وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

دستورالعمل فنی

ارزیابی آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مواد ژنتیکی چغندر تحت تنش شوری

نگارش:

سمر خیامیم

استادیار موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

این دستورالعمل با شماره ۵۸۵۳۳ در تاریخ ۱۳۹۹/۰۹/۰۴ در مرکز فناوری اطلاعات و اطلاع رسانی کشاورزی ثبت شده است.

۱۳۹۹

فهرست مندرجات

ردیف	عنوان	صفحه
۱	**مقدمه**	۱
۲-	**هدایت الکتریکی**	۲
۲-۱	هدایت الکتریکی مناسب در آزمایشگاه و گلخانه	۲
۲-۲	تهیه محلول با هدایت الکتریکی	۳
۳	**ارزیابی آزمایشگاهی**	۳
۳-۱	جوانه زنی بین کاغذ	۴
۳-۲	جوانه زنی در ارلن	۶
۳-۳	صفات مناسب ارزیابی آزمایشگاهی	۷
۴	**ارزیابی گلخانه‌ای**	۸
۴-۱	بسترهای کشت	۸
۴-۱-۱	ماسه	۹
۴-۱-۲	سیلیس	۹
۴-۱-۳	پرلیت	۱۰
۴-۱-۴	آبکشت (هیدروپونیک)	۱۱
۴-۲	کشت بذر در گلخانه	۱۲
۴-۳	مشخصات محلول غذایی	۱۲
۵	**مناسب ترین مرحله رشد برای ارزیابی**	۱۴
۶	**صفات مورد ارزیابی**	۱۷
۶-۱	صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی	۱۹
۶-۲	صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی	۲۰
۷	**نتیجه گیری**	۲۶
۸	**منابع مورد استفاده**	۲۸

۱- مقدمه:

شوری از مهمترین تنش‌های محیطی می‌باشد که با محدود کردن رشد گیاه عملکرد محصول را کاهش می‌دهد که این امر در تقابل نیاز روز افزون بشر به مواد غذایی است. شوری آب و خاک در مناطق خشک و نیمه خشک می‌تواند به شدت تولید محصول را محدود نماید و دراین مناطق از اهمیت بیشتری برخورداراست. خاک‌های شور در کل جهان حدود ۲۶۰ میلیون هکتار بوده که به طور متمرکز در نواحی خشک و نیمه خشک شمال افریقا، خاور نزدیک روسیه و شمال آسیا، و آسیای مرکزی قرار دارند. اراضی شور به صورت پراکنده در هند، ایران، و مناطقی از استرالیا و امریکا نیز وجود دارند (Cherlet *et al.,* 2018). در آسیا و خاورمیانه و شمال افریقا حدود ۱۹ درصداز اراضی به علت عدم مدیریت صحیح مثل آبیاری و عملیات کشت شور شده است که به آن شوری ثانویه می‌گویند (FAO, 2000).

در ایران شوری یکی از عوامل اصلی محدود کننده کشاورزی و تاثیرگذار بر تولید محصولات کشاورزی است. اراضی شور در کل کشور به خصوص در مرکز ایران پراکنده می‌باشد. در مناطق شور ایران میانگین کاهش عملکرد بیشتر از ۵۰ درصد برآورد می‌شود (FAO, 2000). در گزارشات مرکز آمار ایران (۱۳۹۱) مقدار اراضی شور ۳۳ میلیون هکتار با نسبت حدود ۲۰ درصد نسبت به کل اراضی کشور بر آورد شده است.

یکی از اولویت‌های اصلی تحقیقات مناطق عمده چغندرکاری به ویژه در استان‌های خراسان رضوی، فارس، اصفهان و قزوین، بررسی مشکلات شوری و اصلاح رقم برای این مناطق بوده است (طالقانی و همکاران، ۱۳۸۶). طی سالیان گذشته مطالعات متعددی در خصوص محیط‌ها و صفات مناسب غربالگری در تنش شوری بر روی چغندر انجام شده است که در این دستورالعمل به مرور این مطالعات پرداخته و روش‌های غربالگری برای تنش شوری به تفکیک مراحل غربالگری درآزمایشگاه و گلخانه ارائه می‌گردد.

جدول ۱: سطح زمین‌های شور و نسبت آن به کل سطح ایران بر اساس منابع مختلف (Qureshi *et al.*, 2007)

منبع	کل زمین‌های شور ایران (میلیون هکتار)	نسبت زمین‌های شور به کل سطح کشور ٪
دوان و فاامورى، ۱۹۶۴	۱۵/۵	۹/۴
موسسه تحقیقات خاک و آب، ۱۳۶۶	۱۸	۱۰/۹
دنت و همکاران، ۱۹۹۲	۲۱	۱۲/۸
سیادت و همکاران، ۱۹۹۷	۱۶-۲۳	۹/۷-۱۳/۹
پذیرا و صادق زاده، ۱۹۹۸	۲۴	۱۴/۶
سیاری و محمودی، ۲۰۰۲	۲۵	۱۵/۲
لی هوئرو، ۱۹۹۳	۲۷	۱۶/۴
فائو، ۱۹۹۴	۳۳	۱۹/۸
فائو، ۲۰۰۰	۳۴	۲۰/۴
مرکز آمار ایران ۹۱	۳۳	۱۹/۸

۲- هدایت الکتریکی

۲-۱: هدایت الکتریکی مناسب در آزمایشگاه و گلخانه

در منابع مختلف آستانه تحمل به شوری چغندرمتفاوت گزارش شده است. چغندر زراعی گیاهی متحمل به شوری با آستانه تحمل درهدایت الکتریکی چهار تا هشت دسی زیمنس بر متراست (Marschner 1995; Jafarzadeh & Aliasgharzadeh 2007). اما کاهش جوانه‌زنی و صفات مرتبط با آن در هدایت‌های الکتریکی مختلف از چهار تا دوازده دسی زیمنس بر متر گزارش شده است (Jafarzadeh & Aliasgharzadeh 2007؛ محمدیان، ۱۳۷۴). به طوری که کاهش درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه به ترتیب در هدایت‌های الکتریکی هشت و چهار دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شده است (Jafarzadeh & Aliasgharzadeh 2007) از طرفی گزارش شده است که درصد جوانه‌زنی اکثر توده‌های اصلاحی چغندرقند تا هدایت الکتریکی ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر کاهش معنی‌داری نداشت اما

کاهش طول گیاه‌چه در این هدایت الکتریکی مشاهده شد (محمدیان، ۱۳۷۴). هدایت الکتریکی با آستانه خسارت اقتصادی ۵۰ درصد در چغندرقند حدود ۱۴ تا ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر گزارش شده است (Abrol et al., 1988). این آستانه عدد قطعی و ثابت نیست و بسته به شرایط می‌تواند متفاوت باشد. در آزمایشات جوانه‌زنی چغندرقند در شوری نمک کلرید سدیم با EC=16 و EC=20 دسی‌زیمنس بر متر مشابه بود و این دو حد به عنوان حد آستانه ۵۰ درصد خسارت به چغندرقند اعلام شد (ابراهیمیان و رنجی ۱۳۸۳ الف و ب؛ مصباح و همکاران، ۱۳۷۰ ب). با وجود مشابه بودن جوانه‌زنی در هدایت الکتریکی ۱۶ و ۲۰ دسی‌زیمنس در آزمایشگاه، اما آستانه ۵۰ درصد کاهش جوانه‌زنی در محیط گلخانه در هدایت الکتریکی برابر ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر می‌باشد که بیشترین تمایز فنوتیپی را در گیاهان ایجاد کرد (Khayamim *et al*., 2014). لذا هدایت الکتریکی مناسب جهت غربال ژنوتیپ‌ها در گلخانه ۱۶ و در آزمایشگاه ۲۰ دسی‌زیمنس بر متر انتخاب می‌شود.این آستانه کمک می‌کند منابع ژنتیکی در آزمایشگاه با حد تحمل بیشتر شناسایی و در آزمایشات پیشرفته مورد بررسی قرار گیرند.

۲-۲: تهیه محلول با هدایت الکتریکی مورد نظر

با توجه به این که یک دسی زیمنس بر متر معادل ۰/۰۱ مول در لیتر کلرید سدیم می‌باشد (Anonymous 2000)، برای تهیه EC معادل ۱۶ دسی زیمنس بر متر حدود ۹/۳۶ گرم در لیتر کلرید سدیم خالص آزمایشگاهی نیاز است. اما بسته به خلوص نمک مقادیر کمتر یا بیشتر نمک استفاده می‌شود. بنابراین باید برای تهیه محلول شور با هدایت الکتریکی مورد نظر حتما هدایت الکتریکی با دستگاه سنجش هدایت الکتریکی (EC Meter) کنترل شود.

