





وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
موسسه تحقیقات برنج کشور

راهنمای عملی ارزیابی پیش‌مزرعه‌ای برنج، گندم و جو برای تحمل به تنش شوری

نویسندگان :

Souleymane Bado (سلیمان بادو)

Brian P. Forster (برایان پی فارستر)

Abdelbagi M.A. Ghanim (عبدالباقی غنیم)

Joanna Jankowicz-Cieslak (جوآنا جانکویچکس سیسلک)

Gunter Berthold (گانتز برتولد)

Liu Luxiang (لیو لاکسیانگ)

مترجم:

دکتر مصطفی مدرسی (Dr. Mostafa Modarresi)

هیأت علمی موسسه تحقیقات برنج کشور



عنوان و نام پدیدآور	: راهنمای عملی ارزیابی پیش‌مزرعه‌ای برنج، گندم و جو برای تحمل به تنش شوری/نویسندگان سلیمان‌باده ... [و دیگران].؛ مترجم مصطفی مدرسی.
مشخصات نشر	: تهران: نارون دانش، ۱۳۹۹. مشخصات ظاهری: ۶۶ ص. شابک: 978-622-276256-8
وضعیت فهرست نویسی	: فیبا
یادداشت	: عنوان اصلی: Rice, Protocols for Pre-Field Screening of Mutants for Salt Tolerance in Wheat and Barley, ۲۰۱۶.
موضوع	: گیاهان -- اصلاح نژاد Plant breeding
موضوع	: گیاهان -- اثر نمک Soil salinization
موضوع	: برنج -- اصلاح نژاد Rice -- Breeding
موضوع	: گندم -- اصلاح نژاد Wheat -- Breeding
موضوع	: جو -- اصلاح نژاد Barley -- Breeding
موضوع	: خاک -- شورشدگی Plants -- Effect of salt on
شناسه افزوده	: بادو، سلیمان‌باده Bado, Souleymane
شناسه افزوده	: مدرسی، مصطفی، ۱۳۶۳-، مترجم
رده بندی کنگره	: SB۱۲۳
رده بندی دیویی	: ۶۳۱/۵۲
شماره کتابشناسی ملی	: ۷۴۴۰۵۲۸
وضعیت رکورد	: فیبا

آدرس: میدان انقلاب اسلامی، خیابان کارگر شمالی، خیابان نصرت شرقی، پلاک هفتادودو، واحد یک شماره تماس: ۰۹۲۲۴۰۱۳۷۰۴ و ۰۲۱۶۶۹۳۲۲۴۵ آدرس الکترونیکی: narvanpub@gmail.com آدرس سایت: www.narvanpub.com	
--	--

عنوان کتاب: راهنمای عملی ارزیابی پیش‌مزرعه‌ای برنج، گندم و جو برای تحمل به تنش شوری نویسندگان: Souleymane Bado (سلیمان‌باده)، Brian P. Forster (برین پی فارستر)، Abdelbagi M.A. Ghanim (عبدالباقی غنیم) Joanna Jankowicz-Cieslak (جوآنا جانکویچکز سیسلک)، Gunter Berthold (گانتز برتولد)، Liu Luxiang (لیو لاکسیانگ) مترجم: دکتر مصطفی مدرسی (Dr. Mostafa Modarresi) صفحه‌آرا: اکرم ملک نژاد طراح جلد: الورا صیامی ناشر: انتشارات نارون دانش شمارگان: ۱۰۰۰ نسخه نوبت چاپ: اول — ۱۳۹۹ قیمت: ۳۰۰۰ تومان ۱- این اثر به شماره ۳۰/۱۱/۱۳۹۹ در مرکز فناوری اطلاعات و اطلاع‌رسانی کشاورزی به ثبت رسیده است. ۲- مسئولیت صحت مطالب با نویسندگان است. ۳- کلیه حقوق مادی و معنوی این اثر متعلق به انتشارات موسسه تحقیقات برنج کشور می‌باشد. ISBN: ۹۷۸-۶۲۲-۲۷۶-۲۵۶-۸	
---	--

فهرست مطالب

پیش‌گفتار مترجم.....	۷
پیش‌گفتار مؤلف.....	۹
فصل اول: مقدمه.....	۱۱
چکیده.....	۱۳
۱-۱- پیش‌زمینه.....	۱۳
۲-۱- زیست‌شناسی تحمل به شوری.....	۱۵
۳-۱- روش ارزیابی.....	۱۶
۴-۱- اصلاح برای تحمل به تنش شوری.....	۱۹
۱-۴-۱- اصلاح کلاسیک.....	۱۹
۲-۴-۱- القای جهش در اصلاح برای تحمل به تنش شوری.....	۲۰
۵-۱- ضرورت تکنیک‌های قابل اعتماد غربالگری برای انتخاب پیش‌مزرعه‌ای.....	۲۱
منابع.....	۲۲
فصل دوم: اهداف.....	۲۵
چکیده.....	۲۷
۱-۲- پایش شوری مزرعه.....	۲۷
۲-۲- ارزیابی تحمل به شوری.....	۲۷
۳-۲- مزایا و معایب غربالگری در مرحله گیاهچه‌ای.....	۲۸
منابع.....	۳۰
فصل سوم: دستورالعمل اندازه‌گیری شوری خاک.....	۳۱
چکیده.....	۳۳
۱-۳- پیش‌زمینه.....	۳۳
۲-۳- تجهیزات و معرف‌ها.....	۳۴
۳-۳- آماده‌سازی عصاره ۵:۱ آب/خاک.....	۳۴
۴-۳- آماده‌سازی عصاره ۱۰:۱ آب/خاک.....	۳۵
۵-۳- ملاحظات مهم.....	۳۵
۶-۳- اندازه‌گیری.....	۳۶
۱-۶-۳- روش وزنی.....	۳۶
۱-۶-۳-۱- ابزارها و معرف‌ها.....	۳۶
۱-۶-۳-۲- روش‌ها.....	۳۶
۱-۶-۳-۳- محاسبه کل نمک محلول در آب.....	۳۷
۱-۶-۳-۴- ملاحظات مهم.....	۳۷

۳۸	۳-۶-۲- روش هدایت الکتریکی
۳۸	۳-۶-۲-۱- ابزار مورد استفاده
۳۸	۳-۶-۲-۲- روش کار
۳۸	۳-۶-۲-۳- محاسبات
۴۰	۳-۶-۲-۴- نکات مهم
۴۱	فصل چهارم: دستورالعمل غربال‌گری گیاه برنج برای تحمل به تنش شوری
۴۳	چکیده
۴۳	۴-۱- مقدمه
۴۴	۴-۲- ابزار و تجهیزات
۴۷	۴-۳- مواد گیاهی
۴۸	۴-۴- تنظیمات سخت‌افزاری محیط هیدروپونیک
۴۸	۴-۵- آماده‌کردن محلول‌های هیدروپونیک
۴۹	۴-۶- انبار کردن بذر و تیمارهای پیش‌جوانه‌زنی بذر
۵۰	۴-۷- استقرار گیاهچه‌ها در محیط هیدروپونیک
۵۱	۴-۸- مراقبت از گیاهان در محیط کشت هیدروپونیک
۵۱	۴-۹- تنش شوری
۵۲	۴-۱۰- امتیازدهی
۵۵	۴-۱۱- بازیابی لاین‌های متحمل به نمک
۵۵	۴-۱۲- مثال‌ها
۵۷	منابع
۵۹	فصل پنجم: دستورالعمل غربال‌گری گندم و جو برای تحمل به تنش شوری
۶۱	چکیده
۶۱	۵-۱- مقدمه
۶۲	۵-۲- سازگار نمودن دستورالعمل برنج برای گندم و جو
۶۲	۵-۲-۱- جوانه‌زنی
۶۳	۵-۲-۲- محلول هیدروپونیک
۶۴	۵-۲-۳- هوادهی
۶۴	۵-۲-۴- شرایط گلخانه
۶۵	۵-۲-۵- آزمون غلظت نمک
۶۶	منابع

پیش‌گفتار مترجم

غلات پایدارترین منبع تغذیه بشر بوده و غذای هفتاد درصد جمعیت جهان را تأمین می‌کنند. امروزه تولید این محصولات استراتژیک با چالش‌هایی چون کمبود و شوری آب و نیز تغییرات اقلیمی مواجه شده است. برای غلبه بر مشکل شوری آب، باید اقداماتی مانند اصلاح برای بهبود توان تحمل به شوری در غلات انجام شود. براین اساس، تلاش بر این است تا ارقام متحمل به شوری و دارای عملکرد بالا ایجاد گردد.

طی سال‌های متمادی، غربال‌گری برای تحمل به تنش و انتخاب منابع ژنتیکی مناسب از میان ژرم‌پلاس‌های گیاهی موجود به کرات انجام شده است، با این حال اکثر این آزمون‌ها مبتنی بر کار مزرعه‌ای بوده و به دلیل محدودیت‌های هزینه‌ای و زمانی، امکان ارزیابی تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها وجود ندارد. بنابراین برای غربال‌گری تعداد قابل قبولی از ژنوتیپ‌ها، نیاز به استفاده از راهکارهای کم‌هزینه‌تر و کارآتر احساس می‌شود.

کتاب حاضر توسط بخش همکاری‌های مشترک سازمان بین‌المللی انرژی اتمی و سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (FAO)^۱ و بوسیله انتشارات اشپرنگر با نام اصلی "دستوالعمل‌های غربال‌گری پیش مزرعه‌ای موتانت‌ها برای تحمل به تنش شوری در برنج، گندم و جو"^۲ منتشر شده است. با توجه به اینکه روش غربال‌گری لاین‌های اصلاحی مرسوم و موتانت یکسان می‌باشد، در ترجمه حاضر کلمه "موتانت" از عنوان اثر حذف گردید. این کتاب دستورالعمل‌هایی ارزان و نسبتاً آسان برای غربال‌گری ژنوتیپ‌های متحمل به شوری در برنج، گندم و جو ارائه می‌دهد. در فصل‌های ابتدایی روش‌هایی برای اندازه‌گیری شوری خاک و آب بیان شده است. در فصل‌های انتهایی نیز دستورالعمل‌های ایجاد سیستم هیدروپونیک و غربال گیاهان، بسیار کارآمد و بدون پیچیدگی توضیح داده شده‌اند و می‌توانند به سادگی برای اهداف به‌نژادگران گیاهی مورد استفاده قرار بگیرند.

1 . Food and Agriculture Organization of the United Nations

2. Protocols for Pre-Field Screening of Mutants for Salt Tolerance in Rice, Wheat and Barley

پیش‌گفتار مؤلف

طی ۵۰ سال گذشته، برنامه مشترک فائو / آژانس بین‌المللی انرژی اتمی در زمینه بهره‌برداری از تکنیک‌های هسته‌ای در صنایع غذایی و کشاورزی، از کشورهای عضو برای استفاده از فن‌آوری اتمی در ژنتیک و اصلاح‌نباتات پشتیبانی کرده است. این مهم از طریق آموزش و تحقیقات خصوصاً برای القای جهش و شناسایی جهش‌یافته‌ها بدست آمده است. القای جهش در گیاهان عموماً برای دستیابی به تنوع جدید ژنتیکی با هدف افزایش عملکرد، کیفیت، مقاومت به آفات و بیماری‌ها و تحمل به تنش‌های غیرزنده مانند شوری، توسط به‌نژادگران صورت می‌پذیرد. ایجاد جهش القایی در گیاهان در دهه ۱۹۲۰ میلادی آغاز شد و نخستین رقم توتون جهش‌یافته با نام "ورستلند"^۱ در سال ۱۹۳۴ در اندونزی معرفی گردید. طی این مدت، اصلاح‌نباتات با استفاده از جهش بسیار موفقیت‌آمیز بوده است و تاکنون بیش از ۳۲۲۰ رقم موتانت برای ۲۱۰ گونه محصول کشاورزی معرفی شده است. امروزه امنیت غذایی جهانی به طور فزاینده‌ای توسط عواملی چون تغییرات آب و هوایی، کمبود زمین‌های کشاورزی و افزایش جمعیت انسانی تهدید می‌شود. بنابراین فشار زیادی بر به‌نژادگران گیاهی وجود دارد تا عملکرد محصولات کشاورزی را افزایش دهند. اصلاح‌نباتات با استفاده از جهش، می‌تواند برای دستیابی به این خواسته مفید باشد. اما یک چالش بزرگ، توانایی انتخاب جهش‌یافته‌هایی است که صفات مطلوب مورد نظر را دارا می‌باشند، بنابراین لازم است که دستورالعمل‌هایی برای غربال‌گری جهش‌یافته‌ها تهیه شوند.

این کتاب دارای سه بخش اصلی است: (۱) مقدمه‌ای کوتاه بر مشکل شوری خاک، (۲) دستورالعملی برای اندازه‌گیری شوری خاک و (۳) دستورالعملی برای غربال‌گری ژنوتیپ‌های

غلات متحمل به شوری. این دستورالعمل‌ها برای کمک به اصلاحگران نبات، علی‌الخصوص آن‌هایی که نیاز به غربال‌گری جمعیت‌های جهش‌یافته غلات برای تحمل به شوری را دارند، تهیه شده است. این دستورالعمل‌ها به گونه‌ای طراحی شده‌اند که کارآمد، کم‌هزینه و بدون پیچیدگی باشند.

این کتاب روش‌هایی سریع و ساده برای نمونه‌برداری خاک و آزمون تعیین محتوای نمک محلول در آب معرفی می‌کند که هر دو این روش‌ها برای غربال‌گری‌های بعدی لازم هستند. دستورالعمل‌های سریع و ساده همچنین امکان غربال‌گری گیاهچه‌ها در محیط هیدروپونیک را فراهم می‌کنند. آزمون مرحله گیاهچه‌ای تنها ۴-۶ هفته به طول می‌انجامد و بنابراین امکان بررسی صدها گیاهچه میسر می‌شود. همچنین این روش‌ها می‌تواند برای بررسی نسل‌های درحال تفرق (مانند جمعیت‌های M_2 و نسل‌های پیشرفته‌تر)، لاین‌های استاندارد و ارقام تجاری مورد استفاده قرار بگیرد. علاوه‌براین، فهرستی از تجهیزات مورد نیاز به همراه مراحل انجام آزمایشات و محلول‌های لازم برای کشت هیدروپونیک ارائه شده است.

تحمل به شوری از طریق مقایسه با ژنوتیپ‌های متحمل سنجیده می‌شود. آزمایش در شرایط بدون نمک (شاهد) برای نمایش کارایی سیستم و نیز مقایسه رشد گیاه در شرایط تنش و بدون تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد. شاخص‌های تحمل شامل رنگ برگ، پیچش برگ، مرگ نوک برگ^۱ و مرگ گیاهچه می‌باشند. آسیب ریشه‌ای (رشد و قهوه‌ای شدن) هم ممکن است مشاهده شود. این دستورالعمل در ابتدا برای غربال‌گری جمعیت‌های جهش‌یافته برنج تهیه شده بود اما با تغییراتی برای گندم و جو هم سازگار شده است. این دستورالعمل در کشورهای ایران، میانمار و ویتنام آزمون و ارزیابی شده است.

