

## تغییر برخی شاخص‌های رشد و عملکرد اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) تحت تاثیر کود نیتروژن و تراکم کشت

فرناز گودرزی<sup>۱</sup>، مجتبی دلشاد\*<sup>۲</sup>، فروزنده سلطانی<sup>۳</sup>، حامد منصوری<sup>۴</sup>

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری، دانشیار و استادیار، گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران،  
۴- استادیار، بخش تحقیقات چغندرقتند، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱/۲۷ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۴/۱۱)

### چکیده

شناخت فاکتورهای موثر بر عملکرد و کیفیت خوراکی اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) و تعامل آن‌ها با شرایط محیطی مزرعه، از مهم‌ترین مباحث مدیریت تولید می‌باشد. در این پژوهش، اثر سه سطح تراکم (۳۳، ۴۵ و ۷۱ بوته در متر مربع) و شش سطح کود نیتروژنی اوره (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰ و ۴۵۰ کیلوگرم در هکتار) و شاهد بر عملکرد، پارامترهای رشد و کیفیت اسفناج در شرایط مزرعه مورد مطالعه قرار گرفت. پژوهش در سال‌های زراعی ۱۳۹۴-۹۵ و ۱۳۹۵-۹۶ به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که اثر متقابل کود نیتروژن و تراکم سال، تنها بر محتوای نیترات برگ معنی‌دار شد ( $P < 0.001$ ). کود نیتروژنی منجر به افزایش صفات عملکرد، زیست‌توده، پارامترهای رشد مانند شاخص سطح برگ، سرعت رشد نسبی و شاخص‌های کیفیت مانند درصد پتاسیم، میزان نیترات، مقدار کلروفیل a، b و کل شد، اما بر سرعت فتوسنتز خالص و سرعت رشد نسبی، تاثیر معنی‌داری نداشت. اثر متقابل تراکم بوته و سال بر تمامی صفات اندازه‌گیری شده اسفناج به جز درصد پتاسیم معنی‌دار شد ( $P < 0.001$ ). تراکم ۷۱ بوته بر متر مربع، منجر به افزایش زیست‌توده، شاخص سطح برگ و نیترات شد اما مقدار کلروفیل به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. بر اساس نتایج می‌توان بیان داشت که در منطقه کرج در کشت پاییزه (مزرعه)، تراکم ۷۱ بوته در متر مربع و کود نیتروژنی ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار در شرایط محیطی با نور و دمای بالا، نسبت به سایر تیمارها بهتر توانست اهداف سودآوری از لحاظ بالاترین عملکرد محصول، همراه با حفظ سطح سالم نیترات در بافت گیاهی را برآورده نماید.

واژه‌های کلیدی: تراکم گیاه، سرعت رشد نسبی، شاخص سطح برگ، کود نیتروژن، نیترات.

### Changes in some growth and yield indices of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) under nitrogen fertilization and plant density

Farnaz Goodarzi<sup>1</sup>, Mojtaba Delshad\*<sup>2</sup>, Forouzandeh Soltani<sup>1</sup> and Hamed Mansouri<sup>2</sup>

1. Department of Horticulture, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Iran.

2. Sugar Beet Research Department, Hamedan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Hamedan, Iran.

(Received: April 16, 2019 - Accepted: July 2, 2019)

### ABSTRACT

The Identification of the factors affecting the yield and edible quality of spinach (*Spinacia oleracea* L.) and their interaction with the environmental conditions are the most important issues in crop production management. In this experiment, the effect of three levels of plant density (71, 45 and 33 plant m<sup>-2</sup>), six levels of nitrogen fertilizer (100, 200, 250, 300, 350 and 400 kg urea ha<sup>-1</sup>) and control on yield, growth indices and quality of spinach was evaluated in the field condition. These experiments were carried in 2014-15 and 2015-16, in a randomized complete block design with three replicates. The results showed that interaction effects of nitrogen fertilizer and plant density and year only had Significant effect on nitrate content ( $P < 0.001$ ). Nitrogen fertilizer increased biomass, yield, growth parameters like leaf area index, crop growth rate, and qualitative parameters like nitrate content, potassium percentage, chlorophyll a, b and total traits while had not significant effect on net assimilation rate and relative growth rate. Interaction effects of plant density and year had a significant effect on all traits except potassium percentage ( $P < 0.001$ ). The increase in plant density led to increase in the biomass, leaf area index and nitrate content but chlorophyll content was significantly decreased. It is suggested that in autumn cropping in Karaj region, and under high light and temperature conditions, 71 plants m<sup>-2</sup> and 250kg urea ha<sup>-1</sup> could be better to estimate the aims of economic profitability for highest yield and maintaining a healthy level of nitrate in the plant tissue.

**Keywords:** Leaf area index, nitrate, nitrogen fertilization, plant density, relative growth rate.

\* Corresponding author E-mail: delshad@ut.ac.ir

## مقدمه

مثبتی که بر سلامت انسان دارد، مصرف آن در سراسر جهان به سرعت گسترش یافته‌است (Correia et al., 2010).

مطالعه شاخص‌های رشد گیاهان در شرایط مختلف، سبب بهبود درک اثرات متقابل محیط و گیاه بر روی رشد و نمو محصول می‌شود و در واقع، به‌عنوان مقیاسی از پاسخ و تعامل گیاه به عوامل محیطی پیرامون خود می‌باشد (Poorter & De Jong, 1999). اسفناج یکی از پر مصرف‌ترین سبزی‌های برگ‌ی است و تنوع زیادی بین ارقام آن از لحاظ اندازه برگ و میزان تولید محصول وجود دارد. از آن‌جا که مطالعه نحوه اثر عوامل مهم تاثیرگذار از جمله تغذیه نیتروژنی و تراکم کاشت بر گیاهان برای رسیدن به بهترین عملکرد و کیفیت محصول، از ضروریات مدیریت پایدار مزرعه می‌باشد، در این تحقیق تلاش شده‌است تا اثر دو عامل مهم تراکم بوته و سطوح مختلف کود نیتروژن بر عملکرد و شاخص‌های رشد و کیفیت اسفناج در شرایط مزرعه مورد مطالعه قرار گیرد.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در مزرعه علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، با طول ۵۰ درجه و ۵۸ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۶ دقیقه شمالی، در طی دو سال زراعی متوالی ۹۵-۱۳۹۴ و ۹۶-۱۳۹۵، به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. در این تحقیق، از رقم Hareer اسفناج تهیه شده از نمایندگی شرکت رکزوان هلند (Rijkzwan) استفاده شد. فاکتورهای آزمایش شامل سه سطح تراکم بوته (D1=۳۳، D2=۴۵ و D3=۳۳) و سطوح مختلف کود نیتروژن از منبع اوره در شش سطح (۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۳۵۰، ۴۰۰ کیلوگرم در هکتار) و شاهد بودند. قبل از تهیه بستر کشت و جهت ارزیابی خصوصیات فیزیکی‌وشیمیایی خاک مزرعه، نمونه خاکی از عمق صفر

در کشاورزی مدرن، استفاده از نهاده‌های کشاورزی برای کسب بیشترین عملکرد، به همراه حفظ کیفیت و سلامت خوراکی محصول و پایداری سیستم تولید، مدنظر می‌باشد. سبزی‌های برگ‌ی، گروهی از مهم‌ترین محصولات کشاورزی می‌باشند که کمیت و کیفیت غذایی آن‌ها، تحت تاثیر عواملی مانند مدیریت زراعی، رقم و عوامل محیطی همانند آبیاری، نور، عرضه عناصر غذایی، دما، طول دوره رشد، زمان برداشت و نحوه برداشت قرار می‌گیرند (Tshivhandekano et al., 2013). معمولاً در این گروه از گیاهان، تولید حداکثر زیست توده مورد توجه است (قابل مقایسه با گیاهان زراعی علوفه‌ای)، بنابراین تراکم گیاهی که سبب استفاده بهینه از منابع طبیعی و انرژی خورشیدی می‌شود، به‌طور موثرتری بر بهره‌وری تولید، سرعت رشد محصول و ترکیبات فیتوشیمیایی پیکره آن‌ها تاثیر می‌گذارد؛ از این رو، نخستین اولویت در مدیریت تولید تجاری آن‌ها می‌باشد (Timlin et al., 2014). همچنین در گیاهانی که زیست توده (زیست توده) تولیدی آن‌ها تقریباً به عنوان محصول قابل فروش تلقی می‌شود، میزان تولید تجاری، به‌صورت بارزتری تحت تاثیر مصرف نیتروژن است. مصرف نیتروژن بر روی ظاهر و گسترش برگ و رشد مطلوب و کیفیت محصول نهایی این گیاهان تاثیر می‌گذارد (Stagnari et al., 2007). از سوی دیگر، مصرف بیش از حد نیتروژن در مزارع تولید این دسته از محصولات، عوارض مهمی همانند تجمع نیترات در بافت‌های رویشی و بروز مشکلات بهداشتی برای مصرف کنندگان را در پی دارد.

اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) یکی از سبزیجات برگ‌ی مهم در رژیم غذایی اکثر مردم جهان است که حاوی چندین عامل آنتی‌اکسیدانی فعال از جمله فلاونوئیدها<sup>۱</sup>، مشتقات اسید پیکوماریک<sup>۲</sup> و اوردین<sup>۳</sup> است. برگ‌ها محتوی مقادیر بالایی از کاروتنوئیدهایی همانند لوتئین<sup>۴</sup> و بتاکاروتن<sup>۵</sup>، ویتامین‌های A، C، E و عناصری مانند آهن و کلسیم می‌باشند و به‌علت اثرات

<sup>۴</sup> - Lutein

<sup>۵</sup> - B- carotene

<sup>۱</sup> - flavonoids

<sup>۲</sup> - P-coumaric acid

<sup>۳</sup> - uridine

تا ۳۰ سانتیمتری خاک به صورت تصادفی انتخاب و آنالیز شد (جدول ۱).

جدول ۱- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک منطقه از عمق صفر تا ۳۰ سانتی متر

Table 1. Some soil physiochemical properties of experiment site from 0 to 30 cm depth.

Properties	Soil texture	% N	P (mg/kg)	K (mg/kg)	EC (ds/m)	Ph
Soil field	Clay loam	0.12	41.2	399	1.8	7.2

اولین آبیاری، بلافاصله بعد از کشت بذرها در زمین انجام شد و تا مرحله استقرار گیاهچه، به فاصله هر دو روز یکبار آبیاری تکرار شد. پس از استقرار گیاهچه‌ها، دور آبیاری به هر چهار روز یکبار افزایش یافت. قبل از اعمال تیمار کوددهی، عملیات تنک بوته‌ها به منظور حفظ تراکم بوته بر روی ردیف کشت انجام شد و در هر سوراخ، یک بوته نگهداری شد. اولین کوددهی با نیتروژن، پس از ظهور اولین برگ حقیقی، به صورت سرک انجام گرفت و مابقی کود هر تیمار در دو مرحله به گیاهان داده شد. به منظور ایجاد شرایط محاسبه شاخص‌های رشد، گیاهان آزمایشی در دو مرحله برداشت شدند.

طول هر واحد آزمایشی ۲۵۰ سانتی متر، عرض آن، ۸۰ سانتی متر و دارای چهار خط کشت بود. فاصله بین خطوط کشت ۲۰ سانتی متر و فاصله بین بوته‌ها روی خطوط کشت، با توجه به تراکم مورد نظر، هفت، ۱۱ و ۱۵ سانتی متر بود. فاصله بین بلوک‌های آزمایشی نیز ۵۰ سانتی متر در نظر گرفته شد. قبل از کاشت بذرها، درصد جوانه زنی بذرها آن‌ها در ژرمیناتور اندازه گیری شد و بالاترین درصد جوانه زنی (۹۹/۵۵ درصد) در دماهای شش تا ۱۲ درجه سانتی گراد مشاهده شد. کاشت بذرها در سال زراعی اول و دوم، به ترتیب در ۲۸ و ۱۱ شهریور ماه در عمق دو سانتی متری انجام شد. داده‌های هواشناسی برای هر دو سال زراعی پس از جوانه زنی ۸۰ درصد بذرها در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲- میانگین دمای روزانه هوا و خاک، رطوبت نسبی، میزان تابش فعال فتوسنتزی PAR و مجموع میزان بارندگی در بالای سطح گیاه، از زمان ۸۰ درصد جوانه زنی بذرها تا زمان برداشت در منطقه مورد مطالعه در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶.

Table 2. Mean daily air and soil temperature, relative humidity, photosynthetic active radiation (PAR) above the canopy and total rainfall at the study site from 80% seed germination until harvest in 2015 and 2016 years.

	Air Temperature (°C)	Soil Temperature (°C)	Relative Humidity (%)	PAR (MJ.M2.sec)	Total Rainfall (mm)
Year 1	14.20656	14.04918	53.36	9.404918	81.7
Year 2	19.75435	23.25652	37.86	13.63172	0

مدل DELAT-TDEVICESlat-England برآورد شد. اجزای گیاهی پس از هر بار برداشت در داخل پاکت قرار گرفتند و در آون با درجه حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۷۲ ساعت خشک شدند و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. شاخص‌های رشد همانند شاخص سطح برگ<sup>۱</sup> (LAI)، سرعت فتوسنتز خالص<sup>۲</sup> (NAR)، سرعت نسبی رشد<sup>۳</sup> (RGR) و سرعت رشد محصول<sup>۴</sup> (CGR) با روش‌های مرسوم (Heuvelink, 2005) محاسبه شدند.

در سال زراعی اول و دوم، مرحله اول برداشت، به ترتیب ۳۰ و ۲۶ روز پس از جوانه‌زنی و مرحله نهایی برداشت، به ترتیب ۶۱ و ۴۵ روز پس از جوانه‌زنی بود. نمونه برداری از سطح ۰/۰۸ متر مربع (۰/۲ × ۰/۴ متر) با اعمال اثر حاشیه‌ای انجام شد و سپس برای سطح یک متر مربع برآورد شد. برداشت و نمونه برداری، به صورت خروج کامل بوته به همراه ریشه انجام شد. سطح برگ در تمامی اندازه‌گیری‌ها با استفاده از دستگاه برگ‌سنج

<sup>۳</sup> - Relative Growth Rate

<sup>۴</sup> - Crop Growth Rate

<sup>۱</sup> - Leaf Area Index

<sup>۲</sup> - Net Assimilation Rate

استخراج و سنجش میزان کلروفیل برگ، بر اساس روش Arnon (1949) انجام شد. تعیین غلظت نیترات و پتاسیم نمونه‌های برگ، به ترتیب به روش اسید سولفوسالیسیلیک- سود (دستگاه اسپکتروفوتومتر) و استات آمونیوم (دستگاه فلیم فتومتر) انجام شد. ابتدا تست یکنواختی واریانس بر اساس آزمون بارتلت انجام گرفت و پس از اطمینان از یکنواختی خطاهای آزمایش، تجزیه مرکب داده‌های دو سال آزمایش به وسیله نرم افزار SAS انجام شد و میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و در سطح احتمال یک درصد مقایسه شدند. نمودارها و جداول با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند.

## نتایج و بحث

### عملکرد و زیست توده اسفناج

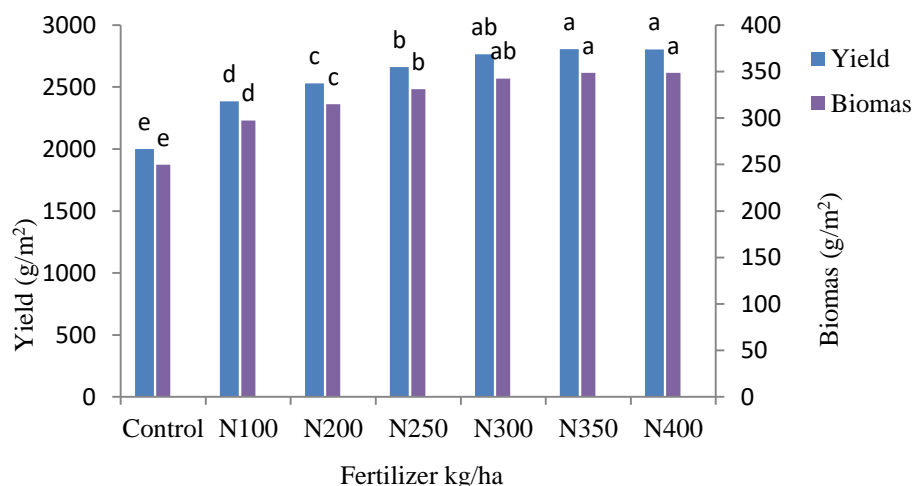
تجزیه مرکب داده‌های حاصل از دو سال آزمایش نشان داد که تاثیر ساده سال، تراکم و کود بر صفات عملکرد و زیست توده در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود اما اثرات متقابلی بین فاکتورهای آزمایشی بر صفات گفته شده به جز اثر متقابل سال و تراکم دیده نشد (جدول ۳). اثر افزایش سطح تغذیه نیتروژنی بر عملکرد و زیست توده اسفناج مثبت بود اما در تیمارهای کودی بالاتر از ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار، تقریباً میزان این دو صفت ثابت باقی ماند (شکل ۱). تیمار کودی ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار، منجر به افزایش عملکرد و زیست توده به میزان ۴۰ درصد نسبت به شاهد شد. بر اساس گزارش‌های موجود، زیست توده و عملکرد اسفناج، علاوه بر عوامل ژنتیکی، محیطی و زراعی، به وسیله عرضه نیتروژن نیز تعیین می شود (Deleuran, 2005)، اما کودهای نیتروژنی تا حد مشخصی اثر مستقیمی بر عملکرد اسفناج می گذارند (Hirel et al., 2007). گزارش‌های گوناگونی از میزان بهینه مصرف نیتروژن در ارتباط با عملکرد اسفناج منتشر شده است؛ به عنوان مثال، بیشترین عملکرد اسفناج در تیمار کود ۲۴۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار

(Mondal & Nad, 2012)، ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار (Stagnari et al., 2007) و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار (Ahmadi, 2010) به دست آمده است که نشان دهنده تاثیر سایر عوامل محیطی و زراعی بر سطح بهینه تغذیه نیتروژنی می باشد. بالاترین و کمترین میزان عملکرد و زیست توده در سال زراعی اول، به ترتیب در تراکم ۷۱ و ۳۳ بوته در متر مربع مشاهده شد که این روند نیز در سال دوم زراعی تکرار شد (شکل ۲). تراکم گیاه در واحد سطح، به سبب تاثیر بارزی که بر میزان نور دریافتی توسط مجموعه کانوپی نسبت به نور رسیده بر واحد سطح زمین می گذارد، می تواند بر میزان عملکرد موثر باشد. این تاثیر در گیاهانی که تولید زیست توده کل در آن‌ها، مدنظر است و تعیین کننده عملکرد کل می باشد، به شکل مشهودتری مشاهده می شود. در برخی گزارش‌ها، تغییر ۲۵ درصدی عملکرد سبزی‌های برگی با تغییر تراکم گیاهی در محدوده رایج مشاهده شده است (Bansal et al., 1995). نتایج آزمایش نشان می دهد که در شرایط آزمایش، تراکم‌های کمتر از ۷۱ بوته در متر مربع، سبب هدر رفت انرژی تابشی رسیده بر واحد سطح زمین می شود. به عبارت ساده تر، کانوپی‌های موجود در واحد سطح زمین، در تراکم‌های کمتر از ۷۱ بوته در متر مربع، قادر به جذب نسبت مناسبی از نور رسیده نمی باشند. این موضوع با مسئله رقابت بین گیاهان در تراکم‌های بالا تداخل پیدا می کند که با توجه به افزایش زیست توده (عملکرد کل) در تراکم ۷۱ بوته در متر مربع، مشخص می شود که در این تراکم، هنوز آثار منفی ناشی از نزدیکتر شدن گیاهان به یکدیگر، بروز نیافته است. تفاوت زیست توده و عملکرد گیاهان در دو سال آزمایش، با نگاهی به داده‌های هواشناسی قابل توجیه و تفسیر می باشد. با توجه به داده‌های هواشناسی دو سال آزمایش، مشخص شد که میانگین دمای خاک و هوا و میزان تشعشع بالای کانوپی در سال دوم در مقایسه با سال اول بیشتر می باشد که می تواند عامل موثر در تولید زیست توده و عملکرد بیشتر در سال دوم باشد (جدول ۲).

جدول ۳- آنالیز واریانس صفات مورد بررسی در سال های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶.  
Table 2- Variance analysis of the studied traits in 2015 and 2016.

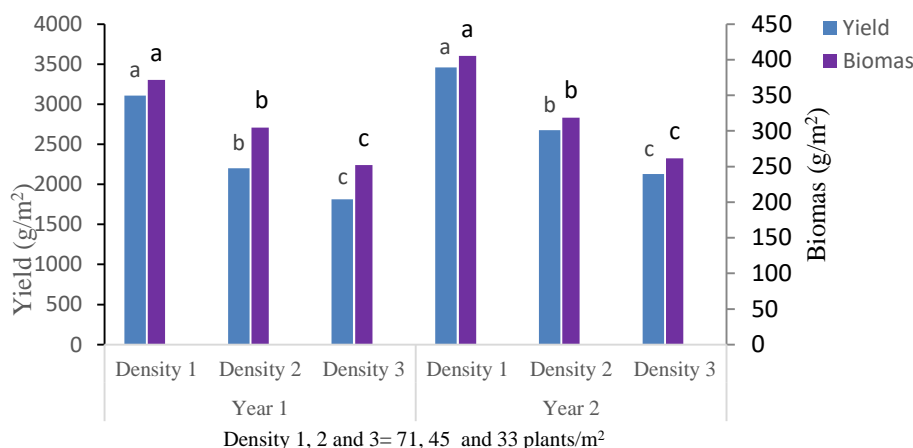
S.O.V	Df	Mean of square										
		yield (g/m <sup>2</sup> )	Biomass (g/m <sup>2</sup> )	LAI (m <sup>2</sup> /m <sup>2</sup> )	CGR (g/m <sup>2</sup> /day)	RGR (g/g/day)	NAR (g/m <sup>2</sup> /day)	K (%)	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/g)	Chlorophyll a (mg/g)	Chlorophyll b (mg/g)	Total Chlorophyll (mg/g)
Year	1	4573823.8**	11663.738**	20.7**	790.87**	0.02599485**	92.472**	5.8074**	15.182**	192.46**	19.41**	433.83**
Rep	2	32829.58	535.5511	0.04274	0.841	0.00006036	0.487	0.286	0.035	22.94	3.82	15.61
Density	2	18605866**	183434.4**	33**	204.18**	0.00040325**	12.3**	0.0002ns	1.476**	73.277**	7.315**	166.81**
Fertilizer	6	1544124**	23249.9**	1.965**	26.62**	0.00001266ns	0.068ns	2.36**	7.08**	513**	51.85**	1167.9**
Density× Fertilizer	12	5753ns	51.3ns	0.0171ns	0.216ns	0.00002534ns	0.1637ns	0.0005 ns	0.131**	0.878ns	0.087ns	1.92 ns
Year× Density	2	73702.93**	1748.27**	0.573**	10.50**	0.00035585**	0.47**	0.0020 ns	0.491**	18.45**	1.85**	40.93**
Year× Fertilizer	6	11888ns	118.98ns	0.021ns	1.37ns	0.000036ns	0.27ns	0.0057ns	0.053**	0.128ns	0.013 ns	0.34 ns
Year× Density × Fertilizer	12	21977ns	286.1ns	0.019ns	0.499ns	0.0000359ns	0.193ns	0.001ns	0.018ns	0.7339ns	0.071ns	1.67 ns
Error	80	26000	351.18	0.0351	0.771	0.000025	0.181	0.037	0.021	0.858	0.129	1.573
Cv		6.3	5.87	5.96	7.92	6.78	6.40	5.699	5.23	2.76	3.375	2.48

ns, \* و \*\*: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد، بر اساس آزمون دانکن.  
ns, \* and \*\*: Not significant and significant at the 5% and 1% of probability levels, respectively, based on Duncan test.



شکل ۱- اثر کوددهی بر عملکرد و زیست‌توده اسفناج.

Figure 1. Effect of fertilization on yield and biomass of spinach.



شکل ۲- اثر تراکم بر عملکرد و زیست‌توده اسفناج در دو سال آزمایش.

Figure 2. Effect of plant density on yield and biomass of spinach in two years of the experiment.

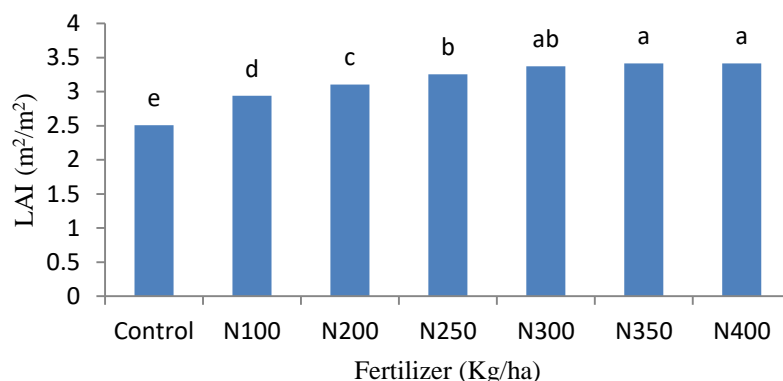
کودی ۱۰۰ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار نسبت به تیمار شاهد، به ترتیب در حدود ۱۷/۱۳ و ۳۴/۳۴ درصد افزایش در شاخص سطح برگ را نشان دادند. اطلاعات موجود نشان می‌دهد که کمبود نیتروژن می‌تواند بر نمو کانوپی، مساحت برگ و جذب نور تاثیر گذار دارد (Wolfe *et al.*, 1988) و در نهایت میزان فتوسنتز در گیاه را کاهش دهد (Sinclair & Muchow, 1995) که دلیل اصلی کاهش عملکرد به حساب می‌آید. مطالعات بر روی اسفناج نشان می‌دهد که در ابتدای فصل رشد، نیاز به ازت برای تضمین رشد مطلوب، بهبود سیستم ریشه و جذب بهتر مواد مغذی و توسعه سطح برگ لازم

### شاخص سطح برگ (LAI)

اثر ساده کوددهی و برهمکنش متقابل سال آن با تراکم بر شاخص سطح برگ (مجموع سطح برگ‌های موجود در یک متر مربع از مزرعه) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود اما سایر اثرات متقابل بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۳). کوددهی اثر مثبتی بر افزایش شاخص سطح برگ داشت و در تیمارهای کودی بالاتر از ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار، میزان این شاخص تقریباً ثابت باقی‌ماند (شکل ۳). کمترین شاخص سطح برگ در تیمار کودی شاهد (بدون کوددهی) مشاهده شد و تیمار

این آزمایش، تیمارهای کودی کمتر از ۳۰۰ کیلوگرم اوره در هکتار، قادر به تامین نیتروژن کافی برای توسعه سطح برگ نبود.

