهد و کود دهی شده، می‌توان به محتوای نیتروژن گیاه نیز پی برد. این موضوع به محقق اجازه می‌دهد که عملیات کوددهی را بر اساس نیاز واقعی گیاه برنامه ریزی کند و ریسک کاهش محصول در اثر کمبود مواد غذایی و هزینه ناشی از کوددهی اضافی را کاهش دهد (Ahmad John et al., 1999). Ichie و همکاران (۲۰۰۲) دریافتند که در گیاهان چوبی همبستگی مثبت معنی‌داری بین محتوی کلروفیل برگ و عدد دستگاه کلروفیل متر وجود دارد، اگرچه بین محتوای نیتروژن برگ و عدد دستگاه کلروفیل متر، همبستگی ضعیفتر بود. همچنین تحقیقات نشان داده است که بین عدد کلروفیل متر، غلظت نیتروژن و کلروفیل برگ در گیاه برنج (Bullock et al., 1995) و پنبه (Feibo et al., 1998) رابطه خطی معنی‌داری وجود دارد که می‌توان از آن برای مدیریت نیتروژن در شرایط مزرعه استفاده نمود. Schlemmer و همکاران (۲۰۰۵) با تاکید بر این موضوع که اندازه گیری پارامترهای فیزیولوژیکی ذرت، اطلاعاتی را در مورد تفسیر پاسخ این گیاه به عوامل محیطی فراهم می‌آورد، نشان دادند که در شرایط دسترسی به آب کافی و کمبود آب، بین محتوی کلروفیل برگ و مقدار نیتروژن مصرفی در واحد سطح، رابطه خطی مثبت و معنی‌داری وجود داشت. Martines and Guiament (۲۰۰٤) نیز در مطالعه ای روی گیاه ذرت به نتایج مشابهی دست پیدا کردند. Westcott and Wraith (۲۰۰۳) نیز اظهار داشتند که بین عدد کلروفیل متر و محتوی نیتروژن ساقه (NO_3) گیاه نعناع فلفلی همبستگی خطی وجود داشت. Hoel and Solhaug (۱۹۹۸) نشان دادند که محتوی کلروفیل برگ می‌تواند به عنوان شاخصی غیر مستقیم، نمایانگر محتوای نیتروژن گیاه زراعی باشد. نامبردگان اظهارداشتند که مقادیر دستگاه کلروفیل متر در گیاه ترشک (*Oxalis* sp.) و نیز گندم زمستانه (*Triticum aestivum* L.) که تحت شرایط روشنایی قرار داشتند، متفاوت بود. نتایج این تحقیق نشان داد زمانی که دستگاه کلروفیل متر برای تخمین مقدار نیتروژن گیاه زراعی بکار می‌رود، تغییرات تشعشع در طول روز باید مورد توجه قرار گیرد.

امروزه همچنین امکان استفاده از کلروفیل متر برای نشان دادن اثرات آلاینده‌های محیطی بر محتوای کلروفیل برگ و یا برای مطالعه و شناسایی گیاهانی که در بیوسنتز کلروفیل دچار جهش شده اند، نیز وجود دارد (Buchanan-Wollaston and Ainsworth, 1997). Hendry and Price (۱۹۹۳) نیز اظهار داشتند که کاهش میزا ن کلروفیل در نتیجه تنش‌های محیطی و اختلاف در نسبت میزان کلروفیل کل به میزان کاروتنوئید ممکن است شاخص خوبی برای اندازه گیری تنش در گیاهان باشد.

هدف از انجام این آزمایش، بررسی همبستگی بین عدد دستگاه کلروفیل متر با میزان کلروفیل کل برگ، کلروفیل a، کلروفیل b، نسبت کلروفیل a به b، تعرق، فتوسنتز، درصد نیتروژن کل و نیز تعیین رابطه نیتروژن کل با میزان کلروفیل برگ گیاه سویا بود.