وین، اتریش

برایان فورستر

1. leaf tip dying

فصل اول

مقدمه

چکیده

شوری از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی محدودکننده رشد و عملکرد گیاهان در بخش‌های بزرگی از دنیا به شمار می‌رود. سازمان خواروبار و کشاورزی ملل متحد (فائو)، تخمین زده است که بیش از ۴۰۰ میلیون هکتار از سطح زمین، تحت تأثیر شوری قرار دارد. اصلاح برای افزایش تحمل گیاهان به شوری، یکی از مهم‌ترین اهداف به‌نژادگران غلات است. بنابراین غربال‌گری برای انتخاب لاین‌های متحمل ضرورت پیدا می‌کند. غربال‌گری برای تحمل به شوری در خاک بسیار مشکل است، زیرا شوری خاک متغیر^۱ است و میزان شوری خاک در سطوح افقی و عمودی پروفایل خاک متفاوت می‌باشد و علاوه‌بر آن با گذشت زمان تغییر می‌کند. برای غلبه بر این نگرانی‌ها، آزمایش در محیط هیدروپونیک و کنترل شده انجام می‌گیرد.

۱-۱- پیش‌زمینه

شوری خاک بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی موجود در دنیا را که برابر ۶٪ همه خشکی‌هاست، متأثر ساخته است. همچنین، ۲٪ از ۱۵۰۰ میلیون هکتار اراضی کشاورزی در مناطق خشک، تحت تأثیر شوری هستند. علاوه‌براین، ۲۰٪ از ۲۳۰ میلیون هکتار اراضی کشاورزی تحت آبیاری هم درگیر مسئله شوری شده‌اند (Munns, 2005). آبیاری به دلیل آن‌که نمک‌های محلول را به سطح خاک می‌آورد، باعث افزایش مشکل شوری خاک می‌گردد. تاریخ نشان می‌دهد شماری از تمدن‌ها به دلیل شوری ناشی از آبیاری زمین‌های کشاورزی نابود شده‌اند، به عنوان مثال تمدن باستانی میان‌رودان (که امروزه در کشور عراق قرار دارد) حدود ۴۴۰۰-۳۷۰۰ سال پیش به دلیل کاهش محصول ناشی از شوری، افول

کرد. اسناد کشاورزی تمدن سومر نشان می‌دهد که محصول زراعی از گندم (حساس به شوری) به جو (متحمل به شوری) تغییر داده شد و متعاقباً عملکرد جو هم به دلیل شوری خاک کاهش یافت. فرهنگ پرویی دره ویرو^۱ که ۱۲۰۰ سال پیش به اوج شکوه خود رسیده بود، مجبور به عقب‌نشینی به کوهستان شد، زیرا اراضی کشاورزی دچار شوری شده بودند (Jacobsen and Adams, 1958; Pearce, 1987).

آبیاری بدون استفاده از سیستم‌های مدیریت خاک، منجر به شوری اراضی کشاورزی می‌شود. این فرایند به دنبال تجمع نمک‌های محلول در آب مانند سدیم، کلسیم، منیزیم و پتاسیم (معمولاً در ترکیب با کلریدها و سولفات‌ها) رخ می‌دهد که ناشی از تبخیر آب خاک از طریق فرایندهای تبخیر و تعرق می‌باشد. علاوه‌براین، حضور بیش از حد سدیم^۲ باعث تخریب خاک‌دانه‌های خاک شده که در نتیجه باعث جلوگیری از حرکت آب و رشد ریشه گیاه می‌گردد. محیط‌های شور عموماً به دو دسته خشک و تر گروه‌بندی می‌گردند. زیستگاه‌های شور و مرطوب، معمولاً در مناطق ساحلی وجود داشته و شامل باتلاق‌های نمکی هستند. از آنجایی که این مناطق در مجاورت دریاها قرار دارند، در معرض سیلاب‌های دوره‌ای قرار داشته و در نتیجه شوری آن‌ها در زمان‌های مختلف، متفاوت است. زیستگاه‌های خشک و شور، عموماً در مناطق داخلی وجود داشته و در مجاورت بیابان‌ها و صحراها قرار دارند (Tal, 1985; Neumann, 1997; Flowers, 2004). انواع دیگر محیط‌های شور شامل تپه‌های شنی ساحلی (که اسپری مداوم آب شور دریا روی آن‌ها موجب شوری خاک می‌شود) و دریاچه‌های خشک نمکی است. ویژگی مشترک محیط‌های نمکی، شوری خاک و / یا منابع آب مربوط به آن‌ها و نیز حیوانات و گیاهان تخصص‌یافته برای این شرایط می‌باشد. فراوان‌ترین نمک‌های موجود در خاک شور شامل کلرید سدیم (NaCl) و سولفات سدیم (Na₂SO₄) می‌باشند که ممکن است همراه با نمک‌های منیزیم (Mg) باشند.

سیستم‌های آبیاری پایدار معمولاً دارای یک یا چند نوع مکانیزم برای شستشوی خاک و زه‌کش برای خروج آب‌های زائد و شور می‌باشند. شستشوی خاک معمولاً از طریق بارش‌های طبیعی و یا آبیاری با آب شیرین و به‌دنبال آن خروج آب زائد با استفاده از زه‌کشی مصنوعی،

1. Viru Valley

2. Sodicity

صورت می‌گیرد. پروژه‌های زه‌کشی ممکن است محدود به جوامع کشاورزی کوچک بوده و یا شامل سازه‌های عظیم مهندسی (مانند پروژه زه‌کشی ساحل غربی رود سند پاکستان) باشد (Khan et al., 2014). علاوه‌براین، سیستم کاشت گیاهان هم باید به گونه‌ای باشد که از مزایای شرایط فصلی حداکثر استفاده را بنماید، به عنوان مثال، استفاده از باران‌های موسمی برای خارج کردن شوری خاک و یا کشت گیاهان زودرس برای اجتناب از دوره‌های شوری بالا.

با افزایش روزافزون جمعیت بشر، تقاضا برای تأمین غذا هم بیشتر می‌شود. در حال حاضر، بهترین زمین‌های موجود به کشت محصولات کشاورزی اختصاص دارند و لذا زمین‌های حاشیه‌ای (از جمله زمین‌های شور) باید برای گسترش کشاورزی مورد استفاده قرار بگیرند. متأسفانه اکثر گیاهان زراعی (گلیکوفیت‌ها) به شوری حساس هستند. بنابراین، شوری یک محدودکننده عمده برای گسترش تولید محصولات کشاورزی در سراسر دنیا است.

۱-۲- زیست‌شناسی تحمل به شوری

گیاهان متحمل به شوری در بسیاری از زیرشاخه‌های گیاهان تکامل یافته‌اند. آرونسون و وایت‌هد (۱۹۸۹) بیش از ۱۰۰ خانواده گیاهی که دارای گونه‌های متحمل به شوری هستند را گزارش نمودند (Aronson and Whitehead, 1989). اکثر خانواده‌های گیاهی دارای تعداد محدودی گونه هالوفیت هستند، اما اسفناجیان (Chenopodiaceae) دارای بیش از ۳۵۰ گونه متحمل به شوری می‌باشند. پیشنهاد شده است که تحمل به شوری در بسیاری از گیاهان عالی، نتیجه سازگاری آن‌ها در نواحی نزدیک به دریا (مصب رودخانه‌ها) و سپس گسترش آن‌ها به مناطق داخلی‌تر است (O'leary and Glenn, 1994). بیشتر از ۳۰٪ خانواده‌های گیاهی دارای اعضای هالوفیت می‌باشند (در حدود ۲۵۰۰ گونه) که اکثر آن‌ها در مرداب‌های آب شور و بیابان‌ها یافت می‌شوند (Glenn et al., 1997).

گیاهان شورپسند (هالوفیت‌ها)^۱، گیاهانی هستند که توانایی تحمل شوری بالای خاک را داشته و می‌توانند مقادیر بالایی از سدیم و کلر را در خود جمع کنند؛ از سوی دیگر

گلیکوفیت‌ها^۱ گیاهانی هستند که تحمل کمی به مقادیر بالای شوری در محیط ریشه نشان می‌دهند و توانایی انباشت مقادیر بالای نمک در بافت‌ها و اندام‌های خود را ندارند. گیاهان بسیار شورپسند مانند *Salicornia europaea* و *Suaeda maritima* توانایی تحمل شوری آب، حتی در مقایری بیشتر از شوری آب دریاها را دارند، در حالی که گلیکوفیت‌ها نمی‌توانند شوری بیشتر از ۱۰٪ شوری آب دریا را تحمل کنند.

به طور کلی سه فرایند فیزیولوژیکی توسط گیاهانی که در محیط‌های شور رشد می‌کنند، به کار گرفته می‌شود: (۱) تنظیم اسمزی، (۲) دفع یونی و (۳) تحمل بافت به یون‌های انباشته‌شده. کاهش رشد گیاه، اولین نشانه تأثیر شوری بر گیاه می‌باشد (Munns, 1993)، که شامل دو مرحله از پاسخ است: (۱) واکنش سریع به افزایش فشار اسمزی خارجی (فاز اسمزی)، که به محض افزایش غلظت نمک در اطراف ریشه به سطح آستانه (حدود mM ۴۰ NaCl برای اکثر گیاهان) شروع می‌شود و (۲) واکنش کندتر که شامل انباشت یون‌های مضر در برگ‌ها (فاز یونی) است. هنگامی که میزان مرگ و میر برگ‌های قدیمی بیشتر از تولید برگ‌های جدید باشد، ظرفیت فتوسنتزی در حالت بهینه نبوده و نرخ رشد گیاه کاهش می‌یابد (Munns and Tester, 2008).

تنوع ژنتیکی برای هر سه مکانیسم اصلی تنش شوری (تنش اسمزی، دفع یونی و تحمل بافتی) و اجزای آن‌ها (انتقال یون، سمیت و غیره) در گیاهان وجود دارد. همچنین تنوع ژنتیکی را می‌توان بین گونه‌ها مشاهده کرد. این خبر خوبی برای به‌نژادگران گیاهی است که می‌توانند ویژگی‌های تحمل به شوری را از طریق تلاقی‌های عادی و یا بین گونه‌ای به گیاه هدف انتقال دهند.

۳- روش ارزیابی

واکنش‌های رشدی گیاهان به تنش شوری بسته به مرحله رشدی گیاه متفاوت است؛ مراحل بحرانی حساسیت گیاه به شوری شامل جوانه‌زنی، استقرار گیاهچه و گلدهی می‌باشد (Ashraf and Waheed, 1990; Flowers, 2004). معیارهای ارزیابی و غربال‌گری تحمل به شوری در گیاهان، بسته به سطح، مدت زمان تنش شوری و مرحله رشدی گیاه متفاوت است (Shannon, 1985; Neumann, 1997). به طور کلی، تحمل به تنش شوری از نظر تولید زیست‌توده یا عملکرد در مقایسه با شرایط بدون تنش ارزیابی می‌شود. در شرایط شوری کم تا متوسط، ظرفیت تولید ژنوتیپ اغلب معیار مناسبی است، در حالی که در سطوح شوری نسبتاً بالا از فاکتور توانایی بقا استفاده می‌شود (Epstein et al., 1980). مکانیزم‌های فیزیولوژیکی که نقش اصلی را در حفظ پایداری تولید یک ژنوتیپ بازی می‌کنند، با مکانیزم‌هایی که باعث تحمل به غلظت بالای نمک می‌شوند متفاوتند. ژنوتیپ‌ها معمولاً بر اساس مشاهدات فنوتیپی ارزیابی می‌شوند. پارامترهای انتخاب فنوتیپی شامل موارد ذیل می‌باشند:

(الف) جوانه‌زنی

آزمون‌های جوانه‌زنی به آسانی قابل انجام هستند و ممکن است در مکان‌هایی که محصولات کشاورزی تحت شرایط شوری جوانه زده و استقرار می‌یابند، مهم باشد. هرچند جوانه‌زنی در شرایط شور غالباً با تحمل به تنش شوری در سایر مراحل رشدی گیاه ارتباط ندارد (Dewey, 1962; Shannon, 1985; Flowers, 2004).

(ب) بقای گیاه

انتخاب بر اساس بقای گیاه در غلظت‌های بالای شوری به عنوان معیار انتخاب برای گوجه‌فرنگی، جو و گندم پیشنهاد شده است (Rush and Epstein, 1976; Epstein and Norlyn, 1977). توانایی یک ژنوتیپ برای زنده ماندن و کامل کردن چرخه زندگی‌اش در شرایط شوری بالا، صرف‌نظر از عملکرد آن در سطوح شوری متوسط، به صورت مطلق قابل بررسی است.

(ج) آسیب برگ‌ی

از آنجایی که اکثر محصولات کشاورزی گل‌یکوفیت هستند، توانایی محدود کردن انتقال بالای یون‌های سمی نمک از ریشه‌ها به برگ‌ها و شاخه‌ها را ندارند. بنابراین آسیب شوری به سرعت با علائم سفیدی و نکروزه شدن برگ‌ها قابل مشاهده خواهد بود. بنابراین، غربال‌گری برای تحمل به شوری بر اساس آسیب برگ بسیار معمول است (Richards et al., 1987; Gregorio et al., 1997).

(د) زیست‌توده و عملکرد

برای اصلاح‌گران نبات، عملکرد و زیست‌توده فاکتورهایی غیرقابل چشم‌پوشی در ارزیابی تحمل به تنش شوری هستند (Richards et al., 1987). با این حال این پارامترها، هیچ اطلاعاتی در مورد مکانیزم‌های فیزیولوژیکی در اختیار ما قرار نمی‌دهند. در گذشته، اصلاح‌گران نبات علاقه‌ای به مطالعه مکانیزم‌های فیزیولوژیکی نداشتند و صرفاً تحمل یک ژنوتیپ برایشان کفایت می‌نمود و مطالعات مکانیزم‌های فیزیولوژیکی به عنوان موضوعی دانشگاهی تلقی می‌شد. با این حال، با ظهور مطالعات عملکرد ژن، این دیدگاه در حال تغییر است.

(ه) مکانیزم‌های فیزیولوژیکی

مکانیزم‌های فیزیولوژیکی که باعث تحمل به شوری می‌شوند، ممکن است برای غربال‌گری قابل استفاده باشند. این امر شامل اندازه‌گیری محتوای سدیم بافت، تبعیض یون^۱ و تنظیم اسمزی می‌باشد. جایگزینی مانند تبعیض ایزوتوپ کربن ($\delta^{13}\text{C}$) که یک شاخص عمومی برای نشان دادن تنش در گیاهان است، هم ممکن است استفاده گردد (Flowers and Yeo, 1981; Pakniyat et al., 1997).

