Iranian Journal of Soil and Water Research ISNN: 2423-7833
Homepage: http://ijswr.ut.ac.ir

Evaluation and Determination of Lettuce (Lactuca sativa L.) Nitrogen Status Using Chlorophyll Meter under Greenhouse Conditions

Romina Habibi[1]✉, Mojtaba Delshad [2], Hadisseh Rahimikhoob [3]

1. Corresponding Author, Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, Email: romi.hb1375@gmail.com
2. Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, Email: delshad@ut.ac.ir
3. Department of Irrigation and Reclamation Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, Email: h.rahimikhoob@ut.ac.ir

Article Info

Article type: Research Article

Article history:

Received: July. 21, 2022

Revised: Oct. 1, 2022

Accepted: Oct. 8, 2022

Published online: Nov. 22, 2022

Keywords:
Nitrogen nutrition index,
Normalized SPAD index,
SPAD.

ABSTRACT

Leaves Chlorophyll content can be used as an indicator to determine nitrogen status in plants. The soil–plant analyses development (SPAD) meter is one of the most widely used tools in crop nitrogen management studies. The current research was aimed to investigate crop nitrogen status, introduce a standardized index called the normalized chlorophyll meter index (NSPAD) and find its relationship with nitrogen nutrition in lettuce. For this purpose, lettuce was cultivated in the research greenhouse of the College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran during two periods. Different nitrogen fertilizer treatments were applied at six levels with three replications. The values of dry matter, nitrogen concentration and chlorophyll were measured seven times during the growth period. Nitrogen nutrition indices (NNI) and NSPAD were calculated for the first period and the NSPAD-NNI relationship was extracted. Then the obtained relationship was verified by the data of the second cultivation. The results showed that the chlorophyll meter readings and nitrogen concentration have a positive correlation with the increase in the level of fertilizer application. Also, the validation results of NSPAD-NNI relationship showed a good performance with R2, MBE and RRMSE values equal to 0.79, -0.01 and 11.41%, respectively. Therefore, the developed relationship can be used as a fast, non-destructive and reliable approach for sustainable nitrogen fertilizer management of lettuce grown under greenhouse conditions.

Cite this article: Habibi, R., Delshad, M., Rahimikhoob, H. (2022) Evaluation and Determination of Lettuce (Lactuca sativa L.) Nitrogen Status Using Chlorophyll Meter under Greenhouse Conditions, *Iranian Journal of Soil and Water Research*, DOI: http//doi.org/10.22059/ijswr.2022.346014.669324, 53 (9), 2111-2122.

© The Author(s). Publisher: University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/ijswr.2022.346014.669324

مجله تحقیقات آب و خاک ایران، دوره ۵۳، شماره ۹ شاپا: ۷۸۳۳-۲۴۲۳
Homepage: http://ijswr.ut.ac.ir

ارزیابی وضعیت نیتروژن در گیاه کاهو (*Lactuca sativa* L.) با استفاده از کلروفیل‌متر در شرایط گلخانه

رومینا حبیبی[1]✉، مجتبی دلشاد[2]، حدیثه رحیمی خوب[3]
۱. نویسنده مسئول، گروه علوم باغبانی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، ایمیل: romi.hb1375@gmail.com
۲. گروه علوم باغبانی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران ایمیل: delshad@ut.ac.ir
۳. گروه مهندسی آبیاری و آبادانی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران، ایمیل: h.rahimikhoob@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۳۰
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۷/۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۱۶
تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۹/۱

واژه‌های کلیدی:
شاخص تغذیه نیتروژن،
SPAD،
شاخص کلروفیل‌متر نرمال‌شده.

چکیده

محتوای کلروفیل در برگ می‌تواند به عنوان شاخصی برای تعیین وضعیت نیتروژن در گیاه مورد استفاده قرار گیرد. دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD) یکی از پرکاربردترین ابزارها در مطالعات مربوط به مدیریت نیتروژن در گیاه است. پژوهش حاضر با هدف پایش وضعیت نیتروژن در گیاه توسط دستگاه SPAD، معرفی یک شاخص استانداردشده تحت عنوان شاخص کلروفیل‌متر نرمال‌شده (NSPAD) و هم‌چنین یافتن رابطه آن با وضعیت تغذیه نیتروژن در گیاه کاهو انجام شد. بدین منظور، گیاه کاهو در گلخانه تحقیقاتی دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در کرج در سال ۱۴۰۰ طی دو دوره کشت شد. تیمارهای مختلف کود نیتروژن در شش سطح با سه تکرار اعمال شدند. مقادیر زیست‌توده خشک، غلظت نیتروژن و عدد کلروفیل‌متر توسط دستگاه SPAD در هفت نوبت اندازه‌گیری گردید. شاخص‌های تغذیه نیتروژن (NNI) و NSPAD برای کشت اول محاسبه و رابطه بین آن‌ها استخراج شد. سپس رابطه به دست آمده توسط داده‌های کشت دوم صحت‌سنجی گردید. نتایج نشان داد، قرائت کلروفیل‌متر و غلظت نیتروژن در گیاه با افزایش سطح کاربرد کود، همبستگی مثبت دارد. هم‌چنین نتایج صحت‌سنجی رابطه NSPAD-NNI عملکرد خوبی با مقادیر R2، MBE و RRMSE به ترتیب برابر با ۰/۷۹، ۰/۰۱- و ۱۱/۴۱ درصد را نشان داد. بنابراین از این رابطه می‌توان به عنوان یک رویکرد سریع، غیرمخرب و قابل اطمینان برای مدیریت پایدار کود نیتروژن برای کاشت کاهو در گلخانه استفاده نمود.

استناد: حبیبی؛ رومینا، دلشاد؛ مجتبی، رحیمی خوب؛ حدیثه، (۱۴۰۱) ارزیابی وضعیت نیتروژن در گیاه کاهو (Lactuca sativa L.) با استفاده از کلروفیل‌متر در شرایط گلخانه، *مجله تحقیقات آب و خاک ایران*، DOI: http//doi.org/10.22059/ijswr.2022.346014.669324 ، ۵۳ (۹)، ۲۱۲۲- ۲۱۱۱.

DOI: https://doi.org/10.22059/ijswr.2022.346014.669324

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

مقدمه

نیتروژن یکی از مهم‌ترین عناصر غذایی ضروری برای افزایش رشد و تولید محصولات کشاورزی است. با توجه به آن‌که میزان مواد آلی در خاک‌های زراعی عمدتا کم است، به طور معمول کمبود نیتروژن از طریق کاربرد کودهای شیمیایی و آلی تامین می‌گردد (Yan & Gong, 2010). متاسفانه امروزه کشاورزان به منظور افزایش تولید و عملکرد محصول، به کاربرد بی‌رویه کودهای نیتروژن‌دار روی آورده‌اند. درحالی‌که، کاربرد کود بدون توجه به نیاز واقعی گیاه در طول دوره رشد منجر به تجمع بیش از حد آن در بافت گیاه، هدررفت آن از طریق آبشویی و هم‌چنین کاهش بهره‌وری مصرف نیتروژن خواهد شد (Rahimikhoob *et al*., 2020a). در اثر کاربرد بی‌رویه کودهای نیتروژن‌دار در کشاورزی به خصوص در کشت محصولاتی مانند سبزی‌ها، سطوح بالایی از نیترات در گیاه تجمع خواهد یافت که تهدید جدی برای سلامتی انسان‌ها به شمار می‌رود. بنابراین، مدیریت کود نیتروژن در طول دوره رشد علاوه بر افزایش عملکرد و تولید محصول، موجب بهبود کیفیت محصولات و کاهش هزینه نیز می‌گردد (Ata-Ul-Karim *et al*., 2016).