مواد و روشها

این آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی و با سه تکرار، در سال زراعی ۸۶-۱۳۸۵ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. ابتدا بذور سویا،

www.SID.ir

رقم سحر (*Glycine max* L.) در کرت‌هایی به ابعاد ۳×٤ متر در مزرعه کشت شدند، سپس در مرحله گلدهی برگهای سویا در بوته‌های مختلف با طیف رنگی متفاوت (از کاملاً زرد تا سبز پررنگ) مورد ارزیابی کیفی قرار گرفتند و از نظر اندازه، شکل، ضخامت، وزن و رنگ مقیاس بندی شدند. لازم به ذکر است که برگهای انتخابی، کاملاً سالم بوده و هیچگونه خوردگی و لکه‌های کلروزه و نکروزه نداشتند. سپس با استفاده از دستگاه کلروفیل متر (Minolta Chlorophyll Meter SPAD- 502) میزان کلروفیل برگها و همچنین با استفاده از دستگاه فتوسنتز سنج (HCM-1000) حداکثر فتوسنتز (A_{max})، تعرق، هدایت روزنه‌ای برگها، قبل از جداشدن از بوته اندازه‌گیری شد.

سپس برگهای مورد نظر از بوته جدا شده و به آزمایشگاه منتقل گردید. جهت اندازه گیری کلروفیل، ۰/۲۵ گرم از برگ جدا شد و باقیمانده آن بمنظور اندازه گیری نیتروژن کل به آون با دمای ?C ۵۰ به مدت ۲٤ ساعت منتقل گردید. جهت اندازه‌گیری محتوای کلروفیل برگ، برگ تازه به میزان ۰/۲۵ گرم با قیچی خرد و آن را در یک هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر آب مقطر سائیده تا به صورت تودهٔ یکنواختی در آید (عمل ساییدن و له کردن بافت برگی در محیط خنک و در نور کم انجام گرفت). مخلوط حاصل در یک بالن ژوژهٔ ۲۵ میلی‌لیتری ریخته و به حجم رسانیده شد. ۰/۵ میلی لیتر از مخلوط بدست آمده برداشته شد و با ٤/۵ میلی لیتر استون ۸۰٪ مخلوط گردید و پس از سانتریفوژ، محلول بالایی استخراج شد و با استفاده از اسپکتروفتومتر، میزان جذب آن در طول موجهای ٦٤۵ و ٦٦۳ نانومتر قرائت گردید. نهایتاً غلظت کلروفیل با استفاده از روابط زیر بدست آمد (Ahmad john et al., 1999):

(میلی گرم در گرم وزن تر) کلروفیل کل =

(۰/۰۲۰۲ × $OD_{٦٤۵}$) + (۰/۰۰۸۰۲ × $OD_{٦٦۳}$)

(میلی گرم در گرم وزن تر) کلروفیل a =

(۰/۰۱۲۷ × $OD_{٦٦۳}$) – (۰/۰۰۲٦۹ × $OD_{٦٤۵}$)

(میلی گرم در گرم وزن تر) کلروفیل b =

(۰/۰۲۲۹ × $OD_{٦٤۵}$) – (۰/۰۰٤٦۸ × $OD_{٦٦۳}$)

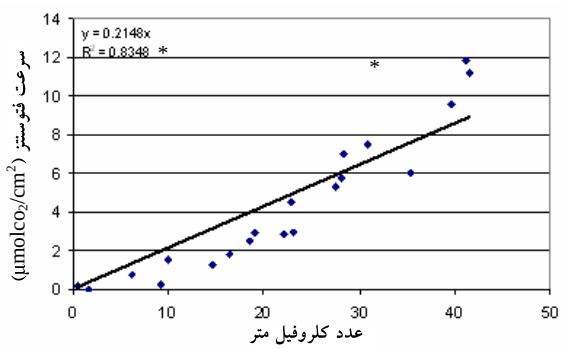
که در این روابط $OD_{٦٦۳}$ و $OD_{٦٤۵}$ به ترتیب میزان جذب در طول موج‌های ٦٦۳ و ٦٤۵ نانومتر می‌باشند.