۳- ارزیابی آزمایشگاهی:

درصد جوانه‌زنی مهمترین صفت کیفی بذر است و با توجه به ارتباط آن با استقرار مناسب بوته در مزرعه (Sadeghian & Yavari 2004) اهمیت این صفت مهم می‌باشد. این صفت تحت تاثیر ژنتیک،

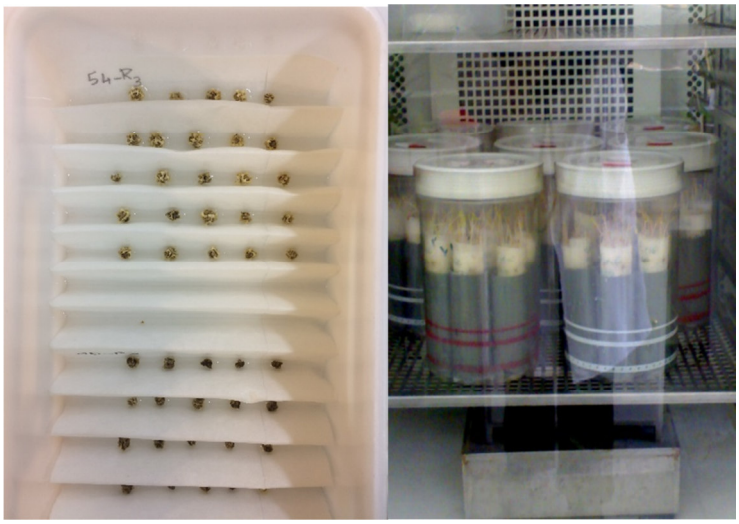
محیط و فرآوری بذر (تیمار بذر) قرار دارد (Apostolides & Goulas, 1998). بنابراین در محیط یکنواخت مانند ژرمیناتور و با شستشوی بذر برای از بین رفتن مواد زائد پوسته یا مواد پوشش‌دهی بذر، می‌توان از درصد جوانه زنی‌برای تمایز بین ژنوتیپ‌ها استفاده کرد. زمانی که تعداد زیادی زنوتیپ وجود دارد، انجام آزمون‌های جوانه‌زنی، روشی مناسب و کاربردی برای غربال است. غربال آزمایشگاهی برای ژنوتیپ‌های چغندرقند به دو صورت قابل انجام است:

۳-۱ آزمایش جوانه‌زنی بین کاغذ (Between Paper) (ISTA, 1985)

در روش جوانه‌زنی بین کاغذ در هر تکرار تعداد ۵۰ عدد بذر در داخل کاغذ چین‌دار داخل ظروف در بسته قرار داده شده، و مقدار ۱۵ سی‌سی از محلول شاهد و ۱۵ سی‌سی از محلول شور با هدایت الکتریکی ۲۰ دسی زیمنس برمتر (بند ۳-۱) به طور جداگانه روی کاغذهای جوانه‌زنی اضافه می‌شود. این ظروف در داخل ژرمیناتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شده (شکل ۱)و پس از ۱۴ روز از زمان کاشت، بذر جوانه‌زده (خروج ریشه‌چه بیش از ۵ میلی‌متر)، تعداد جوانه‌های غیر طبیعی و بذر پوک شمارش می‌شوند. برای محاسبه درصد جوانه‌زنی از رابطه ۱ استفاده می‌شود:

رابطه (۱)

$$\text{درصد جوانه زنی} = \frac{\text{تعداد بذر جوانه زده}}{\text{تعداد کل بذر}} \times 100$$



شکل ۱: آزمایش‌های جوانه‌زنی بذر چغندر در کاغذ

۳-۲ روش سریع جوانه‌زنی در ارلن (McGrath *et al.,* 2008)

در روش جوانه‌زنی در ارلن در هر تکرار تعداد ۲۵ عدد بذر در داخل ارلن ریخته و سپس ۱۵ سی‌سی از محلول با هدایت الکتریکی ۱۶ دسی زیمنس بر متر به آن اضافه می‌شود و روی شیکر با سرعت ۱۰۰rpm در دمای محیط قرار داده می‌شود. پس از ۴۸ ساعت بذر جوانه‌زده شمارش شده و حذف می‌شوند و در نهایت پس از ۹۶ ساعت غوطه‌وری بذرها در محلول، تعداد بذرهای جوانه‌زده (خروج ریشه‌چه بیش از ۰/۵ میلی‌متر) شمارش می‌شود (شکل ۲). در آزمون شاهد این روش هم، از محلول۰/۳درصد هیدروژن پراکسید استفاده می‌گردد. هیدروژن پراکسید در از بین بردن مواد بازدارنده و افزایش جوانه‌زنی بسیار موثر است. در این آزمایش دو شاخص درصد جوانه‌زنی بر اساس رابطه ۱ و شاخص پتانسیل حضور در مزرعه (Field emergence potential) FEP از رابطه ۲ محاسبه می‌شود (McGrath *et al.,* 2008).

رابطه (۲)

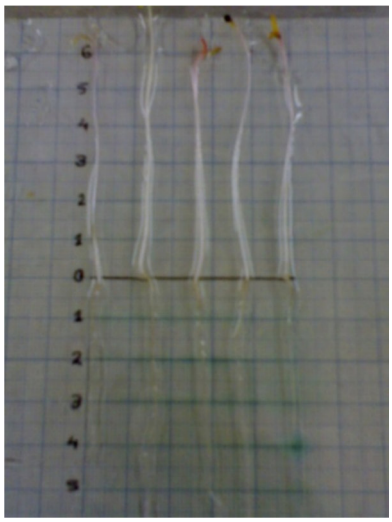
$$FEP = \frac{\text{تعداد بذر جوانه زده در شوری}}{\text{تعداد بذر جوانه زده در پراکسید هیدروژن } H2O2}$$

شکل ۲: آزمایش جوانه‌زنی سریع در ارلن

۳-۳ صفات مناسب ارزیابی آزمایشگاهی

برای غربال ژنوتیپ‌ها تحت تنش شوری در آزمایشگاه صفات مختلفی مثل درصد جوانه‌زنی (رابطه ۱)، سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، تعداد جوانه‌های غیر طبیعی به عنوان صفات مناسب شناخته شده‌اند. درصد جوانه‌زنی به عنوان یکی از صفات مناسب در آزمایشگاه برای غربالگری لاین‌های چغندرقند تحت شرایط تنش شوری شناخته شده است (فتوحی، ۱۳۷۸؛ Ghoulam & Fares, 2001؛ Jafarzadeh & Aliasgharzadeh 2007). اندازه‌گیری طول ریشه‌چه چغندرقند نیز به عنوان یکی از صفات مناسب گزارش شده است (چگینی، ۱۳۸۵؛ Khayamim *et al.,* 2014؛ Jafarzadeh & Aliasgharzadeh 2007؛ Abo Kassem, 2007؛ Jamil *et al.,*2006). از طرفی در برخی آزمایشات طول ساقه‌چه به عنوان شاخص مناسب گزارش شده است و افزایش شوری باعث کاهش بیشتر رشد ساقه‌چه چغندرقند نسبت به ریشه‌چه گردید (Shonjani 2002؛ Ramoliya &Pandey, 2002). طول ریشه چه و ساقه چه مهمترین شاخص‌های تحمل گیاه به شوری در مرحله جوانه زدن است زیرا ریشه در تماس مستقیم با خاک بوده و آب را از خاک جذب کرده و ساقه نیز آب و مواد محلول را از ریشه به سایر نقاط منتقل می‌کند و شوری زیاد به علت کاهش جذب آب از طویل شدن ریشه و ساقه جلوگیری می‌نماید (Jamil *et al.,* 2006).

اما در مجموع می‌توان نتیجه‌گیری کرد که در آزمایشگاه بهتر است از صفات درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه در غربال ژنوتیپ‌های چغندر تحت تنش شوری استفاده کرد (شکل ۳). زیرا رابطه منطقی بین طول ریشه‌چه و استقرار گیاه وجود دارد. همچنین درصد جوانه‌زنی و استقرار گیاه نسبت به سرعت جوانه‌زنی بیشتر تحت کنترل ژنتیکی قرار دارد (Sadeghian & Khodaee, 1998).



شکل ۳: اندازه‌گیری طول ریشه‌چه به عنوان صفت مناسب در زمان جوانه‌زنی

۴- ارزیابی گلخانه‌ای:

۴-۱ بسترهای مناسب کشت

رشد گیاه تحت تاثیر محیط آن قرار می‌گیرد. مواد خام متفاوتی بر اساس سهل الوصول بودن آن‌ها به عنوان محیط‌های مورد مطالعه در آزمایشات گلخانه‌ای استفاده می‌شود. این مواد خام می‌تواند آلی یا معدنی باشند. اما بسترهای رشد معمولا به صورت مخلوطی از مواد خام مختلف تهیه می‌شوند تا تعادل بین ظرفیت نگهداری هوا و آب، برای رشد مناسب گیاه فراهم شود و بستر ثبات طولانی مدتی از نظر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی داشته باشد (Nair *et al*., 2011). چندین عامل در تعیین نوع بستر برای رشد در شرایط خاص تاثیرگذار است. گرچه تظاهرگیاه از نظر عملکرد و کیفیت عامل اصلی انتخاب یک بستر مناسب است، اما عوامل دیگری نظیر هزینه، قابلیت استفاده مجدد و یا پتانسیل بازیافت برای انتخاب یک بستر مناسب تاثیرگذار است (Klados & Tzortzakis, 2014).

محیط‌های کشت گلخانه می‌تواند به محیط‌های کشت خاکی و بدون خاک تقسیم شود. کشت‌های خاکی با وجودی که مشابه شرایط واقعی مزرعه بوده، هزینه کمتری داشته و به محلول غذایی جهت

تغذیه نیاز ندارند اما دارای مشکلاتی می‌باشند که استفاده از آن‌ها را محدود می‌کند از جمله این که شوری در آن‌ها ممکن است بیشتر از حد مورد نظر باشد (عقدک و همکاران، ۱۳۸۹). کشت‌های بدون خاک شامل کشت‌های هیدروپونیک و کشت در مواد دانه‌بندی شده آلی (مثل پرلیت) و معدنی (مثل ماسه و سیلیس) است که تغذیه گیاه در آن‌ها به محلول غذایی نیاز دارد. در ادامه به ذکر توضیحاتی در خصوص انواع مواد محیط کشت گلخانه‌ای شامل محیط‌های جامد ماسه، سیلیس و پرلیت و محیط مایع (آبکشت) پرداخته می‌شود.