نیتروژن یکی از اجزای تشکیل‌دهنده کلروفیل، اسید آمینه و پروتئین‌ها در گیاه بوده و کمبود آن منجر به کاهش محتوای کلروفیل، شدت فتوسنتز و متعاقبا کاهش رشد خواهد شد (Adhikari *et al*., 1999). انجام آنالیزهای شیمیایی به منظور تعیین محتوای نیتروژن در برگ یا گیاه مانند روش‌های کجلدال[1] و دوماس[2] مخرب و زمان‌بر هستند (Yuan *et al*., 2016). بنابراین، استفاده از روش‌های غیرمستقیم برای تعیین وضعیت نیتروژن درگیاه، راهکار مناسبی در این زمینه می‌باشد.

نتایج پژوهش انجام شده توسط Madakadez *et al*. (1999) نشان داد که در حدود ۷۰ درصد از محتوای نیتروژن برگ در کلروپلاست-ها انباشته می‌شود و در نتیجه مقدار کلروفیل همبستگی زیادی با میزان نیتروژن دارد. با توجه به ارتباط بین کمبود نیتروژن با کاهش میزان کلروفیل و زردی رنگ برگ‌ها، می‌توان با تعیین میزان کلروفیل در برگ، وضعیت نیتروژن و زمان کاربرد کود را تخمین زد. دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD[3])، وسیله‌ای قابل حمل، سبک و کوچک بوده که به منظور اندازه‌گیری محتوای کلروفیل در برگ و هم‌چنین ارزیابی وضعیت نیتروژن گیاه تولید شده است (Huang *et al*., 2008; Yue *et al*., 2020). در پژوهش‌های مختلف، به همبستگی زیاد و ارتباط بین قرائت کلروفیل‌متر با وضعیت نیتروژن اشاره شده است (Ata-Ul-Karim *et al*.,2016; Yue *et al*., 2020). البته تعمیم روابط همبستگی یا رگرسیونی و هم‌چنین کاربرد آن در شرایط مختلف نیاز به درک جامع از تمامی شرایط اثرگذار و در نظر گرفتن عواملی مانند مراحل فنولوژیکی، نوع رقم گیاه کشت شده، شرایط اقلیمی و مدیریتی دارد. در پژوهشی Debaeke *et al*. (2006) و Barutcular *et al*. (2016) تاثیر شرایط اقلیمی بر تغییر قرائت کلروفیل‌متر در طول دوره رشد، گزارش شده است. در این راستا، به منظور کاهش یا حذف اثر شرایط محیطی و مدیریتی بر قرائت کلروفیل‌متر، مفهوم شاخص کلروفیل‌متر نرمال‌شده[4] (NSPAD) تعریف شده است (Debaeke *et al*., 2006; Ravier *et al*., 2017). شاخص NSPAD در واقع از تقسیم عدد قرائت شده کلروفیل‌متر در تیمار مورد نظر به عدد کلروفیل‌متر در تیماری که بیشترین میزان کود را دریافت کرده است (تیمار اشباع شده)، به دست می‌آید (Fox *et al*., 1994; Blackmer *et al*., 1994; Debaeke *et al*., 2006).

در پژوهش‌های مختلف رابطه بین غلظت نیتروژن (PNC[5]) و اعداد کلروفیل‌متر برای گیاهان مختلف به دست آمده است (Ata-Ul-Karim *et al*.,2016; Yue *et al*., 2020). ولی از آنجایی که غلظت نیتروژن در گیاه تحت تاثیر عوامل مختلفی هم‌چون تنش‌های محیطی، نوع بستر کشت و شرایط مدیریتی است، کاربرد شاخصی که تاثیر این عوامل را کاهش دهد، ضروری است. به عبارت دیگر برای مدیریت دقیق نیتروژن، قرائت کلروفیل‌متر یا شاخص NSPAD می‌بایست در مقایسه با یک شاخص جامع ارزیابی شود. شاخص تغذیه نیتروژن[6] (NNI) که بر اساس مفهوم غلظت نیتروژن بحرانی[7] (N_c) توسعه یافته است، به عنوان شاخصی کارآمد و معتبر در این زمینه معرفی شده است (Justes *et al*., 1994). شاخص NNI به صورت نسبت بین غلظت واقعی نیتروژن جذب شده و غلظت نیتروژن بحرانی در گیاه برای یک مقدار معین از عملکرد ماده خشک بیان می‌شود (Lemaire *et al*., 2008).

---

1 Kjeldahl
2 Dumas
3 Soil Plant Analysis Development
4 Normalized SPAD index
5 Plant nitrogen concentration
6 Nitrogen nutrition index
7 Critical nitrogen concentration

از شاخص NNI در تحقیقات متعددی برای مدیریت نیتروژن و تخمین نیاز نیتروژنی[1] (NR) مبتنی بر داده‌های به دست آمده از روش کجلدال، در طول دوره رشد گیاهانی مانند برنج (Ata-Ul-Karim *et al*., 2017) و ریحان (Rahimikhoob *et al*., 2020b) استفاده شده است. هم‌چنین رابطه بین شاخص NSPAD و قرائت کلروفیل‌متر با شاخص NNI نیز در پژوهش‌های پیشین برای برخی از گیاهان زراعی به دست آمده است. به عنوان مثال، در کشور فرانسه ارتباط بین شاخص‌های NSPAD و NNI برای گیاه گندم به دست آمد (Debaeke *et al*., 2006). نتایج این پژوهش نشان داد که رابطه رگرسیونی به دست آمده تحت تاثیر شرایط اقلیمی، رقم گندم و مراحل رشد نیست. هم‌چنین می‌توان نیاز گیاه گندم به کود نیتروژن را با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر با دقت زیادی تخمین زد. در پژوهشی با هدف ارزیابی ارتباط بین غلظت نیتروژن در گیاه برنج و شاخص NNI با قرائت کلروفیل متر آزمایشی انجام و نتایج نشان داد، غلظت نیتروژن و محتوای کلروفیل در برگ ارتباط مستقیمی با سطوح کاربرد کود نیتروژن دارد (Ata-Ul-Karim *et al*.,2016). علاوه بر این، رابطه قرائت کلروفیل‌متر و شاخص NNI نیز به دست آمد. در تحقیق دیگری، به بررسی رابطه وضعیت نیتروژن گیاه ذرت با قرائت کلروفیل‌متر پرداخته شد (Zhao *et al*., 2018). نتایج، رابطه رگرسیونی مثبتی بین شاخص NNI با قرائت‌های انجام شده توسط دستگاه کلروفیل‌متر را نشان داد. البته روابط به‌دست آمده در سال‌های مختلف، متفاوت بود. به طور کلی، در دو پژوهش پیشین به تأثیرگذاری فصول کشت و نوع رقم کشت شده بر ارتباط بین قرائت کلروفیل‌متر و NNI اشاره شده است.

