

การพัฒนาดัชนีชี้วัดระดับไนโตรเจนในใบข้าวโพดด้วยกล้องดิจิทัลและเครื่องวัดคลอโรฟิลล์

Development of leaves nitrogen levels index of maize using digital camera and chlorophyll meter

กิ่งเพชร แก้วประเสริฐ¹ และ สักดา จงแก้ววัฒนา^{1*}

Gingpetch Keawprasert¹ and Sakda Jongkaewattana^{1*}

บทคัดย่อ: การประเมินความต้องการธาตุไนโตรเจนที่เหมาะสมกับต้องการของพืชย่อมส่งผลต่อการจัดการปุ๋ยโดยเฉพาะไนโตรเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพและเป็นการกำหนดอัตราปุ๋ยตามความต้องการของพืช การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาดัชนีชี้วัดระดับไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่สามารถใช้งานง่ายและมีราคาถูกด้วยกล้องดิจิทัลและเครื่องวัดคลอโรฟิลล์ (Minolta SPAD-502) โดยทำการปลูกข้าวโพดที่ใส่ปุ๋ยแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0, 18.4, 36.8, 55.2 และ 73.6 กิโลกรัมของไนโตรเจนต่อไร่ แล้วทำการวัดความเข้มของสีใบเพื่อเปรียบเทียบระดับคลอโรฟิลล์โดยการวิเคราะห์ภาพถ่ายดิจิทัลและค่าที่อ่านได้จากเครื่อง SPAD (SCMR) รวมถึงการวิเคราะห์ระดับคลอโรฟิลล์จากการสกัดและวัดค่าการดูดกลืนช่วงแสงจากเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ผลการศึกษาพบว่า SCMR และดัชนีความเข้มสีจากการประเมินด้วยภาพถ่ายจากกล้องดิจิทัลมีความสัมพันธ์และสอดคล้องกับความเข้มของสีที่สกัดจากใบและวัดด้วย UV-VIS spectrophotometer ซึ่งผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า SCMR หรือค่าดัชนีสีของใบที่ได้จากภาพถ่ายกล้องดิจิทัล สามารถใช้ในการประเมินค่าความเข้มของคลอโรฟิลล์ในใบได้นอกจากนั้นการศึกษาค้นคว้านี้ยังแสดงให้เห็นว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ (mg g⁻¹ dry weight) สามารถประเมินได้จาก SCMR ดัชนีสีที่วัดได้จากภาพถ่ายดิจิทัล หรือค่าการดูดกลืนช่วงแสง UV-VIS spectrophotometer โดยอาศัยความสัมพันธ์ที่ถูกพัฒนาขึ้นแล้วระหว่าง SCMR กับปริมาณคลอโรฟิลล์

คำสำคัญ: ข้าวโพด เครื่องวัดคลอโรฟิลล์ กล้องดิจิทัล

Abstract: Evaluation of nitrogen fertilizer optimum rate requirement could enhance efficiency of nitrogen fertilizer used in plant. It can also be used to manage nitrogen application rate according to plant needed. The objective of this study was to develop leaf nitrogen indexes of maize using digital camera and chlorophyll meter (Minolta SPAD-502). Maize cv. Suwan 5 was grown under five different nitrogen application rates including, 0, 18.4, 36.8, 55.2 and 73.6 kgN/rai. Chlorophyll concentration was estimated and compared among treatments using image analysis and SPAD chlorophyll meter reading (SCMR) values as well as chlorophyll extraction from leaf and measured light absorbance using UV-VIS spectrophotometer. Results showed that SPAD values and color indexes developed from digital image were related to leaf color intensity estimated using UV-VIS spectrophotometer. This result indicates that obtaining SPAD values or leaf color index using digital camera can estimate concentration of leaf chlorophyll. In addition, this study showed that leaf chlorophyll content (mg g⁻¹ dry leaf weight)

¹ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

¹ Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

* Corresponding author: sakda.abc@gmail.com

can be estimated from SPAD values, leaf color index or light absorbance from extracted chlorophyll using existing relationship between SPAD values and leaf chlorophyll content.