۴-۱-۱: ماسه

ماسه جزء مواد مورد استفاده در کشت‌های بدون خاک است که به علت دسترسی آسان و ارزان بودن مورد توجه است. ماسه یک بستر ساده و یکنواخت برای آزمون تحمل به شوری تعداد زیادی ژنوتیپ می‌باشد. زیرا در آن کپک وجود نداشته و تخلخل و آب کافی برای رشد ریشه ایجاد شده و انتقال نشاها از این محیط به راحتی امکان پذیر است (Beatty & Ehlig 1973). کنترل دقیق عناصرغذایی در محیط کشت آب و ماسه امکان پذیر بوده (مصباح و همکاران، ۱۳۷۰)، اما میزان شور شدن آن طی زمان زیاد است زیرا نمک زیاد با نفوذ در منافذ ریز ماسه باعث شور شدن آن می‌شود (خیامیم و همکاران، ۱۳۹۰). در خصوص استفاده از ماسه جهت کاهش شوری آن ابتدا باید ماسه با آب شستشو شود و تا حد ممکن عاری از خاک باشد و سپس اقدام به کشت کرد. هر چقدر این شستشو بیشتر باشد میزان خاک موجود در ماسه شسته شده و افزایش شوری آن در اثر بکار بردن نمک کمتر خواهد بود.

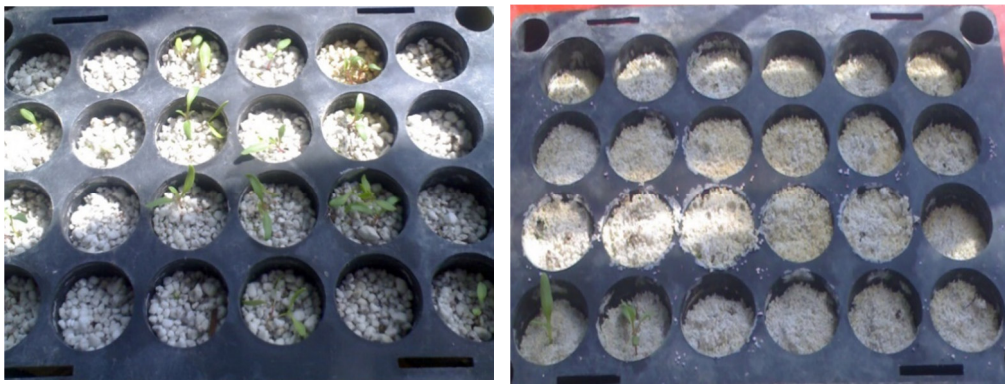
۴-۱-۲ سیلیس

ماسه سیلیکونی (ماسه سیلسیومی) در نواحی قاره‌ای و سواحل غیرگرمسیری وجود دارد که معمولا به صورت کوآرتز دیده می‌شود. سیلیس نیز از مواد مورد استفاده در کشت‌های بدون خاک است. در استفاده از سیلیس محلول غذایی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد در این شرایط بعضی یون‌ها مثل کلسیم

و منیزیم با مصرف محلول غذایی همراه با کشت در سیلیس، روی سیلیس تجمع یافته و ایجاد کلات‌هایی کرده که باعث بروز مشکل در نفوذ آب و هوا در سیلیس می‌شود (MC Call & Nakagawa, 1970) . این محیط از ماسه سبک‌تر، ارزان‌تر و به راحتی قابل دسترس است. اما سیلیس به علت دانه‌بندی ریز در شرایط شور و مصرف کلرید سدیم محیط مناسبی نیست زیرا در شرایط شور میزان شوری آن به مرور افزایش می‌یابد.

۴-۱-۳: پرلیت

پرلیت از جمله مواد دانه‌بندی شده برای محیط‌های بدون خاک است که به علت دارا بودن ظرفیت بالا در نگهداری آب، سبک و ارزان بودن مورد توجه است. در شرایط تنش شوری میزان جوانه‌زنی چغندرقند در بستر پرلیت درشت (به قطر چهار میلی‌متر) پنج برابر بیشتر از پرلیت ریز بود (شکل۴) و کشت در پرلیت بهتر از ماسه گزارش شده زیرا ماسه بیش از دو برابر پرلیت شور شد (خیامیم و همکاران، ۱۳۹۰). با توجه به کمتر شور شدن پرلیت نسبت به ماسه و سبک تر بودن و راحتی جابجایی آن، پرلیت درشت به همراه محلول هوگلند به عنوان محیط مناسب کشت جهت مطالعات تنش شوری توصیه می‌شود. در مقایسه دو محلول غذایی هوگلند با محلول تجاری(Agronike) ، می‌توان به جای هوگلند از محلول تجاری برای تامین نیازهای معدنی تغذیه گیاه استفاده کرد. در این شرایط هزینه استفاده از محلول تجاری بسیار کمتر از هوگلند خواهد بود و صرفه اقتصادی خواهد داشت (خیامیم و همکاران، ۱۳۹۳ الف).



شکل ۴: جوانه‌زنی بذر چغندر در پرلیت ریز (سمت راست) و درشت (سمت چپ) تحت تنش شوری

۴-۱-۴: آبکشت (هیدروپونیک)

از روش‌های بدون خاک در کشت‌های گلخانه‌ای کشت آبکشت (هیدروپونیک) می‌باشد. تولید به روش هیدروپونیک یکی از تکنیک‌های مهم باغبانی برای تولید و پرورش گیاهان به‌حساب می‌آید و در مقایسه با کشت خاکی در گلخانه، مزایای بسیاری مانند عملکرد محصول زیاد، نیاز به نیروی کار کم، عدم نیاز به تناوب کشت در مقایسه با کشت خاکی در گلخانه، کنترل علف‌های هرز (خاک‌های مورد استفاده در گلخانه بعضی مواقع دارای بذر علف هرز است که در کشت هیدروپونیک این مشکل وجود ندارد)، یکنواختی رشد گیاهان، حداقل اتلاف عناصر غذایی، امکان اعمال تأمین مواد غذایی متناسب با نیاز گیاهان و استفاده کمتر از مواد شیمیایی و در نتیجه سالم بودن محصولات کشاورزی دارد. با وجود مزایای فوق‌الذکر سیستم هیدروپونیک و همچنین کمتر شور شدن آن در مقایسه با خاک هنگام اعمال تنش شوری (Gimeno *et al*., 2010)، این روش کشت برای چغندرقند که ریشه غده‌ای تولید می‌کند مناسب نبوده زیرا ریشه‌ها در این سیستم به صورت افشان درمی‌آید و ریشه افشان برای ذخیره قند مناسب نیست (شکل ۵) اما این سیستم برای چغندرعلوفه‌ای می‌تواند بسیار موثر باشد زیرا عملکرد اندام هوایی و تولید ماده خشک در این سیستم به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (خیامیم ۱۳۹۸). لذا محیط آبکشت در غربالگری چغندرعلوفه‌ای تحت تنش شوری می‌تواند محیط مناسبی باشد. لازمه استفاده ازاین سیستم هوادهی مداوم آن است.

شکل ۵: آبکشت دستی با شلنگ هوارسانی و ایجاد اندام هوایی زیاد و ریشه افشان در چغندر

۴-۲: کشت بذر در گلخانه و در محیط پرلیت:

دو بذر از هر ژنوتیپ در گلدان‌های ۲۴ تایی با حجم شش لیتر حاوی پرلیت درشت کشت و گلدان‌ها جهت آبیاری داخل جعبه‌هایی قرار داده شده و محلول غذایی به مقدار شش لیتر (تا ارتفاع ۲/۵ سانتی‌متر در جعبه‌های زیر گلدان)داخل جعبه برای تغذیه گیاهان از زیر ریخته می‌شود. از زمان کاشت تا زمان اعمال تیمار (حدود دو هفته بعد از کاشت) به کلیه گلدان‌ها محلول غذایی تجاری نصف غلظت داده می‌شود. در پایان هر هفته، کلیه جعبه‌های زیر گلدان به طور کامل شستشو و جابجا می‌شوند تا از شور شدن و خزه بستن محلول در جعبه‌ها جلوگیری شود. دو هفته پس از کاشت، گیاهان تنک و یک بوته در هر حفره گلدان نگهداری خواهد شد. تیمار شاهد و سطح شوری با کلرید سدیم به میزان ۱۶ دسی زیمنس بر متر (بر اساس توضیحات بند ۳-۱) به محلول غذایی با غلظت کامل اضافه می‌شود و تا آخر دوره (حدود سه ماه بر اساس توضیحات بند ۶) تیمار شوری هفته‌ای یکبار اعمال می‌گردد. برای کنترل تیمار شوری آب داخل جعبه و پرلیت به طور مرتب از نظر هدایت الکتریکی کنترل می‌گردد و در صورت افزایش شوری مقدار محلول غذایی که به گلدان‌ها داده می‌شود با مقدار کمتری شوری تهیه می‌گردد تا همیشه شوری با حد مد نظر در اختیار گیاه قرار گیرد.