به منظور تعیین درصد نیتروژن برگ نیز ابتدا نمونه‌های گیاهی آسیاب شده و پس از هضم آن با اسید سولفوریک و کاتالیزور، مقدار نیتروژن در عصاره حاصل توسط روش کجلدال اندازه‌گیری شد (Bremner and Mulvaney, 1982).

جهت بدست آوردن روابط رگرسیونی از نرم افزارهای EXCEL و Sigma Plot var. 13 استفاده شد.

نتایج

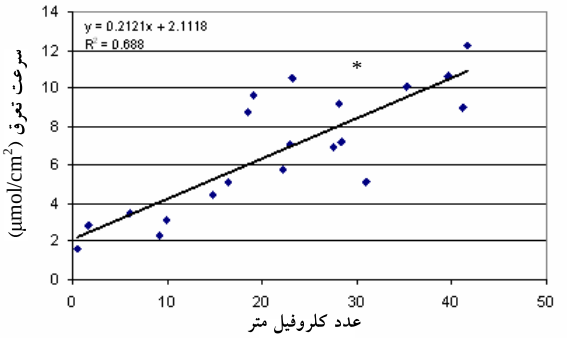
نتایج نشان داد که بین عدد کلروفیل متر و میزان فتوسنتز اندازه گیری شده با استفاده از دستگاه فتوسنتز ارتباط مستقیم و مثبتی وجود داشت (R^2=0.83) (شکل ۱). با افزایش عدد کلروفیل متر، سرعت فتوسنتز روند افزایشی معنی‌داری نشان داد.



شکل ۱: رابطه بین عدد دستگاه کلروفیل متر و سرعت فتوسنتز تک برگ

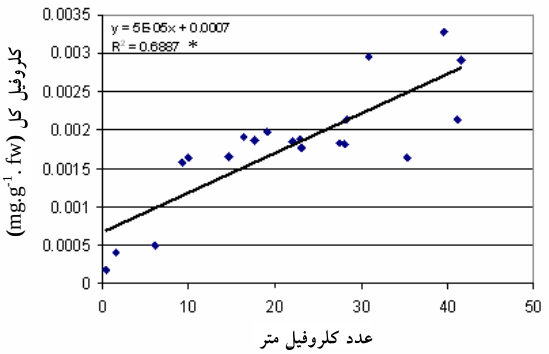
همانگونه که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود، با افزایش اعداد مربوط به دستگاه کلروفیل متر که نشانگر افزایش میزان کلروفیل برگ می‌باشد، میزان تعرق برگ افزایش یافت به طوری که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عدد کلروفیل متر و میزان تعرق برگ بدست آمد.

www.SID.ir



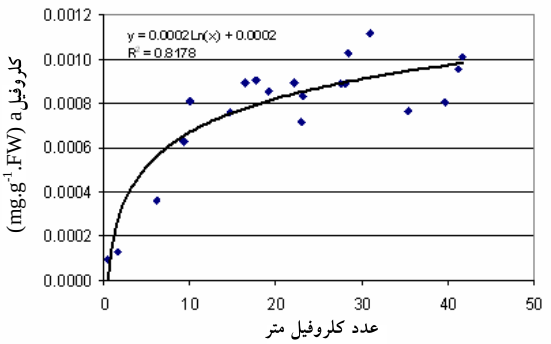
شکل ۲. رابطه بین عدد دستگاه کلروفیل متر و سرعت تعرق برگ

نتایج نشان داد که با افـزایش اعـداد مربـوط بـه دسـتگاه کلروفیل متر، میزان محتوای کلروفیل برگ افزایش یافته و بین این دو رابطه مستقیم و مثبت با همبستگی بالایی وجود داشت (R^2=٦٨٪) (شکل ٣).