Key words: *Zea mays* L., SCMR, digital camera

บทนำ

ข้าวโพดนับว่าเป็นพืชสำคัญอันดับ 3 ของโลกรองจากข้าวสาลีและข้าว สำหรับประเทศไทยนั้นมีพื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดประมาณ 9 ล้านไร่ ได้ผลผลิตประมาณ 3 ล้านตันต่อปี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2541) ซึ่งในการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนโดยทั่วไปเกษตรกรจะใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่แนะนำ ถึงแม้ว่าในดินจะมีการสะสมปริมาณไนโตรเจนในระดับสูงแล้วก็ตาม ซึ่งส่งผลต่อการเพิ่มต้นทุนการผลิตโดยไม่จำเป็น ความต้องการไนโตรเจนของพืชมีความสำคัญต่อการจัดการผลิตพืช เพราะไนโตรเจนเป็นปัจจัยหนึ่งของต้นทุนหลักในการเพาะปลูกพืช ดังนั้นหากมีการวางแผนจัดการการเพาะปลูกที่ดีและใช้ปุ๋ยในอัตราที่เหมาะสมกับความต้องการของพืชแล้วก็จะทำให้เกษตรกรสามารถลดต้นทุนจากการซื้อปัจจัยการผลิตได้ ธาตุไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญขององค์ประกอบหลายชนิดในพืช เช่น โปรตีน เอนไซม์ โกลบูลิน กรดนิวคลีอิก และโดยเฉพาะคลอโรฟิลล์ ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต การสะสมอาหารของเซลล์ ขบวนการแบ่งเซลล์ และขบวนการสังเคราะห์แสง (Thomson and Troch, 1975) กระบวนการเหล่านี้จะมีผลต่อการพัฒนาและการเจริญเติบโตทางลำต้น ใบ และส่งผลต่อผลผลิต ปัจจุบันนอกจากมีการประเมินสถานภาพของธาตุอาหารในดินโดยเฉพาะไนโตรเจนที่สามารถใช้เป็นค่ากำหนดอัตราการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่เหมาะสมแล้ว การประเมินธาตุอาหารในดินพืชก็เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่จะทราบถึงความต้องการธาตุอาหารของพืชโดยตรงได้เช่นกัน การใช้เครื่องวัดคลอโรฟิลล์ (Minolta SPAD-

502) ก็เป็นวิธีการหนึ่งที่มีความสะดวกและง่ายต่อการใช้งานในการประเมินระดับความต้องการธาตุไนโตรเจนของพืช ซึ่งมีหลักการทำงานคือเครื่องมือ SPAD-502 จะทำการประเมินค่าคลอโรฟิลล์สีแดงและคลอโรฟิลล์ near-infrared จากการศึกษาค้นคว้ามีความสัมพันธ์กับระดับคลอโรฟิลล์โดย Jongschaap and Booij (2004) พบว่า ค่าที่อ่านได้จากเครื่อง SPAD (SCMR) ที่วัดได้ในมันฝรั่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณไนโตรเจนในทรงพุ่ม นอกจากนั้นยังมีการใช้ SCMR ที่วัดได้จากเครื่องมือ SPAD-502 มาใช้เป็นดัชนีชี้วัดในการจัดการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในพืชต่างๆ อีกหลายชนิดเช่น ธัญพืช (Lebail et al., 2005; Arregui et al., 2006) มันฝรั่ง (Wu et al., 2007) ผักโขม (Lui et al., 2006) อ้อย (Jangpromma et al., 2010) และข้าว (Esfahani et al., 2007) แม้ว่าการใช้เครื่องมือนี้จะมีการใช้งานที่ง่ายและรวดเร็วแต่ก็มีปัญหาสำหรับเกษตรกรที่ต้องการจะนำมาใช้เนื่องจากอุปกรณ์ชนิดนี้มีราคาแพง อย่างไรก็ตามได้มีการพิจารณาวิธีการประเมินความต้องการไนโตรเจนของพืชโดยวิธีอื่นๆ เช่น การใช้กระบวนการทางภาพถ่ายเพื่อประเมินปริมาณธาตุไนโตรเจนในดินพืชหรือทรงพุ่มของพืชโดย Kawashima and Nakatani (1998) ได้พัฒนาขั้นตอนสำหรับการประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชโดยใช้กล้องถ่ายภาพวิดีโอและได้สร้างความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์กับปริมาณไนโตรเจนในพืชทั้งนี้ซึ่งงานวิจัยนี้ได้แสดงให้เห็นว่ามีความเป็นไปได้ในการประเมินคลอโรฟิลล์โดยใช้ภาพถ่ายจากกล้องดิจิทัลต่างๆ ไปได้ ซึ่งปัจจุบันกล้องถ่ายภาพดิจิทัลมีการพัฒนาให้มีคุณภาพและรายละเอียดของภาพสูงอีกทั้งมีราคาที่ลดลง จึงสามารถนำมาใช้ถ่ายภาพเพื่อใช้เป็นวิธีการใหม่ในการประเมินระดับสีเขียวของพืช