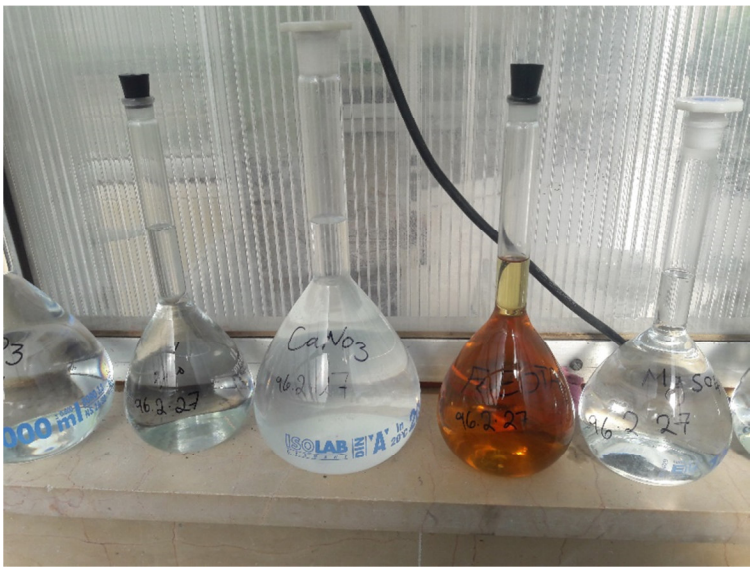
۴-۳: مشخصات محلول غذایی

فرمول‌های پایه متفاوتی (به ترتیب سال ارایه شامل: تاتینگهام (Tottingham, 1914) شیو (Shive, 1915)، هوگلند (Hoagland, 1919)، آرنون (Arnon 1938) و ...) برای تغذیه گیاهان ارایه و معرفی شده است (Resh, 1991)، برخی از این فرمول‌ها مثل هوگلند در محیط بدون خاک بکار می‌رود و قابلیت استفاده وسیعی دارد. گرچه این محلول‌ها در برگیرنده عناصر غذایی مورد نیاز به طور عمومی هستند اما بهتر است که برای هر گونه گیاهی، محلول غذایی خاص آن گونه بکار رود (Sirin, 2011). فرمول غذایی مطلوب به گونه، مرحله رشدی گیاه، بخشی از گیاه که مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد، فصل مورد ارزیابی، طول روز، شرایط اقلیمی مثل درجه حرارت، شدت نور و ساعات آفتابی بستگی

دارد (Resh, 1991). در مورد گیاه چغندر محلول غذایی اصلی هوگلند (جدول ۱ و شکل ۶) بهتر از سایر محلول‌های غذایی است (مصباح و همکاران، ۱۳۷۱).

جدول ۲- ترکیب محلول غذایی هوگلندمناسب برای گیاه چغندر

ردیف	نام ماده شیمیایی	مقدار در محلول استوک (گرم در لیتر)	مقدار مورد نیاز بر حسب میلی لیتر برای ساخت ۱۰۰ لیتر محلول غذایی
1	$NH_4H_2PO_4$	115	100
2	KNO_3	101	600
3	$Ca(No_3)_2\ 4\ H_2O$	236	400
4	$MgSO_4\ 7\ H_2O$	246	200
5	Fe-EDTA	5	150
6	H_3BO_3	0.38	
7	$ZnSO_4\ 7\ H_2O$	0.22	
8	$MnSO_4\ 4\ H_2O$	1.02	100
9	$CuSO_4\ 5\ H_2O$	0.08	
10	$(NH_4)_6Mo_7O_{24}\ 4\ H_2O$	0.02	
	مجموع مواد غذایی درحجم کلی ۱۰۰ لیتر		1550



شکل ۶: محلول‌های غذایی پایه مورد استفاده در محیط گلخانه برای کشت چغندر

۵- مناسب ترین مرحله رشد جهت ارزیابی

مرحله رشدی یکی از مهمترین عوامل تاثیر گذار بر انتخاب ارقام مقاوم بر اساس شاخص‌های مشخص است. در اکثر متون فیزیولوژی گیاهی، مراحل رشد رویشی چغندر چهار مرحله تقسیم می‌شود (Meier 1993) (جدول ۲). مرحله اول مرحله جوانه‌زنی است که از بذر خشک تا خروج لپه از خاک را شامل می‌شود. مرحله دوم، مرحله رشد گیاه جوان و مرحله استقرارمی‌باشد. که از ظهور دو برگ حقیقی تا ۹برگی به طول می‌انجامد. از این زمان دوره رشد برگ گیاه شروع می‌شود (مرحله دوم رشد) که طی آن ریشه از رشد بسیار کمی برخوردار است، به طوریکه گیاه در شش هفتگی با داشتن ۱۰-۸ برگ دارای ریشه کوچکی است. مرحله سوم مرحله رشد بالغ گیاه است. در این مرحله پس از ۱۰-۸ برگی، همزمانی رشد برگ و ریشه مشاهده می‌شود یا توجه به قدرت مخزن بالاتری که ریشه دارد، سرعت افزایش وزن خشک ریشه نسبت به برگ‌ها بیشتر است (اعضا هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، ۱۳۷۷). مرحله چهارم رشد ریشه گیاه در مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی قرار دارد (جدول ۲).

مکانیزم تحمل گیاهان به تنش شوری در طول دوره رشد تغییر می کند(Tester, 2014) . برای مثال، چغندرقند در مراحل اولیه رشد در مواجه با تنش شوری دچار تنش اسمزی شده و در مرحله استقرار در معرض تنش یونی قرار می‌گیرد (خیامیم، ۱۳۸۹). مراحل مختلف رشد نیز در بروز واکنش فیزیولوژیک تأثیرگذار است به طوری که اثر تیمارها بر اغلب صفات فیزیولوژیک در مرحله دوم رشد (۸ تا ۱۰ برگی و یا استقرار) بروز می‌نمایند (خیامیم و همکاران، ۱۳۹۳ب).

جدول ۳: مراحل رشد رویشی چغندر در سال اول (Meier 2001).

کد	توضیحات
	مرحله اصلی رشد ۰: جوانه‌زنی
۰۰	بذر خشک
۰۱	شروع جذب آب و متورم شدن بذر
۰۳	جذب آب کامل شده و پوسته بذر شکاف می‌خورد
۰۵	خروج ریشه‌چه از بذر
۰۷	خروج ساقه‌چه از بذر
۰۹	استقرار اندام جوانه‌زده در سطح خاک
	مرحله رشد اصلی ۱: نمو برگ (مرحله رشد جوان یا استقرار)
۱۰	ظهور اولین برگ
۱۱	ظهور اولین جفت برگ
۱۲	۲ برگ حقیقی
۱۴	۴ برگی حقیقی
۱۵	۵ برگی حقیقی
۱۹	۹ و تعداد بیشتر برگ حقیقی
	مرحله رشد اصلی ۳: رشد رویشی (پوشش سایه انداز یا رشد برگی)
۳۱	شروع سایه انداز: ۱۰ درصد زمین پوشیده شده است
۳۸-۳۲	به ترتیب ۲۰ تا ۸۰ درصد سطح زمین با سایه انداز پوشیده شده است
۳۹	پوشش سایه‌انداز کامل شده و گیاه ۹۰ سطح زمین را پوشانده است
	مرحله رشد اصلی ۴: رسیدگی
۴۹	ریشه‌های چغندر به اندازه قابل برداشت رسیده‌اند
	مرحله رشد اصلی ۵: روج ساقه گل دهنده در سال دوم رشد
۵۱	شروع طویل شدن ساقه اصلی
۵۲	ساقه اصلی ۲۰ سانتی‌متر است
۵۳	جوانه‌های جانبی روی ساقه اصلی نمایان است
۵۴	جوانه‌های جانبی روی ساقه اصلی کاملا دیده می‌شوند
۵۵	اولین جوانه گل روی شاخه جانبی دیده می شود
۵۹	اولین براکته‌های گل دیده می‌شود

از دیرباز چغندر به عنوان گیاهی متحمل به شوری شناخته شده است که فقط در مرحله جوانه زدن، به این تنش حساس می‌باشد (Marschner, 1995). اما در این خصوص گزارشات متفاوتی ارایه شده

است به طوری که اثر تنش شوری در مرحله استقرار گیاه چغندرقند شدیدتر بوده است (فتوحی و همکاران، ۱۳۸۵؛ جهاد اکبر، ۱۳۸۷؛ خیامیم و همکاران، ۱۳۹۰). در مراحل ابتدای رشد، شوری باعث کاهش جوانه‌زنی و طول گیاهچه می‌شود. شوری در مرحله استقرار چغندرقند باعث افزایش ایجاد جوانه‌های غیر طبیعی و از بین رفتن گیاهچه‌ها و کاهش استقرار بوته شده که درنتیجه کاهش عملکرد ریشه را در زمان برداشت نهایی در بر خواهد داشت (Khayamim *et al*., 2014). گزارشاتی مبنی‌بر عدم تأثیر تنش شوری ۱۶ دسی زیمنس بر متر تا ۳۵ روزگی (Niazi *et al* 2004) و حتی تا ۵۰ روزگی (Delfine *et al*., 1999) (مرحله اول رشد) بر صفات فیزیولوژیکی چغندرقند وجود دارد. به عبارتی مرحله اول رشد چغندر(جوانه‌زنی) به شوری حساس نیست و در مرحله استقرار است که حساسیت گیاه بیشتر می‌باشد. بنابراین مرحله استقرار مهمترین مرحله رشدی در بررسی تاثیر شوری بر گیاه چغندر است لذا به منظور غربال سریع‌تر ژنوتیپ‌های چغندر از نظر تحمل به تنش شوری می‌توان این گیاه را در گلخانه کشت نمود و با نگهداری آن تا زمان استقرار (۱۰ برگی یا دو ماه پس از کاشت) و بررسی صفات مناسب در این مرحله از رشد نسبت به غربال سریع ژنوتیپ‌ها اقدام نمود.