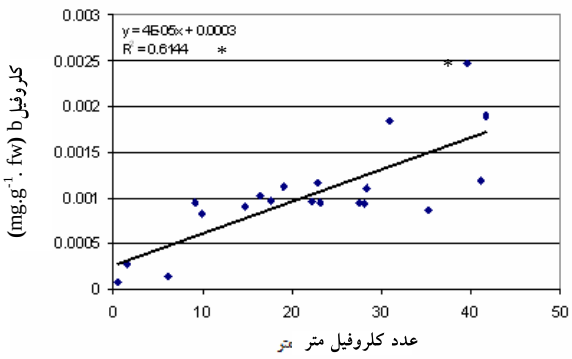


شکل ٣: رابطه بین عدد دستگاه کلروفیل متر و محتوای کلروفیل کل برگ

همانطور که در شکل ٤ و ٥ ملاحظه می‌شود بـا افـزایش اعداد مربوط به دستگاه کلروفیل متر، محتوای کلروفیـل a و b برگ افزایش یافته و بین این دو متغیر نیز رابطـه ای مثبـت بـا همبستگی بالا وجود داشت، با این تفاوت که رابطه بین میزان کلروفیل b و عدد دستگاه کلروفیل متر، مثبت و خطـی و ایـن رابطه در مورد کلروفیل a مثبت و لگاریتمی بود.

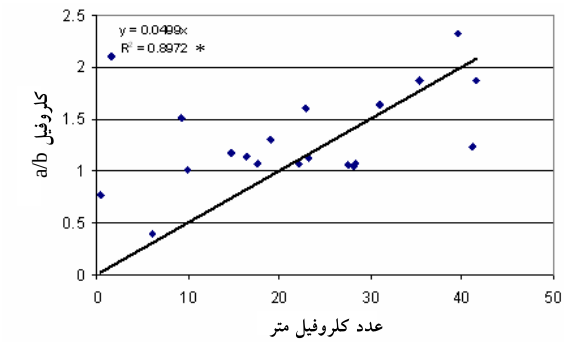


شکل ٤: رابطه بین عدد دستگاه کلروفیل‌متر و محتوای کلروفیل a برگ



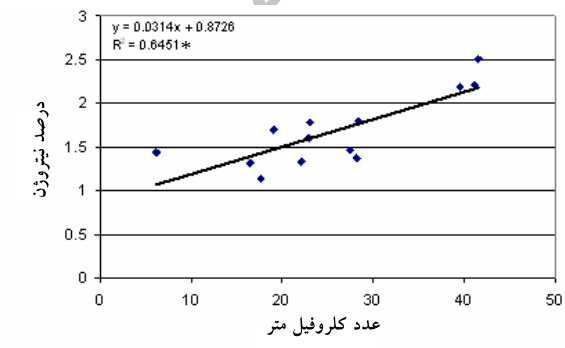
شکل ٥: رابطه بین عدد دستگاه کلروفیل متر و محتوای کلروفیل b برگ

نتایج نشان داد که نسبت کلروفیل a به b نیـز بـا افـزایش عدد کلروفیل متر افزایش یافت (شکل ٦). همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین عدد کلروفیل متر و نسبت کلروفیـل a به کلروفیل b مشاهده شد (R^2=0.90).



شکل ٦: رابطه بین عدد دستگاه کلروفیل متر و نسبت کلروفیلa/b

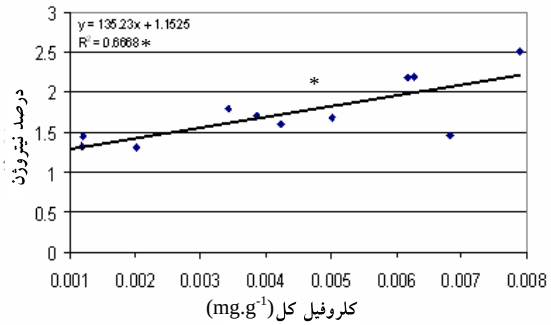
رابطه عدد کلروفیل متر و درصد نیتروژن برگ، در شـکل ٧ نشان داده شده است. همانطوری که ملاحظه مـی‌شـود بـین این دو فاکتور رابطـه خطـی مثبـت و معنـی‌داری (R^2=٠/٨٠) وجود داشت.