1. Ion discrimination

۴-۱- اصلاح برای تحمل به تنش شوری

۴-۱-۱ اصلاح کلاسیک

سوبارنو و جانسون (۱۹۹۴) (Subbarao and Johansen, 1991) ملاحظات کاربردی زیر را در ابتدای شروع یک برنامه اصلاح نباتات پیشنهاد نمودند:

- ۱- محیط هدف را تعیین کنید.
 - ۲- سطح بهبود لازم را تعیین کنید.
 - ۳- پاسخ مرحله رشدی را تعیین کنید.
 - ۴- روش غربالگری را انتخاب کنید.
 - ۵- معیارهای انتخاب را تعیین کنید.
 - ۶- ارزیابی تنوع ژنتیکی برای ویژگی‌های مختلف مورد توجه قرار گیرد که ممکن است نقش کاربردی در بهبود تحمل به شوری داشته باشد.
 - ۷- منابع ژنتیکی را برای مؤلفه‌های مختلف (صفات) تحمل شوری تعیین کنید.
 - ۸- تعیین مبنای ژنتیکی برای صفات مورد بررسی و تخمین وراثت‌پذیری آن‌ها.
 - ۹- برنامه‌های به‌نژادی را آغاز کنید و صفات مختلفی را از منابع مختلف به یک ژرم‌پلاسم انعطاف‌پذیر محلی انتقال دهید تا بتوانید یک رقم متحمل به شوری را توسعه دهید.
 - ۱۰- ژنوتیپ‌های انتخاب شده را در نقاط هدف بررسی کنید، بدین منظور از دامنه‌ای از خاک‌های شور برای ارزیابی سازگاری بالقوه ژنوتیپ‌ها به عنوان ارقام جدید استفاده کنید.
- به عنوان مقایسه، فلاورز و یئو (۱۹۹۵) پنج استراتژی ذیل را برای توسعه گیاهان متحمل به شوری پیشنهاد نمودند:

- ۱- توسعه گونه‌های طبیعی متحمل به تنش (هالوفیت‌ها) به عنوان گیاهان جایگزین
- ۲- استفاده از هیبریداسیون بین‌گونه‌ای برای بالابردن تحمل گیاهان زراعی کنونی به تنش شوری

- ۳- استفاده از تنوع ژنتیکی موجود در خزانه ژنی گیاهان زراعی
- ۴- ایجاد تنوع در داخل گیاهان زراعی موجود از طریق روش‌هایی چون انتخاب دوره‌ای، القای جهش و یا کشت بافت

- ۵- اصلاح برای عملکرد به جای تحمل به تنش

استفاده از روش‌های مرسوم اصلاح‌نباتات از طریق تلاقی برای تحمل به تنش شوری، موفقیت‌های کمی داشته است. عمده این مشکل بدین دلیل است که منابع تحمل به تنش شوری در خزانه ژنی اولیه مواد اصلاحی وجود ندارد. برای بسیاری از گیاهان، صفات تحمل به تنش شوری در خزانه ثانویه ژنی (درون گونه) هم وجود ندارد و محقق مجبور است برای بعضی از گیاهان، از تلاقی بین‌گونه‌ای و یا بین جنسی استفاده کند که شامل تلاقی با گونه‌های وحشی هم می‌شود. به عنوان نتیجه، تنوع ژنتیکی جدید باید ایجاد شود.

۱-۴-۲- القای جهش در اصلاح برای تحمل به تنش شوری

القای جهش یکی از راه‌های افزایش تنوع در گیاهان است. القای جهش می‌تواند تنها در عرض چند دقیقه توسط تابش اشعه گاما و یا پرتو X بر روی بافت‌های گیاهی (غالباً بذر) صورت پذیرد. علاوه‌براین، جهش از طریق کاربرد مواد موتاسیون‌زای شیمیایی هم به آسانی القا می‌شود. تشخیص جهش‌هایی که دارای تنوع مطلوب مورد نظر هستند، معمولاً بسیار وقت‌گیر بوده و شامل غربال‌گری فنوتیپی (پاسخ به شوری) یا ژنوتیپی (جستجو برای یافتن تغییرات در ژن‌های هدف) هزاران نمونه می‌باشد. غربال‌گری برای یافتن جهش‌های مطلوب یک تنگنای عمده در اصلاح گیاهان است.

هنگامی که یک جهش مناسب یافت می‌شود، می‌توان آن را مستقیماً وارد برنامه‌های اصلاحی نمود، هرچند معمول است که بعضی برنامه‌های اولیه برای تمیز کردن^۱ زمینه ژنتیکی لاین‌های جهش‌یافته، پیش از ورود به برنامه‌های اصلاحی انجام شود. همچنین نشانگرهای مولکولی مختلف برای افزایش کارایی برنامه‌های اصلاحی در قالب "انتخاب به کمک نشانگر" می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد.

1. clean up

۱-۵- ضرورت تکنیک‌های قابل اعتماد غربالگری برای انتخاب پیش‌مزرعه‌ای

خاک‌های متأثر از شوری را می‌توان به سه دسته تقسیم کرد: (۱) نمکی، (۲) سدیمی و (۳) شور و سدیمی. شوری خاک می‌تواند آب قابل دسترس گیاه را کاهش داده و اثرات سمی روی بعضی فرایندهای خاص گیاه ایجاد کند. اندازه‌گیری شوری خاک مشکل است زیرا برای تجزیه و تحلیل اثرات شوری بر روی رشد گیاه، خاک باید در زمان‌ها و مکان‌های گوناگون نمونه‌برداری شود. تعداد بسیار زیادی نمونه گرفته شود و نمونه‌ها باید همه تغییرات را پوشش دهند. به طور کلی نمونه‌برداری خاک نیاز به زمان و تلاش زیادی دارد.

تحمل به تنش‌های غیرزیستی، به ویژه تنش شوری به دلیل تنوع حساسیت گیاه در مراحل مختلف چرخه زندگی پیچیده است. برنج گیاهی نسبتاً متحمل به شوری در مراحل جوانه‌زنی، پنجه‌زنی (رشد رویشی) و مراحل انتهایی رسیدن است، اما در مراحل استقرار گیاهچه و مرحله زایشی حساس می‌باشد. غربال‌گری در مراحل ابتدایی رشد (۴-۲ هفته‌گی) راحت‌تر از مرحله گلدهی است، زیرا (۱) سریع بوده و (۲) گیاهچه‌ها به فضای کمتری نیازمندند، (۳) گیاهچه‌های متحمل ممکن است برای تولید بذر بازیابی شوند و (۴) بررسی گیاهچه‌ها با توجه به هزینه و زمان، کارایی بالاتری دارد. غربال‌گری گیاهچه‌ها امکان انتخاب اولیه جهش‌یافته‌های منفرد، جمعیت‌های جهش‌یافته، لاین‌های اصلاحی و ارقام را پیش از آزمون‌های مقیاس بزرگ مزرعه‌ای فراهم می‌کند.

آزمون ارزیابی جوانه‌های برنج که در این کتاب ارائه شده است، در همکاری با موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج طراحی گردیده است. این روش برای غربال‌گری از یک ژنوتیپ جهش‌یافته تا جمعیت‌های بزرگ موتانت قابل استفاده است. سیستم هیدروپونیک با استفاده از تانک‌ها (مخزن‌های) پلاستیکی (PVC)^۱ و فوم‌های بزرگ راه‌اندازی می‌شود، هرچند مشکلاتی مانند شکنندگی فوم‌ها و رشد جلبک‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها در گذر زمان وجود دارد. ظروف PVC، به راحتی قابل شست‌وشو بوده و نگهداری آسانی دارند و می‌توانند برای صدها گیاهچه مورد استفاده قرار بگیرند. این ارزیابی سریع بوده و در ۴-۶ هفته به انجام می‌رسد. برای گیاه برنج از سیستم ساده بدون هوادهی استفاده می‌شود، اما برای گیاهچه‌های گندم و جو، هوادهی لازم می‌باشد.

1. Polyvinyl chloride

منابع

- Aronson, J.A., Whitehead, E.E., 1989. HALOPH: a data base of salt tolerant plants of the world.
- Ashraf, M., Waheed, A., 1990. Screening of local/exotic accessions of lentil (*Lens culinaris Medic.*) for salt tolerance at two growth stages. *Plant and Soil* 128, 167-176.
- Dewey, D.R., 1962. Breeding Crested Wheatgrass for Salt Tolerance 1. *Crop Science* 2, 403-407.
- Epstein, E., Norlyn, J., 1977. Seawater-based crop production: a feasibility study. *Science* 197, 249-251.
- Epstein, E., Norlyn, J.D., Rush, D.W., Kingsbury, R.W., Kelley, D.B., Cunningham, G.A., Wrona, A.F., 1980. Saline culture of crops: a genetic approach. *Science* 210, 399-404.
- Flowers, T., 2004. Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental botany* 55, 307-319.
- Flowers, T., Yeo, A., 1981. Variability in the resistance of sodium chloride salinity within rice (*Oryza sativa L.*) varieties. *New Phytologist* 88, 363-373.
- Flowers, T., Yeo, A., 1995. Breeding for salinity resistance in crop plants: where next? *Functional Plant Biology* 22, 875-884.
- Glenn, E.P., Brown, J., Khan, M.J., 1997. Mechanisms of salt tolerance in higher plants. The university of Arizona.
- Gregorio, G.B., Senadhira, D., Mendoza, R.D., 1997. Screening rice for salinity tolerance. IRRI discussion paper series.
- Jacobsen, T., Adams, R.M., 1958. Salt and silt in ancient Mesopotamian agriculture. *Science* 128, 1251-1258.
- Khan, M.Z., Jabeen, T., Ghalib, S.A., Siddiqui, S., Alvi, M.S., Khan, I.S., Yasmeen, G., Zehra, A., Tabbassum, F., Hussain, B., 2014. Effect of right bank outfall drain (RBOD) on biodiversity of the wetlands of Haleji wetland complex, Sindh. *Canadian Journal of Pure and Applied Sciences* 8, 2871-2900.
- Munns, R., 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment* 16, 15-24.
- Munns, R., 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New phytologist* 167, 645-663.
- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59, 651-681.
- Neumann, P., 1997. Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant, Cell and Environment* 20, 1193-1198.
- O'leary, J.W., Glenn, E.P., 1994. Global distribution and potential for halophytes. *Halophytes as a Resource for Livestock and for Rehabilitation of Degraded Lands*. Springer, pp. 7-17.
- Pakniyat, H., Handley, L., Thomas, W., Connolly, T., Macaulay, M., Caligari,

P., Forster, B., 1997. Comparison of shoot dry weight, Na⁺ content and $\delta^{13}\text{C}$ values of ari-e and other semi-dwarf barley mutants under salt-stress. *Euphytica* 94, 7-14.

Pearce, F., 1987. Banishing the salt of the earth. *New Scientist* 114, 53-56.

Richards, R., Dennett, C., Qualset, C., Epstein, E., Norlyn, J., Winslow, M., 1987. Variation in yield of grain and biomass in wheat, barley, and triticale in a salt-affected field. *Field Crops Research* 15, 277-287.

Rush, D.W., Epstein, E., 1976. Genotypic responses to salinity: differences between salt-sensitive and salt-tolerant genotypes of the tomato. *Plant Physiology* 57, 162-166.

Shannon, M., 1985. Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. *Biosalinity in Action: Bioproduction with Saline Water*. Springer, pp. 227-241.

Subbarao, G., Johansen, C., 1991. Potential for genetic improvement in salinity tolerance in legumes: Pigeon pea.

Tal, M., 1985. Genetics of salt tolerance in higher plants: theoretical and practical considerations. *Biosalinity in Action: Bioproduction with Saline Water*. Springer, pp. 199-226.



فصل دوم

اهداف

چکیده

شوری بر خاک، آب و گیاهان تأثیر می‌گذارد. تعیین دقیق میزان شوری خاک برای تصمیم‌گیری پیرامون انتخاب بهترین سیستم زراعی لازم می‌باشد. همچنین میزان تحمل گیاهان به شوری، باید با شرایط رشد و نمو گیاه منطبق باشد. بنابراین دستورالعمل‌هایی برای تعیین شوری خاک و ارزیابی تحمل گیاهان زراعی لازم می‌باشد.

۱-۲- پایش شوری مزرعه

شوری خاک بر هر دو مؤلفه آب در دسترس و فرایند رشدی گیاه تأثیر می‌گذارد. شوری به حضور یک یا چند یون غیرآلی محلول در خاک مانند Na^+ ، Mg^{2+} ، Ca^{2+} ، K^+ ، SO_4^{2-} ، HCO_3^- ، NO_3^- و CO_3^{2-} اطلاق می‌شود. پایش شوری خاک و تهیه نقشه‌های شوری از اولویت‌های لازم برای مدیریت مناسب زمین‌های متأثر از شوری و تولید محصول از ارقام متحمل می‌باشد.

۲-۲- ارزیابی تحمل به شوری

هدف از این بخش نشان‌دادن روشی برای غربال‌گری لاین‌های متحمل به شوری برنج، گندم و جو برای استفاده در برنامه‌های به‌نژادی می‌باشد. همچنین غربال‌گری برای دسته‌بندی و مقایسه میان ژنوتیپ‌های یک ژرم‌پلاسِم به کار می‌رود. بررسی‌های گسترده‌ای در آزمایشگاه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی سازمان بین‌المللی انرژی اتمی^۱ با استفاده از ژنوتیپ‌های شناخته‌شده حساس و متحمل به شوری گیاه برنج در شرایط مزرعه انجام شده است. بر این اساس مشخص شده است که میان شرایط مزرعه و کشت هیدروپونیک برای تحمل به شوری، همبستگی وجود دارد. بنابراین، می‌توان انتظار داشت که روش ارزیابی ارائه

1. IAEA's Plant Breeding and Genetics Laboratory

شده در اینجا برای غربال‌گری ارقام متحمل در شرایط مزرعه هم قابل تعمیم باشد.

۲-۳- مزایا و معایب غربال‌گری در مرحله گیاهچه‌ای

دستورالعمل‌های این کتاب از گیاهچه به عنوان مواد آزمایشی استفاده می‌کند. تحمل به شوری در مرحله گیاهچه‌ای دارای همبستگی با عملکرد مزرعه‌ای است (Zeng et al., 2003) که یک نمونه نیز در فصل چهارم ارائه گردیده است. انتخاب براساس زنده‌ماندن گیاهان در غلظت‌های بالای نمک به عنوان معیار انتخاب در چندین گونه زراعی پیشنهاد شده است (Rush and Epstein, 1976; Epstein and Norlyn, 1977)، هرچند غربال‌گری گیاهچه‌ای صرفاً یک پیش‌ارزیابی است و لاین‌های کاندید باید عملکرد خود را در شرایط تنش و در مزرعه نشان دهند. زمان گلدهی جزو مراحل حساس رشدی گیاه است و در این پروتکل‌ها بررسی نخواهد شد. با این حال سیستم هیدروپونیک برای آزمون گیاهان در مراحل رشدی‌شان از جمله گلدهی و بلوغ دانه هم قابل استفاده است. مزایا و معایب غربال‌گری در محیط هیدروپونیک و برای تحمل به تنش شوری در جدول ۱-۲ ذکر شده است.