با توجه به مرور منابع در خصوص بررسی ارتباط بین شاخص NSPAD و NNI، تمام تحقیقات انجام شده متمرکز بر گیاهان زراعی بودند. درحالی که پس از غلات، سبزیجات منبع اصلی تغذیه بشر است. هم‌چنین نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که درصد تجمع نیترات در اغلب سبزیجات برگی مانند اسفناج وکاهو زیاد است (Umar et al., 2013). به طور کلی با توجه به اینکه سبزیجات در طبقه بندی مربوط به زیرگروه گیاهان C3 قرار می‌گیرند، کارایی مصرف نیتروژن کمتری نسبت به گیاهان C4 دارند (Rahimikhoob *et al*., 2020a). کاهو مهم‌ترین محصول در گروه سبزیجات برگی است و منبع ویتامین‌ها و بسیاری از مواد معدنی است. در حدود دو سوم کل سطح زیر کشت کاهو در جهان به قاره آسیا اختصاص دارد (Prohens & Nuez, 2008). مطابق با گزارش های سازمان خواروبار کشاورزی (Faostat, 2021)، تولید تیپ‌های مختلف کاهو طی دو دهه اخیر در دنیا از رشد ۱۱۸ درصدی برخوردار بوده است. هم‌چنین در مقایسه با سایر محصولات کشاورزی، کشت گیاه کاهو در شرایط کنترل شده گلخانه از نظر اقتصادی ارزش زیادی دارد (Still, 2007). بنابراین، پژوهش حاضر با هدف بررسی ارتباط بین شاخص NSPAD و شاخص NNI و هم‌چنین ارزیابی وضعیت نیتروژن گیاه کاهو تحت شرایط کشت گلخانه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در کرج با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۴۸ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۵۷ دقیقه شرقی و با ارتفاع ۱۲۹۲/۹ متر از سطح دریا انجام شد. ابعاد سالن گلخانه مورد مطالعه ۸×۵ مترمربع، از نوع چند دهانه‌ای با دیواره‌های شیشه‌ای و پوشش سقف از جنس پلی‌کربنات بود. پارامترهای هواشناسی، شامل حداکثر و حداقل دما، حداکثر و حداقل رطوبت نسبی به صورت روزانه برداشت گردیدند. سنجش متغیر دما و رطوبت با استفاده از سنسور دیجیتال مدل HTC-1 (Xuzhou Sanhe Automatic Control Equipment Co., Ltd, Jiangsu, China) انجام شد. اندازه‌گیری پارامترهای هواشناسی در گلخانه در ماه‌های آذر تا فروردین ۱۴۰۱ به مدت ۱۵۱ روز انجام گرفت. میانگین دما و رطوبت نسبی در طول دوره به ترتیب برابر با ۲۰/۴۶ درجه سانتی‌گراد و ۲۴/۳۵ درصد بود. خاک مورد استفاده در این تحقیق، بافت لوم که در این منطقه بخش عمده‌ای از خاک بستر گلخانه‌ها را تشکیل می‌دهد، انتخاب شد. نتایج آنالیز خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک در جدول (۱) ارائه شده است.

مشخصات طرح آزمایشی

آزمایش‌های گلدانی در دو دوره کشت شامل ۶ تیمار (کود اوره) و ۳ تکرار در قالب طرح کامل تصادفی انجام گرفت. گیاه کاهو به صورت نشا در گلدان‌ها کشت شد.کوددهی به میزان صفر (تیمار شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ کیلوگرم برهکتار انجام شد. کود اوره در ۳ نوبت با فاصله یک هفته و به میزان ۳۰، ۳۰ و ۴۰ درصد مقادیر ذکر شده، به گیاهان داده شد. برای جلوگیری از ایجاد تنش رطوبتی، عملیات آبیاری به صورت روزانه انجام گرفت. دما و رطوبت نسبی به صورت روزانه یادداشت‌برداری شدند. اطلاعات دقیق مربوط به تاریخ

1 Nitrogen requirement

کاشت و برداشت، نرخ کاربرد کود، تاریخ کوددهی و نمونه برداری در جدول (۲) آورده شده است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک

خصوصیات خاک		واحد اندازه‌گیری	مقدار
بافت خاک	رس	درصد	۲۰
	سیلت	درصد	۳۴
	شن	درصد	۴۶
ظرفیت زراعی		درصد وزنی	۲۱/۲۴
نقطه پژمردگی		درصد وزنی	۱۰/۳۶
جرم مخصوص ظاهری		گرم بر سانتی‌متر مکعب	۱/۲۳
شوری عصاره اشباع		دسی‌زیمنس بر متر	۱/۴۶
اسیدیته		pH	۸/۱
کربن آلی		درصد	۲/۴۹
نیتروژن کل		درصد	۰/۲
فسفر		میلی‌گرم بر کیلوگرم	۵۲/۵
پتاسیم		میلی‌گرم بر کیلوگرم	۲۸۰

جدول ۲ - اطلاعات مربوط به هر دوره کشت گیاه کاهو

دوره کشت	تاریخ کاشت/ برداشت	تیمارهای کودی ($kg\ h^{-1}$)	تاریخ کوددهی (روز پس از کاشت)	تاریخ نمونه‌برداری (روز پس از کاشت)
اول	۲۸ام آبان ۱۴۰۰/ ۵ام بهمن ۱۴۰۰	N0- 0	۱۷	۲۵
		N1-50		۳۲
		N2-100	۲۲	۳۹
		N3-150		۴۶
		N4-200	۳۰	۵۳
		N5- 250		۶۰
				۶۷
دوم	۱۶ام بهمن ۱۴۰۰/ ۲۵ام فروردین ۱۴۰۱	N0- 0	۱۴	۲۸
		N1-50		۳۵
		N2-100	۱۹	۴۲
		N3-150		۴۹
		N4-200	۲۷	۵۶
		N5- 250		۶۳
				۷۰

تعیین نیاز آبی گیاه توسط میکرولایسیمتر

در این تحقیق برای تعیین نیاز آبی کاهو از چهار عدد میکرولایسیمتر وزنی استفاده شد. میکرولایسیمترها از جنس پلاستیک فشرده با قطر و ارتفاع ۲۱ سانتی‌متر تهیه گردید. در کف میکرولایسیمترها، شن درشت به ضخامت ۱/۵ سانتی‌متر برای تسهیل زهکشی ریخته، سپس با خاک مناسب زراعی پر و به منظور یکسان سازی توزین شدند. وزن میکرولایسیمترها در حدود ۴/۵ کیلوگرم با احتساب وزن خاک خشک و شن تثبیت شد. برای تعیین میزان آب آبیاری از روش وزنی استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا وزن هر میکرولایسیمتر در حالت ظرفیت زراعی مشخص گردید. تعیین حد ظرفیت زراعی برای هر میکرولایسمتر ابتدا از طریق اشباع نمودن کامل آن‌ها انجام گرفت. سپس روی هر کدام درپوشی به منظور جلوگیری از تبخیر قرار داده شد. پس از گذشت ۲ الی ۳ روز، زمانی که تغییر قابل توجهی در وزن میکرولایسیمترها مشاهده نشد، وزن هر یک به عنوان وزن میکرولایسیمتر در حالت ظرفیت زراعی ثبت گردید. سپس باتوجه به اطلاعات برداشت شده، میزان آب آبیاری برای هر میکرولایسیمتر از رابطه زیر محاسبه شد:

رابطه ۱)
$$IW_i=W_{fci}-W_i$$

در رابطه فوق، IW_i میزان آب آبیاری برای میکرولایسیمتر iام (گرم)، W_{fci} وزن میکرولایسیمتر iام در حالت ظرفیت زراعی (گرم) و W_i وزن میکرولایسیمتر iام پیش از انجام آبیاری (گرم) می‌باشد. با توجه به اینکه میزان رطوبت میکرولایسیمترها همواره در حد ظرفیت زراعی تثبیت می‌شد، آب زهکشی وجود نداشت. پس از تثبیت وزن میکرولایسیمترها در حالت ظرفیت زراعی یک عدد نشای کاهو در هر کدام کاشته شد. لازم به ذکر است که در روزهای بعد، وزن نشای کاهو از اندازه‌گیری‌ها کم شد.