شکل ٧: رابطه بین عدد دستگاه کلروفیل متر و درصد نیتروژن برگ

www.SID.ir

با افزایش مقدار کلروفیل، درصد نیتروژن برگ نیز روند افزایشی نشان داد. رابطه بین مقدار کلروفیل کل و درصد نیتروژن برگ سویا مثبت و خطی با همبستگی ٦٦ درصد بود (شکل ٨).



شکل ٨: رابطه بین مقدار کلروفیل کل و درصد نیتروژن برگ سویا

بحث

نتایج نشان داد که بین عدد کلروفیل متر با میزان فتوسنتز برگ، تعرق، محتوای کلروفیل و میزان نیتروژن برگ، ارتباط مستقیم و معنی‌داری وجود داشت. Ma و همکاران (١٩٩٥) همبستگی قوی و مثبتی (R^2=٠/٦٤) بین فتوسنتز برگ و عدد کلروفیل متر در گیاه سویا را مشاهده کردند. Yoon و همکاران (٢٠٠٠) نیز گزارش کردند که در ارقام برنج، یک رابطه مثبت معنی‌داری بین میزان فتوسنتز و مقادیر کلروفیل متر وجود داشت. Kapotis و همکاران (٢٠٠٣) گزارش کردند، بین عدد کلروفیل متر و کلروفیل کل برگهای تاج خروس، رابطه رگرسیونی مثبتی وجود داشت و نیز رابطه خطی مثبت، بین عدد کلروفیل متر و تعدادی از پارامترهای فیزیولوژیکی برگ، نظیر فتوسنتز، تعرق و هدایت روزنه ای گیاه مشاهده شد. Sheshshayee و همکاران (٢٠٠٦) رابطه مثبت معنی‌داری را بین کارآیی تنفس و محتوای کلروفیل برگ بادام زمینی گزارش کردند.

تحقیقات حاکی از آن است که با افزایش میزان کلروفیل برگ، توان فتوسنتزی برگ ارتقا خواهد یافت. این امر مستلزم باز شدن بیشتر روزنه‌ها برای دریافت دی اکسید کربن و به تبع آن افزایش اتلاف آب از طریق تعرق خواهد بود (Kapotis et al., 2003). Schaper و Chacko (١٩٩١) اظهار داشتند که اندازه گیری مداوم تبادل گاز و محتوای کلروفیل در برگ‌های گیاهان در شرایط مزرعه، اطلاعات مفیدی را در زمینه ارتباط بین این پارامترها ارائه خواهد داد.

Feibo و همکاران (١٩٩٨) همبستگی بالایی (R^2=٠/٧٨) بین میزان کلروفیل و عدد کلروفیل متر برگ گیاه پنبه بدست آوردند. Krugh و همکاران (١٩٩٤) نیز گزارش کردند که در برگهای گیاهچه ذرت یک رابطه خطی بین اعداد دستگاه کلروفیل‌متر و محتوای کل کلروفیل مشاهده گردید.

در بیشتر مطالعات رابطه بین کلروفیل استخراج شده و عدد کلروفیل متر خطی گزارش شده است (Feibo, 1998; Wood et al., 1993)، ولی در این مورد استثناهایی نیز مشاهده شده است برای مثال Ommen و همکاران (١٩٩٩) رابطه لگاریتمی بین غلظت کلروفیل و عدد کلروفیل متر در برگ گندم بدست آوردند. Netro و همکاران (٢٠٠٥) رابطه بین میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی، نیتروژن، میزان کلروفیل a و عدد دستگاه کلروفیل متر را در برگ‌های گیاه قهوه مورد بررسی قرار دادند. نامبردگان نشان دادند که مدل پلی نومیال درجه ٢ بهترین مدل ریاضی برای بیان رابطه بین قرائت کلروفیل متر و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی بود، در حالی که Schaper and Chacko (١٩٩١) گزارش کردند که این رابطه به صورت خطی است.