جدول ۱-۲، معایب و مزایای اعمال تنش شوری در کشت هیدروپونیک	
مزایا	معایب
ارزان، سریع و ساده	نیاز به مراقبت مستمر و نگهداری دارد (محلول محیط کشت باید هر دو روز یکبار پر شود)
طبقه‌بندی شفاف به گروه‌های حساس، متحمل و با تحمل متوسط	محلول‌ها باید تغییر داده شوند و در نتیجه به استوک کافی از مواد شیمیایی لازم است
ارزیابی با کارایی بالا	نیازمند شرایط رشد با کیفیت بالا است
تکنیک انتخاب برای جهش‌یافته‌های بالقوه	به بذور همگن و با کیفیت بالا نیاز است
قابلیت استفاده مجدد از تجهیزات	
یکنواختی بیشتر در مقایسه با غربال‌گری تحمل به شوری در خاک	

ارزیابی گیاهچه‌های نسل M_3 و یا جمعیت‌های پیشرفته‌تر، کارایی بالاتری دارد. می‌توان آزمایشات را با جمعیت M_2 هم انجام داد که دارای مزیت اندازه کوچک‌تر جمعیت در مقایسه

با نسل‌های پیشرفته‌تر است، اما ریسک از دست رفتن جهش‌های نادر تحمل به شوری در اثر عواملی چون اشتباهات تصادفی وجود دارد. در حالی که در نسل M_3 و نسل‌های بعدی، درجه‌ای از تکرار ژنوتیپ‌های دارای یک جهش خاص وجود دارد که می‌تواند ریسک کار را کاهش دهد.

آزمایشات تحمل به شوری ذکر شده در این کتاب، ساده بوده و صرفاً پاسخ گیاه به تنش شوری را نشان می‌دهند و شامل درک مکانیزم‌های پیچیده فیزیولوژیکی نمی‌شوند. جنبه‌های فیزیولوژیکی تحمل به تنش شوری در منابع زیر ذکر شده‌اند:

- واکنش رشدی گیاه در مراحل مختلف چرخه زندگی (جوانه‌زنی تا بلوغ) (Dewey, 1962; Shannon, 1985; Ashraf and Waheed, 1990; Flowers, 2004)
- معیارهای اندازه‌گیری تنش شوری (Epstein et al., 1980; Shannon, 1985; Neumann, 1997)
- اثرات شوری روی گیاهان و مکانیزم‌های تحمل به شوری (Munns and Tester, 2008)

منابع

- Ashraf, M., Waheed, A., 1990. Screening of local/exotic accessions of lentil (*Lens culinaris* Medic.) for salt tolerance at two growth stages. *Plant and Soil* 128, 167-176.
- Dewey, D.R., 1962. Breeding Crested Wheatgrass for Salt Tolerance 1. *Crop Science* 2,403-407.
- Epstein, E., Norlyn, J., 1977. Seawater-based crop production: a feasibility study. *Science* 197, 249-251.
- Epstein, E., Norlyn, J.D., Rush, D.W., Kingsbury, R.W., Kelley, D.B., Cunningham, G.A., Wrona, A.F., 1980. Saline culture of crops: a genetic approach. *Science* 210, 399-404.
- Flowers, T., 2004. Improving crop salt tolerance. *Journal of Experimental botany* 55, 307-319.
- Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59, 651-681.
- Neumann, P., 1997. Salinity resistance and plant growth revisited. *Plant, Cell and Environment* 20, 1193-1198.
- Rush, D.W., Epstein, E., 1976. Genotypic responses to salinity: differences between salt-sensitive and salt-tolerant genotypes of the tomato. *Plant Physiology* 57,162-166.
- Shannon, M., 1985. Principles and strategies in breeding for higher salt tolerance. *Biosalinity in Action: Bioproduction with Saline Water*. Springer, pp. 227-241.
- Zeng, L., Poss, J.A., Wilson, C., Draz, A.-S.E., Gregorio, G.B., Grieve, C.M., 2003. Evaluation of salt tolerance in rice genotypes by physiological characters. *Euphytica* 129, 281-292.



فصل سوم

دستور العمل اندازه گیری شوری خاک

چکیده

این فصل شامل یک دستورالعمل ساده برای آزمایش شوری خاک است. نمک‌های محلول در خاک، از نمونه‌های خاک استخراج شده و محتوای نمک خاک اندازه‌گیری می‌شود. ارزیابی دقیق مزرعه نیازمند نمونه‌برداری از نقاط مختلف و با عمق‌های گوناگون در طول زمان دوره رشد محصول است. ابزارها و معرف‌ها برای استخراج آب خاک و اندازه‌گیری نمک آن، لیست شده‌اند. دو دستورالعمل برای اندازه‌گیری محتوای نمک ارائه شده است، از طریق وزن و هدایت الکتریکی.

۳-۱- پیش‌زمینه

اندازه‌گیری محتوای نمک خاک برای مطالعات تحمل به تنش شوری بسیار مهم است. متداول‌ترین روش، یک آزمون ساده مزرعه‌ای است. به منظور کاهش خطای آزمایش ناشی از تفاوت وضعیت خاک در قسمت‌های مختلف مزرعه، نمونه‌برداری متعدد و تکرار چندباره آزمایشات لازم می‌باشد. نمونه‌های خاک باید از لایه‌های گوناگون خاک در عمق‌های متفاوت، بسته به رشد ریشه گیاه هدف برداشته شوند. برای گیاهان دارای ریشه عمیق، نمونه‌ها از لایه‌های مختلف با عمق‌های ۰-۵ cm، ۵-۱۰ cm، ۱۰-۲۰ cm، ۲۰-۴۰ cm، ۴۰-۶۰ cm، متناوباً تا عمق یک متری خاک نیاز است. نمونه‌های لایه‌های مختلف باید به طور یکنواخت با هم مخلوط شوند. برای گیاهان دارای ریشه سطحی، نمونه خاک باید تا عمق حدود ۶۰ cm برداشته شود. محتوای نمک خاک‌های شور ماهیتی پویا دارد و در زمان و مکان‌های مختلف به صورت ناهمگن مشاهده می‌شود. حتی در طول سال‌ها و ماه‌ها و گاهی روزانه مقدار آن تغییر می‌کند. با توجه به شرایط فصلی و آب و هوایی، زمان نمونه‌برداری باید در بهار و تابستان (که نمک‌های خاک به حالت انباشته شده هستند) و پاییز و زمستان (که به حالت محلول در آب وجود دارند) باشد. همچنین فصل رشد، زمان بذریابی، توسعه

جوانه‌ها، گلدهی و برداشت نیز باید در نظر گرفته شوند، زیرا بعضی مراحل رشدی گیاه حساسیت بیشتری به تنش شوری دارند که البته در گیاهان مختلف متفاوت است. داده‌های جمع‌آوری شده در سالیان متفاوت هم در ارزیابی روند شوری خاک مفید است.

خاک‌های شور دارای محتوای نمک قابل حل زیادی هستند. اندازه‌گیری نمک‌های محلول در آب شامل دو مرحله اصلی است: (۱) تهیه نمونه محلول بر اساس نسبت اختصاصی آب/خاک و (۲) ارزیابی غلظت شوری خاک و اجزای یونی در نمونه خاک. به طور کلی مطالعاتی که در زمینه تغییرات دینامیکی آب و محتوای نمک خاک انجام می‌شوند از نسبت ۵:۱ برای آب/خاک استفاده می‌کنند، در حالی که از نسبت ۱:۱ آب/خاک برای ارزیابی خاک‌های قلیایی استفاده می‌شود. روش استخراج خاک اشباع شده به ندرت مورد استفاده قرار می‌گیرد زیرا اجرای این روش خسته‌کننده است و تعیین دقیق نقطه اشباع آن دشوار می‌باشد. نمونه محلول آزمایشات این فصل با عصاره ۵:۱ آب/خاک انجام می‌گیرد.

۳-۲- تجهیزات و معرف‌ها

تجهیزات: شیکر، ترازوی با دقت یک کیلوگرم، قیف بوخنر^۱، پمپ خلاء، سانتریفیوژ (۴۰۰۰ دور در دقیقه)، بطری استخراج گاز معرف: ۱٪ NaPO₃

۳-۳- آماده‌سازی عصاره ۵:۱ آب/خاک

صد گرم خاک مزرعه خشک شده با هوا که از غربال ۱ mm عبور داده شده است را در یک فلاسک ارلن‌مایر^۲ قرار دهید. پانصد میلی‌لیتر آب مقطر بدون CO₂ به آن اضافه کنید (برای بدست آوردن نسبت ۵:۱ آب/خاک). دهانه فلاسک را با درپوش پلاستیکی بسته و آن را بر روی شیکر گذاشته و به مدت ۳ دقیقه تکان دهید. بلافاصله بعد از آن، با استفاده از یک پمپ خلاء، نمونه را از قیف بوخنر عبور دهید. مایع حاصل را در یک ارلن‌مایر ۵۰۰ ml جمع کنید. به ازای هر ۲۵ ml از محلول، یه قطره معرف: ۱٪ NaPO₃ • اضافه نمایید.

1. Buchner funnel
2. Erlenmeyer flask

۳-۴- آماده‌سازی عصاره ۱:۱ آب/خاک

یک نمونه خاک مزرعه خشک شده و الک شده با غربال ۱ mm را وزن کنید. آن را در فلاسک ارلن‌مایر بریزید و به آن آب مقطر بدون دی‌اکسیدکربن با نسبت آب/خاک ۱:۱ اضافه کنید. بقیه مراحل مانند روش بالا (۳-۳) می‌باشد.

۳-۵- ملاحظات مهم

- زمانی که از عصاره با نسبت ۵:۱ استفاده می‌شود، به دلیل درصد بالای آب، آب هیگروسکوپیک خاک خشک را می‌توان نادیده گرفت. اما زمانی که از نسبت ۱:۱ استفاده می‌شود برای اجتناب از خطای آزمایش، باید میزان آب هیگروسکوپیک اندازه گرفته شود (در مقایسه با نسبت ۵:۱، آب هیگروسکوپیک خاک ممکن است بر نسبت آب به خاک نمونه ۱:۱ تأثیر بگذارد، بنابراین توصیه می‌شود از خاک کاملاً خشک شده با هوا استفاده شود).
- در فرآیند استخراج نمک‌های محلول در آب خاک، ۳ دقیقه تکان دادن برای حل کردن کلریدها، کربنات‌ها و سولفات‌های محلول در آب کافی است. با افزایش زمان تکان دادن، نمک‌های خنثی و نمک‌های نامحلول در آب نیز وارد عصاره شده و خطاهای بیشتری ایجاد می‌کنند.
- مقدار جزئی CO_2 هوا و همینطور CO_2 محلول در آب مقطر، بر حلالیت برخی نمک‌ها از جمله CaCO_3 ، CaSO_4 و MgSO_4 تأثیر می‌گذارد. در نتیجه، میزان نمک موجود در عصاره تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. بنابراین، آب مقطر فاقد CO_2 (CO_2 -free) باید در استخراج استفاده شود.
- زمان ماندگاری محلول‌های نمونه نباید از ۱ روز تجاوز کند.
- اضافه کردن مقدار کمی محلول NaPO_3 به عصاره خاک می‌تواند از تشکیل رسوب CaCO_3 هنگام نگهداری جلوگیری کند. اگرچه NaPO_3 اندکی غلظت Na^+ عصاره را افزایش می‌دهد، خطای ناشی از آن بسیار کمتر از خطای حاصل از رسوب CaCO_3 است.

۳-۶- اندازه‌گیری

روش‌های اصلی اندازه‌گیری کل نمک‌های محلول در آب یک نمونه خاک شامل روش وزنی (۱) و روش هدایت الکتریکی (۲) می‌باشد. داده‌های به دست آمده از روش وزنی قابل اعتمادند، اما این عمل خسته‌کننده و وقت‌گیر است. در عوض روش هدایت الکتریکی ساده است.

۳-۶-۱- روش وزنی

این روش مبتنی بر عصاره آبی یک نمونه خاک است. عصاره تبخیر می‌شود تا آب خود را از دست بدهد و سپس در دمای ۱۱۰-۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرد تا به وزن ثابت برسد. ماده باقی‌مانده حاصل، حاوی نمک و ماده آلی محلول در آب است. برای از بین بردن ماده آلی موجود از H_2O_2 استفاده می‌شود. در نتیجه، آنچه باقی می‌ماند کل نمک‌های محلول در آب خاک است.

۳-۶-۱-۱- ابزارها و معرف‌ها

ابزارها: ظرف تبخیر، حمام آب، خشک‌کن، آون خشک‌کن الکتروترمال، ترازوی دقیق.
معرف‌ها: $15H_2O_2\%$ و $2Na_2CO_3\%$

۳-۶-۱-۲- روش‌ها

مقدار ۵۰ میلی‌لیتر محلول را از نمونه خاک با وزن شناخته شده (w) برداشته و در یک ظرف تبخیر قرار داده و آن را وزن کنید (w_0). نمونه را در یک حمام آب قرار دهید تا با تبخیر، خشک شود و سپس در آون خشک‌کن الکتروترمال با دمای ۱۰۵ تا ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت قرار دهید تا کاملاً خشک شود. آنگاه از آون خارج کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در خشک‌کن قرار دهید، سپس با استفاده از ترازوی دقیق وزن کنید. نمونه را به مدت ۲ ساعت دیگر در آون خشک‌کن الکتروترمال قرار دهید، آنگاه نمونه را خنک کرده و دوباره وزن کنید. این مراحل را تا رسیدن به یک وزن ثابت (w_1) تکرار کنید. اختلاف وزن بین دو بار سنجش نباید بیشتر از ۱ میلی‌گرم باشد. وزن باقی‌مانده خشک‌شده را محاسبه کنید.

به صورت قطره قطره H_2O_2 ۱۵٪ را اضافه کنید تا باقی‌مانده مرطوب شود. سپس در یک حمام آب، با استفاده از تبخیر آن را خشک کنید. این عمل را تکرار کنید تا فقط ماده سفیدرنگی باقی بماند. طبق روشی که در بالا گفته شد، باقی‌مانده سفیدرنگ را تا حصول وزن ثابت (w_2) خشک کنید. محتویات کل نمک محلول در آب خاک را محاسبه کنید.