اندازه‌گیری و نمونه‌برداری‌ها

نمونه‌برداری به صورت هفتگی و به فاصله‌ی یک هفته بعد از آخرین کوددهی انجام شد. از هر تیمار و تکرار یک گلدان به صورت تصادفی انتخاب و گیاه از سطح خاک قطع شد. سپس از هر بوته‌ی کاهو یک برگ بالغ شده (کاملا توسعه یافته) انتخاب و پارامترهایی از جمله طول، عرض، وزن تر برگ، وزن تر کل بوته و همچنین میزان کلروفیل برگ با استفاده از دستگاه SPAD (در سه نقطه از پهنک برگ شامل ابتدا، وسط و انتها) قرائت شدند. سپس در آزمایشگاه و با استفاده از دستگاه شاخص سطح برگ (WinDIAS, Delta-T) ، مساحت برگ محاسبه شد. در آخر بوته‌های کاهو درون پاکت گذاشته شدند و در داخل آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت سه روز خشک شدند. سپس زیست‌توده خشک گیاه توزین و آسیاب شدند. میزان نیتروژن کل در هر تیمار نیز با استفاده از روش کجلدال به دست آمد.

محاسبه شاخص NNI و NSPAD

برای یک موقعیت معین و در هر دوره زمانی از فصل رشد گیاهان زراعی، برای تعیین سطح تغذیه نیتروژن از شاخص تغذیه نیتروژن (NNI) استفاده می‌شود. این شاخص به صورت نسبت بین غلظت واقعی نیتروژن جذب شده (N_a) و غلظت نیتروژن بحرانی (N_c) در گیاه برای یک مقدار معین از عملکرد ماده خشک[1] (DM) بیان می‌شود (Lemaire *et al*., 2008).

رابطه ۲)
$$NNI=\frac{N_a}{N_c}$$

مقادیر NNI نزدیک به عدد یک نشان دهنده عدم محدودیت نیتروژن در گیاه است. مقادیر بزرگ‌تر از یک نشان دهنده مصرف بیش از حد نیتروژن و مقادیر کم‌تر از یک بیان کننده کمبود نیتروژن است. به طور کلی شدت کمبود نیتروژن را می‌توان توسط شاخص NNI مشخص نمود.

غلظت نیتروژن بحرانی(N_c) حداقل نیتروژن مورد نیاز برای دستیابی به حداکثر تولید است (Justes *et al*., 1994). در این پژوهش، مقادیر غلظت نیتروژن بحرانی کاهو از رابطه به دست آمده در پایان‌نامه Habibi *et al*. (2022) ($\%N_c = 4.84\ DM^{-0.11}$) محاسبه شد.

از تقسیم عدد کلروفیل‌متر در تیمار مورد نظر به عدد کلروفیل‌متر در تیماری که بیشترین میزان کود را دریافت کرده است، شاخص کلروفیل‌متر نرمال شده (NSPAD) به دست آمد (Ravier *et al*., 2017).

رابطه ۳)
$$NSPAD_i=\frac{SPAD_i}{SPAD_{\text{Well Fertilized Treatment}}}$$

صحت‌سنجی و آنالیز آماری

از داده‌های دوره اول کشت برای استخراج رابطه NSPAD-NNI و دوره دوم برای صحت سنجی استفاده شد. نتایج به دست آمده توسط نرم‌افزارهای SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. ترسیم نمودارها نیز توسط نرم افزار Excel انجام شد. دقت روش‌های مورد بحث در این مطالعه با استفاده از شاخص‌های آماری ضریب تعیین (R^2)، میانگین خطای اریب (MBE) و ریشه میانگین مربعات خطا نسبی (RRMSE) ارزیابی قرار گرفت. شاخص R^2 بیان کننده میزان پراکندگی و قابلیت پیش‌بینی متغیر وابسته توسط متغیرهای مستقل است (Santhi *et al*., 2001). اگر هدف مقایسه روند تغییرات پارامتر پیش‌بینی شده با اندازه‌گیری شده باشد، مقادیر بالای این شاخص بیان کننده‌ی تطابق کامل روش محاسباتی با شرایط واقعی است. شاخص MBE با مقایسه اختلاف بین مقادیر پیش‌بینی شده توسط مدل و مقادیر واقعی، پیش برآورد یا کم برآورد بودن هر روش را با همان واحد و مقیاس متغیر مورد بررسی نشان می‌دهد (Muniandy., 2016). شاخص RRMSE نسبت شاخص RMSE به میانگین مقادیر مشاهده شده است که به صورت درصد بیان می‌شود. مقادیر RRMSE کمتر از ۱۰درصد نشان دهنده عملکرد عالی مدل، بین ۱۰ تا ۲۰ درصد عملکرد خوب، بین ۲۰ تا ۳۰ درصد عملکرد متوسط و بالای ۳۰ درصد

1 Dry matter

بیانگر عملکرد ضعیف مدل است (Jamieson *et al*., 1991).

رابطه ۴)
$$R^2=\left(\frac{\sum_{i=1}^{n}(O_i-\bar{O})(P_i-\bar{P})}{\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(O_i-\bar{O})^2}\sqrt{\sum_{i=1}^{n}(P_i-\bar{P})^2}}\right)^2$$

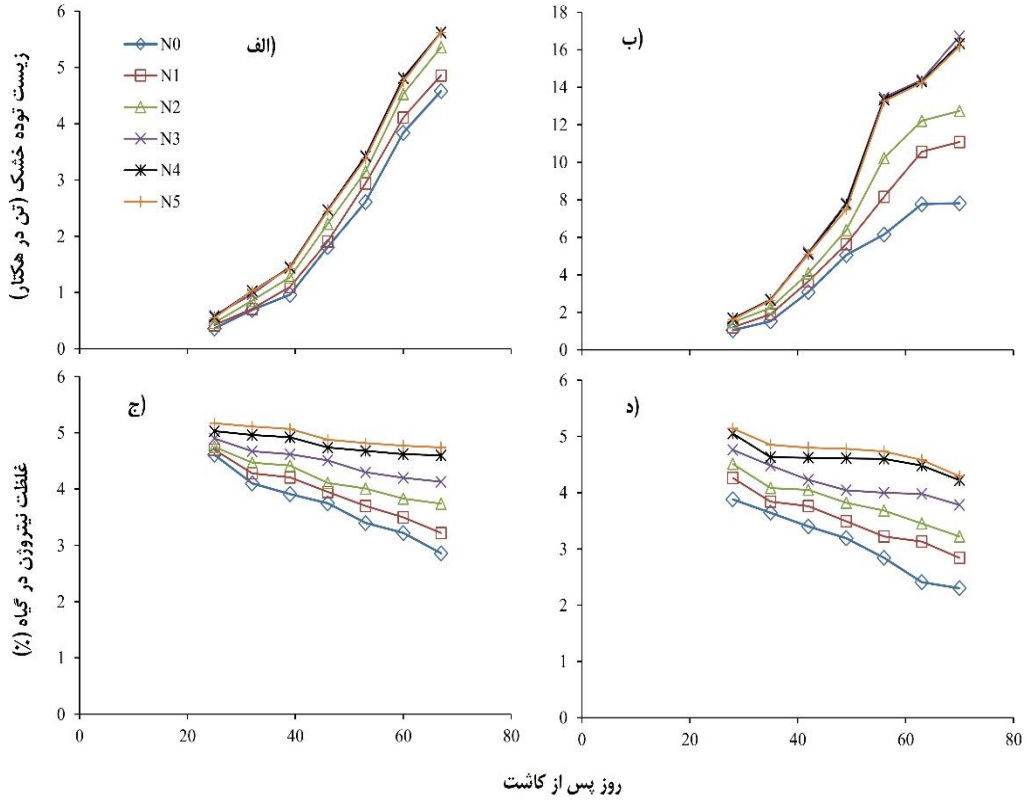
رابطه ۵)
$$MBE=\frac{\sum_{i=1}^{n}(P_i-O_i)}{N}$$

