بررسی تعادل یونی و ضریب ازدیاد گیاه جوجوبا (*Simmondsia chinensis* (LINK) SCH.) در شرایط درون شیشه

طاهره حسنلو[۱]، حسن حاج نجاری[۲]، حمید فهیمی[۱] و محسن نصیری[۳]

۱- دانشکده علوم، دانشگاه تهران E-mail:thasanloo@yahoo.com

۲- بخش باغبانی، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

۳- مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

چکیده

ارتباط بین شرایط محیط کشت و ریزنمونه در تکنیک ریزازدیادی در مراحل مختلف از دوره رشد و نحوه جذب، انتقال، تجمع و توزیع مواد غذایی در قسمت‌های مختلف ریزنمونه به خوبی شناخته نشده است. گونه‌های گیاهی مختلف که تحت شرایط یکسانی رشد می‌کنند در استفاده از نمکهای معدنی متفاوت می‌باشند. با توجه به گونه گیاهی و مرحله نمو جهت رسیدن به رشد بهینه مقداری ازت مورد نیاز است. بعضی از گونه‌ها به طور الزامی شکل خاصی از منبع ازت را ترجیح می‌دهند. گیاهان تعیین شکل جذب ازت را جهت کاهش یا افزایش سطح N به منظور ثبات تعادل کاتیونی به آنیونی نیز انجام می‌دهند. این پژوهش با توجه به ویژگیهای خاص رویشی و اقتصادی گیاه جوجوبا و به منظور بررسی تعادل یونی در حضور منابع مختلف ازتی و درجهت افزایش ضریب ازدیاد در شرایط درون شیشه انجام شد. ریز نمونه‌ها به مدت ۳۰ روز درمحیط کشت MS به عنوان شاهد حاوی هورمون های BA و IAA (به ترتیب ۰/۵ و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر) کشت شدند و بعد به محیط‌های حاوی تیمارهای ازتی (منابع و غلظتهای متفاوت ازت نسبت به محیط MS) انتقال یافتند. نمونه‌ها در دمای ۱±۲۵ درجه سانتیگراد و فتوپریود ۱۸ ساعت روشنایی نگهداری شدند. ۳۰ و ٤٥ روز پس از کشت مقدار عناصر درون بافتی N, P, K, Na و Ca، تعداد شاخه‌های جدید و وزن خشک نمونه‌ها تعیین شدند. نتایج نشان دادکه تیمارحاوی NH_4NO_3 با غلظت بیشتر از شاهد دارای بیشترین ضریب ازدیاد بود. بیشترین مقدار تجمع عناصر درون بافتی در نمونه‌های حاصل از تیمارهایNH_4NO_3 و NH_4NO_3 + KNO_3 مشاهده شدند. مقدار عناصر K و Na در نمونه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری نداشت. استفاده از منبع ازتی به صورت NH_4NO_3 و دوره رشدی ٤٥ روزه باعث ازدیاد ذخیره یونی و مقدار ماده خشک گیاه مزبور شد و در نتیجه موجب افزایش ضریب ازدیاد در شرایط درون شیشه گیاه جوجوبا شد.

واژه‌های کلیدی: جوجوبا، تعادل یونی، ضریب ازدیاد و ازت.