۳-۱-۶-۳- محاسبه کل نمک محلول در آب

$$\text{کل باقی‌مانده خشک} = (w_1 - w_0) / w \times 100\%$$

در اینجا w وزن نمونه خاکی است که عصاره استخراجی معادل آن است.

۳-۱-۶-۴- ملاحظات مهم

- میزان حجم مصرفی عصاره خاک با مقدار نمک خاک تعیین می‌شود. هنگامی که مقدار نمک خاک بیش از ۰/۵ درصد باشد، ۲۵ میلی‌لیتر استفاده کنید. وقتی مقدار نمک خاک کمتر از ۰/۵ درصد باشد، ۵۰ یا ۱۰۰ میلی‌لیتر استفاده شود. اطمینان حاصل کنید که مقدار نمک کل اندازه‌گیری شده بین ۰/۲ تا ۰/۲ گرم است.
- اگر باقی‌مانده دارای محتوای بالای $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ و $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ باشد، خشک کردن در دمای ۱۰۵ تا ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد نمی‌تواند آب موجود در کریستال‌های این نمک‌های هیدراته را به طور کامل حذف کند. در نتیجه، بدست آوردن وزن ثابت دشوار است. در چنین مواردی باید دمای خشک کردن تا ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد افزایش یابد.
- اگر مقادیر زیادی $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ و $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ در خاک وجود داشته باشد، حتی با خشک کردن در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد، نتیجه رضایت بخش حاصل نمی‌شود، زیرا این نمک‌ها با تمایل بالا آب جذب می‌کنند. در چنین مواردی، ابتدا ۱۰ میلی لیتر Na_2CO_3 ۲٪ اضافه کنید. این عامل باعث تولید نمک‌های NaCl ، Na_2SO_4 و MgCO_3 هنگام تبخیر برای خشک‌شدن می‌شود. مقدار Na_2CO_3 اضافه شده باید از نتیجه کل نمک محاسبه شده کسر شود.
- از آنجا که بسیاری از نمک‌ها آب را از هوا جذب می‌کنند، شرایط برای خنک شدن و توزین باید یکسان باشد.
- هنگام استفاده از H_2O_2 برای از بین بردن مواد آلی، باقی‌مانده فقط باید مرطوب

شود. مقدار زیاده از حد پراکسید هیدروژن باعث ایجاد کف بیش از حد می‌گردد، زیرا H_2O_2 ماده آلی را تجزیه می‌کند. این امر ممکن است باعث پاشیدن و از بین رفتن نمک شود. تیمار مکرر با مقادیر اندک H_2O_2 توصیه می‌شود.

۳-۶-۲- روش هدایت الکتریکی

نمک‌های محلول آب خاک به عنوان الکترولیت‌های قوی عمل می‌کنند. در نتیجه، محلول خاک دارای رسانایی قابل اندازه‌گیری است. هدایت الکتریکی، ظرفیت هدایت محلول خاک را منعکس می‌کند و در یک محدوده غلظت معین، محتوای نمک موجود در خاک با هدایت الکتریکی ارتباط مثبت دارد، اما نمی‌تواند اجزای ترکیب مخلوط نمک را مشخص کند. اگر نسبت نمک‌های مختلف موجود در محلول خاک نسبتاً ثابت باشد، غلظت نمک که با هدایت الکتریکی تعیین می‌شود بسیار دقیق است. روش هدایت الکتریکی روشی سریع و دقیق برای اندازه‌گیری میزان نمک خاک است. واحد SI هدایت الکتریکی، زیمنس بر متر^۱ (S/m) است.

۳-۶-۲-۱- ابزار مورد استفاده

هدایت سنج، دماسنج (۱ تا ۶۰ درجه سلسیوس).

۳-۶-۲-۲- روش کار

مقدار ۲۰-۳۰ میلی‌لیتر از محلول نمونه را که از مقدار مشخصی خاک تهیه شده است، به داخل یک بشر آزمایشگاهی منتقل کنید. دستگاه هدایت سنج را بر اساس دفترچه راهنمای کارخانه سازنده، آماده کار کنید. پس از پایدار شدن نشانگر، عدد هدایت الکتریکی (mS)، را قرائت کنید. هر ۱۰ دقیقه دمای محلول نمونه را اندازه بگیرید.

۳-۶-۲-۳- محاسبات

هدایت الکتریکی عصاره خاک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، برای محاسبه محتوای نمک خاک و بر اساس فرمول زیر استفاده می‌شود:

1. Siemens per metre

$$EC_{25} = EC_t \times ft$$

که در این فرمول EC_{25} هدایت الکتریکی عصاره خاک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، EC_t هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شده در دمای t درجه سلسیوس و ft مقدار اصلاح شده هدایت الکتریکی در دمای t می‌باشد (این مقادیر در جدولی ۱-۳ آورده شده‌اند).

به این نکته توجه داشته باشید هنگامی که دمای عصاره خاک بین ۱۷-۳۵ درجه سلسیوس است، هدایت الکتریکی عصاره خاک حدود ۲ درصد به ازای هر یک درجه سلسیوس تفاوت از دمای استاندارد (۲۵ درجه سلسیوس) کاهش و یا افزایش می‌یابد.

جدول ۱-۳، مقادیر تصحیح شده هدایت الکتریکی در دماهای مختلف محیط آزمایش

مقادیر تصحیح شده	دما (°C)	مقادیر تصحیح شده	دما (°C)	مقادیر تصحیح شده	دما (°C)	مقادیر تصحیح شده	دما (°C)
۰/۹۰۷	۳۰/۰	۱/۰۰۰	۲۵/۰	۱/۱۱۲	۲۰/۰	۱/۷۰۹	۳/۰
۰/۹۰۴	۳۰/۲	۰/۹۹۶	۲۵/۲	۱/۱۰۷	۲۰/۲	۱/۶۶۰	۴/۰
۰/۹۰۱	۳۰/۴	۰/۹۹۲	۲۵/۴	۱/۱۰۲	۲۰/۴	۱/۶۱۳	۵/۰
۰/۸۹۷	۳۰/۶	۰/۹۸۸	۲۵/۶	۱/۰۹۷	۲۰/۶	۱/۵۶۹	۶/۰
۰/۸۹۴	۳۰/۸	۰/۹۸۳	۲۵/۸	۱/۰۹۲	۲۰/۸	۱/۵۲۸	۷/۰
۰/۸۹۰	۳۱/۰	۰/۹۷۹	۲۶/۰	۱/۰۸۷	۲۱/۰	۱/۴۸۸	۸/۰
۰/۸۸۷	۳۱/۲	۰/۹۷۵	۲۶/۲	۱/۰۸۲	۲۱/۲	۱/۴۴۸	۹/۰
۰/۸۸۴	۳۱/۴	۰/۹۷۱	۲۶/۴	۱/۰۷۸	۲۱/۴	۱/۴۱۱	۱۰/۰
۰/۸۸۰	۳۱/۶	۰/۹۶۷	۲۶/۶	۱/۰۷۳	۲۱/۶	۱/۳۷۵	۱۱/۰
۰/۸۷۷	۳۱/۸	۰/۹۶۴	۲۶/۸	۱/۰۶۸	۲۱/۸	۱/۳۴۱	۱۲/۰
۰/۸۷۳	۳۲/۰	۰/۹۶۰	۲۷/۰	۱/۰۶۴	۲۲/۰	۱/۳۰۹	۱۳/۰
۰/۸۷۰	۳۲/۲	۰/۹۵۶	۲۷/۲	۱/۰۶۰	۲۲/۲	۱/۲۷۷	۱۴/۰
۰/۸۶۷	۳۲/۴	۰/۹۵۳	۲۷/۴	۱/۰۵۵	۲۲/۴	۱/۲۴۷	۱۵/۰
۰/۸۶۴	۳۲/۶	۰/۹۵۰	۲۷/۶	۱/۰۵۱	۲۲/۶	۱/۲۱۸	۱۶/۰
۰/۸۶۱	۳۲/۸	۰/۹۴۷	۲۷/۸	۱/۰۴۷	۲۲/۸	۱/۱۸۹	۱۷/۰
۰/۸۵۸	۳۳/۰	۰/۹۴۳	۲۸/۰	۱/۰۴۳	۲۳/۰	۱/۱۶۳	۱۸/۰
۰/۸۴۳	۳۴/۰	۰/۹۴۰	۲۸/۲	۱/۰۳۸	۲۳/۲	۱/۱۵۷	۱۸/۲
۰/۸۲۹	۳۵/۰	۰/۹۳۶	۲۸/۴	۱/۰۳۴	۲۳/۴	۱/۱۵۲	۱۸/۴
۰/۸۱۵	۳۶/۰	۰/۹۳۲	۲۸/۶	۱/۰۲۹	۲۳/۶	۱/۱۴۷	۱۸/۶

مقادیر تصحیح شده	دما (°C)	مقادیر تصحیح شده	دما (°C)	مقادیر تصحیح شده	دما (°C)	مقادیر تصحیح شده	دما (°C)
۰/۸۰۱	۳۷/۰	۰/۹۲۹	۲۸/۸	۱/۰۲۵	۲۳/۸	۱/۱۴۲	۱۸/۸
۰/۷۸۸	۳۸/۰	۰/۹۲۵	۲۹/۰	۱/۰۲۰	۲۴/۰	۱/۱۳۶	۱۹/۰
۰/۷۷۵	۳۹/۰	۰/۹۲۱	۲۹/۲	۱/۰۱۶	۲۴/۲	۱/۱۳۱	۱۹/۲
۰/۷۶۳	۴۰/۰	۰/۹۱۸	۲۹/۴	۱/۰۱۲	۲۴/۴	۱/۱۲۷	۱۹/۴
۰/۷۵۰	۴۱/۰	۰/۹۱۴	۲۹/۶	۱/۰۰۸	۲۴/۶	۱/۱۲۲	۱۹/۶
		۰/۹۱۱	۲۹/۸	۱/۰۰۴	۲۴/۸	۱/۱۱۷	۱۹/۸

محاسبه هدایت الکتریکی عصاره خاک در دمای ۲۵ درجه، بر اساس فرمول زیر و هنگامی که دمای عصاره خاک بین ۱۷ تا ۳۵ درجه سلسیوس است، قابل انجام می‌باشد:

$$EC_{25} = EC_t \times [1 - (t - 25) \times 2\%]$$

در این فرمول EC_{25} ، هدایت الکتریکی عصاره خاک در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، EC_t هدایت الکتریکی اندازه‌گیری شده عصاره خاک در دمای t درجه سلسیوس و t دمای عصاره خاک (سلسیوس).

۳-۶-۲-۴- نکات مهم

- زمان اندازه‌گیری نمونه‌ها بعد از قرار دادن الکترودها در محلول، نسبتاً ثابت باشد.
- محلول‌های مورد استفاده برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی باید شفاف باشند. از محلول‌های سوسپانسیون استفاده نکنید، زیرا به الکترودها پلاتینوم آسیب زده و باعث خطای آزمایش می‌گردند.
- محلول‌های دارای هدایت بالا، باید پیش از اندازه‌گیری رقیق شوند. محلول‌های با غلظت بالا، الکترودها را پولاریزه کرده و حساسیت دستگاه را کاهش می‌دهند.

فصل چهارم

**دستورالعمل غربال‌گری گیاه
برنج برای تحمل به تنش شوری**

چکیده

در این فصل یک پروتکل ساده برای سنجش تحمل گیاهچه‌های برنج به تنش شوری ارائه شده است. این روش مبتنی بر آزمایشات هیدروپونیک گلخانه‌ای است که در آن نمک به محلول غذایی گیاهچه‌های برنج اضافه می‌گردد. همچنین لیستی از ملزومات سخت‌افزاری ایجاد محیط هیدروپونیک و محلول‌های استوک ارائه شده است. علاوه بر این، نکاتی پیرامون ذخیره بذر پیش از انجام آزمایش و پیش‌تیمار بذور برای جوانه‌زنی مطرح خواهد گردید. شروع تیمار شوری در محیط هیدروپونیک، در مرحله دو تا سه برگی گیاهچه‌ها خواهد بود. اطلاعات مربوط به پاسخ ژنوتیپ‌های استاندارد (متحمل، متوسط و حساس) برای مقایسه نمونه‌ها ارائه خواهد گردید. همچنین علائم ظاهری تنش شوری روی گیاهچه‌ها (مانند کاهش سطح برگ، ظهور سفیدی در برگ‌های پایینی، مرگ نوک برگ، پیچیدگی برگ و مرگ گیاهچه) بیان خواهد شد. امتیازدهی بر اساس سیستم ارزیابی استاندارد تهیه شده توسط موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (ایری) انجام خواهد گرفت و در نهایت روشی برای بازیابی گیاهچه‌های انتخابی متأثر از تنش شوری ارائه خواهد گردید.

۴-۱- مقدمه

برنج یکی از مهمترین محصولات زراعی بشر است و توسط بیش از پنجاه درصد مردم دنیا مصرف می‌شود. شوری خاک یکی از مشکلات اصلی کشت برنج است و باعث ایجاد محدودیت رشد و کاهش حجم عظیمی از عملکرد و محصول سالانه می‌شود. جستجو برای یافتن ارقام متحمل به تنش شوری یکی از راهکارهای اصلی برای مقابله با این مشکل است. در این فصل پروتکلی آسان برای انتخاب لاین‌های برنج متحمل به شوری ارائه می‌شود تا بررسی گیاهان حاصل در آزمایشات مزرعه‌ای بعدی نیازمند کار کمتری باشد.

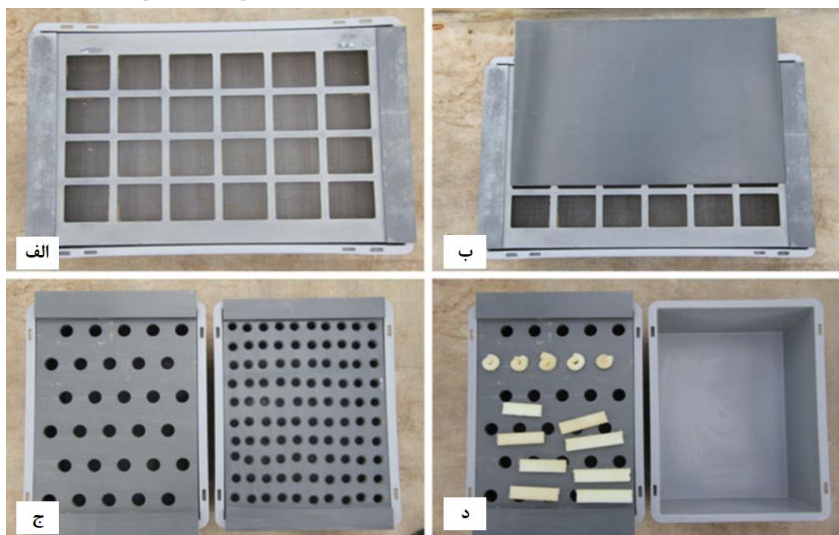
۴-۲- ابزار و تجهیزات

همه تجهیزات (تانک‌ها، سینی‌ها و ظروف) به رنگ سیاه هستند تا با کاهش نفوذ نور به داخل محیط کشت، رشد جلبک‌ها را کاهش دهند.