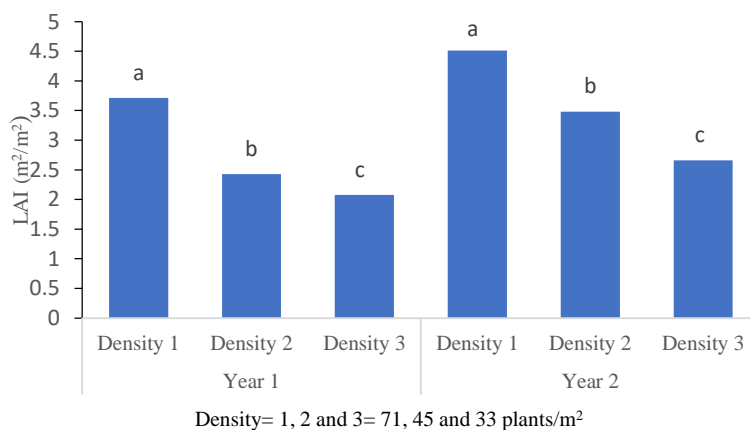
است (Hirel *et al.*, 2007). Dreccer (2006) بیان داشت که با افزایش ازت در دسترس گیاه اسفناج، سطح برگ نهایی از طریق تحریک بیشتر سرعت توسعه برگ افزایش می‌یابد. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در شرایط



شکل ۳- اثر کوددهی بر شاخص سطح برگ (LAI) اسفناج.  
Figure 3- Effect of fertilization on leaf area index (LAI) of spinach.

کشت بر ویژگی‌های ساختار کانوبی گیاهی تاثیر می‌گذارد و به‌طور قابل توجهی توانایی فتوسنتز کانوبی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Dong *et al.*, 2006).

شاخص سطح برگ اسفناج با افزایش تراکم بوته در واحد سطح افزایش یافت و بیشترین و کمترین شاخص سطح برگ در هر دو سال زراعی، به‌ترتیب در تراکم ۷۱ و ۳۳ بوته در مترمربع مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۴- اثر تراکم بر شاخص سطح برگ (LAI) اسفناج در دو سال آزمایش.  
Figure 4. Effect of plant density on leaf area index (LAI) of spinach in two years of the experiment.

با تولید سطح برگ کافی در جهت استفاده مناسب از تابش فعال فتوسنتزی در تولید زیست‌توده، موفق عمل کند. شاخص سطح برگ در تمامی تراکم‌ها در سال دوم بیشتر از سال اول بود؛ به عنوان مثال، در سال اول و دوم در تراکم ۷۱ بوته در متر مربع، شاخص سطح برگ به‌ترتیب ۳/۷۱ و ۴/۵۱ متر مربع در متر مربع بود که

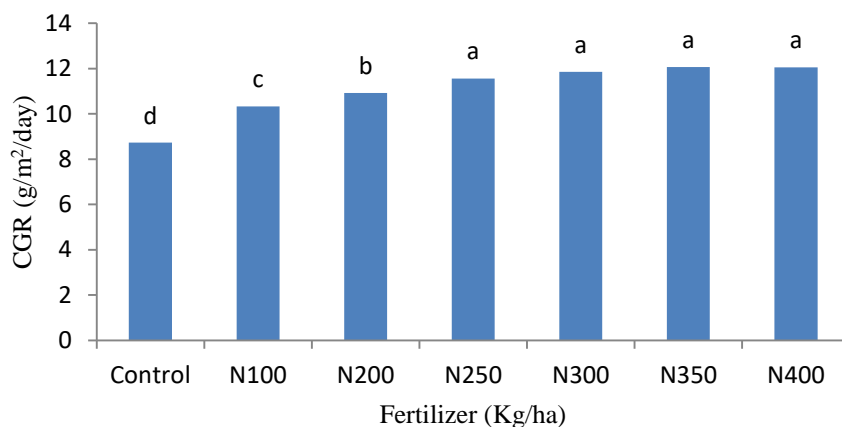
بنا بر نتایج حاصل از این آزمایش، تراکم ۷۱ بوته در متر مربع، علاوه بر بالاترین شاخص سطح برگ، بیشترین عملکرد و زیست‌توده در واحد سطح زمین در مقایسه با دو تراکم دیگر را دارا بود. این موضوع، تاکید دوباره‌ای بر این نکته است که از لحاظ تعداد بوته در واحد سطح، تراکم ۷۱ بوته در متر مربع توانسته است

درصد معنی‌دار شد و از بین اثرات متقابل، فقط اثر متقابل سال و تراکم معنی‌دار شد (جدول ۳). این شاخص با افزایش سطح کوددهی، روند صعودی نشان داد و کمترین سرعت رشد محصول در تیمار کودی شاهد، در حدود ۸/۷۳ گرم در متر مربع در روز بود. در تیمارهای کودی بالاتر از ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار، روند صعودی سرعت رشد محصول، کم شد و تفاوت آماری محسوسی در تیمارهای کودی بالاتر دیده نشد (شکل ۵).

نماینگر رشد شاخص سطح برگ به میزان ۲۲ درصد در سال دوم می‌باشد که نشان‌دهنده بهتر بودن شرایط محیطی برای توسعه سطح برگ در سال دوم زراعی است.

#### سرعت رشد محصول (CGR)

تجزیه مرکب داده‌های آزمایش نشان داد که اثر ساده کود نیتروژن بر سرعت رشد محصول در سطح احتمال یک



شکل ۵- اثر کوددهی بر سرعت رشد محصول (CGR) اسفناج.

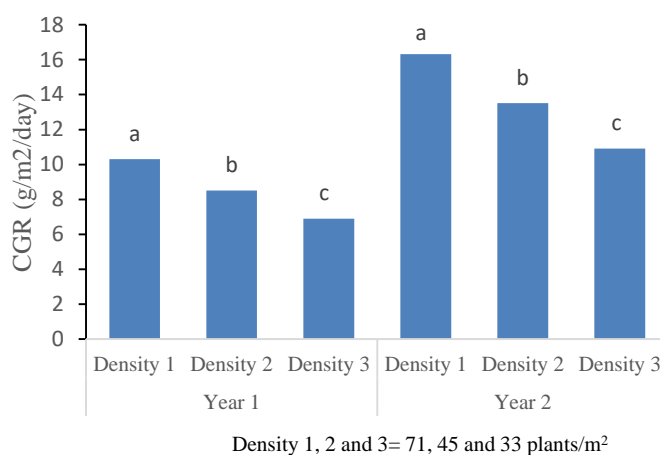
Figure 5. Effect of fertilization on crop growth rate (CGR) of spinach.

تعداد در واحد سطح زمین کشت می‌شوند (همانند گیاهان علوفه‌ای یا سبزی‌های کوچک پیکر برگی)، علاوه بر عوامل محیطی و زراعی (همانند شدت تابش، تغذیه، دسترسی به آب، رقم و ...)، تراکم (تعداد بوته در واحد سطح)، عامل تعیین کننده‌ای قلمداد می‌شود. بالا بودن مقدار این شاخص در تراکم ۷۱ بوته در متر مربع، نشان‌دهنده وضعیت مناسب مزرعه در جذب و استفاده از عوامل محیطی در مقایسه با سایر تراکم‌ها می‌باشد. در تیمارهای تغذیه‌ای نیز چنین تفسیری مصداق دارد. شرایط رشد و تولید در تیمارهای کودی حدود ۳۰۰ کیلوگرم کود اوره در هکتار در مقایسه با سایر سطوح کودی، بهتر بوده است و تفاوت شاخص مذکور در دو سال زراعی نیز حاکی از وجود شرایط مناسب‌تر تولید (دما و تابش) در سال دوم می‌باشد.