مقدمه

جوجوبا درختچه‌ای دو پایه است که به‌طور خودروی در صحرای سونوران در جنوب غربی امریکا، باهاما در کالیفرنیا و شمال غربی مکزیک می‌روید (Allawzi *et al*., 1992، Flo *et al*., 1997 ، Rost *et al*., 1980 Cantrel *et al*., 1991)، دزفولی و عالمی سعید (۱۳۷٦)). ویژگیهای منحصر به فرد این گیاه باعث جلب توجه بسیاری از محققان و حتی سوداگران اقتصادی شده است، به‌طوری که علاوه بر رویشگاه طبیعی در بسیاری از نقاط خارج از قلمرو خود کاشته شده که از رشد مطلوبی نیز برخوردار است (Gamborg & Shluk, 1970). میوه جوجوبا یک کپسول سبز بیضوی بلند است که حاوی یک تا سه عدد بذر می‌باشد (ناصری، ۱۳۷۰). حدود ۵۰ ٪ از وزن دانه‌ها را روغن (موم) بی‌رنگ و بی‌بوی ویژه‌ای تشکیل می‌دهد که در سلسله گیاهان منحصر به فرد است (Robbelene *et al*.,۱۹۸۹). باران سالانه در موطن طبیعی این گیاه حدود ۷۵۰-۷۵ میلیمتر است که نمایانگر مقاومت زیاد آن در برابر خشکی می‌باشد (ناصری، ۱۳۷۰ و Rost *et al*., 1980). از نظر مقاومت به شرایط شور محیطی، در کشت آزمایشگاهی یک رقم جوجوبا با آب و

خاک دارای شوری بالاهیچ کاهشی در تولید گل مشاهده نشده است (Cokelaere *et al*., 1992). این گیاه محدوده دمای بین ۸- تا ۵۰ درجه سانتیگراد را به خوبی تحمل می‌کند (نصیری و همکاران، ۱۳۷۷). کم توقعی و قابلیت زیاد جوجوبا جهت استقرار در زمین‌های بایری که استعداد کشاورزی ندارند باعث شده است تا این گیاه به عنوان تثبیت کننده خاک به منظور جلوگیری از فرسایش آبی و بادی به صورت کمربندی سبز در اطراف شهرهای کویری و کنار جاده‌ها مورد استفاده قرار گیرد (ابراهیم زاده، ۱۳۷۳) و (Yermanos *et al*.,1979). نواحی غیرحاصلخیزی در مناطق خشک و کم آب در سراسر دنیا از جمله در مناطق جنوبی ایران وجود دارند که کشت گونه‌های گیاهی مقاوم به خشکی و شوری ساده‌ترین و کم هزینه‌ترین راه استفاده از این گونه خاکها بشمار می‌آید. ازدیاد این گیاه از طریق بذر، قلمه و کشت بافت صورت می‌گیرد. کشت جوانه انتهایی و جانبی به عنوان ساقه‌های مینیاتوری اصولی‌ترین روش تکثیر غیر جنسی در شرایط آزمایشگاهی است. Lemoyn و همکاران (۱۹۷٦) ریز نمونه‌های حامل یک یا دو برگ از جوجوبا را در محیط پایه MS کشت دادند. Aragoa (۱۹۷۷)، Mandai و همکاران (۱۹۷۸) و Birnbaum (۱۹۷۸) به بهینه سازی محیط کشت به منظور ریز ازدیادی گیاه جوجوبا پرداختند.Wochok و همکاران در (۱۹۷۹) ازدیاد موفقیت آمیز گیاهچه‌های جوجوبا را از طریق جوانه انتهایی گزارش کردند (Rost *et al*.,1980). تا کنون محققان زیادی به مطالعه اثرات عوامل مختلف محیط کشت به منظور بهینه سازی شرایط ریز ازدیادی این گیاه پرداخته‌اند. انتخاب ترکیبهای آلی و معدنی محیط کشت اصولا جهت تضمین موفقیت در روشهای فوق اهمیت بسیاری پیدا می‌کند (Mezzetti *et al*., 1991). گونه‌های گیاهی مختلف که تحت شرایط یکسانی رشد می‌کنند نیز در استفاده از نمکهای معدنی متفاوت می‌باشند (Sutcliffe *et al*., 1974). اثر سطح ازت کل در محیط‌های پایه به قدری حائز اهمیت است که در بعضی از مقاله‌ها از آن به عنوان یکی از دلایل اختلاف رویش ژنوتیپ‌های گونه‌های مختلف بر روی فرمولاسیونهای مختلف نام می‌برند (Debegh *et al*., 1994). جهت رسیدن به رشد بهینه ازت مورد نیاز است، به‌طوری که حدود ۲ و ۵ درصد از وزن خشک گیاهی را تشکیل می‌دهد و وقتی که اندازه آن زیر مقدار بهینه باشد رشد را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Mengle *et al*., 1992 و Avila *et al*., 1998). شکل ازت جذب شده اصولا به وسیله فراوانی N و قابلیت دسترسی به آن تعیین می‌شود، به‌طوری که NO_3^- و NH_4^+ شکل‌های ازتی مهم برای تغذیه گیاهی می‌باشند (Wiren *et al*., 1997). به نظر می‌رسد که بعضی گونه‌ها به طور الزامی شکل خاصی از N را ترجیح می‌دهند (Wiren *et al*., 1997). به عنوان مثال گیاه صنوبر سفید (*White Spruce*) جذب NH_4^+ را بر جذب NO_3^- ترجیح می‌دهد (Wiren *et al*., 1997). نتایج پژوهشی روی گیاه *Populus tritchocarpa* نشان داد که گونه مزبور به NH_4^+ حساس است و گیاهان در محیط بدون NH_4^+ یا با غلظتهای پایین NH_4^+ بهتر رشد می‌کنند (Peuke *et al*., 1990). گیاهان تعیین شکل جذب N را جهت کاهش یا افزایش سطح N به منظور ثبات تعادل کاتیونی به آنیونی نیز انجام می‌دهند (Wiren *et al*., 1997). Kirkby و همکاران (۱۹٦۷) تأثیر منابع مختلف نیترات، اوره و آمونیم را روی تعادل یونی بافتهای مختلف گیاه گوجه فرنگی اندازه گرفتند و اعلام کردند که گیاهان تحت تأثیر نیترات در مقایسه با بافتهای تحت تأثیر آمونیم غلظتهای کاتیونی بالاتری داشتند و بافتهای تحت تیمار اوره حد