رابطه ۶)
$$RRMSE=\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(O_i-P_i)^2}{N}}\times\frac{100}{\bar{O}}$$

در معادلات فوق N بیانگر تعداد داده‌ها، P_i مقادیر شبیه‌سازی شده، O_i مقادیر واقعی، $\bar{O}$ میانگین مقادیر مشاهده شده و $\bar{P}$ میانگین مقادیر شبیه‌سازی شده است.

نتایج و بحث

تغییرات پارامترهای زیست‌توده خشک گیاه و نیتروژن در طول دوره رشد کاهو برای هر دوره کشت در شکل (۱) آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میزان زیست‌توده تولید شده با افزایش کاربرد کود، افزایش داشته است. زیست‌توده و غلظت نیتروژن گیاه کاهو به ترتیب از ۰/۳۵ تا ۱۶/۲ تن در هکتار و ۲/۳ تا ۵/۱۷ درصد در طول دوره کشت متغیر بودند. ارتباط مستقیم بین کاربرد کود و افزایش زیست‌توده گیاه کاهو در پژوهش‌های مشابه نیز بیان شده است (Pavlou *et al*., 2007; Conversa & Elia, 2019). هم‌چنین در تحقیق Djidonou & Leskovar (2019) دامنه تغییرات نیتروژن کل اندازه‌گیری شده در گیاه کاهو بین ۲ تا ۵ درصد گزارش شده است. که تقریبا مشابه با بازه تغییرات به دست آمده در پژوهش حاضر است.



شکل ۱- تغییرات زیست‌توده خشک و غلظت نیتروژن تحت تیمارهای مختلف در هر نمونه‌برداری، الف و ج): کشت اول، ب و د): کشت دوم

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تیمارهای مختلف کود اثر قابل توجهی بر غلظت نیتروژن در اندام هوایی گیاه در سطح آماری ۰/۰۵

داشت (جداول ۳ و ۴). میانگین غلظت نیتروژن در تیمارها بر اساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) مقایسه شدند.

جدول ۳- نتیجه مقایسه میانگین غلظت نیتروژن موجود (درصد) در ماده خشک گیاه در تیمارهای مختلف برای کشت اول (حروف روی اعداد نشان دهنده نتیجه آزمون مقایسه میانگین LSD است)

تیمار	روز نمونه‌برداری						
	۲۵	۳۲	۳۹	٤٦	۵۳	٦۰	٦۷
N0	۴/۶۰ e	۴/۱۰ e	۳/۹۱ f	۳/۷۴ d	۳/۴۰ f	۳/۲۲ e	۲/۸۶ e
N1	۴/۶۹ ed	۴/۲۷ d	۴/۲۱ e	۳/۹۵ c	۳/۷۰ e	۳/۵۰ d	۳/۲۲ d
N2	۴/۷۵ d	۴/۴۷ c	۴/۴۱ ed	۴/۱۱ c	۴/۰۱ d	۳/۸۳ c	۳/۷۴ c
N3	۴/۸۹ c	۴/۶۷ b	۴/۶۲ c	۴/۵۰ b	۴/۳۰ c	۴/۲۰ b	۴/۱۳ b
N4	۵/۰۳ b	۴/۹۵ a	۴/۹۲ b	۴/۷۳ a	۴/۶۸ b	۴/۶۲ a	۴/۶۰ a
N5	۵/۱۷ a	۵/۱۱ a	۵/۰۷ a	۴/۸۸ a	۴/۸۲ a	۴/۷۷ a	۴/۷۴ a

بر اساس آزمون LSD میانگین‌های دارای حروف متفاوت، در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند.

جدول ٤- نتیجه مقایسه میانگین غلظت نیتروژن موجود (درصد) در ماده خشک گیاه در تیمارهای مختلف برای کشت دوم (حروف روی اعداد نشان دهنده نتیجه آزمون مقایسه میانگین LSD است)

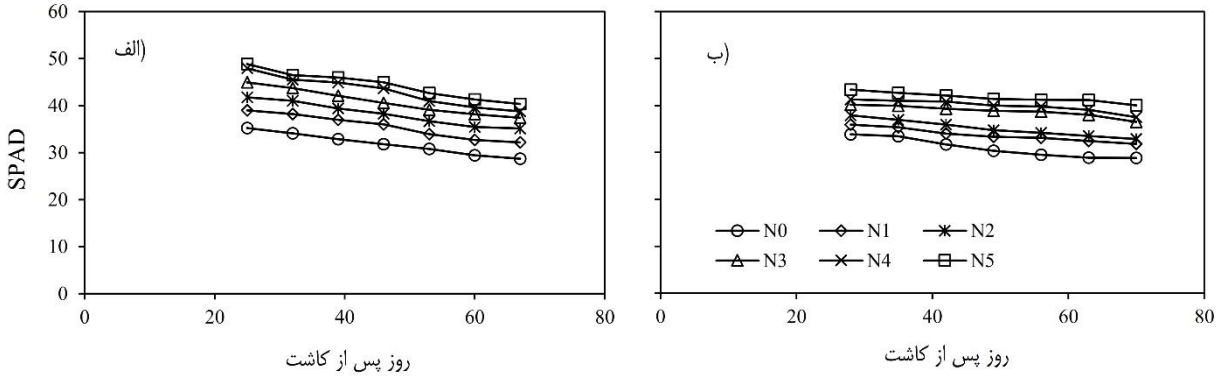
تیمار	روز نمونه‌برداری						
	۲۸	۳۵	٤۲	٤۹	٥٦	٦۳	۷۰
N0	۳/۸۸ e	۳/۶۴ e	۳/۴۰ e	۳/۱۹ d	۲/۸۴ d	۲/۴۱ d	۲/۳۰ d
N1	۴/۲۶ d	۳/۸۴ dc	۳/۷۵ ed	۳/۴۹ dc	۳/۲۲ dc	۳/۱۳ c	۲/۸۴ c
N2	۴/۵۱ c	۴/۰۸ c	۴/۰۵ dc	۳/۸۲ cb	۳/۶۸ cb	۳/۴۵ cb	۳/۲۲ c
N3	۴/۷۶ b	۴/۴۸ b	۴/۲۳ cb	۴/۰۳ b	۴/۱۸ ba	۳/۹۸ ba	۳/۷۸ b
N4	۵/۰۵ a	۴/۶۲ ba	۴/۶۳ ba	۴/۶۰ a	۴/۶۴ a	۴/۴۸ a	۴/۲۲ a
N5	۵/۱۴ a	۴/۷۵ a	۴/۸۶ a	۴/۷۷ a	۴/۷۳ a	۴/۵۸ a	۴/۲۹ a

بر اساس آزمون LSD میانگین‌های دارای حروف متفاوت، در سطح احتمال ۵ درصد دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند.