با توجه به نتایج مقایسه میانگین، شاخص، از تراکم زیاد به کم کاهش یافت و در هر دو سال زراعی، تراکم ۷۱ بوته در متر مربع، بالاترین میزان سرعت رشد محصول را داشت (شکل ۶). تفاوت قابل توجهی از نظر شاخص سرعت رشد محصول در سال دوم نسبت به سال اول مشاهده شد، به طوری که در تراکم ۷۱ بوته در متر مربع، این افزایش در سال دوم نسبت به سال اول حدود ۴۵/۸۵ درصد بود. Ball *et al.* (2000) نیز در گیاه سویا مشاهده نمودند که با افزایش تراکم کشت، میزان سرعت رشد محصول افزایش یافت که با یافته‌های تحقیق حاضر مطابقت دارد.

سرعت رشد محصول، نشان‌دهنده مقدار تولید ماده خشک در واحد سطح زمین در یک بازه زمانی (روز) می‌باشد. در مورد گیاهانی که به صورت یک جمعیت پر





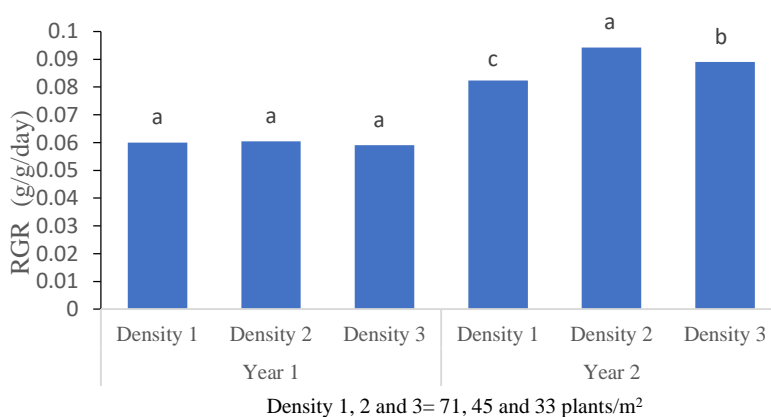
شکل ۶- اثر تراکم بر سرعت رشد محصول (CGR) اسفناج در دو سال آزمایش.

Figure 6. Effect of plant density on crop growth rate (CGR) of spinach in two years of the experiment.

شاخص سطح برگ، عملکرد و زیست توده ( نشان می دهد که در تراکم های بالا، اگرچه مقدار کل تولید (زیست توده و عملکرد) افزایش یافته است، اما این موضوع با کاهش سرعت رشد نسبی گیاهان (تولید ماده خشک در تک گیاه) همراه بوده است. به عبارت دیگر، در تراکم ۷۱ بوته در متر مربع، میزان تولید در تک بوته ها، اندکی کاهش داشت اما افزایش تعداد گیاه و بهبود شاخص سطح برگ کل، سبب جبران کاهش رشد تک بوته ها و حتی بهبود تولید در واحد سطح زمین شده است؛ نتیجه ای که به خوبی توسط شاخص سرعت رشد محصول به نمایش درآمده است.

### سرعت رشد نسبی (RGR)

اثر متقابل سال و تراکم بر سرعت رشد نسبی در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد، اما سطوح کودی بر این شاخص تاثیر معنی داری نداشتند (جدول ۳). در سال اول آزمایش، تفاوت آماری معنی داری بین تراکم های مختلف از نظر سرعت رشد نسبی وجود نداشت، اما در سال دوم، تراکم ۷۱ بوته در متر مربع با ۰/۰۸۲ گرم بر گرم در روز، کمترین و تراکم ۴۵ بوته در متر مربع با ۰/۰۹۴ گرم بر گرم در روز بیشترین مقدار سرعت رشد نسبی را دارا بودند (شکل ۷). کاهش این شاخص در تراکم های بالا (با وجود دارا بودن بالاترین



شکل ۷- اثر تراکم بر سرعت نسبی رشد گیاه (RGR) اسفناج در دو سال آزمایش.

Figure 7. Effect of plant density on relative growth rate (RGR) of spinach in two years of experiment.

(Poorter, 1989). تحقیقات نشان می دهد که سرعت رشد نسبی به شدت به دمای محیط وابسته است و حتی در شرایط مطلوب رشد از لحاظ مواد غذایی و نور، دما

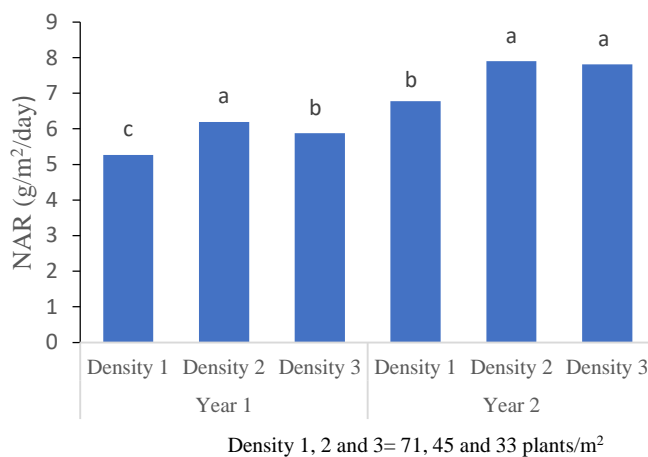
سرعت رشد نسبی و فتوسنتز، تحت تاثیر عواملی همانند نور (شدت، تابش)، عرضه مواد مغذی، سطح دی اکسید کربن و رطوبت خاک تغییر می کنند

معنی‌داری بر سرعت فتوسنتز خالص نشان ندادند. همان‌طور که در شکل ۸ نشان می‌دهد، در سال اول آزمایش، تراکم ۴۵ و ۷۱ بوته در متر مربع، به ترتیب بیشترین (۶/۲ گرم بر متر مربع در روز) و کمترین (۵/۳ گرم بر متر مربع در روز) مقادیر سرعت فتوسنتز خالص را داشتند. در سال دوم نیز بیشترین مقدار سرعت فتوسنتز خالص، در تراکم ۴۵ و ۳۳ بوته در متر مربع (میانگین ۷/۹ گرم بر متر مربع در روز) و کمترین آن در تراکم ۷۱ بوته در متر مربع (۶/۷ گرم بر متر مربع در روز) مشاهده شد.

می‌تواند یک عامل محدود کننده قوی برای این صفت باشد (Dobben *et al.*, 1981; Hunt & Halligan, 1981). کاهش مقدار عددی سرعت رشد نسبی در سال اول نسبت به دوم را می‌توان به تفاوت فاحش در دمای خاک و هوا نسبت داد (جدول ۲).

### سرعت فتوسنتز خالص (NAR)

اثر متقابل سال و سطوح مختلف تراکم بر شاخص سرعت فتوسنتز خالص در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳) اما تیمارهای کوددهی، اثر



شکل ۸- اثر تراکم بر سرعت فتوسنتز خالص (NAR) اسفناج در دو سال آزمایش.

Figure 8. Effect of plant density on net assimilation rate (NAR) of spinach in two years of experiment.

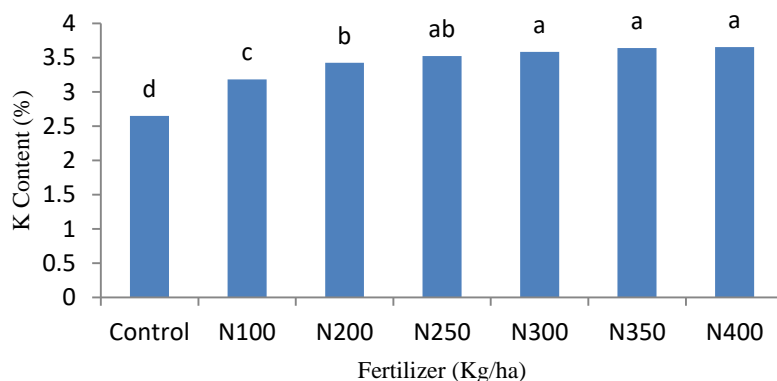
### محتوای پتاسیم برگ

اثرات اصلی سال و کود بر محتوای پتاسیم برگ اسفناج در سطح یک درصد معنی‌دار بود اما اثر تراکم و هیچ یک از اثرات متقابل بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۳). غلظت پتاسیم در برگ اسفناج در سال اول نسبت به سال دوم، حدود ۱۳/۵۶ درصد کمتر بود (دادها) نمایش داده نشد. میانگین دمای خاک در سال دوم نسبت به سال اول، در حدود نه درجه سانتیگراد بالاتر بود که می‌تواند عامل تحریک ریشه‌ها در جذب عناصر از خاک باشد. دمای خاک، یکی از مهم‌ترین فاکتورهای موثر بر رشد گیاه و جذب آب و مواد غذایی توسط گیاه می‌باشد. در واقع، دمای خاک بر فرآیندهای فیزیکی-شیمیایی و بیولوژیکی که بر دسترسی و جذب مواد مغذی موجود در خاک توسط گیاه تأثیر می‌گذارد،

کاهش سرعت فتوسنتز خالص (مقدار ماده خشک تولید شده در واحد سطح برگ گیاه در یک بازه زمانی (روز)) در تراکم بالا در هر دو سال زراعی، به علت بالا بودن شاخص سطح برگ در بالاترین سطح تراکم (۷۱ بوته در مترمربع) نسبت به دو تراکم دیگر، سایه اندازی متقابل در این تراکم بیشتر بود و با نرسیدن نور کافی به سطح برگ، از توان تولیدی واحد سطح برگ کاسته شد. کاهش تولید واحد سطح برگ (تک گیاه)، به وسیله افزایش تعداد گیاه در واحد زمین؛ جبران و حتی بهبود یافته است. با توجه به داده‌های هواشناسی (جدول ۲)، پایین بودن سرعت فتوسنتز خالص در سال اول را می‌توان به شرایط محیطی از جمله کمتر بودن میانگین دما نسبت داد؛ موضوعی که در گیاه تریچه (Sirtautas *et al.*, 2011) نیز گزارش شده است.