۶- صفات مورد ارزیابی

خصوصیات زراعی مختلفی در ارتباط با تحمل گیاهان به شوری مد نظر قرار گرفته است، اما از آنجائی‌که جهت غربال ژنوتیپ‌ها برخی صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک نسبت به صفات زراعی کمتر تحت تاثیر عوامل محیطی می‌باشند، ممکن است اطلاعات مناسب‌تری را نسبت به صفات زراعی در اختیار محققان قرار دهند. لذا اگر گزینش ژنوتیپ‌ها براساس شاخص‌های مشخص فیزیولوژیکی در سطح کل گیاه، بافت یا سلول باشد، مناسب‌تر و قابل اطمینان‌تر از صفات زراعی خواهد بود. بکار بردن صفات قابل اطمینان جهت غربال لاین‌ها می‌تواند در فرآیند بهنژادی و تولید ارقام مقاوم موثر باشد و فرآیند حصول ژنوتیپ‌های متحمل را سرعت بخشد. گاهی ارزیابی این صفات توسط اصلاح‌گران به عنوان شاخص گزینش به‌خصوص در جمعیت‌های در حال تفرق، بسیار هزینه‌بر است. ولی استراتژی انتخاب بر اساس نشانگرها و سایر ابزارهای بیولوژی مبتنی بر صفات فیزیولوژیک نشان می‌دهند که این صفات می‌توانند به عنوان نشانگر مورد استفاده قرار گرفته و در زمینه اصلاح گیاهان موثر باشند (Ashraf, 2004). از طرفی به علت پیچیدگی تنش شوری ضروری است مولفه‌های دخیل در بروز پدیده تحمل به شوری مورد بررسی قرار گیرد (Tester 2014).

اصلاح عملکرد هدف نهایی اغلب برنامه‌های اصلاحی می‌باشد که به دلیل پیچیدگی آن، از بررسی و ارزیابی صفات غیر مستقیم موثر در عملکرد، مانند صفات فیزیولوژیک استفاده می‌شود. برای استفاده از صفات غیر مستقیم به منظور اصلاح عملکرد باید همبستگی ژنتیکی صفات فیزیولوژیک با عملکرد و شاخص تحمل بالا، توارث پذیری بالا و روش‌های انتخاب در سطح وسیع کاربرد داشته باشند. اگر همبستگی صفاتی مثل درجه گوشتی شدن، دوام سطح سبز و نمره پژمردگی چغندرقند تحت تنش خشکی. با عملکرد پایین باشد، لزوما به این معنی نیست که هیچ رابطه بیولوژیک بین این صفات وجود ندارد بلکه ممکن است شرایطی مثل سطح تنش و زمان اعمال آن، تغییرات فنوتیپی گیاه برای صفات خاصی را کاهش داده است (Ober *et al.,* 2005). گیاهان در شرایط مساعد رشد درصد بالایی از ظرفیت ژنوتیپی خود را نشان می‌دهند. برخی صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاه (به طور مثال محتوای آب نسبی، فتوسنتز و تنظیم اسمزی) می‌توانند در تشخیص ژنوتیپ برتر کمک کند اما قابل

اعتماد بودن آن‌ها به عنوان عوامل موثر برای انتخاب ژنوتیپ‌ها جهت تحمل به تنش، جای تامل بیشتری دارد (Ober *et al.,* 2005).

پیچیدگی توارث‌پذیری صفات عملکرد تحت شرایط تنش، اثربخش بودن گزینش بر اساس این صفات را محدود می‌نماید ولی استفاده از صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک مرتبط با عملکرد که قابلیت توارث‌پذیری خوبی دارند می‌تواند در انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل موثر واقع شوند. به دلیل پیچیدگی تحمل به شوری در گیاه و این که مطالعه در سطح بین یا درون سلولی انجام می‌شود، نمی‌توان یک صفت مشخص را به عنوان عامل موثر در گزینش ژنوتیپ متحمل بکار برد. همچنین انتخاب بر اساس چندین نشانگر ملکولی یا مورفولوژیکی بسیار موثرتر از انتخاب بر اساس یک نشانگر است. بنابراین، تعیین نشانگرهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در هرگونه گیاهی در مقایسه با نشانگرهای ژنتیکی ضرورت بیشتری دارند (Ashraf 2004).

به طور کلی گیاهان از نظر مکانیزم تحمل به شوری در دو گروه اصلی قرار می‌گیرند: ۱) گیاهانی که ورود نمک به داخل اندام‌های خود را کاهش می‌دهند و این عمل را از طریق جذب انتخابی سلول ریشه، بارگیری انتخابی آوند چوبی و انتقال نمک از آوند چوبی انجام می‌دهند و ۲) گیاهانی که از تجمع نمک در داخل سیتوپلاسم خود می‌کاهند. گیاهان شورزی از هر دو مکانیزم برای رفع اثر سوء شوری استفاده می‌نمایند (Munns 2002). تحمل گیاهان شورزی به تنش شوری مجموعه‌ای از واکنش‌های فیزیولوژیکی در سه سطح سلول، بافت و کل گیاه است. در سطح سلولی، توزیع یون‌ها، تجمع اسمولیت‌ها، واکنش آنزیم‌ها، تنظیم اسمزی، انتقال انتخابی و کنترل ژنتیکی مطرح است و در سطح بافت، گوشتی شدن، دفع نمک، هدایت روزنه‌ای و در سطح کل گیاه، قدرت جوانه‌زنی و توانایی و میزان رشد قابل بررسی است (Seaman 2007).

۶-۱: صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی

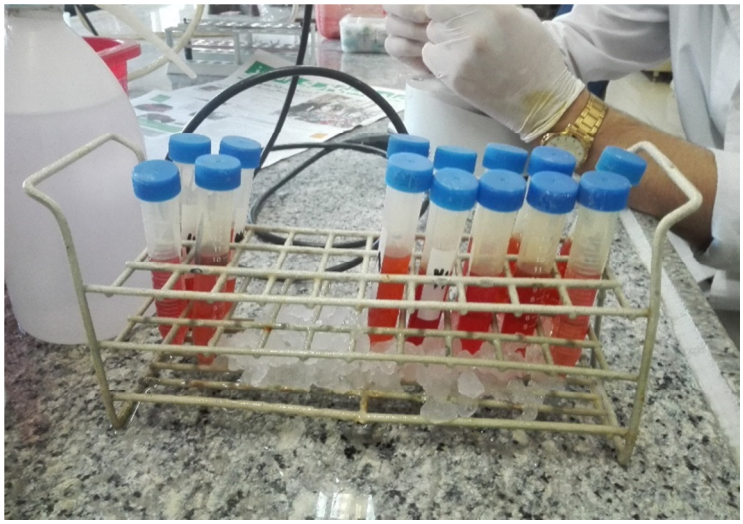
صفات مختلف مانند ارتفاع گیاه، سطح برگ، نرخ رشد نسبی (Relative Growth Rate)، میزان آسیب به برگ، کاهش رشد و عملکرد (Ashraf & Harris, 2004) گوشتی شدن برگ‌ها (Hajiboland *et al*., 2009; Rajabi *et al*., 2014) برای غربال پاسخ گیاهان مختلف از جمله چغندرقند نسبت به تنش شوری استفاده می‌شوند. صفات مورفولوژیکی مانند درجه گوشتی شدن، دوام سطح سبز و نمره پژمردگی، نمره رشد چغندرقند با عملکرد و شاخص تحمل به تنش (عملکرد در شرایط تنش به عملکرد در شرایط شاهد) همبستگی خوبی داشته لذا می‌توان از آنها جهت غربال ژنوتیپ‌های چغندرقند استفاده نمود(Hajiboland *et al*., 2009). در این صفات کمترین نمره (نمره یک) به کمترین مقدار آن صفت و نمره پنج به بیشترین مقدار آن صفت تعلق می‌گیرد. مثلا برگ‌های شاداب، با رشد کم و نازک‌ترین برگ‌ها نمره یک و برگ‌های پژمرده، با رشد زیاد و یا کلفت‌ترین برگ‌ها نمره ۵ داده می‌شود. نمره‌دهی می‌تواند بر حسب تک بوته باشد که در این حالت بین سه تا ده بوته از هرخط انتخاب و به برگ آن‌ها نمره داده و سپس میانگین‌گیری می‌شود. همچنین نمره‌دهی می‌تواند بر مبنای کل کرت یا خط باشد که در این حالت به برآیند کل خط یا کرت نمره کم یا زیاد داده می‌شود.

از بین همه صفات، مهمترین صفت رشدی، صفات عملکردی گیاه است. عملکرد گیاهان زراعی با تنش شوری محدود می‌شود. گرچه عملکرد یک صفت مستقیم برای ردیابی گیاهان تحت تنش محیطی است اما باید توجه کرد که عملکرد صفتی پیچیده بوده و به شدت تحت تاثیر محیط قرار می‌گیرد (Ashraf, 2014).