واسط این دو تیمار بودند (Kayani *et al*., 1990). Mengel و همکاران (۱۹۸۹) اثرات pH محیط رشد حاوی NH_4^+–N را روی جذب پتاسیم، کلسیم و یونهای دیگر در چغندرقند بررسی کردند. مقدار پتاسیم و کلسیم با کاهش pH که در اثر جذب NH_4^+ ایجاد شده بود کاهش یافت و برای گیاهانی که در محیط دارای NO_3–N زندگی می‌کردند در pH یکسان، میزان جذب کلسیم، منیزیم و پتاسیم بیشتر بود. با توجه به اثرات pH و احتیاج گیاهان به نگهداری خنثی بودن بار الکتریکی در طی جذب شکلهای کاتیونی و آنیونی ازت شرایط کاربرد نیترات و آمونیم برای گیاهان اهمیت به سزایی می یابد (Mengel & Pilbeam, 1999). از آن جایی‌که منابع مستقیم تأمین‌کننده ازت در محیط پایه MS دو منبع KNO_3 و NH_4NO_3 می‌باشند در این طرح ضمن بررسی اثرات ناشی از تغییرات غلظت N (تیمارهای کمی)، اثرات منابع مختلف تأمین کننده ازت و نسبتهای مختلف NO_3^-/NH_4^+ مورد بررسی قرار گرفت وغلظت درون بافتی عناصر N, P, K, Na وCa و ضریب ازدیاد گیاه جوجوبا در شرایط درون شیشه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

ریزنمونه‌ها که گیاهچه‌های موجود در شرایط *In vitro* بودند از بخش کشت بافت مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع تهیه شدند. این ریزنمونه‌ها به مدت ۳۰ روز در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر IAA کشت شدند و بعد به ظرفهای کشت شیشه‌ای حاوی ٤۰ میلی‌لیتر محیط MS دارای تیمارهای مختلف ازتی بود (جدول ۱) منتقل شدند. نمونه‌ها در دمای ۱±۲۵ درجه سانتیگراد و شدت نور ۱۵۰۰ لوکس با فتوپریوید ۱۸ ساعت روشنایی و ٦ ساعت تاریکی نگهداری شدند. مدت زمان مشاهده و نمونه‌برداری ۳۰ و ٤۵ روز پس از کشت بود. مقدار درون بافتی عناصر معدنی با استفاده از روش هضم مرطوب اندازه‌گیری شد (Girma *et al*., 1997 و آشتیانی، ۱۳٦۹). نمونه‌ها داخل فویل آلومینیومی پیچیده شدند و به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد در آون خشک شدند.