برای جذب آب و تمامی عناصر خاک، بسیار بیشتر است که دلیلی بر جذب بیشتر پتاسیم در سال دوم در مقایسه با سال اول نیز می‌باشد. افزایش کوددهی تا ۲۵۰ کیلوگرم بر هکتار، اثر مثبتی بر محتوای پتاسیم برگ داشت ولی تیمارهای کودی بالاتر، تاثیر معنی‌داری بر محتوای پتاسیم نگذاشت (شکل ۹). کود نیتروژن بر جذب عنصر پتاسیم اثر می‌گذارد و غلظت این عنصر را در بافت برگ گیاه افزایش می‌دهد (Tian *et al.*, 2016). Abdelraouf (2016) نیز تاثیر افزایش تغذیه نیتروژنی اسفناج بر افزایش محتوای پتاسیم برگ را گزارش نموده است.

اثرگذار است و حتی یک افزایش کوچک در دمای خاک می‌تواند به تغییرات زیادی بر رشد گیاه و جذب مغذی منجر شود (Mozafar *et al.*, 1993). در بسیاری از گونه‌های گیاهی، بر تاثیر مثبت دمای خاک بر جذب عناصر غذایی از جمله پتاسیم اشاره شده است (Engels, 1993; Yan *et al.*, 2012) که می‌تواند خود توجیهی بر کاهش میزان جذب پتاسیم در سال اول نسبت به سال دوم باشد. همچنین میزان عملکرد و شاخص سطح برگ در سال دوم، بسیار بیشتر از سال اول می‌باشد (با توجه به داده‌های هواشناسی در جدول ۲)؛ از این رو، توان گیاه در سال دوم نسبت به سال اول



شکل ۹- اثر کوددهی بر غلظت پتاسیم در گیاه اسفناج.  
Figure 9. Effect of fertilization on K content in spinach.

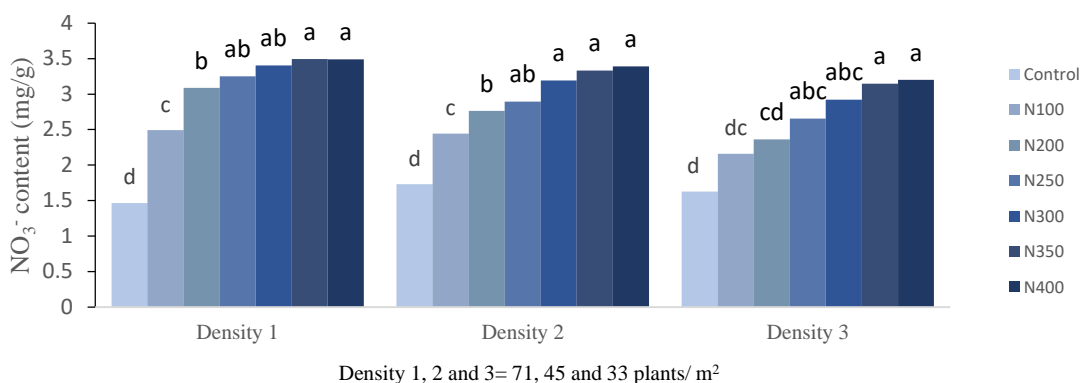
۷۱ بوته در متر مربع رخ داد. با افزایش کوددهی در هر دو سال زراعی، تجمع نیترات در برگ‌های اسفناج افزایش یافت و در تیمارهای کودی بالاتر از ۳۵۰ کیلوگرم در هکتار، روند تقریباً ثابت باقی‌ماند. از لحاظ مقدار، میزان نیترات در تراکم ۳۵۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار در سال اول نسبت به سال دوم، به ترتیب در حدود ۳/۶۴ و سه میلی گرم نیتروژن در گرم ماده خشک بود (شکل ۱۲).

نیتروژن در گیاهان به اسیدهای آمینه احیا و آسیمیله می‌شود و مازاد آن، به شکل نیترات در بافت برگ و دمبرگ تجمع می‌یابد. عوامل تغذیه‌ای مانند سطح و فرم نیتروژن، عوامل آب و هوایی همانند شدت نور کم و کاهش فتوسنتز، دما و نوع رقم، میزان تجمع نیترات در اسفناج و اکثر گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Stagnari *et al.*, 2007).

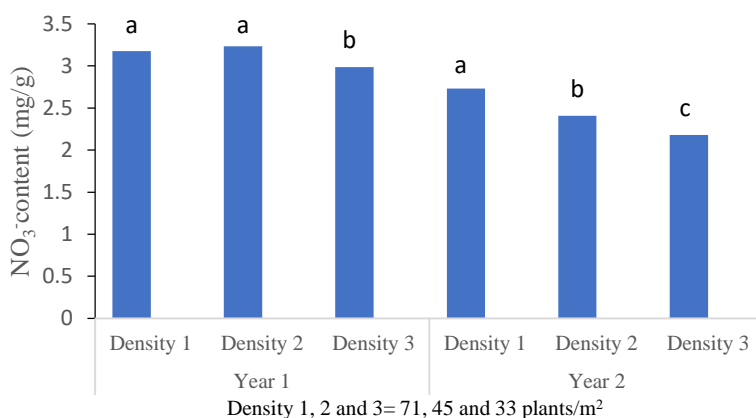
### محتوای نیترات برگ‌ها

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر متقابل تراکم و کود و سال و نیز همچنین اثر متقابل کود و سال در سطح یک درصد بر این محتوای نیترات برگ‌ها معنی‌دار شد. با توجه به اثر متقابل تراکم و کود (شکل ۱۰)، بالاترین تجمع نیترات در برگ‌های اسفناج، در هر سه سطح تراکم در تیمارهای کودی ۲۵۰ تا ۴۰۰ کیلوگرم در هکتار رخ داد و کمترین غلظت نیترات، در همه سطوح تراکم در تیمار کودی شاهد مشاهده شد.

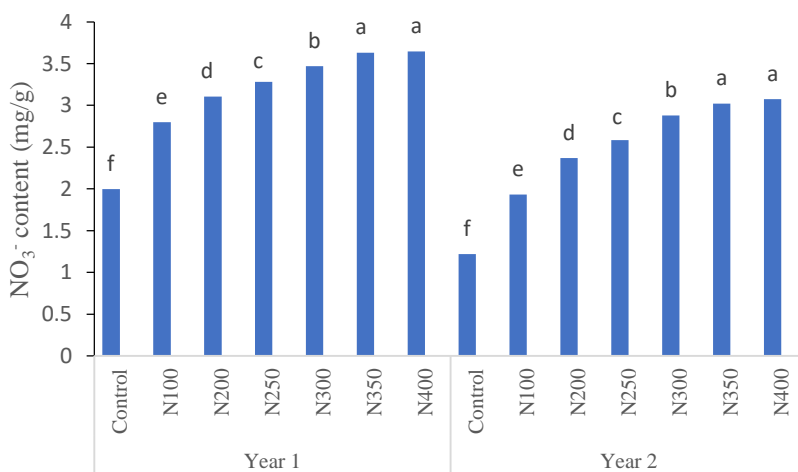
همان‌گونه که در شکل ۱۱ مشاهده می‌شود، افزایش تراکم در هر دو سال زراعی، بر تجمع نیترات در گیاه تاثیر مثبت گذاشت اما در سال اول، بین تراکم ۷۱ و ۴۵ بوته در متر مربع تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که در سال دوم، بالاترین تجمع در تراکم



شکل ۱۰- اثر متقابل تراکم و کوددهی بر غلظت NO<sub>3</sub><sup>-</sup> در اسفناج.  
 Figure 10- Interaction effects of plant density and fertilizer on spinach NO<sub>3</sub><sup>-</sup> content.