۲-۶: صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

در آزمایشات مختلف صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متفاوتی به عنوان صفات مناسب در ارزیابی پاسخ گیاهان به تنش شوری شناخته شده‌اند از جمله این صفات می‌توان به: فتوسنتز و پارامترهای مرتبط، مقدار یا محتوا کلروفیل و فلورسانس کلروفیل، محتوای پرولین، گلایسین بتایین، پروتئین کل، کربوهیدرات محلول در آب و مقدار یون‌ها اشاره کرد (خیامیم و همکاران، ۱۳۹۳ب، Mohammadian *et al*., 2003; Park *et al*., 2006; Ashraf *et al*., 2007; Tester 2014, Khayamim 2016) با این حال در گزارشات مختلف موارد متناقض نیز به چشم می‌خورد. دلیل این امر تفاوت‌های تجمع اسمولیت‌ها بر اساس گونه گیاهی (Moghaieb *et al*., 2004)، اندام گیاهی مورد بررسی (Choluj *et al*., 2008; Abdollahian & Sadeghian 2002)، مرحله رشدی (خیامیم و همکاران، ۱۳۹۳ ب؛ رنجی و همکاران، ۱۳۷۵)، شدت تنش (Gorham, 1995)، و حتی ژنوتیپ‌های مختلف یک گونه (خیامیم و همکاران، ۱۳۹۳ ب) می باشد. بنابراین باید صفاتی به عنوان صفات مناسب در نظر گرفته شوند که در آزمایشات مختلف بتوان به آن‌ها استناد کرد.

در چغندرقند گلایسین بتایین در سطح زیادی تجمع می‌کند که نقش اساسی در تنظیم اسمزی دارد (Ghoulam *et al*., 2002). بتایین‌ها به خصوص گلایسین بتایین به عنوان مواد تنظیم کننده اسمزی در تنش‌ها شناخته می‌شوند. اندازه گیری گلایسین بتایین، به عنوان یکی از بهترین اسمولیت‌ها، در گیاه چغندر تحت تنش شوری مورد تاکید قرار گرفته است(شکل ۷). افزایش مقدار گلایسین بتایین تحت تاثیر شوری در چغندر وحشی و علوفه‌ای (Niazi *et al*., 2004) و در تنش خشکی در چغندرقند (Shaw *et al*., 2002; Abdollahian & Sadeghian 2002) گزارش شده است.



شکل۷: اندازه گیری گلایسین بتایین یکی از بهترین اسمولیت‌ها در گیاه چغندر تحت تنش شوری

تجمع کربوهیدرات‌ها مانند قندهای احیا شونده و نشاسته تحت تنش شوری، نقش محافظت و تنظیم اسمزی، و ذخیره کربن را دارد. قندهایی مثل تری‌هالوز نقش حفاظت از غشا و پروتئین‌های سلول را دارد به طوری که از تجزیه پروتئین جلوگیری می‌نماید (Parvaiz & Satyawati, 2008). تنش شوری در اکثر گیاهان با کاهش مقدار کربوهیدرات‌های محلول همراه است. گیاهان در شرایط شوری به انرژی بیشتری نیاز دارند وبخشی از این انرژی صرف ساخت مواد پرانرژی و تنظیم کننده اسمزی می‌شود (Niazi *et al.*, 2004). با پیشرفت تنش در گیاه چغندرقند و پیشرفت مرحله رشدی از چهار برگی تا مرحله استقرار، مقادیر بیشتری از کربوهیدرات‌های محلول، کاهش می‌یابد (۲۸ درصد کاهش کربوهیدرات محلول در مرحله استقرار در مقابل ۱۵ درصد درمرحله چهار برگی در اثر تنش شوری). با این وجود مقدار کاهش کربوهیدرات محلول طی مراحل توسعه برگی و رسیدگی (مرحله برداشت) به ترتیب حدود هشت و دو درصد بود که نشان می‌دهد گیاه در مرحله استقرار از مقادیر بیشتر کربوهیدرات برای حفظ تنظیم اسمزی و مقابله با تنش استفاده می‌نماید و این ماده صرف ساختن ماکرو ملکول‌ها جهت تنظیم اسمزی می‌گردد. مراحل آخر رشد کربوهیدرات‌های محلول صرف قند سازی و ذخیره در واکوئل ریشه گیاه می‌شود(خیامیم، ۱۳۸۹).

اندازه گیری مقدارکربوهیدرات محلول به روش فنل اسید سولفوریک (شکل ۸) صفتی اصلی در بررسی تنش شوری بر روی چغندر است زیرا در مراحل مختلف رشد همبستگی مثبت و معنی‌داری بین مقادیر کربوهیدرات محلول و عملکرد ریشه تحت شرایط تنش وجود دارد (خیامیم، ۱۳۸۹). همچنین نتایج حاصل از آنالیز چندگانه و آنالیز مسیر نشان می‌دهد در مراحل مختلف رشدی ارتباط خوبی بین مقدارکربوهیدرات‌های محلول با صفات کمی مثل وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه و با عملکرد ریشه، عملکرد شکر و عملکرد شکر سفید وجود دارد. لذا این صفت می‌تواند به عنوان یکی از معیارهای تمایز ژنوتیپ‌های چغندرقند در شرایط تنش شوری مورد توجه قرار گیرد. از طرفی ژنوتیپهایی مثل ۷۲۳۳ (خیامیم ۱۳۹۸) و Gazale (خیامیم ۱۳۹۷؛ خیامیم ۱۳۹۸) که در سطوح شور دارای بیشترین مقدار کربوهیدرات محلول بودند در سطح شاهد نیز دارای بیشترین مقدار کربوهیدرات محلول بودند لذا این صفت می‌تواند به عنوان معیار انتخاب نیز در نظر گرفته شود.

شکل ۸: اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول در مرحله استقرار چغندر به روش فنل اسید سولفوریک

تنظیم اسمزی در گیاهان در مواجهه با تنش شوری در اثر تجمع مواد آلی، یا معدنی و یا هر دو صورت می‌پذیرد (Ashraf 2004). شوری روی هر دو فرآیند روابط آبی و روابط یونی گیاه تاثیر گذار است. گیاهان زمانی که در معرض تنش شوری قرار می‌گیرند ابتدا (دقایق تا ساعات اولیه تنش) تنش کم آبی یا تنش اسمزی را تجربه کرده (Munns 2002) در صورتی که زمان اعمال تنش شوری افزایش یابد، تنش یونی را نیز تجربه می‌کند که افزایش سمیت یون باعث پیری زودرس برگ‌های بالغ و نکروزه شدن برگ‌های پیر می‌شود (Parvaiz & Satyawati, 2008). لذا مرحله دوم واکنش رشد گیاه به تنش شوری، در نتیجه اثر سمیت نمک در سلول‌های گیاهی می‌باشد. با افزایش تنش شوری در مرحله چهاربرگی چغندرقند، مقدار سدیم برگ تا حدود ۲/۵ برابر افزایش یافت در حالی که محتوای آب نسبی برگ فقط حدود ۱۲ درصد کاهش یافت. که نشان می‌دهد، از مرحله ابتدایی رشد (چهار برگی) اثر تنش یونی بیشتر از تنش اسمزی بوده است. تنش شوری در مرحله استقرار چغندرقند، باعث افزایش ۲/۵ برابری محتوی سدیم برگ شد در حالی که کاهش پتاسیم برگ حدود ۴۵ درصد (کمتر از نیم برابر) و نسبت پتاسیم به سدیم برگ حدود یک پنجم بود. روند تجمع بیشتر سدیم نسبت به کاهش پتاسیم می‌تواند بیانگر به هم خوردن تعادل یونی در گیاه باشد (خیامیم، ۱۳۸۹).

اگرچه هم مواد آلی و هم عناصر معدنی نقش مهمی در تحمل گیاهان تحت شرایط تنش شوری دارند، سهم نسبی آن‌ها در ایجاد تحمل، در بین گونه‌ها، ارقام و حتی اجزا مختلف یک گیاه فرق می‌کند. جذب و تجمع برخی یون‌ها در گیاهان مثل کلسیم منیزیم و پتاسیم می‌تواند نشانگر تحمل به تنش باشد زیرا آنها به طور ژنتیکی تنظیم شده و همچنین تحت تاثیر محیط نیز هستند. از طرفی گرچه نسبت پتاسیم به سدیم و کلسیم به سدیم و انتخاب‌پذیری آن‌ها شاخص موثری در تمایز گیاه متحمل نسبت به حساس است، اما این شاخص‌ها نمی‌توانند به عنوان تنها زمینه انتخاب برای تحمل به تنش شوری باشد (Ashraf 2004) و باید در کنار شاخص‌های دیگر مورد مطالعه واقع شوند.

شکل ۹: هضم تر نمونه چغندر با اسید کلریدریک جهت اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم به روش نشر شعله

وجود همبستگی معنی‌دار محتوی سدیم و پتاسیم برگ باصفات فیزیولوژیکی و ماده خشک و عملکرد گیاه طی مراحل مختلف رشد چغندر گویای این موضوع است که غلظت سنجی این عناصر با هضم تر و به روش نشر شعله (شکل ۹) می‌تواند به عنوان یکی از ملاک‌های مناسب برای انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل مورد استفاده قرار گیرد (خیامیم، ۱۳۸۹). همچنین می‌توان بر اساس اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم برگ در مرحله استقرار در گلخانه، غربال سریعتر ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش شوری را انجام داد (خیامیم، ۱۳۹۳؛ ۱۳۹۷، ۱۳۹۸). در تجزیه رگرسیون چندگانه و آنالیز مسیر نیز رابطه مستقیمی و بالایی بین نسبت پتاسیم به سدیم با عملکرد ریشه و عیار قند مشاهده گردید به طوری که اثر مستقیم این صفت بر عملکرد ریشه حدود۰/۹۴ و بر عیار قند حدود ۱/۶ بود (خیامیم ۱۳۸۹، ۱۳۹۳).