Antolin و همکاران (١٩٩٥) دریافتند که افزایش نسبت کلروفیل a/b موجب تیره شدن برگها و افزایش عدد کلروفیل متر خواهد شد. Wang و همکاران (٢٠٠٥) گزارش کردند که همبستگی بالا و معنی‌داری بین قرائت عدد کلروفیل متر و محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل گیاهان علوفه ای وجود داشت.

Peng و همکاران (١٩٩٣) نیز از کلروفیل متر برای تعیین نیاز کودی در برنج استفاده کردند و نتیجه گرفتند که رابطه خطی بین نیتروژن و عدد کلروفیل متر به مرحله رشدی و ارقام برنج بستگی دارد. Marquarad و Tipton (١٩٨٧) نیز بیان نمودند که ضریب همبستگی بین نیتروژن و عدد کلروفیل متر بسته به واریته‌های مختلف از ٠/٨٣ تا ٠/٩٧ تغییر می‌کند. در پژوهش حاضر این همبستگی در مورد سویا رقم سحر در

www.SID.ir

آزمایش انجام شده ٦٤درصد بود (شکل ٧). Rodriguez and Grady (٢٠٠٠) همبستگی مثبتی بین عدد کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برگ نوعی علف چمنی یافتند. میزان این همبستگی در آزمایشات گلخانه ای به دلیل یکنواختی نسبت به آزمایشات مزرعه‌ای، بیشتر بود. Ladha و همکاران (١٩٩٨) نشان دادند که کلروفیل متر ابزاری سریع، قابل اعتماد و غیرتخریبی برای تخمین نیتروژن مورد نیاز برنج بود. نامبردگان همبستگی بالایی بین عدد کلروفیل متر و نیتروژن برگ برنج را گزارش کردند. Bullock و همکاران (١٩٩٥) نیز بیان کردند که یک رابطه رگرسیونی (R^2= ٩١٪) بین عدد کلروفیل متر و غلظت نیتروژن برگ برنج وجود دارد. آنها بیان کردند که دستگاه کلروفیل متر می‌تواند برای مدیریت نیتروژن در مزارع برنج بکار رود.

با توجه به اهمیت وجود نیتروژن در ساختار ملکول کلروفیل و آنزیم ریبولوز بی فسفات کربوکسیلاز، برگهایی با محتوای کلروفیل بیشتر، از غلظت نیتروژن بالاتری نیز برخوردار هستند. Peterson و همکاران (١٩٩٣) اظهار داشتند که یک رابطه نزدیک بین محتوای کلروفیل برگ و محتوای نیتروژن برگ گیاه ذرت وجود داشت. نامبردگان علت این رابطه را، نقش عمده و مهم نیتروژن در ساختار مولکول کلروفیل دانستند.

Monje و Bugbee (١٩٩٢) نیز اظهار داشتند غلظت کلروفیل برگ با فعالیت متابولیکی گیاه، فعالیت کربوکسیلازی روبیسکو، غلظت نیتروژن برگ و روش اندازه گیری کلروفیل مرتبط است و با افزایش غلظت کلروفیل برگ میزان نیتروژن نیز افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری نهایی

بطور کلی نتایج نشان داد که بین عدد کلروفیل متر و میزان فتوسنتز اندازه گیری شده با استفاده از دستگاه فتوسنتز سنج، ارتباط مستقیم و مثبتی وجود داشت، همچنین با افزایش اعداد مربوط به دستگاه کلروفیل متر که نشانگر افزایش میزان کلروفیل برگ می‌باشد، میزان تعرق برگ روند صعودی داشت. با افزایش عدد کلروفیل متر، محتوای کلروفیل کل، کلروفیل a،b و میزان نیتروژن برگ افزایش یافت و بین این متغیرها رابطه مثبت با همبستگی بالا وجود داشت.