ปลูกที่มีความสัมพันธ์กับระดับคลอโรฟิลล์ในใบพืช Pagola et al. (2008) ได้ทำการทดลองโดยใช้การวิเคราะห์ภาพถ่ายของใบข้าวบาร์เลย์ซึ่งใช้การคำนวณระดับความเข้มของสีเขียวบนใบข้าวบาร์เลย์โดยใช้การวิเคราะห์ห้อยประกอบสีแดง สีเขียว สีน้ำเงิน (R,G,B) เพื่อประเมินในค่าไนโตรเจนในใบข้าวบาร์เลย์โดยเปรียบเทียบกับการใช้เครื่องมือ SPAD-502 ซึ่งผลการทดลองนั้นพบว่าค่าดัชนีสีที่วัดได้มีความสอดคล้องกับผลผลิตของข้าวบาร์เลย์และมีความแม่นยำไม่แตกต่างจากการใช้เครื่องมือ SPAD-502

ดังนั้นหากว่าเราสามารถที่จะประเมินความต้องการปริมาณไนโตรเจนของพืชเพื่อกำหนดอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่เหมาะสมเพื่อให้ข้าวโพดมีการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตดี เป็นการช่วยลดต้นทุน อีกทั้งช่วยรักษาคุณสมบัติของดินไม่ให้เสียไปจากการได้รับปุ๋ยเคมีมากเกินไป การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มุ่งเน้นที่จะศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้จากใบข้าวโพดเปรียบเทียบกับปริมาณคลอโรฟิลล์ที่วัดได้จาก SCMR ที่ประเมินได้จาก SPAD-502 และค่าองค์ประกอบภาพสีจากภาพที่ถ่ายด้วยกล้องดิจิทัล ทั้งนี้เพื่อหาดัชนีชี้วัดปริมาณไนโตรเจนของข้าวโพดที่เกษตรกรสามารถนำมาใช้ได้ ในราคาถูก ใช้งานสะดวกรวดเร็ว อีกทั้งมีความถูกต้องที่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของข้าวโพด

วิธีการศึกษา

งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลอง ณ บริเวณเรือนกระจก ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (UTM 47Q 495855 2078084) ทำการศึกษาในช่วงเดือนมีนาคม-กรกฎาคม 2552 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ทำการทดลองจำนวน 2 ซ้ำ กำหนดให้ Treatments คือ ระดับของปุ๋ยไนโตรเจน 5 ระดับได้แก่ 0, 18.4, 36.8, 55.2 และ 73.6 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ปลูกข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 5 เริ่มปลูก

วันที่ 21 มีนาคม 2552 ในกระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 16 นิ้ว โดยแต่ละ Treatments ทำการปลูกข้าวโพด 10 กระถาง หยอดเมล็ดข้าวโพด 3 เมล็ดต่อกระถาง เมื่อข้าวโพดมีอายุ 7 วันหลังปลูกทำการถอนแยกข้าวโพดให้เหลือกระถางละ 1 ต้น ทำการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเมื่อข้าวโพดมีอายุ 15 หลังปลูก ในระหว่างการดำเนินการทดลองมีการให้น้ำในระดับที่เหมาะสมตลอดระยะเวลาการเพาะปลูก มีการดูแลป้องกันศัตรูพืชและกำจัดวัชพืชตามความเหมาะสม

ทำการเก็บตัวอย่างใบข้าวโพด Treatments ละ 1 ต้น ที่ระยะการเจริญเติบโต V3, V5, V7, V9, V11, V13, V15 และ V17 เพื่อประเมินค่าดัชนีความเข้มของสีใบข้าวโพดโดยภาพถ่ายจากกล้องดิจิทัล ซึ่งจะนำมาสร้างความสัมพันธ์กับการใช้เครื่องมือคลอโรฟิลล์ (Minolta SPAD-502) และการประเมินค่าการดูดกลืนช่วงแสงด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer โดยมีขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