در مجموع از بین صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌توان گفت عملکرد گیاه در گلخانه، نسبت پتاسیم به سدیم ومقدار کربوهیدرات‌های محلول و گلایسین بتایین به عنوان صفات اصلی طی دوره‌های مختلف رشد تحت شرایط تنش شناخته می‌شوند. این صفات می‌توانند به عنوان یکی از معیارهای تمایز ژنوتیپ‌های چغندردر شرایط تنش شوری مورد توجه قرار گیرد و به غربال سریع منابع ژنتیکی در تحمل به تنش شوری کمک نمایند.

۷- نتیجه‌گیری

گرچه تحمل به تنش شوری صفتی پیچیده و چند ژنی می‌باشد اما انتخاب روش‌های مناسب، سریع و کم هزینه برای غربال که از تکرار پذیری بالایی برخوردار باشند کمک موثری در دستیابی به ژنوتیپ‌های متحمل می‌نماید. با توجه به آنچه که در این دستورالعمل جمع بندی شده است به طور کلی میتوان عنوان نمود:

- از نظر بسترهای کاشت، پرلیت درشت نسبت به پرلیت ریز و ماسه، بستر مناسبی جهت مطالعات شوری بوده زیرا جوانه‌زنی و سبز در پرلیت درشت پنج برابر پرلیت ریز و میزان شور شدن تدریجی در آن نصف ماسه است.
- در آزمایشگاه لازم است غربال ژنوتیپ‌ها در هدایت الکتریکی ۲۰ و در گلخانه در هدایت الکتریکی ۱۶ دسی زیمنس بر متر صورت پذیرد.
- استفاده از روش جوانه زنی در ارلن می‌تواند به سرعت غربال کردن کمک کند.
- با توجه به این که صفاتی مثل درصد جوانه‌زنی، استقرار و وزن هزار دانه بیشتر تحت کنترل ژنتیکی و صفاتی نظیر قدرت و سرعت جوانه‌زنی بیشتر تحت تاثیر محیط می‌باشند و نیز نظر به این که تمرکز بر خصوصیات بذر در حد خصوصیات کیفی ریشه می‌تواند برای اصلاح ارقام چغندر موثر باشد، لذا می‌توان از صفات درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه بذر چغندر در شرایط آزمایشگاه برای غربال اولیه ژنوتیپ‌ها استفاده نمود.
- با وجود رابطه بسیار مثبتی که بین جوانه‌زنی در کاغذ با سبز شدن در گلخانه وجود دارد، غربال ژنوتیپ‌ها تحت تنش شوری در گلخانه بهتر از آزمایشگاه است. در این شرایط با وجودی که بذر در شوری ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر بذر سبز می‌شود، اما با پیشرفت فصل رشد و تشدید اثر شوری، بذر جوانه‌زده بعد از مدتی از بین می‌روند و بقای بذر مختل می‌شود. با وجودی که تاکنون مرحله جوانه‌زنی چغندر به عنوان مرحله حساس شناخته شده اما مرحله استقرار بسیار مهم بوده و شوری در این مرحله می‌تواند باعث کاهش ۸۰-

۷۵ درصدی استقرار شود لذا حفظ تداوم زندگی گیاه تا مرحله استقرار نیز بسیار حائز اهمیت می‌باشد. همچنین اثر تنش بر بیشتر صفات فیزیولوژیک در این مرحله از رشد معنی‌دار بود لذا به منظور غربال سریعتر ژنوتیپ‌های چغندر از نظر تحمل به تنش شوری می‌توان با کشت در گلخانه و نگهداری آن تا زمان استقرار (۱۰ برگی یا دو ماه پس از کاشت) به غربال سریعتر ژنوتیپ‌ها پرداخت.

- وزن خشک اندام هوایی و ریشه گیاه در گلخانه، نسبت پتاسیم به سدیم و کربوهیدرات‌های محلول به عنوان صفات اصلی و مهم مرتبط با پاسخ به تنش شوری و عملکرد طی دوره‌های مختلف رشد تحت شرایط تنش شناخته شدند. این صفات می‌توانند به عنوان یکی از معیارهای تمایز ژنوتیپ‌های چغندر در شرایط تنش شوری مورد توجه قرار گیرد لذا اندازه‌گیری این صفات در دوماه بعد از رشد در مرحله‌ای که گیاه در مرحله استقرار قرار دارد به غربال سریع منابع ژنتیکی در تحمل به تنش شوری کمک نمایند.
- با توجه به آزمایشات انجام شده مقدار گلایسین بتایین آنقدر در برگ چغندر تحت تنش زیاد می‌باشد که می‌تواند سایر تنظیم کننده‌های اسمزی را تحت الشعاع خود قرار دهد. لذا با توجه به اهمیت گلایسین بتایین به عنوان مهمترین تنظیم کننده اسمزی در چغندر لازم است به این صفت نیز در برنامه‌های غربالگری توجه نمود.

۹- منابع مورد استفاده:

ابراهیمیان، ح ر، و رنجی ذ ا. ۱۳۸۳ الف. تهیه رقم متحمل به شوری به روش گزینش دوره‌ای نیمه فامیلی. گزارش نهایی ۸۳۹۳۴. موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه بذر چغندرقند. ۱۷ ص.

ابراهیمیان ح ر، رنجی ذ ا. ۱۳۸۳ ب. مقایسه رقم متحمل به شوری MST* p.29-۷۲۳۳ چغندرقند با ارقام رایج در منطقه اصفهان. گزارش نهایی ۸۳۱۵۹۵. موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه بذر چغندرقند. ۱۹ ص.

اعضا هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند. ۱۳۷۷. چغندرقند از علم تا عمل.(ترجمه)نشر علوم کشاورزی. ۶۷۰ صفحه.

جهاداکبر، م.ر. ۱۳۸۷. تعیین حساسیت به شوری ارقام مختلف در مراحل مختلف رشد ریشه‌ای چغندرقند. گزارش نهایی ۸۷۷۰۵. موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه بذر چغندرقند. ۳۶ ص.

چگینی، م ع. ۱۳۸۵. بررسی های فیزیولوژیک مقاومت به شوری چغندرقند. گزارش نهایی ۸۵۸۹۳. موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه بذر چغندرقند. ۴۵ ص

خیامیم س .۱۳۸۹. مطالعه برخی پارامترهای فیزیولوژیکی لاین های چغندرقند در شرایط تنش شوری و نرمال.پایان نامه دکترا. دانشگاه تهران.

خیامیم،س. ۱۳۹۳. ارزیابی شاخص های مهم فیزیولوژیکی برای غربال منابع ژنتیکی چغندرقند تحت تنش شوری. گزارش نهایی ۹۳۴۶۶۹۳. موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند. ۶۹ صفحه.

خیامیم، س. ۱۳۹۷. ارزیابی ژنوتیپهای چند جوانه چغندرقند نسبت به تنش شوری. گزارش نهایی ۹۷۵۳۶۱۸. موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند. ۳۰ صفحه

خیامیم،س. ۱۳۹۸. بررسی بسترهای کشت و واکنش فامیل‌های ناتنی متحمل به خشکی چغندرقند به تنش شوری گزارش نهایی ۹۸۵۵۸۰۲. موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند. ۵۸ صفحه.

خیامیم س، توکل افشاری ر، صادقیان مطهر س ی، پوستینی ک. ۱۳۹۰. ارزیابی اثر تنش شوری بر شاخص های جوانه زنی بذر چغندرقند در شرایط آزمایشگاه و گلخانه .مجله علوم زراعی ایران جلد ۱۳ (۱):۱۷-۱.

خیامیم س، نوشاد ح، پاینده ح. ۱۳۹۳ الف. مقایسه محلول‌های غذایی و شرایط مختلف گلخانه در مطالعات تنش شوری. سومین کنفرانس ملی فیزیولوژی گیاهی اصفهان. ۴۵۱-۴۴۹.

خیامیم س، جهاد اکبر م ر، نوشاد ح، روزبه ف، زاویه مودت ل. ۱۳۹۳ ب. اثر تنش شوری بر صفات فتوسنتزی چغندرقند در شرایط گلخانه و مزرعه.مجله چغندرقند جلد۳۰ (۱): ۸۸-۷۱.

رنجی ذ ا، پرویزی آلمانی م، یاوری ن. ۱۳۷۵. بررسی عکس‌العمل رگه‌های نتاج چغندرقند از نظر سنتز پرولین در تنش شوری. گزارش نهایی. موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه بذر چغندرقند.

طالقانی د، صادق زاده حمایتی س، مصباح م. ۱۳۸۶. سند ملی راهبردی تحقیقات چغندرقند. موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، ۴۹۱ ص.

عقدک پ، مبلی م ، خوشگفتارمنش ا ح ، شاکری ف. ۱۳۸۹. تاثیر افزودن بنتونیت به بسترهای مختلف کاشت بر رشد رویشی و عملکرد لوبیا سبز. علوم و فنون کشت گلخانه‌ای. ۱(۳): ۴۰-۳۱.

فتوحی، ک،. ۱۳۷۸. ارزیابی ژرم پلاسم چغندرقند از نظر مقاومت به شوری. پایان نامه کارشناس ارشد. دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج.