روش‌های معمول استخراج و اندازه‌گیری کلروفیل، زمان بر و پرهزینه هستند در حالیکه تخمین میزان کلروفیل بر اساس عدد دستگاه کلروفیل متر سریع و آسان است. نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که با استفاده از تکرار آزمایش و بدست آوردن یک منحنی استاندارد از رابطه بین عدد کلروفیل متر و محتوای کلروفیل برگ می‌توان بدون صرف هزینه و وقت و به سرعت با استفاده از دستگاه کلروفیل متر به محتوای کلروفیل و نیتروژن برگ پی برد. این منحنی‌ها برای گونه‌های مختلف گیاهی و مراحل رشدی مختلف می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد و بدین ترتیب امکان ارزیابی سریع وجود خواهد داشت.

References

Ahmad John, I.S., Reid, F., Alan, N.N., and Hansen, C. (1999). Nitrogen sensing for precision agriculture using chlorophyll maps. ASAE/CSAE-SCGR Annual International Meeting. Sheraton Center. Toronto, ON, Canada, July 18-21.

Antolin, M.C., Yoller, J., and Sanchez-Diaz, M. (1995). Effects of temporary drought on nitrate-fed and nitrogen-fixing alfalfa plants. Plant Science. 107:159-165.

Bremner J.M., and C.S. Mulvaney. 1982. Nitrogen-Total, PP:591–622, In: A.L. Page ed, Methods of soil analysis, part 2, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.

Buchanan-Wollaston V., and Ainsworth, C. (1997). Leaf senescence in *Brassica napus*: cloning of senescence-related genes by subtractive hybridisation. Plant Molecular Biology. 33: 821–834.

Bullock, D., Bollero, G., and Anderson, D. (1995). Evaluation of the Minolta SPAD-520 Chlorophyll Meter for On-Farm N Management of Corn in Illinois. Illinois Fertilizer Conference Proceedings, January 23-25.

Feibo, W., Lianghuan, W., and Fuhua, X. (1998). Chlorophyll meter to predict nitrogen side dress requirements for short-season cotton (*Gossypium hirsutum* L). Field Crops Research. 56: 309–314.

Hendry, G.A.F., and Price. A.H, (1993). Stress indicators: chlorophylls and carotenoids. In: Hendry, G.A.F., Grime, J.P. (Eds.), Methods in Comparative Plant Ecology. Chapman & Hall, London, pp. 148–152.

www.SID.ir

Hoel, B.O., and Solhaug, K.A. (1998). Effect of Irradiance on Chlorophyll Estimation with the Minolta SPAD-502 Leaf Chlorophyll Meter. Annals of Botany Company. 82: 389-392.

Ichie, T., Kitahashi, Y., Matsuki, S., Maruyama Y., and Koike, T. (2002). The use of a potable non-destructive type nitrogen meter for leaves of woody plants in field studies. Photosynthetic, 40: 289-292.

Kapotis, G., Zervoudakis, G., Veltsistas, T., and Salahas, G. (2003). Comparison of Chlorophyll Meter Readings with Leaf Chlorophyll Concentration in *Amaranthus vlitus*: Correlation with Physiological Processes. Russian Journal of Plant Physiology, 50(3): 395-397.

Krugh. B., Bickham, L., and Miles, D. (1994). The solid-state chlorophyll meter: a novel instrument for rapidly and accurately determining the chlorophyll concentrations in seedling leaves. Maize Genetics Cooperation Newsletter, 68: 25-27.

Ladha, J.K., Tirol-Padre, K., Punzalan, G.C., Singh, U., and Reddy, C.K. (1998). Non destructive estimation of shoot nitrogen in different rice genotypes. Agronomy Journal, 90: 33-40.

Ma, B.L., Morrison, M.J., and Voldeng, H.D. (1995). Leaf greenness and photosynthetic rates in soybean. *Crop Science*. 35:1411-1414. Marini, R.P., 1986. Do net gas exchange rates of green and red peach leaves differ? HortScience, 21: 118–120.

Marquarad, R.D., and Tipton, J.L. (1987). Relationship between extractable chlorophyll and an in situ method to estimate leaf greenness. Horticultural Science, 22: 1327-1329.