1. การประเมินดัชนีความเข้มของสีใบข้าวโพดจากภาพถ่ายด้วยกล้องดิจิทัล SLR SONY α 200 ใช้เลนส์ Sigma Macro 100 mm. ตั้งค่ากล้องโดยปรับ shutter speed 1/60, ISO 200 และ F 5.6 ถ่ายภาพทั้งส่วนซ้ายและขวาของใบข้าวโพด ส่วนละ 3 จุดต่อใบ หลังจากนั้นนำภาพที่ได้มาทำการแยกค่าสีโดยใช้โปรแกรม Adobe Photoshop CS4 แล้วนำค่าสีที่ได้มาคำนวณดัชนีของสีแดง สีเขียว และสีน้ำเงิน (R, G, B) โดยใช้สูตรการคำนวณคือ $[1/(0.7582|R - B| - 0.1168|R - G| + 0.6414|G - B|)] \times 100$ คัดแปลงจาก Pagola et al. (2008)

2. การใช้เครื่องมือคลอโรฟิลล์ (Minolta SPAD-502) ทำการหา SCMR บริเวณใบข้าวโพดวัดกระจายจากส่วนโคนจนถึงปลายใบ 10 ตำแหน่ง คือ ส่วนซ้ายของใบ 5 ตำแหน่งและส่วนขวาของใบ 5 ตำแหน่ง แล้วนำค่าทั้งหมดมาหาค่าเฉลี่ยเพื่อลดความแปรปรวนของข้อมูลก่อนบันทึกข้อมูล โดยคัดแปลงวิธีการจาก Hawkins et al. (2007)

3. การวัดค่าการดูดกลืนช่วงแสงโดยการนำตัวอย่างใบข้าวโพดสกัดด้วยสารเมทานอล และนำสารละลายตัวอย่างที่ได้ไป วัดค่าการดูดกลืนช่วงแสงด้วยเครื่อง UV-VIS spectrophotometer ที่ความยาวช่วงแสง 663 นาโนเมตร เป็นช่วงแสงสีแดงที่ chlorophyll *a* ดูดกลืนได้ดีซึ่งสอดคล้องกับการทำงานของเครื่องมือ SPAD-502 (จักรี, 2540; Pagola et al., 2008)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากผลการวัดระดับ คลอโรฟิลล์ ที่วัดได้จากค่าดูดกลืนช่วงแสงของสารละลายที่สกัดจากใบข้าวโพด พบว่า ค่าดูดกลืนช่วงแสงที่ช่วงคลื่น 663 nm ซึ่งเป็นช่วงที่สัมพันธ์กับปริมาณ chlorophyll *a* (Kobayashi et al., 2000) โดยข้าวโพดที่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนระดับ 0, 18.4, 36.8, 55.2 และ 73.6 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ (Figure 1) จะมีรูปแบบการดูดกลืนช่วงแสงคล้ายกัน กล่าวคือค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการเจริญเติบโต (V3) และสูงสุดในช่วง 47-51 วันหลังปลูก (V10) อย่างไรก็ตามผลการศึกษาายังแสดงให้เห็นว่า การใส่ปุ๋ยในอัตราที่สูงขึ้น จะทำให้แนวโน้มการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนช่วงแสงเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้พบว่าการใส่ปุ๋ยที่อัตรา 55.2 และ 73.6 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ส่งผลให้ค่าดูดกลืนช่วงแสงมีค่าสูงสุดเฉลี่ย 0.8666 แสดงให้เห็นว่าการสร้าง chlorophyll *a* จะมีค่าสูงสุดที่ระยะ V10 เมื่อได้รับปุ๋ยในอัตรา 55.2 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ซึ่งสอดคล้องกับ wood et al. (1992) พบว่าในระยะ V10 เป็นช่วงที่เหมาะสมในการประเมินระดับไนโตรเจนในข้าวโพด และการใส่ปุ๋ยมากขึ้นไม่ทำให้ chlorophyll *a* เพิ่มขึ้น

จากผล SCMR พบในทำนองเดียวกันกับการวัดค่าดูดกลืนช่วงแสง โดยผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่ารูปแบบของการเพิ่มขึ้นของ SCMR ตามระยะพัฒนาการของข้าวโพดมีลักษณะคล้ายคลึงกับรูปแบบการเพิ่มขึ้นของปริมาณ chlorophyll *a* (Figure 2)