جدول ۱- منابع ازتی در محیط های کشت دارای تیمار

تیمار	منبع نیترات	نسبت مولی (NO_3^-:NH_4^+)
۱	NH_4NO_3	۱:۱
۲	KNO_3	۰:۱
۳	$KNO_3 + NH_4NO_3$	۱:۲

هر تیمار در پنج غلظت مختلف نسبت به محیط پایهMS (شاهد) تهیه شد (۱/۴A، ۱/۲A،A، ۰/۸A، ۰/۶ A). A= غلظت ازت در محیط پایه

پس از اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها به ارلن منتقل شده و با اضافه شدن اسید (۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹٦ درصد به همراه ٦ گرم اسید سالیسیلیک) به مدت ۱۰ ساعت در حرارت ۱۸۰ درجه سانتیگراد هضم شدند. پس از خنک شدن نمونه‌ها، آب اکسیژنه قطره قطره اضافه شد تا بخار سفید رنگی ظاهر شود. محلول بی‌رنگ حاصل با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

اندازه‌گیری فسفر و ازت: برای اندازه‌گیری این دو عنصر از روش رنگ سنجی به کمک اسپکتروفوتومتری استفاده شد (Hill brand *et al*., 1953 و Podwyszynska *et al*., 1995) و آنگاه غلظت هر نمونه بر اساس منحنی استاندارد محاسبه شد.

اندازه‌گیری فسفر: ۲/۵ میلی‌لیتر از عصاره هضم شده به همراه ۲/۵ میلی‌لیتر معرف (۲۲/۵ گرم آمونیم مولیبدات در ٤۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱/۲۵ گرم آمونیم وانادات در ۳۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر در حال جوش حل شدند و به

وسیله نیتریک اسید به حجم یک لیتر رسید) در بالن ۲۵ میلی‌لیتری به حجم رسانده شد و پس از ۱۰ دقیقه جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٤٥٠ نانومتر خوانده شدند.

اندازه‌گیری ازت: ۲ میلی‌لیتر از محلول هضم شده در بالن ۲۵ میلی‌لیتری ریخته شد. بعد، ۵ میلی‌لیتر سدیم سیترات سود (۱۵ گرم سدیم سیترات در ۲۰۰ میلی‌لیتر آب حل شده و ۵ میلی‌لیتر سود ۲۰۰ گرم بر لیتر افزوده شد)، ۲ میلی‌لیتر محلول فنل در الکل (۲۵ گرم فنل بلوری در ۱۰۰ میلی‌لیتر الکل ۹٦ درصد) و ٤ میلی‌لیتر سدیم هیپوکلریت اضافه شد و محلول با آب مقطر به حجم رسید. پس از ۱۰ دقیقه جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٦۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد (Podwyszynska et al., Weatherburn *et al*., 1967; 1995).

اندازه‌گیری پتاسیم، کلسیم و سدیم: جهت اندازه‌گیری عناصر ذکر شده از دستگاه جذب اتمی استفاده شد و غلظت هر عنصر بر اساس منحنی استاندارد رسم شده تعیین گردید.

در پایان هر مرحله زمانی ۳ تکرار جهت اندازه‌گیری تعداد شاخه جدید، وزن خشک و مقدار عناصر معدنی Na ,N ,P ,K و Ca اختصاص داده شد. نتایج به وسیله برنامه کامپیوتری MSTATC تجزیه شد. در این طرح از آزمون فاکتوریل و طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی استفاده گردید و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و سطح خطای ۰/۰۱ انجام شد.