Martines, D.E., and Guiament, J.J. (2004). Distortion of the SPAD 502 chlorophyll meter readings by changes in irradiance and leaf water status. Agronomy, 24: 41–46.

Monje, D.A., and Bugbee, B. (1992). Inherent limitation of nondestructive chlorophyll meters: compression two types of chlorophyll meters. Horticultural Science, 27: 69-71.

Netro, T., Campostrini, E., Oliveira, J.G., and Bressan-Smith, R.E. (2005). Photosynthesis pigments, nitrogen, chlorophyll, a fluorescence and SPAD-502 readings in coffee leaves. Sciatica Horticulture, 104: 199-209.

Ommen, O.E., Donnelly, A., Vanhoutvin, S., Vanoijen, M., and Manderscheid, R. (1999). Chlorophyll content of spring wheat flag leaves grown under elevated CO_2 concentration and other environmental stress with in 'ESPACE-wheat' project. European Journal of Agronomy, 10: 197-203.

Peng, S., Garcia, F.V., Laza, R.C., and Cassman, K.G. (1993). Adjustment for specific leaf weight improves chlorophyll meters estimate of rice leaf nitrogen concentration. Agronomy Journal. 83:987-990.

Peterson, T.A., Blackmer, T.M., Francis, D.D., and Scheppers, J.S. (1993). Using a chlorophyll meter to improve N management. Awebguide in Soil Resource Management: D-13 Fertility. Cooperative Extension, Institute of Agriculture and Natural Resources, University of Nebraska, Lincoln, NE, USA.

Ramesh, k., Chandrasekaran, B., Balasubramanian, T.N., Bangarusamy, U., Sivasamy, R., and Sankaran, N. (2002). Chlorophyll dynamics in Rice (*Oryza sativa*) before and after flowering based on SPAD (Chlorophyll Meter) monitoring and its relation with grain yield. Journal of Agronomy and Crop Science, 188(2): 102-106.

Rodriguez, I.R., and Grady, L.M. (2000). Using a chlorophyll meter to determine the chlorophyll concentration nitrogen concentration and visual quality of Augustine grass Horticultural Science, 35: 751-754.

Schaper, H., and Chacko. E.K. (1991). Relation between extractable chlorophyll and portable chlorophyll meter readings in leaves of eight tropical and subtropical fruit-tree species. Journal of Plant Physiology, 138, 674–677

Schlemmer, M.R., Francis, D.D., Shanahan, J.F., and Schepers, J.S. (2005). Remotely Measuring Chlorophyll Content in Corn Leaves with Differing Nitrogen Levels and Relative Water Content. Agronomy Journal, 97:106–112.

Sheshshayee, M.S., Bindumadhava, H., Rachaputi, N.R., Prasad, T.G., Udayakumar, M., Wright, G.C., and Nigam, S.N. (2006). Leaf chlorophyll concentration relates to transpiration efficiency in peanut. Annals of Applied Biology, 148(1):7-8.

Wang, Q., Chen, J., Stamps, R.H., and Li, Y. (2005). Correlation of Visual Quality Grading and SPAD Reading of Green-Leaved Foliage Plants. Journal of Plant Nutrition, 28 (7): 1215 – 1225.

Westcott, M.P., and Wraith, J.M. (2003). Correlation of leaf Chlorophyll readings and stem nitrate concentrations in peppermint. Western Nutrient Management Conference. Vol. 5. Salt Lake City, UT.

Wood, C.W., Reeves, D.W., and Himelrick, D.G. (1993). Relationships between chlorophyll meter and leaf chlorophyll concentration, N status and crop yield. Proceeding of Agronomy Society of New Zealand, 23:1-9.

Yoon, Y.H., Isoda, A., Nojima, H., and Takasaki, Y. (2000). Changes in SPAD value and photosynthetic rate during grain filling of *Oryza glaberrima* strains and *Oryza sativa* Cultivars. Available at www.google.com

Archive of SID

www.SID.ir