ซึ่ง SCMR ที่วัดได้มีความสัมพันธ์กับปริมาณคลอโรฟิลล์ใบโพธิ์ (wood et al., 1992) โดยการศึกษาพบว่า SCMR สูงสุดจะอยู่ในช่วง 50 วันหลังปลูก (V10) ทั้งนี้พบว่า การใส่ปุ๋ยที่อัตรา 55.2 และ 73.6 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ส่งผลให้ SCMR สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 52.35

ในทำนองเดียวกันผลการประเมินระดับดัชนีความเข้มของสีใบข้าวโพดด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัลที่ประเมินเป็นค่าดัชนีองค์ประกอบสี (Pagola et al., 2008) พบรูปแบบของการเพิ่มขึ้นของดัชนีความเข้มของสีใบ ตามระยะพัฒนาการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับค่าการดูดกลืนช่วงแสงและ SCMR (Figure 3) กล่าวคือ ดัชนีความเข้มของสีใบเพิ่มขึ้นตามระยะพัฒนาการของข้าวโพดมีลักษณะคล้ายคลึงกับรูปแบบการเพิ่มขึ้นของปริมาณคลอโรฟิลล์ และ SCMR โดยผลการศึกษาพบว่าค่าดัชนีความเข้มของสีใบข้าวโพดสูงสุดจะอยู่ในช่วง 50 วันหลังปลูก (V10) ทั้งนี้พบว่าการใส่ปุ๋ยที่อัตรา 55.2 และ 73.6 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ ส่งผลให้ค่าดัชนีความเข้มของสีใบสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 18.86

ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบข้าวโพดจาก SCMR โดยใช้สมการ $y = -43.98 + 3.883x - 0.0413x^2$, ($x = \text{leaf N}$, $y = \text{SCMR}$) (Rashid et al., 2004) ซึ่งพบว่า SCMR สูงสุดที่วัดได้มีความสัมพันธ์รูปแบบ Quadratic response ความสัมพันธ์ดังกล่าวสามารถสร้างดัชนีชี้วัดระดับไนโตรเจนระหว่างค่าดูดกลืนช่วงแสงกับ SCMR โดยได้สมการ $y = 0.0002x^2 - 0.0005x + 0.22$, ($x = \text{SCMR}$, $y = \text{absorbance value}$, $r^2 = 0.95$) และดัชนีความเข้มของสีใบกับ SCMR โดยได้สมการ $y = 0.0093x^2 - 0.37x + 12.66$, ($x = \text{SCMR}$, $y = \text{leaf color index}$, $r^2 = 0.96$) เพื่อเปรียบเทียบหาปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบได้ (Table 1)

สรุป

ผลการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้สามารถใช้ SCMR และค่าดัชนีสีที่ประเมินจากภาพถ่ายจากกล้องดิจิทัลโดยรวมถึงคุณลักษณะช่วงแสงจากเครื่อง UV-VIS spectrophotometer โดยค่าดัชนีความเข้มของสีเขียวที่วัดด้วยเครื่องมือข้างต้นที่ทำการวัดในระยะ V10 พบว่าเป็นช่วงที่สีของใบมีความเข้มสูงสุดสามารถนำมาเป็นดัชนีที่ใช้ในการบ่งชี้ถึงระดับคลอโรฟิลล์ในใบ (mg g^{-1} dry weight) ได้