○ مخازن آزمایش: این مخازن از پلاستیک ساخته شده‌اند و ابعاد بیرونی آن‌ها $40 \times 60 \times 12$ سانتی‌متر بوده و در صورت تکمیل ظرفیت‌شان می‌توانند ۲۴ لیتر محلول را در خود جای دهند (شکل ۱-۴). ابعاد این مخازن بسته به شرایط محل آزمایش می‌تواند تغییر کند.

○ مخازن بازیابی: این مخازن پلاستیکی بوده و ابعاد خارجی آن‌ها $40 \times 30 \times 17$ سانتی‌متر است و حجمی تقریباً معادل ۲۰ لیتر دارند.

○ روکش جوانه‌زنی^۱: ورقه‌هایی از جنس PVC هستند که برای جلوگیری از ورود نور به داخل محیط کشت استفاده می‌شوند. این ورقه‌ها بر روی صفحات نگهدارنده از جنس PVC مستقر می‌شوند. ابعاد روکش جوانه‌زنی $50 \times 34 \times 2$ سانتی‌متر است. این روکش‌ها با حفظ رطوبت و دما و جلوگیری از ورود نور باعث بهبود جوانه‌زنی بذور می‌گردند.



شکل ۱-۴- مخازن (تانک‌های) آزمایش و بازیابی، صفحه نگهدارنده و محل استقرار گیاهان در محیط کشت هیدروپونیک

○ صفحه نگهدارنده

۱- صفحه نگهدارنده آزمایش نسل M_2 : این صفحات از جنس PVC و به ابعاد $۵۶ \times ۳۶ \times ۱/۲$ سانتی‌متر بوده و در قسمت بالای مخزن آزمایش قرار می‌گیرند. با استفاده از چسب و دو صفحه PVC دیگر به ابعاد $۵ \times ۳۶ \times ۲$ سانتی‌متر، این صفحات به دو سمت مخزن آزمایش چسبانده می‌شوند. صفحه نگهدارنده M_2 دارای ۲۴ قسمت مستطیل شکل (۶×۷ سانتی‌متر) می‌باشد که در فواصل منظم $۱/۲$ سانتی‌متری از هم قرار گرفته‌اند. هر قسمت می‌تواند ۱۰۰ تا ۲۰۰ بذر را در خود جای دهد. مش نایلونی (توری) به صورتی برش داده می‌شود که اندازه صفحات PVC باشد و سپس با استفاده از چسب به قسمت زیرین صفحات چسبانده می‌شود.

۲- صفحه نگهدارنده آزمایش نسل M_3 و سایر نسل‌های پیشرفته: این صفحات از جنس PVC بوده و ابعادی برابر $۳۶/۵ \times ۲۶/۵ \times ۱/۲$ سانتی‌متر دارند. با استفاده از دو ورقه PVC به ابعاد $۵ \times ۳۶ \times ۱/۲$ سانتی‌متر و چسب، این صفحات به دو طرف قسمت فوقانی مخازن آزمایشی چسبانده می‌شوند. سپس ۱۰۰ عدد سوراخ گرد با قطر ۲ سانتی‌متر در این صفحات ایجاد می‌گردند.

۳- صفحه نگهدارنده مخازن بازیابی: این صفحات نیز از جنس PVC بوده و ابعادی برابر با $۳۶/۵ \times ۲۶/۵ \times ۱/۲$ سانتی‌متر دارند. روی این صفحات ۳۰ سوراخ با قطر $۲/۲$ سانتی‌متر ایجاد می‌شود. این سوراخ‌ها فاقد توری خواهند بود.

○ نوارهای اسفنجی (ابعاد $۱۰ \times ۲ \times ۱$ سانتی‌متر)

ظروف ذخیره‌سازی محلول‌های پایه: می‌توان محلول‌های پایه را در حجم کم تهیه نمود و در گلخانه و یا دمای اتاق به مدت یک تا دو ماه نگهداری نمود. رسوب ترکیبات معدنی و یا تغییر در ظرفیت عناصری چون مس و آهن در این مدت بسیار کم است. این ظروف در محیط‌های کم‌نور نگهداری شوند (یک تا دو ماه). مواد غذایی برای محیط هیدروپونیک برنج توسط یوشیدا و همکارانش معرفی شده است (Yoshida et al., 1971) و شامل شش محلول پایه (پنج عدد برای عناصر اصلی و یک مورد برای عناصر کم‌مصرف)، می‌باشد. به طور معمول برای راحتی کار این محلول‌ها در حجم پنج لیتر ساخته می‌شوند (جدول ۱-۴).



شکل ۲-۴- شش ظرف حاوی پنج لیتر محلول پایه غذایی یوشیدا

جدول ۱-۴- ترکیبات محلول‌های پایه محیط یوشیدا

شماره محلول پایه	ترکیب شیمیایی	مقدار در ۵ لیتر
۱	NH ₄ NO ₃	۴۵۷ g
۲	NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	۲۰۱/۵ g
۳	K ₂ SO ₄	۳۵۷ g
۴	CaCl ₂	۴۴۳ g
۵	MgSO ₄ 7H ₂ O	۱۶۲۰ g
	MnCl ₂ 4H ₂ O	۷/۵ g
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ 4H ₂ O	۰/۳۷ g
	H ₃ BO ₃	۴/۶۷ g
۶	ZnSO ₄ 7H ₂ O	۰/۱۷۵ g
	CuSO ₄ 5H ₂ O	۰/۱۵۵ g
	FeCl ₃ 6H ₂ O	۳۸/۵ g
	C ₆ H ₈ O ₇ H ₂ O	۵۹/۵ g
	1 M H ₂ SO ₄	۲۵۰ ml

○ بشکه‌های مورد استفاده برای کار با محلول یوشیدا: محلول‌های پایه برای استفاده باید در بشکه‌های بزرگی با استفاده از آب مقطر رقیق شوند. برای راحتی کار ممکن است این بشکه‌ها مجهز به پمپ آب برای مخلوط کردن، هوادهی و توزیع در تانک‌های آب باشند. محلول‌های رقیق نهایی می‌توانند به صورت تازه استفاده شوند و یا برای تنظیم pH و حجم محلول (هر دو روز یک‌بار) مورد استفاده قرار بگیرد. حجم‌های بالای محلول یوشیدا (تا ۱۲۰ لیتر) را می‌توان در بشکه‌ها و به صورت محفوظ از نور و هوا، حداکثر تا یک هفته و در

شرایط گلخانه نگهداری نمود.

○ دستگاه pH متر

○ دستگاه اندازه‌گیری هدایت الکتریکی

نکته: استفاده از آب مقطر نسبت به آب شهر برای تهیه محلول یوشیدا ترجیح داده می‌شود. زیرا ممکن است آب شهری دارای مواد معدنی باشد که غلظت نهایی عناصر را تغییر داده و در بررسی حساسیت گیاهچه‌ها به تنش شوری اختلال ایجاد نماید.

۴-۳- مواد گیاهی

مواد آزمایشی باید با ژنوتیپ‌های استاندارد متحمل به شوری مقایسه شوند. نمونه‌هایی که به عنوان استاندارد در آزمایشگاه به‌نژادی و ژنتیک سیبرسدورف^۱ (اتریش) مورد استفاده قرار می‌گیرند به شرح ذیل هستند:

○ پوکالی^۲: نوع وحشی متحمل به شوری

○ نونا بوکرا^۳: نوع وحشی متحمل به شوری

○ بیکول^۴: تحمل متوسط به تنش شوری

○ STDV: تحمل متوسط به تنش شوری (جهش‌یافته القایی از IR29)

○ تایپه ۳۰۹^۵: حساس به شوری

○ IR29: حساس به شوری

تحمل شوری لاین‌های استاندارد بالا در محیط هیدروپونیک با کارایی مزرعه‌ای آن‌ها ارتباط دارد (Gregoria et al., 1997; Afza et al., 1999). امکان درخواست این ارقام به صورت رایگان از موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج و با رعایت توافق‌نامه انتقال مواد استاندارد وجود دارد. علاوه‌براین‌ها می‌توان از ارقام محلی و یا لاین‌های شناخته شده متحمل به تنش شوری نیز به عنوان استاندارد استفاده نمود.

1. Plant Breeding and Genetics Laboratory (PBGL), Seibersdorf, Austria

2. Pokkali

3. Nona Bokra

4. Bicol

5. Taipei 309

۴-۴- تنظیمات سخت‌افزاری محیط هیدروپونیک

این ارزیابی در محیط گلخانه و شرایط نوری روز/شب با دمای $20/30$ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی حداقل 50% در طی روز انجام می‌گیرد. گلخانه باید عاری از عوامل بیماری‌زا بوده و به وسیله نور طبیعی و یا مصنوعی به خوبی روشن شود. مخازن می‌توانند روی سطح زمین و یا سکوها قرار بگیرند، اما باید سطح آن‌ها کاملاً به یک ارتفاع باشد.

۴-۵- آماده‌کردن محلول‌های هیدروپونیک

محلول کاربردی نهایی بر اساس روش یوشیدا و همکاران (Yoshida et al., 1971) و منطبق با اصلاح و بهبود گرگوریا و همکاران (Gregoria et al., 1997)، تهیه شده است (جدول ۲-۴). بر این اساس هر کدام از محلول‌های پایه به خوبی تکان داده شده و سپس 150 میلی‌لیتر از هر کدام آن‌ها برداشته شده و با هم مخلوط می‌گردند. در نهایت حجم نهایی محلول به 120 لیتر رسانده می‌شود. با استفاده از هیدروکسید سدیم (NaOH) 1 نرمال و اسید هیدروکلریک (HCl) 1 نرمال، pH محلول به 5 رسانده می‌شود. برای انجام این کار هم‌زدن مداوم محلول لازم است، بنابراین باید پمپ روشن باشد تا از یکنواختی محلول اطمینان حاصل شود. این کار هم‌زمان باعث هوادهی محلول نیز می‌گردد.

جدول ۳-۴- ترکیبات محلول کاربردی^۱ در هیدروپونیک

غلظت عنصر در محلول کار روزانه (میلی‌گرم بر لیتر)	مقدار محلول پایه مورد نیاز (میلی‌لیتر) برای یک بشکه ۱۲۰ لیتری	مقدار محلول پایه مورد نیاز (میلی‌لیتر) برای یک مخزن ۲۰ لیتری	عنصر اصلی	محلول پایه
۴۰/۰۰	۱۵۰	۲۵	N	۱
۱۰/۰۰	۱۵۰	۲۵	P	۲
۴۰/۰۰	۱۵۰	۲۵	K	۳
۴۰/۰۰	۱۵۰	۲۵	Ca	۴
۴۰/۰۰	۱۵۰	۲۵	Mg	۵
۰/۵۰	۱۵۰	۲۵	Mn	۶
۰/۰۵	۱۵۰	۲۵	Mo	
۰/۲۰	۱۵۰	۲۵	B	
۰/۰۱	۱۵۰	۲۵	Zn	
۰/۰۱	۱۵۰	۲۵	Cu	
۲/۰۰	۱۵۰	۲۵	Fe	

۴-۶- انبار کردن بذور و تیمارهای پیش‌جوانه‌زنی بذور

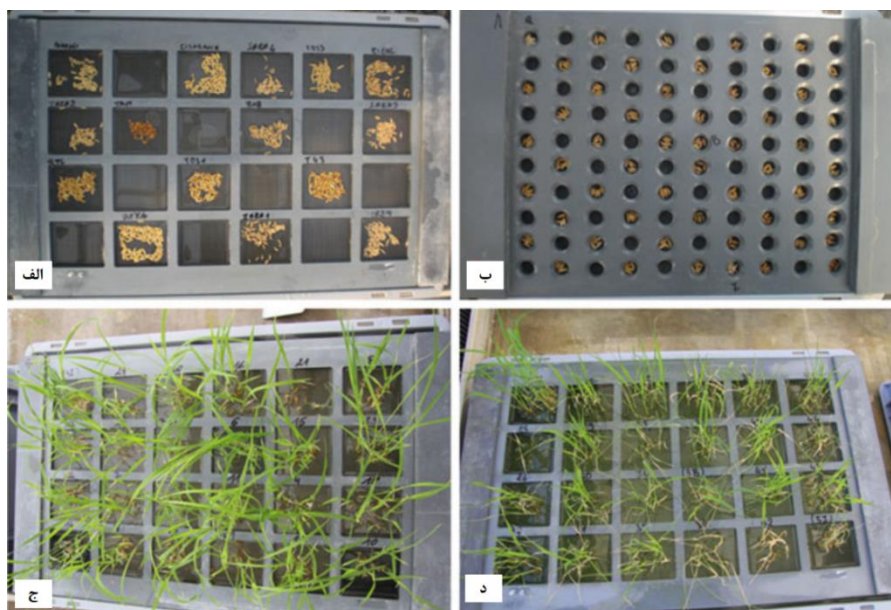
بذور باید در محفظه‌های خشک و بدور از جریان هوا و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شوند. پیش از شروع کار باید جوانه‌زنی بذور بررسی شود، زیرا یکنواختی جوانه‌زنی بذور و تعداد کافی گیاهچه‌ها برای انجام آزمایش ضروری است. بعضی از نمونه‌های بذری ممکن است دارای خواب بذور باشند که برای شکستن آن باید به مدت ۲ تا ۵ روز در دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه سلسیوس قرار بگیرند.

نمونه‌های بذری ممکن است دارای آلودگی میکروبی باشند. برای ضدعفونی سطحی بذور می‌توان از غوطه‌ور کردن در محلول هیپوکلریت سدیم (NaClO) با غلظت ۰/۸ درصد به مدت ۲۰ دقیقه استفاده نمود. پس از تیمار با ماده ضدعفونی کننده، بذور باید سه بار با آب مقطر آبکشی شوند. محلول هیپوکلریت سدیم را می‌توان به راحتی و با استفاده از سفیدکننده‌های تجاری (۵ درصد) تهیه نمود. این تیمار حتی می‌تواند جوانه‌زنی بذور را بهبود بخشد.