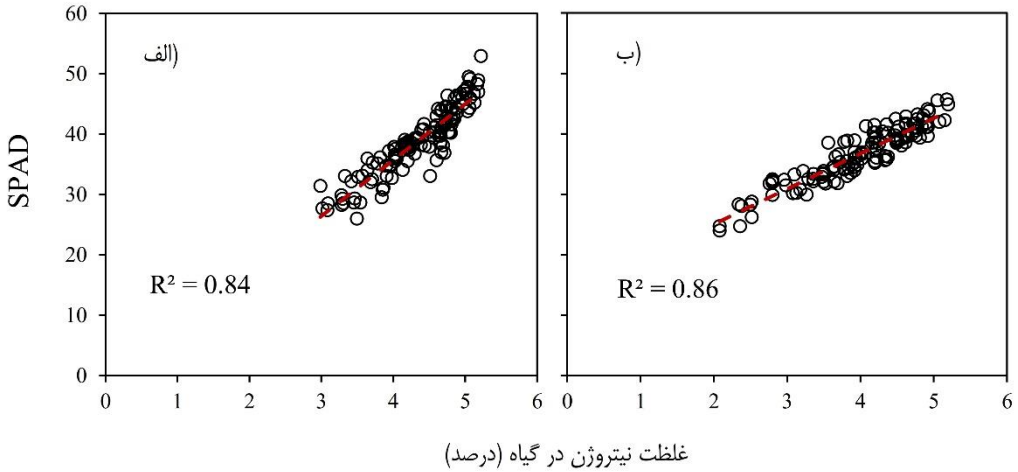
نمودار تغییرات قرائت SPAD در طول هر دو دوره رشد در شکل (۲) نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، مقادیر SPAD با افزایش نرخ کاربرد کود نیتروژن، افزایش یافته است. دامنه تغییرات قرائت SPAD برای تیمار شاهد در حدود ۲۸ تا ۳۵ و ۲۸ تا ۳۳ به ترتیب برای کشت اول و دوم بود. هم‌چنین این مقادیر برای تیماری که بیشترین میزان کود نیتروژن را دریافت کرده بود (N5) در بازه ۴۰ تا ۴۸ و ۴۰ تا ۴۳ به ترتیب برای کشت اول و دوم متغیر بود. باتوجه به شکل (۲) مشاهده می‌شود که در طول دوره رشد، مقادیر SPAD کاهش یافته است. این پدیده تحت عنوان اثر ترقیق نیتروژن[1] در گیاه بیان می‌شود. رقیق شدن نیتروژن در گیاه به طور عمده به دلیل سایه‌اندازی برگ‌ها و تغییر در نسبت برگ به ساقه، طی دوره رشد گیاه رخ می‌دهد (Lemaire *et al*., 1997). در پژوهشی با هدف تعیین منحنی نیتروژن بحرانی گیاه جو، به فرآیند کاهش غلظت نیتروژن در اثر افزایش تولید زیست‌توده و سایه‌اندازی برگ‌ها نیز اشاره شده است (Zhao, 2014).

ارتباط بین قرائت‌های SPAD و غلظت نیتروژن در گیاه (PNC) در شکل (۳) آورده شده است. با توجه به شکل (۳)، یک رابطه خطی و همبستگی مثبت بین SPAD و PNC وجود دارد. ارتباط مستقیم بین PNC و SPAD برای گیاهان دیگری مانند برنج، گندم، ذرت و جو نیز گزارش شده است (Debaeke *et al*., 2006; Lin *et al*., 2010; Ata-UI-Karim *et al*., 2016; Zhao *et al*., 2016; Zhao *et al*., 2018).

1 Nitrogen dilution effect



شکل ۲- تغییرات قرائت SPAD در طول دوره رشد کاهو تحت تیمارهای مختلف در هر نمونه‌برداری، شکل الف) :کشت اول، شکل ب): کشت دوم.

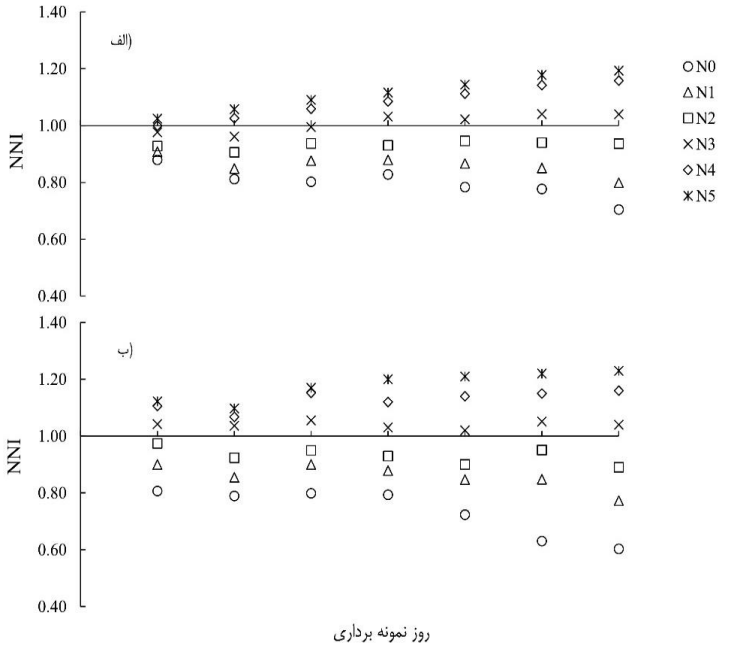


شکل ۳- تغییرات قرائت SPAD در طول دوره رشد کاهو تحت تیمارهای مختلف در هر نمونه‌برداری، شکل الف) :کشت اول، شکل ب): کشت دوم.

شکل (۴) مقادیر محاسبه شده شاخص NNI را برای هر تیمار در هر روز نمونه‌برداری و در هر دو دوره کشت نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشخص است، NNI با افزایش سطح کود مصرفی در هر تاریخ نمونه‌برداری، افزایش داشته است. مقادیر این شاخص برای کشت اول و دوم به ترتیب از ۰/۷۰ تا ۱/۱۹ و ۰/۶ تا ۱/۲۳ متغیر بود. با توجه به شکل، شاخص NNI برای تیمار N3 در کشت اول و دوم تقریبا برابر با یک بوده که نشان دهنده تغذیه بهینه و کاربرد نیتروژن در سطح کفایت است. در مقابل، مقادیر NNI به دست آمده برای تیمارهای N4 و N5 نشان دهنده مصرف نیتروژن بیشتر از نیاز گیاه است. در پژوهشی که با هدف بررسی تغییرات وضعیت تغذیه نیتروژن گیاه کاهو در تگزاس انجام گرفته بود، دامنه تغییرات شاخص NNI از ۰/۳ تا ۱/۴ به ترتیب برای تیمارهای صفر و ۴۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیتروژن گزارش شد (Djidonou & Leskovar, 2019).