เอกสารอ้างอิง

- จักรกรี เส้นทอง. 2540. พลวัตการผลิตพืช. โรงพิมพ์เมืองเชียงใหม่.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2540. แผนพัฒนาการเกษตรและสหกรณ์ ในช่วงแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 8 พ.ศ. 2540-2544. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.
- Arregui, L.M., B. Lasa, A. Lafarga, I. Iraneta, E. Baroja, and M. Quemada. 2006. Evaluation of chlorophyll meter as tools for N fertilization in winter wheat under humid Mediterranean conditions. *Eur. J. Agron.* 24 : 140–148.
- Esfahani, M., H.R.A. Abbasi, and B. Rabiei. 2008. Improvement of nitrogen management in rice paddy fields using chlorophyll meter (SPAD). *Paddy Water Environ.* 6 : 181–188.
- Hawkinsb, J.A., J.E. Sawyera, D.W. Barkera, and J.P. Lundvalla. 2007. Using relative chlorophyll meter values to determine nitrogen application rates for corn. *Agron J.* 99 : 1034-1040.
- Jangpromma, N., P. Songsri, S. Thammasirirak, and P. Jaisil. 2010. Rapid assessment of chlorophyll content in sugarcane using a SPAD chlorophyll meter across different water stress conditions. *Asian J. Plant Sci.* 9 : 368-374.
- Jongschaap, R.E.E. and R. Booij. 2004. Spectral measurements at different spatial scales in potato: relating leaf, plant and canopy nitrogen status. *Int. J. Appl. Earth Observ. Geoinform.* 5 : 205–218.
- Kawashima, S., and M. Nakatani. 1998. An algorithm for estimating chlorophyll content in leaves using a video camera. *Ann. Bot.* 8 : 49–54.
- Kobayashi, m., H. Oh-Oka, S. Akutsu, M. Akiyama, K. Tominaga, H. Kise, F. Nishida, T. Watanabe, J. Amesz, M. Koizumi, N. Ishida, and H. Kano. The primary electron acceptor of green sulfur bacteria, bacteriochlorophyll 663, is chlorophyll a esterified with Delta 2,6-phytadienol. 2000. *Photosynth Res.* 63 : 269-80.
- LeBail, M., M.H. Jeuffroy, C. Bouchard, and A. Barbottin. 2005. Is it possible to forecast the grain quality and yield of different varieties of winter wheat from Minolta SPAD meter measurements? *Eur. J. Agron.* 23 : 379–391.
- Liu, Y., Y. Tong, Y. Zhu, H. Ding, and E..A. Smith. 2006. Leaf chlorophyll readings as an indicator for spinach yield and nutritional quality with different nitrogen fertilizer

- applications. *J. Plant Nutr.* 29 : 1207–1217.
- Pagola, M., R. Ortiz, I. Irigoyen, H. Bustince, E. Barrenechea, P. Aparicio-Tejo, C. Lamsfus, and B. Lasa. 2008. New method to assess barley nitrogen nutrition status based on image color analysis comparison with SPAD-502. *Comput. Electron. Agric.* 65 : 213-218.
- Rashid, M.T., P. Voroney, and G. Parkin. 2005. Predicting nitrogen fertilizer requirements for corn by chlorophyll meter under different N availability conditions. *Can. J. Soil Sci.* 85 : 149–159.
- Thompson, L.M., and F. R. Troch. 1975. *Soil and Soil Fertility*. 3rd Edition. TNH Publishing. New Delhi.
- Wood, C.W., D.W. Reevesb, R.R. Duffield, and K. L. Edmisten. 1992. Field chlorophyll measurements for evaluation of corn nitrogen status. *J. Plant. Nutr.* 15 : 487–500.
- Wu, J.D., D. Wang, C.J. Rosen, and M.E. Bauer. 2007. Comparison of petiole nitrate concentrations, SPAD chlorophyll readings, and Quickbird satellite imagery in detecting nitrogen status of potato canopies. *Field Crop. Res.* 101 : 96–103.

Table 1 SPAD values, color index and absorbance value as compare to leaf chlorophyll content

SCMR	Leaf color index	Absorbance value at 663 nm	Chlorophyll Content (mg g ⁻¹ dry weight)	SCMR	Leaf color index	Absorbance value at 663 nm	Chlorophyll Content (mg g ⁻¹ dry weight)
26	9.3228	0.3405	24.3	37	11.6977	0.4736	31.2
27	9.4457	0.3506	24.8	38	12.0252	0.4881	32.0
28	9.5872	0.3611	25.4	39	12.3713	0.5030	32.9
29	9.7473	0.3720	26.0	40	12.7360	0.5183	33.8
30	9.9260	0.3833	26.6	41	13.1193	0.5340	34.7
31	10.1233	0.3950	27.2	42	13.5212	0.5501	35.7
32	10.3392	0.4071	27.8	43	13.9417	0.5666	36.8
33	10.5737	0.4196	28.4	44	14.3808	0.5835	38.1
34	10.8268	0.4325	29.1	45	14.8385	0.6008	39.6
35	11.0985	0.4458	29.8	46	15.3148	0.6185	41.5
36	11.3888	0.4595	30.5	47	15.8097	0.6366	44.3