1. working solution

۴-۷- استقرار گیاهچه‌ها در محیط هیدروپونیک

این آزمایشات معمولاً در گلخانه‌هایی که برای رشد گیاه برنج بهینه‌سازی شده‌اند (رطوبت ۷۰ درصد، فوتوپریود ۱۶ ساعته، دمای روز ۳۰ درجه سلسیوس و دمای شب ۲۰ درجه سلسیوس) انجام می‌شوند. مخازن آزمایش از آب مقطر پر می‌شود (به گونه‌ای که حدود یک میلی‌متر بالای مش نایلونی قرار بگیرد). سپس بذور در محفظه‌های مرطوب قرار می‌گیرند. برای غربال‌گری نسل M_2 ، حدود ۳۰ تا ۵۰ بذر یک خوشه درون یک محفظه (۶ × ۷ سانتی‌متری) قرار می‌گیرد (شکل ۳-۴-الف). برای M_3 و سایر لاین‌های پیشرفته، پنج تا ده بذر (یا بذور جوانه‌زده) در محفظه‌هایی به قطر ۲ سانتی‌متر قرار می‌گیرند. لاین‌ها ممکن است درون و یا بین مخازن، به صورت تکراردار قرار داده شوند (شکل ۳-۴-ب).



شکل ۳-۴- (الف): پلتفرم کشت نسل M_2 ، هر محفظه شامل بذور یک خوشه گیاهان نسل M_1 می‌باشد. (ب): پلتفرم کشت نسل M_3 و سایر نسل‌های پیشرفته، هر محفظه حاوی ۳-۵ بذر از یک لاین می‌باشد. (ج)، گیاهچه‌های برنج در مرحله ۲-۳ برگی آماده برای غربال‌گری تحمل به تنش شوری و (د)، گیاهچه‌های برنج در جات متفاوتی از آسیب در اثر تنش را نشان می‌دهند.

سکوه‌های آزمایش به مدت یک هفته پوشانده می‌شوند تا جوانه‌زنی در تاریکی افزایش یابد. در روز سوم، آب مقطر حذف شده و به جای آن محلول یوشیدا با غلظت نیم (نصف غلظت محلول اصلی و رقیق شده با آب مقطر) جایگزین می‌شود، زیرا گیاهچه‌های جوان به مواد غذایی نیاز دارند. پس از یک هفته بذرهای جوانه‌زده به یک مخزن محتوی محلول یوشیدا با غلظت کامل منتقل می‌شوند تا گیاهچه‌های کامل و سالم قبل از اعمال تنش شوری به دست آید. گیاهچه‌ها تا مرحله دوبرگی در این محیط رشد خواهند نمود.

نکته: آزمایش نباید با گیاهچه‌های بیمار و ناسالم انجام شود.

نکته: چنانچه نمونه‌های بذری تمیز نبوده و دچار پوسیدگی شوند، باید از آزمایش حذف گردند.

۴-۸- مراقبت از گیاهان در محیط کشت هیدروپونیک

عواملی چون تبخیر و تعرق می‌توانند باعث کاهش حجم محلول و تغییر pH آن شوند (رشد جلبک‌ها ممکن است باعث تغییر pH محیط یوشیدا گردد). هر دو روز (یا سه بار در هفته) حجم محلول باید به مقدار اولیه رسانده شود (به توری موجود در محفظه‌ها برسد) و سپس pH محلول روی ۵ تنظیم گردد.

برای عوض کردن محلول هیدروپونیک، ابتدا صفحه نگهدارنده را از روی محیط کشت برداشته و روی یک محفظه خالی قرار دهید. محلول یوشیدای جدید را در یک بشکه بریزید و پس از تنظیم pH آن، درون محفظه‌های کشت تقسیم کرده و صفحه نگهدارنده را به جای خود برگردانید. این عملیات به هوادهی محلول هم کمک می‌کند. می‌توان تنظیم pH محلول یوشیدا را در هر محفظه کشت به صورت جداگانه هم انجام داد، اما برای کاهش حجم کاری، تنظیم آن در یک بشکه توصیه می‌شود.

۴-۹- تنش شوری

تنش شوری در مرحله رشدی ۲-۳ برگی و بعد از یک تا دو هفته استقرار گیاهچه در محلول یوشیدای کامل، اعمال می‌شود (شکل ۳-۴-ج). تیمار شوری به یکباره اعمال می‌شود (تدریجی نیست). غلظت نمک در این آزمایش ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر تعیین شده است (به ترتیب برابر با ۴/۸ و ۶/۴ گرم نمک NaCl در یک لیتر محلول یوشیدا و آب مقطر). در

جدول ۳-۴ اطلاعات لازم برای تبدیل گرم بر لیتر نمک در محلول یوشیدا به میلی‌مولار و دسی‌زیمنس بر متر ارائه شده است. برای شور کردن محلول نهایی (کاربردی) باید نمک خشک و خالص به بشکه‌های حاوی محلول یوشیدا اضافه شود و با استفاده از EC متر، هدایت الکتریکی اندازه‌گیری گردد.

۴-۱۰- امتیازدهی

علائم ظاهری تنش شوری شامل کاهش سطح برگ، ظاهر سفیدشدگی برگ‌های پایینی، مرگ نوک برگ‌ها و پیچیدگی برگ‌ها می‌باشد. شیوه غربال‌گری برای تنش شوری مبتنی بر توانایی گیاهچه برای رشد در محلول غذایی شور می‌باشد. معمولاً ژنوتیپ‌های استاندارد برای مقایسه در هر مخزن آزمایش قرار می‌گیرند. امتیازدهی نسبی بوده و بر اساس سیستم ارزیابی استاندارد تهیه شده توسط موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج انجام می‌شود. بر این اساس، به متحمل‌ترین ژنوتیپ نمره ۱ و به حساس‌ترین آن‌ها نمره ۹ داده می‌شود و سایر نمونه‌ها نیز در محدوده میانی این دو قرار می‌گیرند (جدول ۴-۴).

امتیازدهی ۱۲ روز پس از اعمال تنش شوری انجام می‌گیرد. در این مرحله ژنوتیپ‌های حساس از بین رفته‌اند و سایر ژنوتیپ‌ها مقادیر متفاوتی از تحمل را نشان می‌دهند (شکل ۳-۴-۵). جدول ۵-۴ معیارهای طبقه‌بندی برای تحمل به شوری را بر اساس استانداردهای شناخته شده ارائه می‌دهد.

فصل چهارم: دستورالعمل غربال‌گری گیاه برنج برای تحمل به تنش شوری ۵۳/

جدول ۳-۴- جدول تبدیل گرم NaCl اضافه شده به محلول یوشیدا به میلی‌مولار و دسی‌زیمنس بر متر

g/l	mmol	dS/m
(محلول یوشیدا) °	(محلول یوشیدا) °	(محلول یوشیدا) ۱/۱۷
۰/۴۲	۷/۱۹	۲
۰/۹۴	۱۶/۰۸	۳
۱/۲۲	۲۰/۸۸	۴
۱/۷۶	۳۰/۱۲	۵
۲/۵۶	۴۳/۸۱	۶
۳/۱	۵۳/۰۵	۷
۳/۶۶	۶۲/۶۳	۸
۴/۲۲	۷۲/۲۱	۹
۴/۷۸	۸۱/۷۹	۱۰ ^a
۵/۳۶	۹۱/۷۲	۱۱ ^a
۵/۹۲	۱۰۱/۳۰	۱۲ ^a
۶/۵۰	۱۱۱/۲۳	۱۳
۷/۰۸	۱۲۱/۱۵	۱۴
۷/۶۶	۱۳۱/۰۷	۱۵ ^b
۸/۲۶	۱۴۱/۳۴	۱۶ ^b
۸/۸۴	۱۵۱/۲۷	۱۷ ^b
۹/۴۶	۱۶۱/۸۸	۱۸ ^b
۱۰/۰۴	۱۷۱/۸۰	۱۹ ^b
۱۰/۹۶	۱۸۷/۵۴	۲۰ ^b
۱۳/۹۰	۲۳۷/۸۵	۲۵
۱۷/۰۸	۲۹۲/۲۷	۳۰

a, غلظتی که معمولاً برای آزمایش برنج استفاده می‌شود.

b, غلظتی که معمولاً برای آزمایش گندم و جو کاربرد دارد.

جدول ۴-۴- امتیازدهی نسبی: امتیازدهی ژنوتیپ‌ها/ جمعیت‌ها بر اساس استانداردهای شناخته شده

دو ژنوتیپ استاندارد استفاده شده است؛ پوکالی و IR29	سه ژنوتیپ استاندارد استفاده شده است؛ پوکالی، بیکول و IR29	
۱- حساس‌تر از IR29 ۲- حساس مانند IR29 ۳- نسبتاً متحمل ۴- متحمل	۱- حساس‌تر از IR29 ۲- حساس مانند IR29 ۳- نسبتاً متحمل اما کمتر از بیکول ۴- نسبتاً متحمل مانند بیکول ۵- متحمل اما کمتر از پوکالی ۶- متحمل	کلاس‌های تحمل به شوری

جدول ۴-۵- نمرات ارزیابی گیاهچه‌ها با توجه به تحمل نسبی به تنش شوری

امتیاز	مشاهده ظاهری	تحمل نسبی
۱	رشد معمولی، بدون علائم ظاهری	خیلی متحمل
۳	تقریباً رشد معمولی، بعضی از موارد نوک برگ سفید و برگ‌های لوله‌شده مشاهده می‌شود	متحمل
۵	رشد به شدت به تأخیر می‌افتد، اکثر برگ‌ها لوله‌ای شده و تعداد کمی از برگ‌ها بلند هستند	نسبتاً متحمل
۷	توقف کامل رشد، بیشتر برگ‌ها خشک شده و بعضی از گیاهچه‌ها می‌میرند	حساس
۹	بیشتر گیاهچه‌ها مرده و یا خشک می‌شوند	خیلی حساس

نکته: چنانچه به داده‌های کمی نیاز دارید، می‌توانید امتیازدهی را به صورت روزانه انجام دهید. برای بررسی پاسخ گیاهان به تنش در طول زمان، می‌توان از رسم منحنی رشد کمک گرفت. برای این منظور می‌توان مقادیر زیست‌توده‌ی گیاهچه‌ها را از طریق اندازه‌گیری ریشه و اندام هوایی (کل گیاه) به صورت تازه و خشک ثبت نمود. همچنین تعداد پنجه و ارتفاع گیاه را هم می‌توان همزمان با ارزیابی کیفی گیاه ثبت نمود. با این حال ثبت امتیازها باید برای بازه زمانی بیش از ۱۲ روز انجام شود. زیرا در این زمان گیاهان حساس از بین رفته‌اند (و یا کاهش رشد نشان می‌دهند) و گیاهان متحمل مقداری افزایش رشد را نشان می‌دهند

(هر چند در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش رشد دارند).

در روز دوازدهم از تنش شوری، ارقام متحمل استاندارد (پوکالی و نونابوکرا) آسیب جزئی از طریق قهوه‌ای شدن نوک برگ‌ها نشان می‌دهند؛ ارقام نسبتاً متحمل (بیکول و STDV) آسیب برگی بیشتری را نشان می‌دهند، برگ‌های پیر مُرده و برگ‌های جوان فقط در پایه برگ سبز هستند؛ گیاهچه‌های ارقام استاندارد حساس (IR29 و تایپه ۳۰۹) نیز از بین رفته‌اند.

لاین‌های حساس همزمان و یا پیش از رقم استاندارد حساس IR29 خواهند مُرد. لاین‌های نسبتاً متحمل رفتاری مشابه رقم بیکول از خود نشان خواهند دارد و لاین‌های متحمل هنگامی که گیاهچه‌های رقم بیکول از بین رفتند (و یا در حال از بین رفتن می‌باشند) انتخاب شده و به مخزن‌های بازیابی منتقل خواهند شد. علائم مشاهده شده روی لاین‌های متحمل به شوری با رقم پوکالی مقایسه خواهد شد تا درجه تحمل آن رقم به تنش شوری تخمین زده شود.

در مواردی که هیچ رقم استandarدی در دسترس نباشد، می‌توان از اطلاعات جدول ۴-۵ برای ارزیابی تحمل لاین‌ها به شوری استفاده نمود. این جدول از مطالعه "غربال‌گری برنج برای تحمل به تنش شوری" اقتباس شده است (Gregoria et al., 1997).

۴-۱۱- بازیابی لاین‌های متحمل به نمک

گیاهچه‌های متحمل انتخاب شده به دقت و به صورتی که ریشه‌های آن‌ها آسیب نبینند از مخازن آزمایش خارج می‌شوند و سپس از قسمت پایه اندام هوایی در یک قطعه اسفنجی $10 \times 2 \times 1$ سانتی‌متر پیچیده شده و در مخزن بازیابی قرار می‌گیرند (شکل ۴-۱-۵). گیاهچه‌های انتخابی را می‌توان در همین مخازن محتوی محلول یوشیدا تا بلوغ نگهداری کرد، به شرط آن‌که محلول هر دو هفته یک‌بار تعویض گردد.

۴-۱۲- مثال‌ها

در جدول‌های انتهایی این فصل نتایج غربال‌گری گیاهچه‌های برنج برای تحمل به تنش شوری در محیط هیدروپونیک در کشورهای ایران (جدول ۴-۶)، میانمار (جدول ۴-۷) و ویتنام (جدول ۴-۸) به صورت خلاصه دسته‌بندی شده است.