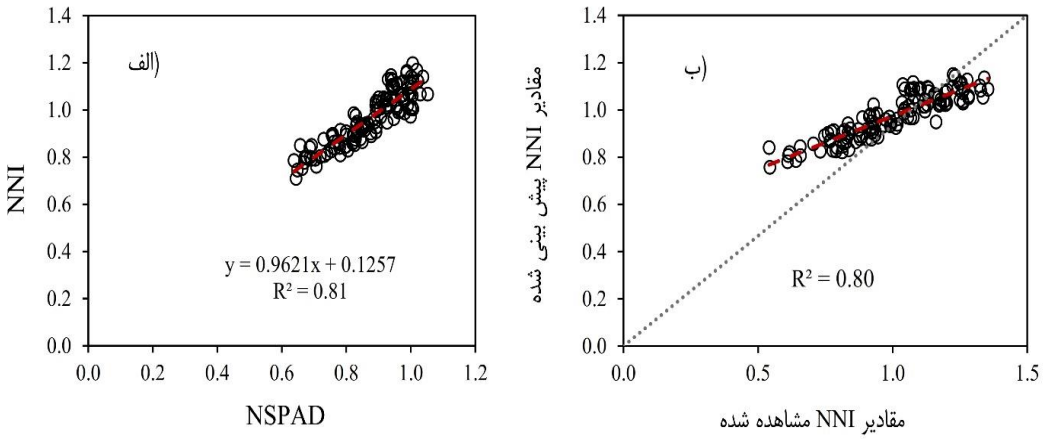
همانطور که پیش‌تر نیز اشاره شد، تخمین وضعیت نیتروژن در گیاه یا به عبارت دیگر پیش‌بینی شاخص NNI با استفاده از داده‌های SPAD امکان بروز خطا را افزایش می‌دهد. در مقابل، کاربرد شاخص NSPAD به جای قرائت SPAD تأثیر عوامل مختلف اعم از وضعیت قرارگیری برگ‌ها، مراحل رشد فنولوژیکی و اختلاف در رقم کشت شده را بر دقت شبیه‌سازی می‌کاهد (Debaeke *et al*., 2006; Yue *et al*., 2020). با نرمال کردن قرائت SPAD، یا به عبارت دیگر استفاده از شاخص NSPAD برای تخمین NNI، عدم قطعیت پیش‌بینی‌ها کاهش و قابلیت اطمینان رابطه به دست آمده افزایش می‌یابد. بنابراین در پژوهش حاضر، شاخص NSPAD محاسبه و ارتباط آن با شاخص NNI بررسی شد. میانگین مقادیر NSPAD در کشت اول بین ۰/۶۴ تا ۱ به ترتیب برای تیمارهای با محدودیت و بدون محدودیت نیتروژن متغیر بود.

همانطور که در شکل (۵- الف) مشاهده می‌گردد، یک رابطه خطی بین NSPAD و NNI (R^2 = ۰/۸۱) وجود دارد. در پژوهش Debaeke *et al*., (2006) که برای گیاه گندم انجام گرفته بود نیز یک رابطه مثبت و خطی بین NSPAD و NNI گزارش شد. نتایج آن‌ها نشان داد این رابطه مستقل از سال کشت، مرحله رشد و رقم گیاه است. بنابراین، می‌توان حتی در شرایط مختلف مقادیر NNI را با دقت قابل قبولی از روی مقادیر NSPAD تخمین زد.



شکل ٤- مقادیر شاخص NNI برای تیمارهای مختلف نیتروژن در هر روز نمونه‌برداری الف) کشت اول ب) کشت دوم

رابطه به دست آمده، با استفاده از داده‌های دور دوم کشت صحت‌سنجی شد. شاخص‌های ارزیابی محاسبه و نتایج در جدول (۵) آورده شده است. با توجه به جدول (۵)، نتایج نشان دهنده عملکرد خوب رابطه NSPAD-NNI با مقادیر R^2، MBE و RRMSE به ترتیب برابر با ۰/۸۰، ۰/۰۲- و ۱۱/۶۸ درصد بود. با توجه به مقدار شاخص MBE می‌توان نتیجه گرفت که رابطه NSPAD-NNI مقادیر NNI را کم‌تر از حد واقعی برآورد کرده است. معناداری رابطه بین مقادیر NNI پیش‌بینی شده و مشاهده شده توسط آزمون Fisher مورد ارزیابی قرار گرفت. مقدار p-value در سطح آماری ۰/۰۵ برابر با ۰/۰۰ به دست آمد که نشان‌دهنده قابلیت بالای مدل در شبیه‌سازی است.



شکل ۵- الف: رابطه بین مقادیر شاخص تغذیه نیتروژن و NSPAD در کشت اول، ب: نمودار مقایسه مقادیر شاخص تغذیه نیتروژن مشاهده شده و پیش‌بینی شده در کشت دوم (n = 126).

جدول ۵. معیارهای ارزیابی آماری

معیارهای ارزیابی	مقادیر
R^2	۰/۸۰
MBE	-۰/۰۲
RRMSE	۱۱/۶۸

با توجه به دقت و عملکرد خوب رابطه به دست آمده برای تخمین NNI با استفاده از داده‌های NSPAD، می‌توان با اطمینان کافی از آن به منظور مدیریت کود در طول دوره رشد گیاه کاهو استفاده نمود. هم‌چنین برای زمانی که تنها عامل محدود کننده رشد گیاه کود نیتروژن باشد، از رابطه NSPAD-NNI می‌توان برای پیش‌بینی عملکرد محصول و استفاده در مدل‌های گیاهی نیز بهره گرفت. نتایج این پژوهش نشان داد، کلروفیل‌متر به عنوان یک ابزار دقیق و غیرمخرب می‌تواند برای تعیین وضعیت نیتروژن در گیاه و هم‌چنین برآورد نیاز کودی مورد استفاده کشاورزان قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر، از دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD) جهت تعیین و تخمین شاخص تغذیه نیتروژن (NNI) در گیاه کاهو استفاده گردید. نتایج نشان داد، مقادیر مربوط به قرائت SPAD با رشد گیاه کاهش یافته است. هم‌چنین، همبستگی مثبتی بین قرائت SPAD و نیتروژن تجمع یافته در بافت گیاه کاهو مشاهده شد. شاخص تغذیه نیتروژن برای هر دو دوره کشت محاسبه گردید. نتایج نشان داد، مقدار این شاخص برای تیمار شاهد با رشد گیاه کاهش یافته است. در حالی‌که، برای تیمار کاربرد کود نیتروژن در حد بهینه همواره در حدود عدد یک (NNI=1) قرار داشت. برای کاهش اثرات محیطی و محلی، قرائت‌های SPAD توسط تیماری که بیشترین میزان کود را دریافت کرده بود، نرمال شدند. سپس رابطه بین شاخص‌های NNI و NSPAD استخراج و با داده‌های دور دوم کشت صحت‌سنجی شد. نتایج بیانگر عملکرد مناسب و دقیق رابطه NSPAD-NNI بود. بنابراین می‌توان برای تعیین وضعیت نیتروژن در طول دوره رشد گیاه کاهو از کلروفیل‌متر به عنوان ابزاری کارآمد و غیرمخرب استفاده نمود.