فتوحی ک، مصباح م، صادقیان س ی؛ رنجی ذ ا، اوراضی زاده م ر. ۱۳۸۵. ارزیابی تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های چغندرقند . مجله چغندرقند ۲۲ (۲): ۱۸-۱ .

محمدیان، ر. ۱۳۷۴. اثرات فرسودگی بذر در جوانه‌زنی سبز کردن و استقرار هفت ژنوتیپ چغندرقند تحت تنش شوری. پایان نامه کارشناسی ارشد . دانشگاه تبریز.

مرکز آمار ایران، ۱۳۹۱.آمارنامه سال ۱۳۹۱ مرکز آمار ایران<http://salnameh.sci.org.ir

مصباح م، یاوری ن، مطهری ع ر، ارجمند م ن و علیمرادی ا. ۱۳۷۰الف. نتایج بررسی میزان تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های مختلف چغندرقند در شرایط گلخانه‌ای. گزارش نهایی ۷۰۲۲۷. موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه بذر چغندرقند.۲۵ صفحه

مصباح م، یاوری ن، قلی زاده ر. ۱۳۷۰ب. خلاصه‌ای از تکنیک‌ها و کارهای انجام شده در ارتباط با ایجاد گیاهان مقاوم به شوری. گزارش نهایی ۷۱۸۳ . موسسه تحقیقات اصلاح وتهیه بذر چغندرقند.۳۳ ص

Abdollahian Noghabi M, Sadeghian SY. 2002. Changes in the concentration of glycinbetaine, glutamin and sugars in sugar beet subjected to soil moisture deficit. Proceeding of the 65th IIRB congress. Belgium

Abrol IP, Yadav JSP, Massoud FI. 1988. Salt-Affected Soils and their Management. FAO SOILS BULLETIN 39.. http://www.fao.org/docrep/x5871e/x5871e00.htm#Contents

Abo Kassem EEDM. 2007. Effects of salinity: calcium interaction on growth and nucleic acid metabolism in five spices of chenopodiaceae. Turk J Bot. 31: 125-134.

Anonymous. 2000. Salinity stress. In: Orcut DM, Nilsen ET. Physiology of plants under stress. Soil and Biotic Factors. John Wily, 177-238.

Apostolides G, Goulas C. 1998. Seed crop environment and processing effects on sugar beet (Beta vulgaris L.) certified by hybrid variety seed quality. Seed Sci.Tech. 26:223-235.

Ashraf M. 2004. Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants. Flora. 199:361-376.

Ashraf M, Harris PJC. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Sci. 166: 3-16.

Ashraf M, Nawazish SH, Athar HUR. 2007. Are chlorophyll fluorescence and photosynthetic capacity potential physiological determinants of drought tolerance in Maize (*Zea Mays* L.). Pakistan. Journal of Botany, . 39(4): 1123-1131.

Beatty KD, Ehlig CF. 1973. A technique for testing and selecting for salt tolerance in sugar beet. Journal of the A.S. S. B.T,17(4): 295-299.

Cherlet M., Hutchinsin C., Reynolds J., Hill J., Sommer S., von Maltitz Q. 2018. World Atlas of Desertification 3rd edition, Publication Office at European Union, Luxembourg, Catalog No KJ-0717-008EN-C.

Choluj D, Karwowska R, Ciszewska A, Jasinska M. 2008. Influence of long-term drought stress on osmolyte accumulation in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) plants. Acta Physiologia Plantarum, 30:679-687.

Delfine S, Alvino A, ConcettaVilani M, Loreto F. 1999. Restriction to carbon dioxide conductance and photosynthesis in spinach leave recovering from salt stress. Plant Physiology, 119:1101-1106.

FAO AGL. 2000Land and plant nutrition management service: Global network on integrated soil management for sustainable use of salt affected soils. http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush

Ghoulam C, Fares K. 2001. Effect of salinity on seed germination and early seedling growth of sugar beet (Beta vulgaris L.). Seed Science and Technology; 29(2): 357-364.

Ghoulam C, Foursy A, Fares K. 2002. Effect of salt stress on growth, inorganic ions and prolin accumulation in relation to osmotic adjustment in five sugar beet cultivars. Environmental and Experimental Botany, 47: 39-50.

Gorham J. 1995 .0v. In: Walsgrove RM. Aminoacids and their derivatives in higher plants. 173-203.

Hajiboland R, Joudmand A, Fotouhi K. 2009. Mild salinity improves sugar beet (*Beta Vulgaris* L.) quality. Acta Agriculture Scandinavia, Section B- Soil and Plant Science, 59: 295-305.

Jafarzadeh AA, Aliasgharzad N. 2007. Salinity and salt composition effects on seed germination and root length of four sugar beet cultivars. Biologia, Bratislava 62(5):562-564.

Jamil M, Lee DB, Jung KY, Ashraf M, Lee SC, Rha ES. 2006. Effects of salt (NaCL) stress on germination and early seedling growth of four vegetables species. Journal of Central European Agriculture, 7(2): 273-282.

Khayamim S. 2016Sugar beet protein pattern under salinity stress at establishment and harvest time. 75th IIRB congress, 16-17/2/2016, Brussels,

Khayamim S, Tavakol Afshari R, Sadeghian Motahar SY, Pustini K, Rouzbeh F, Abbasi Z. 2014. Seed germination, plant establishment and yield in sugar beet genotypes under salinity stress. JAST 16 (2): 779-790.

Klados E, Tzortzakis N. 2014. Effects of substrate and salinity in hydroponically grown *cichorium spinosum*. Journal of Soil Science and Plant Nutrition. 14(1):211-222.

Marschner H. 1995. Mineral nutrition of higher plants 2nd Edn. Academic Press. London, UK.

MC Call WW, Nakagawa Y. 1970. Growing plants without soil. University of Hawaii. 22 page.

Meier U. 2001. Growth stages of mono-and dicotyledonous plants. 2. Edition. BBCH Monograph.

Moghaieb R E A, Saneoka H, Fujita K. 2004. Effect of salinity on osmotic adjustment, glycinebetaine accumulation and the betaine aldehyde dehydrogenase gene expression in two halophytic plants, *Salicornia europaea* and *Suaeda maritime.* Plant Science 166: 1345-1349.

Mohammadian RH, Rahimian H, Moghaddam M, Sadeghian SY. 2003. The effect of early season drought on chlorophyll a fluorescence in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Pakistan Journal of Biological Sciences, 6: 1763-1769.

Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 25:239-250.

Nair A, Ngouajio M, Biernbaum J. 2011. Alfafalfa-based organic amendment in peat compost growing medium for organic tomato transplant organic production. Hort Science. 46:253-259.

Niazi BH, Athar M, Rozema J. 2004.Salt tolerance in the fodder beet and sea beet: Analysis of Biochemical relations. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 30: 78-88.

Ober ES, Bloa ML, Clark CJA, Royal A, Jaggard KW, Pidgon JD. 2005. Evaluation of physiological traits as indirect selection criteria for drought tolerance in sugar beet. Field Crops Research 91: 231-249.

Park SJ, Lee JY, Lee SE, Yoo SY, Shim MY. 2006. Detection of salt tolerance using chlorophyll fluorescence photometer.18th World congress of Soil Science, 104-6.

Parvaiz A, Satyawati S. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants- a review. Plant Soil Environment, 54: 89-99.

Qureshi A S, Qadir M, Heidari N, Tural H, Javadi A. 2007.A review of management strategies for salt prone land and water resources in Iran. Working paper 125. International Water Management Institute,

Rajabi A, Khayamim S, Abbasi Z, Ober E. Salt Stress and Sugar Beet Improvement:Challenges and Opportunities. In: Ahmad P,• Wani MR, Azooz MM. Phan Tran LS (ed.) Improvement of Crops in the Era of Climatic Changes Springer. 2014; 21-150.

Ramoliya PJ, Pandey AN. 2002. Effect of increasing salt concentration on emergence growth and survival of seedling of *Salvadora oleoides*. Journal of Arid Environment, 51:121-132.

Resh HM. 1991. Hydroponic Food Production: A definitive guide book of soilless food growing methods. 3rd ed. Weedbridge Press. 462 pages.

Sadeghian SY, Yavari N. 2004. Effect of water deficit stress on germination and early seedling growth in sugar beet. J. Agronomy and Crop Science 190:138-144.

Sadeghian SY, Khodaii A. 1998. Diallel crosses analysis of seed germination traits in sugar beet. Euphytica 103: 259-263.

Shaw B, Thomas TH, Cooke DT. 2002. Response of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) to drought and nutrient deficiency stress. Plant Growth Regulators, 37: 77-83.

Seaman J. 2007. Mechanisms of salt tolerance in halophytes: Can crop plant resistance to salinity be improved. APS 402 Dissertation. Candidate no: 000124971. 1-11.

Shonjani S. 2002. Salt sensitivity of rice, maize, sugar beet and cotton during germination and early vegetative growth. Inaugural dissertation. Institute of Plant Nutrition. Justus Leibig University. 164 p.

Sirin U. 2011. Effects of different nutrient solutionformulations on yield and cut flower quality of gerbera (*Gerbera jasemonii*) grown in soilless culture system. African Journal of Agricultureal Research. 6(21):4910-4919.

Tester M. 2014. Traits that contribute to salinity tolerance in crops – bringing together genetics and physiology. First international and 13th national Iranian agronomy and crop breeding congress, 2014 Aug 24-26, Karaj Iran.