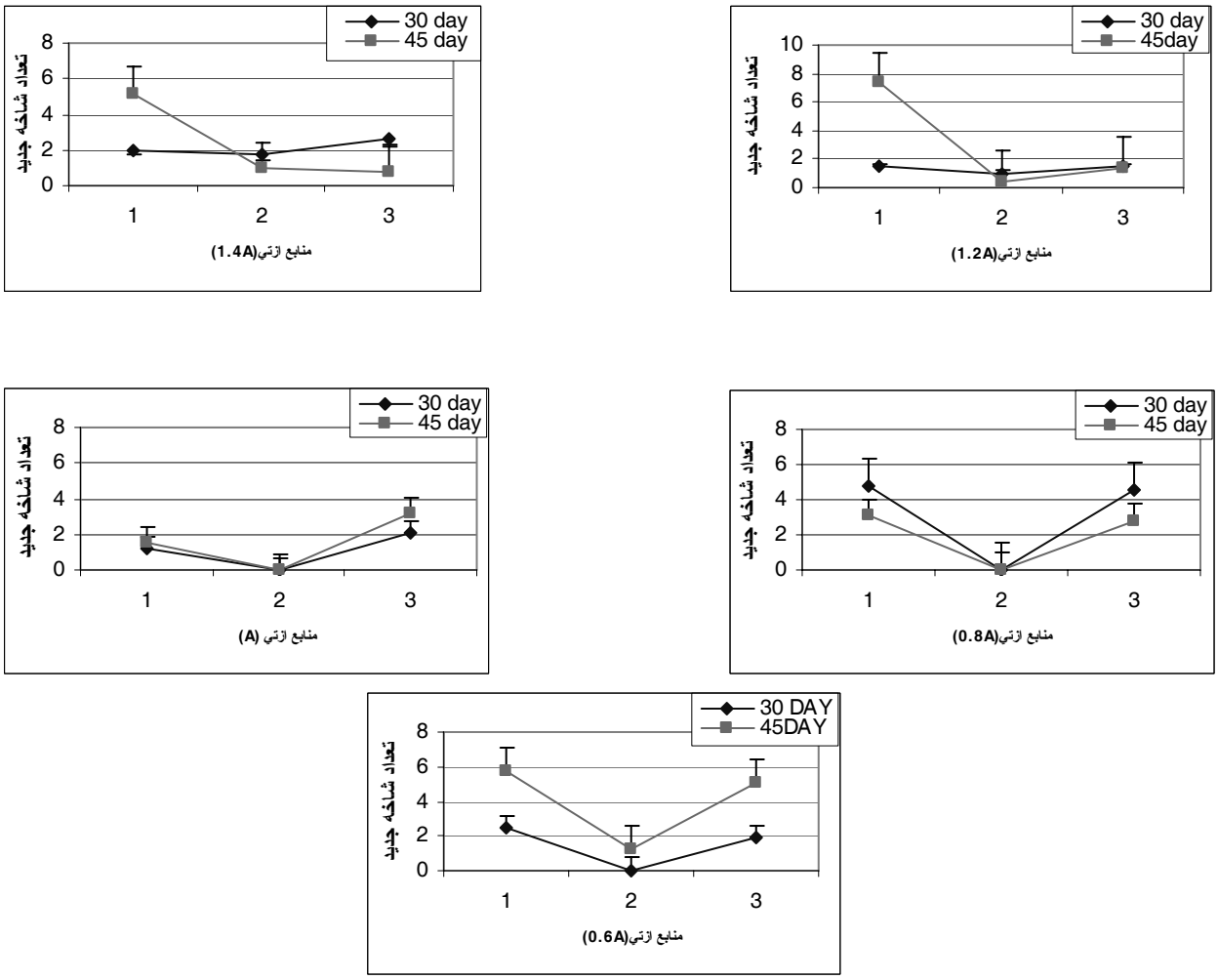
نتایج

بررسیهای آماری نشان داد که مقدار ماده خشک موجود در نمونه‌های مورد مطالعه از تیمارهای مختلف دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد و مقایسه میانگین‌ها نشان داد که پس از گذشت ۳۰ روز از کشت نمونه‌های مربوط به تیمار ۲ حداقل وزن خشک را دارا بودند. تیمار ۱و ۳ با غلظت ۰/۸برابرمحیط MS (۰/۸A) بیشترین مقدار وزن خشک را دارا بود و ٤٥ روز پس از کشت غلظت ۱/۲A از تیمار ۱ و ٦/ A ۰از تیمار ۳ بیشترین مقدار ماده خشک را دارا بودند، به‌طوری‌که تیمار ۱/۲A مقدار ماده خشک بیشتری نسبت به تیمار ۳ داشت (جداول ۲ و ۳).

مقایسه اثر تیمارها بر میزان ازت جذب شده اختلاف معنی‌داری نشان داد (جدول ۲). در مدت زمان ۳۰ روز از کشت و کاربرد منبع ازتی به شکل آمونیم نیترات بیشترین مقدار ازت در تیمار غلظتی ۱/۲ A بود و پس از گذشت ٤٥ روز از کشت تیمار با غلظت برابر شاهد بیشترین مقدار ازت را دارا بود. مقدار تجمع N در بافتها در تیمار۲ نشان داد که کاهش غلظت ازت در محیط کشت تا سطح ۰/٦A موجب افزایش مقدار ازت در بافتها شده، ولی با گذشت زمان مقدار N موجود در بافتها در تیمار با غلظت ازتی برابر شاهد بیشتر بود. مقدار N در هر دو دوره کشت در نمونه‌های حاصل از تیمار۲ کم بود. تجزیه و تحلیل آماری حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در