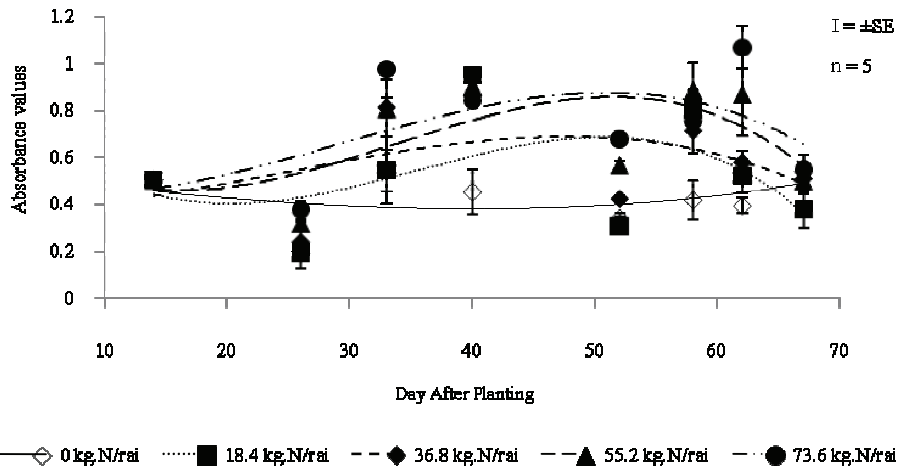


Figure 1 Dynamic of light absorbance at 663 nm using spectrophotometer from chlorophyll extraction solution

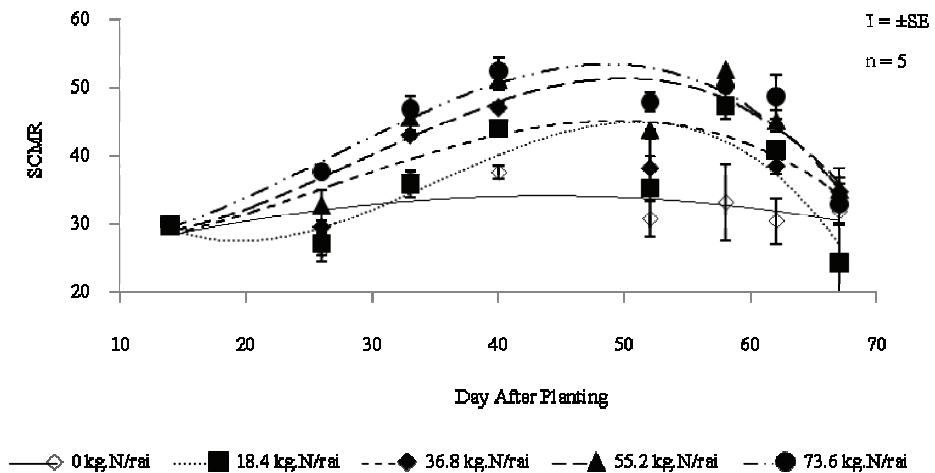


Figure 2 SCMR measuring along development stages of corn (V3 – V17)

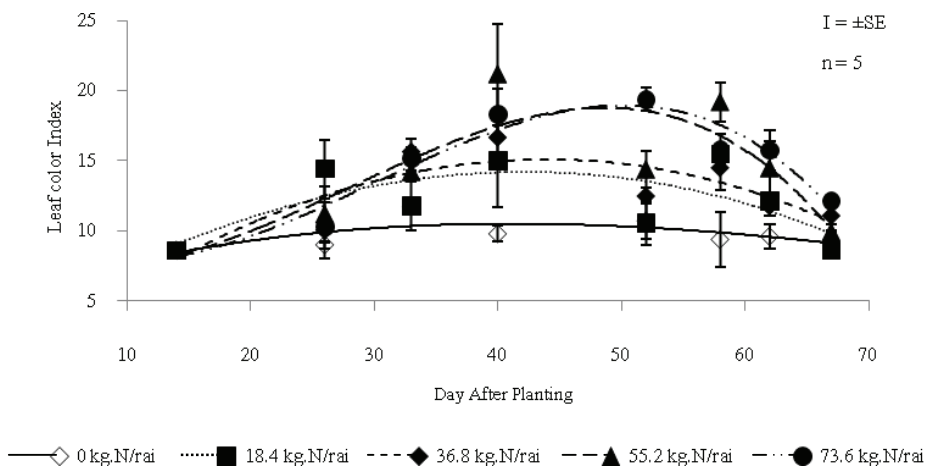


Figure 3 Leaf color indexes estimated from function modified by Pagola et al. (2008)