"هیچگونه تعرض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

REFERENCES

Adhikari, C., Bronson, K., Panuallah, G., Regmi, A., Saha, P., Dobermann, A., et al. (1999). On-farm soil N supply and N nutrition in the rice–wheat system of Nepal and Bangladesh. *Field Crops Res*. 64, 273–286.doi: 10.1016/S03784290(99)00063-5

Ata-Ul-Karim, S., Cao, Q., Zhu, Y., Tang, L., Rehmani, M. and Cao, W., (2016). Non-destructive Assessment of Plant Nitrogen Parameters Using Leaf Chlorophyll Measurements in Rice. *Frontiers in Plant Science*, 7.

Ata-Ul-Karim, S. T., Liu, X., Lu, Z., Zheng, H., Cao, W., and Zhu, Y. (2017). Estimation of nitrogen fertilizer requirement for rice crop using critical nitrogen dilution curve. *Field Crops Res*. 201, 32–40.doi: 10.1371/journal.pone. 0104540

Barutcular, C., Yıldırım, M., Koç, M., Akıncı, C., Toptaş, I., Albayrak, O., et al. (2016). Evaluation of SPAD chlorophyll in spring wheat genotypes under different environments. Fresenius Environmental Bulletin, 25(4), 1258–1266.

Blackmer, T.M., Schepers, J.S., Varvel, G.E., (1994). Light reflectance compared nitrogen stress measurements in corn leaves. *Agron. J*. 86,934–938.

Conversa G, Elia A. (2019) Growth, Critical N Concentration and Crop N Demand in Butterhead and Crisphead Lettuce Grown under Mediterranean Conditions. *Agronomy*. 9(11):681.

Debaeke, P., Rouet, P., and Justes, E. (2006). Relationship between the normalized SPAD index and the nitrogen nutrition index: application to durum wheat. *J. Plant Nutr*. 29, 75–92.doi: 10.1080/01904160500416471

Djidonou, D., & Leskovar, D. (2019). Seasonal Changes in Growth, Nitrogen Nutrition, and Yield of Hydroponic Lettuce. *HortScience*. 54. 76-85. 10.21273/HORTSCI13567-18.

FAOSTAT, 2021. Fao.org. URL http://www.fao.org/faostat.

Fox, R.H., Piekielek, W.P., Macneal, K.M., (1994). Using a chlorophyll meter to predict nitrogen fertilizer needs of winter wheat. *Commun. Soil Sci. Plant Anal*. 25, 171–181.

Habibi R., Delshad M., Rahimikhoob H. (2022). *Determination of critical nitrogen concentration curve based on dry matter and leaf area index of Lettuce (Lactuca sativa L.) grown under greenhouse conditions.* Master of Science Thesis.

Huang, J., F. He, K. Cui, R.J. Buresh, B. Xu, W. Gong, and S. Peng. (2008). Determination of optimal nitrogen rate for rice varieties using a chlorophyll meter. Field Crops Res. 105:70–80. doi:10.1016/j. fcr.20 07.07.0 06

Jamieson PD, Porter JR, Wilson DR (1991) A test of computer simulation model ARC-WHEAT1 on wheat crops grown in New Zealand. Field Crops Res. 27: 337–350.

Justes, E., Mary, B., Meynard, J. M., Machet, J. M., and Thelier-Huche, L. (1994). Determination of a critical nitrogen dilution curve for winter wheat crops. Ann. Bot. 74, 397–407.doi: 10.1006/anbo.1994.1133

Lemaire, G., Meynard, J.-M., (1997). Use of the nitrogen nutrition index for the analysis of agronomical data. In: Lemaire, G. (Ed.), Diagnosis of the Nitrogen Status in Crops, pp. 45–55.

Lemaire, Gilles, Marie-Hélène Jeuffroy, and François Gastal. (2008). Diagnosis Tool for Plant and Crop N Status in Vegetative Stage: Theory and Practices for Crop N Management. European Journal of Agronomy .28 (4): 614–24.

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

Muniandy JM, Yusop Z, Askari M (2016) Evaluation of reference evapotranspiration models and determination of crop coefficient for Momordica charantia and Capsicum annuum. Agric. Water Manage. 169:77–89

Pavlou GC, Ehaliotis CD, Kavvadias VA. (2007) Effect of organic and inorganic fertilizers applied during successive crop seasons on growth and nitrate accumulation in lettuce. Sci Hortic. 111: 319–325.

Prohens, J. and Nuez, F., 2008. Vegetables. New York: Springer Chang, S. and Robison, D., 2003. Nondestructive and rapid estimation of hardwood foliar nitrogen status using the S 50 chlorophyll meter. Forest Ecology and Management, 181(3), pp.331-338.

Rahimikhoob, H., Sohrabi, T. and Delshad, M. (2020a) Development of a Critical Nitrogen Dilution Curve for Basil (Ocimum basilicum L.) Under Greenhouse Conditions. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. https://doi.org/10.1007/s42729-020-00174-5

Rahimikhoob, H., Sohrabi, T. and Delshad, M. (2020b) Estimation of In-season Basil Nitrogen Requirement Using the Nitrogen Nutrition Index. Iranian journal of soil and water research. 51(8)-2039-2049.

Ravier, C., Quemada, M. and Jeuffroy, M., (2017). Use of a chlorophyll meter to assess nitrogen nutrition index during the growth cycle in winter wheat. Field Crops Research, 214, pp.73-82.

Santhi C, Arnold JG, Williams JR, Dugas WA, Srinivasan R, Hauck LM (2001) Validation of SWAT model on a large river basin with point and nonpoint source. Wiley online libaray.

Still, D.W. (2007). Lettuce. In: Kole, C. (eds) Vegetables. Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants, vol 5. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-34536-7_2

Umar S, Anjana Anjum NA, Khan NA (2013) Nitrate management approaches in leafy vegetables. In: Umar S, Anjum NA, Khan NA (eds) Nitrate in leafy vegetables: toxicity and safety measures. IK International Publishing House Pvt. Ltd, New Delhi, pp 166–181

Yan X., Gong W (2010). The role of chemical and organic fertilizers on yield, yield variability and carbon sequestration— results of a 19year experiment. Plant Soil 331(1–2):471–480. https://doi.org/10. 1007/s11104-009-0268-7

Yuan, Z., Ata-Ul-Karim, S. T., Cao, Q., Lu, Z., Cao, W., Zhu, Y., et al. (2016). Indicators for diagnosing nitrogen status of rice based on chlorophyll meter readings. Field Crops Res. 185, 12–20.doi: 10.1016/j.fcr.2015.10.003

Yue, X., Hu, Y., Zhang, H. et al. Evaluation of Both SPAD Reading and SPAD Index on Estimating the Plant Nitrogen Status of Winter Wheat. Int. J. Plant Prod. 14, 67–75 (2020). https://doi.org/10.1007/s42106-019-00068-2

Zhao, B. (2014). Determining of a critical dilution curve concentration for plant nitrogen in winter barley. Field Crops Res. 160, 64–72.

Zhao, B., Liu, Z., Ata-Ul-Karim, S. T., Xiao, J., Liu, Z., Qi, A., et al. (2016). Rapid and nondestructive estimation of the nitrogen nutrition index in winter barley using chlorophyll measurements. Field Crops Res. 185, 59–68.doi: 10.1016/j.fcr.2015.10.021

Zhao, B., Ata-Ul-Karim, S., Liu, Z., Zhang, J., Xiao, J., Liu, Z., Qin, A., Ning, D., Yang, Q., Zhang, Y. and Duan, A., 2018. Simple Assessment of Nitrogen Nutrition Index in Summer Maize by Using Chlorophyll Meter Readings. Frontiers in Plant Science, 9.