مقدار فسفر درون بافتی بود. نتایج حاصل از بکارگیری آمونیم نیترات به عنوان منبع تأمین کننده ازت با نسبت مولی ۱:۱ (NO_3:NH_4^+) و تیمار ۳ با نسبت مولی ۲:۱ نشان داد که بیشترین میانگین فسفر درون بافتی در میان این تیمارها دیده می‌شد، به طوری‌که ۳۰ روز پس از کشت بیشترین میانگین در تیمارهای غلظتی ۱/۲A و ۰/٦A دیده شد. افزایش غلظت ازت تا ۱/٤A همراه با کاهش در مقدار فسفر درون بافتی بود (جداول ۲ و ۱). با گذشت ٤٥ روز از کشت تیمارغلظتی ۱/٤ دارای مقدار فسفر بیشتری بود. نتایج استفاده از تیمار پتاسیم نیترات و نسبت مولی۱:۰ نشان داد که ۳۰ روز پس از کشت بین تیمارهای غلظتی بیشتر از شاهد، تیمار۱/۲A دارای فسفر بیشتری بود و ٤٥ روز پس از کشت تیمار ۱ با غلظت ۰/٤A و تیمار ۳ با

غلظتهای ١/٢ و ٠/٨A بیشترین مقدار فسفر را دارا بودند که نسبت به تیمار ١ در سطح پایین‌تری قرار داشتند. مقدار پتاسیم و سدیم درون بافتی در بین نمونه‌های حاصل از تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان نداد. تیمارهای ١ و ٣ با غلظتهای ١/٢ و ٠/٦A و با گذشت ٣٠ روز از کشت دارای مقادیر زیادی از کلسیم نسبت به سایر تیمارها بودند، در حالی‌که ٤٥ روز پس از کشت مقدار تجمع این عنصر کاهش یافت و در تیمار١ با غلظت برابر شاهد و تیمار ٣ با غلظت ١/٤A مقدار کلسیم بیشتری در بافتها تجمع یافته بود (جدول ٢).