جدول ۴-۶- طبقه‌بندی تحمل به شوری ۴۱ رقم برنج ایرانی

نسبتاً متحمل، مانند بیکول	حساس، مانند IR29	حساس‌تر از IR29
عنبربو، هراز، هاشمی، صدری، دم‌سفید، مهر، ندا، کادوس، طارم محلی، دیلمانی، صالح، حسن‌سرائی، سنگ طارم، آمل ۳، گیل ۱، درفک، سالاری، بجار، نیک‌جو، پویا، ساحل، شفق، فجر، تابش، شیرودی، لاین ۱۴۷، لاین ۱۴۵، لاین ۵۴، لاین ۲۹	چمپا بودار، شاهپسند مازندران، غریب، حسن‌سرائی آتشگاه، دم‌سیاه، قشنگه، لاین ۱۴۴	نعمت، گیل ۳، بینام، اهلمی طارم

اطلاعات مربوط به بورس تحصیلی آقای مسعود رحیمی در پروژه همکاری با IAEA به شماره IRA/04035 و با عنوان "تولید محصولات زراعی متحمل به شوری برای امنیت پایدار تولید محصولات غذایی در اراضی شور"

جدول ۴-۷- طبقه‌بندی تحمل به شوری ۵۰ رقم برنج از میانمار

نسبتاً متحمل	حساس، مانند IR29	حساس‌تر از IR29
Aung Ze Ya, Ekarin Kwa, Ye Baw Sein, Gauk Ya, Nga Shink Thway, Paw San Hmwe, Saba Net Taung Pyan, Sit Pwa	Pin To Sein, Shwe Dinga, Mine Gauk 1, Kauk Thwe Phyu, Pa Che Mwe Swe, Lin Baw Chaw, Rakhaing Thu Ma, Emata Ama Gyi, Hnan War Mee Gauk, Imma Ye Baw, Ye Baw Latt, Ekarin, Ban Gauk, Pa Din Thu Ma, Bom Ma De Wa, Nga Kywe, Sein Kamakyi, Nga Kywe Taung Pyan, Kha Yan Gyar, Nga Kywe Yin, Paw San Bay Kyar, Kamar Kyi Saw, Saba Net, Bay Kyar Gyi, Paw San Yin, Pathein Nyunt, Nga Kyein Thee, Mee Don Hmwe, Byat, Law Thaw Gyi, Moke Soe Ma Kywe Pye, Taung Hti	Thone Hanan Pwa, Ye Baw Yin, Ekare, Pa Chee Phyu, Mya Sein, Shwe Kyi Nyo, Mwe Swe, Maung Tin Yway, Shwe Ta Soke, Zein Yin

اطلاعات مربوط به بورس تحصیلی آقای Tet Htut Soe و خانم Nancy Chi Win در پروژه همکاری با IAEA به شماره MYA/06031 و با عنوان "توسعه منابع انسانی و پشتیبانی از فناوری هسته‌ای"

جدول ۴-۸- خلاصه نتایج غربال‌گری موتانت‌های رقم TAM (HNP103, QLT4, T43, TDS4, TDS5, TDS1, TDS3, TL2 و HNP101) و موتانت برنج باسماتی از ویتنام

نسبتاً متحمل	حساس، مانند IR29	حساس‌تر از IR29
TDS1 TDS3 TL2 HNP101	QLT4 T43 TDS4 TDS5	(والدی) TAM HNP103 موتانت BAS370

اطلاعات مربوط به بورس تحصیلی خانم Doan Pham Ngoc Nga در پروژه همکاری با IAEA به شماره VIE/066011 و با عنوان "افزایش کیفیت و عملکرد موتانت‌های برنج با استفاده از انرژی هسته‌ای و فن‌آوری‌های وابسته"

منابع

Afza, R., Zapata-Arias, F., Zwiletitsch, F., Berthold, G., Gregorio, G., 1999. Modification of a rapid screening method of rice mutants for NaCl tolerance using liquid nutrient culture.

Gregoria, G.B., Senadhira, D., Mendoza, R.D., 1997. Screening rice for salinity tolerance.

Yoshida, S., Forno, D.A., Cock, J.H., 1971. Laboratory manual for physiological studies of rice. Laboratory manual for physiological studies of rice.

فصل پنجم

دستور العمل غربال‌گری گندم و

جو برای تحمل به تنش شوری

چکیده

در این فصل یک دستورالعمل ساده برای غربالگری گیاهچه‌های گندم و جو جهت بررسی تحمل به تنش شوری ارائه شده است. این دستورالعمل مبتنی بر آزمایش گلخانه‌ای و در محیط هیدروپونیک می‌باشد که نمک به محیط کشت گیاهچه‌ها اضافه می‌گردد. در ادامه، لیستی از ابزارها، تجهیزات و محلول‌های مورد نیاز ارائه شده است. همچنین توصیه‌هایی پیرامون نگهداری بذور و پیش‌تیمارهای مورد استفاده قبل از جوانه‌زنی بذر آورده شده است. تیمار شوری پس از استقرار گیاهچه در محیط هیدروپونیک و در مرحله دو تا سه برگگی اعمال خواهد شد. علائم ظاهری تنش شوری شامل کاهش سطح برگ، ظاهر سفیدی برگ‌های پایینی، مرگ نوک برگ، لوله‌ای شدن برگ و مرگ گیاهچه می‌باشد. غلظت نمک توصیه شده برای آزمودن میزان تحمل ارقام گندم و جو و همین‌طور روشی برای بازیابی گیاهان متحمل ارائه خواهد شد و در نهایت مثال‌هایی از کاربرد این دستورالعمل ذکر خواهد گردید.

۵-۱- مقدمه

دستورالعمل اعمال تنش شوری روی برنج باید برای استفاده در گیاهان دیگر، مانند گندم و جو بهینه‌سازی شود. این تغییرات برای مراحل جوانه‌زنی، هوادهی محیط هیدروپونیک و غلظت نمک مورد استفاده باید اعمال گردد. بذور گندم و جو در حالت غوطه‌وری به خوبی جوانه نمی‌زنند و بنابراین نمی‌توانند در محیط هیدروپونیک جوانه‌دار شوند. بنابراین بذرها ابتدا جوانه‌دار شده و سپس به محیط هیدروپونیک منتقل خواهند شد. علاوه‌براین، گندم و جو نمی‌توانند شرایط غیرهوازی را تحمل کنند، و ریشه‌های آن‌ها باید در محیط هیدروپونیک هوادهی شوند. همچنین گندم و جو توانایی تحمل مقادیر بالاتری از شوری را دارند و لذا باید از غلظت‌های بالاتر نمک برای انجام آزمایش استفاده نمود.

۵-۲- سازگار نمودن دستورالعمل برنج برای گندم و جو

۵-۲-۱- جوانه‌زنی

استفاده از هیپوکلریت سدیم ۰/۸ درصد، باعث بهبود جوانه‌زنی گندم و جو می‌گردد. همچنین استفاده از این ماده باعث ضدعفونی سطح بذر شده و به جوانه‌زنی هم‌زمان دانه‌ها کمک می‌کند.

محلول هیپوکلریت سدیم را می‌توان به آسانی از سفیدکننده‌های تجاری در دسترس (NaClO ۵ درصد) ساخت. پیش‌تیمار شامل خیساندن بذور در محلول ۰/۸ درصد NaClO به مدت ۲۰ دقیقه و سپس شستن آن‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با آب می‌باشد. می‌توان تا ۵۰ بذر را روی کاغذ صافی درون پتری‌دیش (۴ میلی‌لیتر آب مقطر به ازای هر پتری‌دیش ۹ سانتی‌متری استفاده کرد، به گونه‌ای که روی سطح بذرها کاملاً به وسیله آب پوشیده نشود) کشت نمود. پتری‌ها به محیط تاریک و سرد (۴ درجه سلسیوس، مانند یخچال) منتقل شده و ۴۸ ساعت در آن وضعیت باقی می‌مانند. دمای پایین باعث تسهیل جوانه‌زنی بذور می‌گردد.

بذرهای پیش‌تیمار شده به صورت فشرده و قفسه‌ای (شکل ۱-۵) در یک ظرف آب و در دمای اتاق (۲۵-۱۷ درجه سلسیوس) و دارای منبع نور، قرار می‌گیرند. بذرها در این حالت بهترین جوانه‌زنی را از خود نشان می‌دهند و دارای سیستم ریشه‌ای عمودی خواهند شد. پس از ۵-۶ روز، گیاهچه‌های یکنواخت به محیط هیدروپونیک منتقل خواهند شد.

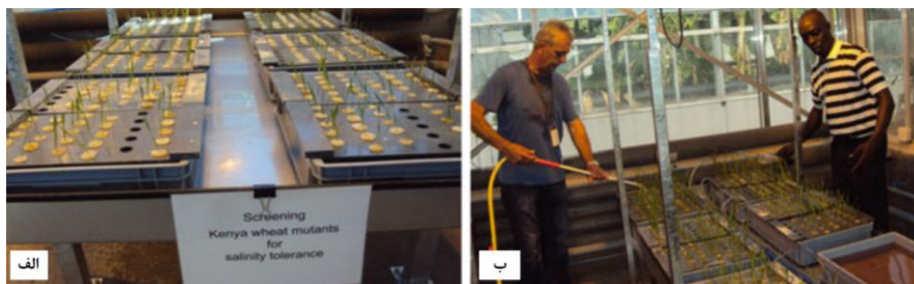


شکل ۱-۵- الف؛ سیستم طراحی شده برای کشت فشرده گندم و جو به منظور تولید ریشه عمودی در آن‌ها؛ ب؛ ساختار باز شده از سیستم کشت، گیاهچه‌های یکنواخت به محیط هیدروپونیک منتقل خواهند شد.

به عنوان روشی دیگر، می‌توان بذرهای پیش‌تیمار شده را به مدت ۴۸ ساعت به محلی که دارای نور کافی بوده و دمای آن در محدوده دمای اتاق باشد (۲۵-۱۷ درجه سلسیوس)، منتقل نمود. در این حالت چنانچه لازم است باید به پتری‌ها آب مقطر اضافه کرد (اگر پتری‌ها را کج کنید باید داری یک میلی‌لیتر آب اضافی باشند). پس از گذشت چهار روز از حضور در محیط نورانی، بذرهای جوانه‌زده باید دارای اولین برگ خارج شده از کولتوپتیل بوده و ۸-۳ ریشه داشته باشند. این گیاهچه‌ها هر کدام جداگانه برداشته شده و پس از پیچیدن یک لایه اسفنج به دورشان، درون محیط هیدروپونیک قرار داده می‌شوند (شکل ۲-۵).

۵-۲-۲- محلول هیدروپونیک

برای گندم و جو از سیستم هیدروپونیک توضیح داده شده برای برنج استفاده می‌شود، با این تفاوت که از همان ابتدا از محلول کامل یوشیدا استفاده می‌گردد. به عنوان یک جایگزین، می‌توان از محلول هوگلند (جدول ۱-۵) هم استفاده نمود (Hoagland and Arnon 1950). گیاهچه‌ها تا مرحله دوبرگی رشد داده می‌شوند و گیاهانی که برای انجام آزمایش استفاده می‌شوند باید سبز و سالم به نظر برسند.



شکل ۲-۵- الف؛ گیاهچه‌های گندم درون سیستم کشت هیدروپونیک و در گلخانه. ب؛ گیاهچه‌های گندم در مرحله ۲-۳ برگی و آماده برای القای تنش شوری.

جدول ۱-۵- ترکیبات محیط کشت هوگلند

ماده شیمیایی	میلی گرم بر لیتر
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	۱۱۵
H_3BO_3	۲/۸۶
$\text{Ca}[\text{NO}_3]_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	۹۴۵
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	۲۵۰
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	۱/۸۱
KNO_3	۶۰۷
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	۵

۵-۲-۳- هوادهی

گندم، جو و سایر غلات را نمی‌توان در محیط هیدروپونیک بدون هوادهی پرورش داد (برنج در این میان یک استثناست). هوادهی از طریق دمیدن هوا بوسیله پمپ به لوله‌های پلاستیکی و در نهایت میله‌های هوادهی فلزی انجام می‌شود. این میله‌های فلزی (فولادی)، حدود ۲۰-۳۰ سانتی‌متر طول داشته و دارای سوراخ‌هایی (قطر حدود ۱ میلی‌متر) می‌باشند تا حباب‌های هوا از آن‌ها خارج شوند (شکل ۳-۵). این لوله‌های هوادهی در انتهای مخازن قرار می‌گیرند و بنابراین در فرایند رشد ریشه‌ها اختلالی ایجاد نمی‌کنند.

پیشنهاد می‌شود از اجزای با خصوصیات زیر استفاده شود:

لوله‌های اصلی: قطر داخلی ۲۵ میلی‌متر

لوله‌های فرعی: قطر داخلی ۰/۶ میلی‌متر

لوله‌های هوادهی: قطر داخلی ۰/۶ میلی‌متر

۵-۲-۴- شرایط گلخانه

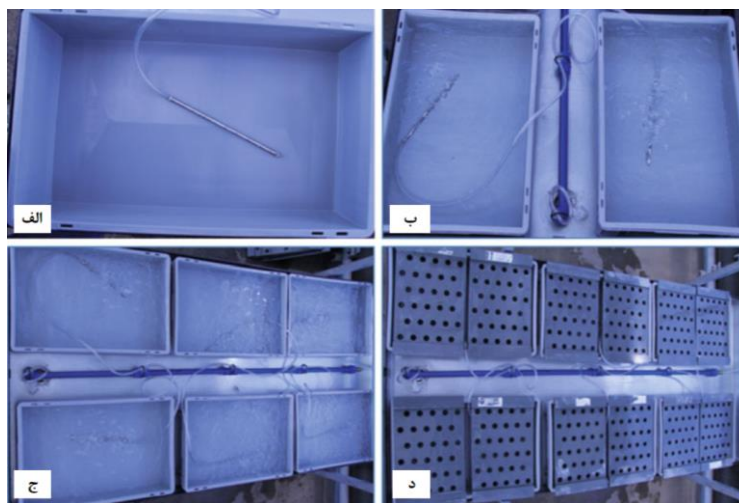
این آزمایش معمولاً در یک گلخانه که برای گیاهان مناطق معتدله تنظیم شده است (دمای روز ۲۰ و دمای شب ۱۵ درجه سلسیوس به همراه ۱۶ ساعت فتوپریود) انجام می‌گیرد. در این سیستم ۱۰-۶ مخزن هیدروپونیک را می‌توان روی یک سکوی ۲ × ۱ متر قرار داد (شکل ۳-۵). به محض این‌که گیاهچه‌ها به محیط هیدروپونیک منتقل شدند،

هوادهی آن‌ها انجام خواهد گرفت.

۵-۲-۵- آزمون غلظت نمک

گیاهان در تحمل به تنش شوری بسیار متفاوتند. گندم و جو نسبت به برنج تحمل بیشتری به تنش شوری دارند. معمولاً از غلظت‌های ۲۰-۱۵ دسی‌زیمنس بر متر یا ۱۵۰-۲۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl برای غربال‌گری گندم و جو استفاده می‌شود، در حالی که این مقدار برای برنج ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر یا ۱۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl می‌باشد.

تیمار شوری در مرحله دوبرگی روی گیاهچه‌های مستقر در محیط هوگلند اعمال می‌گردد. این کار با انتقال شاسی‌های استقرار گیاهچه‌ها از مخازن کنترل به مخازن هیدروپونیک دارای نمک انجام می‌گیرد. علاوه بر این روش، می‌توان از روش دوم (اضافه کردن روزانه ۲۵ میلی‌مولار نمک تا رسیدن به غلظت مورد نظر) استفاده نمود که این روش باعث کاهش اثر شوک اسموتیک روی گیاهچه‌ها می‌گردد.



شکل ۳-۵- سیستم هوادهی مورد استفاده برای گندم و جو. الف؛ لوله‌های فولادی دارای سوراخ‌های کوچک (میله هوادهی)، این لوله‌ها باید به مقدار کافی سنگین باشند تا در کف مخزن محیط هیدروپونیک قرار بگیرند و در فرایند رشد ریشه‌ها اختلال ایجاد نکنند. ب؛ لوله‌های فرعی دارای قطعه انتهایی فلزی که در مخزن هیدروپونیک قرار می‌گیرد. ج؛ سیستم هوادهی که جریان هوای ملایمی را در مخزن نشان می‌دهد. د؛ سیستم هوادهی و جایگاه‌های نگهدارنده آماده برای رشد گیاهچه‌های گندم و جو.

منابع

Hoagland, D.R. and Arnon, D.I., 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California agricultural experiment station, 347 (2nd edit).