شکل ۱۱- اثر تراکم بر غلظت NO<sub>3</sub><sup>-</sup> در اسفناج در دو سال آزمایش.  
 Figure 11. Effect of plant density on spinach NO<sub>3</sub><sup>-</sup> content in two years of experiment.



شکل ۱۲- اثر کودنیتروزنی بر غلظت NO<sub>3</sub><sup>-</sup> در اسفناج در دو سال آزمایش.  
 Figure 12. Effect of nitrogen fertilizer on spinach NO<sub>3</sub><sup>-</sup> content in two years of experiment.

خارجی در طی آزمایش‌های خود گزارش نموده‌اند (Lefsrud *et al.*, 2007; Yamori *et al.*, 2011; Gutriérrez-Rodríguez *et al.*, 2013). پژوهش‌ها نشان

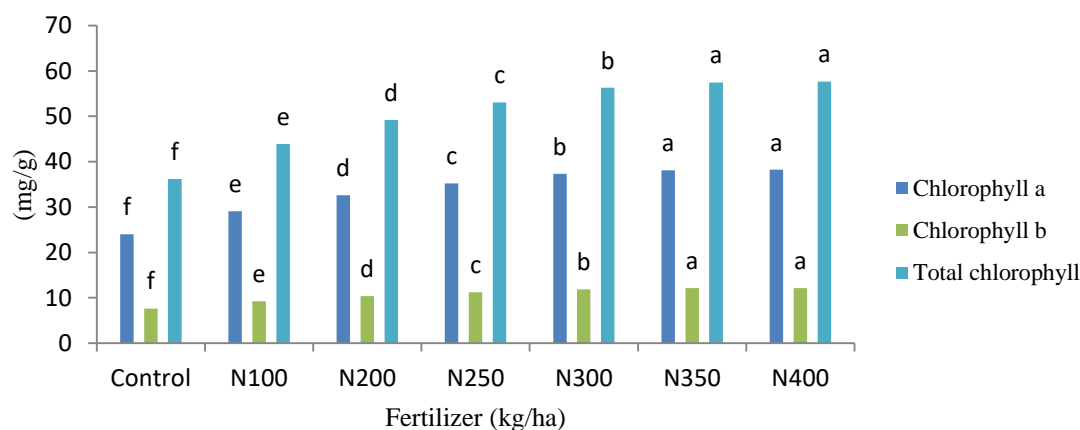
همانند نتایج این آزمایش، محققین زیادی افزایش تجمع نیترات در اسفناج با افزایش غلظت نیترژن

آن‌ها، در تیمار کودی ۳۵۰ و ۴۰۰ کیلوگرم در هکتار و کمترین آن در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۱۳). Evans & Terashima (1987) دریافتند که غلظت کلروفیل در اسفناج، به میزان کود نیتروژن بستگی دارد و تحت شرایط ازت کم، کاهش قابل توجهی در محتوای کلروفیل کل مشاهده می‌شود. در گیاهان دیگر همانند غلات و چغندر (Sinclair & Vadez, 2002; Sumeet *et al.*, 2009) نیز نتایج مشابه‌ای ذکر مشاهده شده است. رنگدانه‌های کلروفیل، تابش فعال فتوسنتزی (PAR) را جذب می‌کنند؛ از این رو، نیتروژن یک عنصر حیاتی در میزان فتوسنتز می‌باشد. با بررسی دیگر شاخص‌های این آزمایش دیده می‌شود که با افزایش غلظت نیتروژن سطح برگ، عملکرد و زیست‌توده نیز افزایش یافته‌اند که بخشی از آن می‌تواند ناشی از بهبود سطح کلروفیل در برگ‌ها باشد.

می‌دهد که در تراکم بالای بوته در واحد سطح، با افزایش سایه‌اندازی برگ‌ها روی هم و کاهش نور دریافتی در واحد سطح برگ، افزایش غلظت نیترات به علت کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در گیاه رخ می‌دهد (Machado *et al.*, 2018)؛ این نتیجه در آزمایش حاضر نیز مشاهده شد. در گیاه اسفناج نیز شدت نور، تجمع نیترات در گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به‌صورتی که در شدت نور کم ( $1/0.8 \times 10^4$  لوکس) نسبت به شدت نور بالا، مقدار تجمع بیشتر است (Cantliffe, 1973).

### کلروفیل

تنها اثر متقابل سال و تراکم بر میزان کلروفیل a و b و کل معنی‌دار بود و سایر اثرات متقابل بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۳). با افزایش کوددهی، میزان کلروفیل a و b و کل افزایش یافت و بیشترین میزان



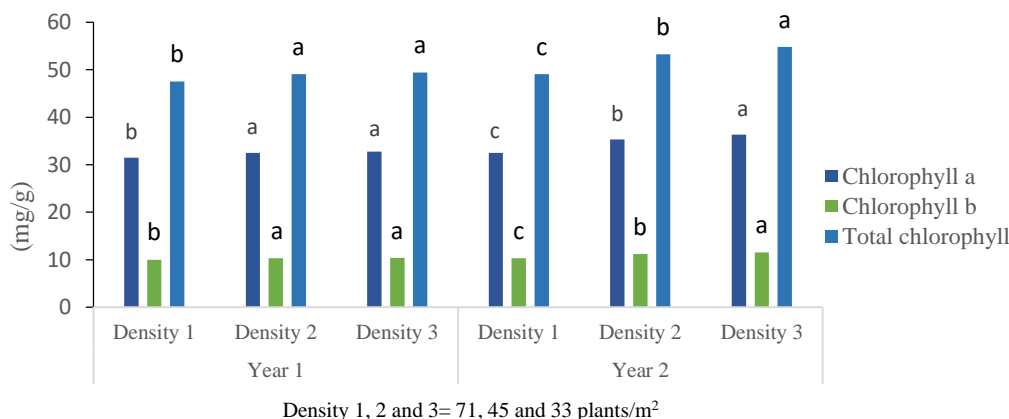
شکل ۱۳- اثر کوددهی بر غلظت کلروفیل a، b و کل در اسفناج

Figure 13. Effect of fertilization on chlorophyll a, b and total chlorophyll in spinach.

### نتیجه‌گیری کلی

در مطالعه حاضر مشاهده شد که میزان زیست‌توده و کیفیت اسفناج، علاوه بر تاثیرپذیری از تراکم و تیمار کودی نیتروژن، تحت تاثیر شرایط محیطی فصل کشت نیز قرار می‌گیرد. در هر دو سال زراعی، تراکم ۷۱ بوته در متر مربع، بالاترین شاخص سطح برگ، زیست‌توده و عملکرد در متر مربع را داشت که نشانگر بهترین تراکم از نظر استفاده بهینه از شرایط محیطی می‌باشد. از نقطه نظر تولید زیست‌توده و عملکرد، سطح بهینه نیتروژن،

در هر دو سال آزمایش، با افزایش تراکم کاشت، محتوای کلروفیل a، b و کل کاهش یافت (شکل ۱۴). محتوای کلروفیل برگ، به‌طور قابل توجهی به شرایط محیطی بستگی دارد (Evans & Terashima, 1987). دمایی پایین (Kroil *et al.*, 1999) و سطوح پایین شدت نور (Law- Ogbomo & Egharevba, 2009) در اثر عواملی مثل تراکم بالا (Dimri & Gulshal, 1997)، از جمله عوامل کاهشنده غلظت کلروفیل برگ‌ها می‌باشد.



شکل ۱۴- اثر تراکم بر غلظت کلروفیل a, b و کل در اسفناج در دو سال آزمایش.

Figure 14. Effect of plant density on chlorophyll a, b and total chlorophyll in spinach in two years of experiment.

دو درصد و بسیار کم می‌باشد و از دگر سوی در تیمار کودی ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار، ۲/۶۳ میلی گرم بر گرم تجمع نیترات در بافت برگ اسفناج مشاهده شد که پایین‌تر از میزان گزارش شده در اتحادیه اروپا می‌باشد، می‌توان مناسب‌ترین میزان کود نیتروژنی مزرعه اسفناج در منطقه کرج در کشت پاییزه، با شرایط دمایی هوا و خاک و میزان نور بالای کانوپی (به ترتیب ۱۹/۷، ۲۳/۲ درجه سانتی گراد و ۱۳/۶ مگاژول بر متر مربع در روز)، در حدود ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار پیشنهاد می‌شود تا بهترین عملکرد کیفی و کمی به دست آید. در شرایط آب و هوایی ملایم‌تر (همانند شرایط سال اول این آزمایش)، بهتر است از کود نیتروژنی کمتری استفاده شود.

مقدار نیتروژنی است که منجر به بالاترین سرعت رشد و عملکرد می‌شود، اما معمولاً شاخص‌های کیفی و سلامت محصول همانند میزان نیترات موجود در محصول، سطح نیتروژن مطلوب را تعیین می‌کند. بر اساس گزارش اتحادیه اروپا، حداکثر محدوده نیترات مجاز برای اسفناج تازه، ۳۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ماده خشک عنوان شده است (Santamaria, 2006). از این رو، استفاده منطقی از کود نیتروژن در سیستم‌های تولید سبزی‌های برگی برای حفظ عملکرد پایدار و به حداقل رساندن خطرات بهداشتی ناشی از انباشت بیش از حد نیترات، اهمیت حیاتی دارد. بر اساس نتایج این آزمایش و با توجه به افزایش عملکرد در تیمار ۳۰۰ نسبت به ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار که تقریباً در حدود

## REFERENCES

1. Abdelraouf, E. A. A. (2016). The Effects of nitrogen fertilization on yield and quality of spinach grown in high tunnels. *Alexander Science Exchange Journal*, 37(3), 489- 496.
2. Ahmadi, H., Akbarpour, V., Dashti, F. & Shojaeian, A. (2010). Effect of different levels of nitrogen fertilizer on yield, nitrate accumulation and several quantitative attributes of five Iranian spinach accessions. *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*, 8(4), 468-473.
3. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24, 1-15.
4. Ball, R. A., Purcell, L.C. & Vories, E. D. (2000). Optimizing soybean plant population for a short-season production system in the Southern USA. *Crop Science*, 40, 757-764.
5. Bansal, G. L., Rana, M. C. & Upadhyay, R. G. (1995). Response of grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) to plant density. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 65(11), 818-820.
6. Cantliffe, D. J. (1973). Nitrate accumulation in table beets and spinach as affected by nitrogen, phosphorus, and potassium nutrition and light intensity. *Agronomy Journal*, 65, 563-565.

7. Correia, M., Barroso, A., Barroso, M. F., Soares, D., Oliveira, M. B. P. P. & Delerue-Matos, C. (2010). Contribution of different vegetable types to exogenous nitrate and nitrite exposure. *Food Chemistry*, 120, 960–966.
8. Deleuran, L. C., Gislum, R. & Boelt, B. (2005). Placement of nitrogen in spinach (*Spinacia oleracea* L.): A method to increase seed yield? *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science*, 55(1), 68-75.
9. Dimri, D. C. & Gulshan, L. A. L. (1997). Effect of nitrogen fertilization spacing and method of planting on yield parameters and quality of tomato cultivar 'Pant Banar'. *Vegetable Science*, 15(2), 105-112.
10. Dobben, W. H., Ast, A. & Corré, W. J. (1981). The influence of light intensity on morphology and growth rate of bean seedlings. *Acta Botanica Neerlandica*, 30, 33-45.
11. Dong, H., Li, W., Tang, W., Li, Z., Zhang, D. & Niu, Y. (2006). Yield, quality and leaf senescence of cotton grown at varying planting dates and plant densities in the Yellow River Valley of China. *Field Crops Research*, 98, 106–115.
12. Dreccer, M. F. (2006). Nitrogen use at the leaf and canopy level: A framework to improve crop N use efficiency. *Journal of Crop Improvement*, 15(2), 97-125.
13. Engels, C. (1993). Differences between maize and wheat in growth-related nutrient demand and uptake of potassium and phosphorus at suboptimal root zone temperature. *Plant Soil*, 150, 129–138.
14. Evans, J. R. & Terashima, I. (1987). Effects of nitrogen nutrition on electron transport components and photosynthesis in spinach. *Functional Plant Biology*, 14, 59-68.
15. Gutierrez-Rodriguez, E., Lieth, H. J., Jernstedt, J. A., Labavitch, J. M., Suslow, T. V. & Cantwell, M. I. (2013). Texture, composition and anatomy of spinach leaves in relation to nitrogen fertilization. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 227-237.
16. Heuvelink, E. (2005). *Tomatoes*. (pp. 339). CABI Publishing.
17. Hirel, B., Le Gouis, J., Ney, B. & Gallais, A. (2007). The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of Experimental Botany*, 58(9), 2369-2387.
18. Hunt, W. F. & Hallioan, G. (1981). Growth and development responses of perennial ryegrass grown at constant temperatures. I. Influence of light and temperature on growth and net assimilation. *Australian Journal of Plant Physiology*, 8, 181-190.
19. Krol, M., Ivanov, A. G. & Jansson, S. (1999). Greening under high light or cold temperature affects the level of xanthophyll-cycle pigments, early light-inducible proteins, and light-harvesting polypeptides in wildtype barley and the chlorina f2 mutant. *Plant Physiology*, 120, 193–203
20. Law-Ogbomo, K. E. & Egharevba, R. K. A. (2009). Effects of planting density and NPK fertilizer application on yield and yield components of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) in forest location. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(2), 152-158.
21. Lefsrud, M. G., Kopsell, D. A. & Kopsell, D. E. (2007). Nitrogen levels influence biomass, elemental accumulations, and pigment concentrations in spinach. *Journal of plant nutrition*, 30(2), 171-185.
22. Machado, R. M. A., Alves-Pereira, I. & Ferreira, R. M. A. (2018). Plant growth, phytochemical accumulation and antioxidant activity of substrate-grown spinach. *Heliyon*, 4, e00751.
23. Mondal, S. & Nad, B. K. (2012). Nitrate accumulation in spinach as influenced by sulphur and phosphorus application under increasing nitrogen levels. *Journal of Plant Nutrition*, 35(14), 2081-2088.
24. Mozafar, A., Schreiber, P. & Oertli, J. J. (1993). Photoperiod and rootzone temperature: Interacting effects on growth and mineral nutrients of maize. *Plant Soil*, 153, 71–78.
25. Poorter, H. (1989). Is inherent variation in RGR determined by LAR at low irradiance and by NAR at high irradiance? A review of herbaceous species. In: *Inherent Variation in Plant Growth*, Backhuys Publishers, 309–336.
26. Poorter, H. & De Jong, R. (1999). Comparison of specific leaf area, chemical composition and leaf construction costs of field plants from 15 habitats differing in productivity. *New Phytologist*, 143, 163–176.
27. Santamaria, P. (2006). Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 10-17.
28. Sinclair, T. R. & Muchow, R. C. (1995). Effect of nitrogen supply on maize yield: I. Modeling physiological responses. *Agronomy Journal*, 87(4), 632-641.
29. Sinclair, T. R. & Vadez, V. (2002). Physiological traits for crop yield improvement in low N and P environments. *Plant Soil*, 245, 1–15.
30. Sirtautas, R., Samuoliene, G., Brazaitytė, A. & Duchovskis, P. (2011). Temperature and photoperiod effects on photosynthetic indices of radish (*Raphanus Sativus* L.). *Agriculture*, 98(1), 57–62.

31. Stagnari, F., Bitetto, V. D. & Pisante, M. (2007). Effects of N fertilizers and rates on yield, safety and nutrients in processing spinach genotypes. *Scientia Horticulturae*, 114, 225-233.
32. Sumeet, G., Umar, S. & Suryapani, S. (2009). Nitrate accumulation, growth and leaf quality of spinach beet (*Beta vulgaris* Linn.) as affected by NPK fertilization with special reference to potassium. *Indian Journal of Science and Technology*, 2(2), 35-40.
33. Tian, Q., Liu, N., Bai, W., Li, L., Chen, J. & Reich, P. B. (2016). A novel soil manganese mechanism drives plant species loss with increased nitrogen deposition in a temperate steppe. *Ecology*, 97, 65-74.
34. Timlin, D. J., Fleisher, D. H., Kemanian, A. R. & Reddy, V. R. (2014). Plant density and leaf area index effects on the distribution of light transmittance to the soil surface in maize. *Agronomy Journal*, 106(5), 1828-1837.
35. Tshivhandekano, I., Mudau, F. N., Soundy, P. & Ngezimana, W. (2013). Effect of cultural practices and environmental conditions on yield and quality of herbal plants: Prospects leading to research on influence of nitrogen fertilization, planting density and eco-physiological parameters on yield and quality of field-grown bush tea (*Athrixia phylicoides* DC.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(34), 2489-2493.
36. Wolfe, A. & Patz, J. A. (2002). Reactive nitrogen and human health: acute and long-term implications. *Journal of the Human Environment*, 31(2), 120-125.
37. Yamori, W., Nagai, T. & Makino, A. (2011). The rate-limiting step for CO<sub>2</sub> assimilation at different temperatures is influenced by the leaf nitrogen content in several C<sub>3</sub> crop species. *Plant, Cell and Environment*, 34, 764-777.
38. Yan, Q., Duan, Z., Mao J., Li, X. & Dong, F. (2012). Effects of root-zone temperature and N, P, and K supplies on nutrient uptake of cucumber (*Cucumis sativus* L.) seedlings in hydroponics. *Soil Science and Plant Nutrition*, 58, 707-717.