بیشترین ضریب ازدیاد در تیمار ١ با غلظت ١/٢A و ٤٥ روز پس از کشت مشاهده شد (شکل ١). این در حالی است که در پایان دوره ٣٠ روزه ا ین تیمار دارای ذخایر زیادی از ازت، فسفر و کلسیم بود و همچنین بیشترین مقدار ماده خشک (پس از ٤٥ روز) در این تیمار مشاهده شد.



شکل ١: تأثیر منابع و غلظتهای مختلف ازتی بر ضریب ازدیاد گیاه جوجوبا در شرایط درون شیشه ٣٠ و ٤٥ روز پس از کشت. غلظت ازت در محیط پایه (A) و منابع ازتی در محیط کشت شامل تیمارهای ١(NH_4NO_3) ، ٢(KNO_3) و ٣($KNO_3 + NH_4NO_3$).

جدول ۲ : مقدار تجمع عناصر Ca ,P,N و ماده خشک در بافتهای گیاهی جوجوبا در شرایط درون شیشه (۳۰ روز کشت در تیمارهای مختلف ازتی)

منابع و غلظتهای	N(٪)			P(٪)			Ca(٪)			ماده خشک (mg)		
	N1	N2	N3	N1	N2	N3	N1	N2	N3	N1	N2	N3
A ۱/۴	۲/۱۸۵ e	۰/۹۸۰ c	۱/۷۴۰ e	۱۱/۲۹ e	۱۴/۱۱۱ e	۷/۵۳۷ e	۳۹۸/۴۱۱ d	۱۸/۶۶۳ d	۱۲۰۶ d	۰/۱۱۳ d	۰/۰۱۶ de	۰/۱۱۰ de
A ۱/۲	۹/۸۴۵ a	۱/۵۰۰ a	۳/۹۵۳ c	۹۹/۸۶ b	۶۵/۵۳۲ a	۹۵/۳۹۱ a	۹۴۰/۸۰۲ a	۲۰/۴۳۰ c	۱۷۲۱ b	۰/۱۰۶ de	۰/۰۹۳ a	۰/۱۲۰ cd
A	۵/۰۷۲ d	۰/۸۹۰ d	۶/۱۶۶ b	۶۸/۶۱ c	۳۸/۵۳۱ c	۶۷/۶۴۱ d	۳۴۲/۱۰۵ e	۱۳/۱۱۱ e	۳۳۳۲ a	۰/۱۴۵ c	۰/۰۲۸ c	۰/۲۲۴ b
A ۰/۸	۵/۴۵۷ c	۰/۶۶۰ e	۲/۸۸۷ d	۶۴/۲۸۱ d	۱۹/۳۲ d	۶۹/۲۶۱ c	۵۲۶/۷ c	a۸۶/۳۳۱	۸۸۶ e	۰/۳۰۲ a	۰/۰۲۳ cd	۰/۳۲۰ a
A ۰/۶	۷/۸۶۰ b	۱/۰۲۰ b	۹/۰۷۷ a	۱۰۷/۱۰۱ a	۶۰/۴۱۱ b	۸۰/۹ b	۸۷۵/۵ b	۲۸/۷۸۰ b	۱۳۹۳ c	۰/۱۷۶ b	۰/۰۴۰ b	۰/۱۳۶ c

– حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار است. – کدها طبق جدول ۱ می‌باشند.

جدول ۳– مقدار تجمع عناصر P، N، Ca و ماده خشک در بافتهای گیاهی جوجوبا در شرایط درون شیشه (٤٥ روز کشت در تیمارهای مختلف ازتی)

منابع و غلظتهای ازتی	N (٪)			P (٪)			Ca (٪)			ماده خشک (mg)		
	N1	N2	N3	N1	N2	N3	N1	N2	N3	N1	N2	N3
1/2A	۱ e	۰/۷۴ a	۵/۰۲ b	۹۵/۲۷ a	۳۵/۶۰ d	۵۷/۹۶۰ c	۳۵۸/۹ b	۱۵/۴۲ a	۹۷۳/۲۰ a	۰/۲۵ c	۰/۰۶ b	۰/۰۵۶ e
1/2 A	۲/۴۴ d	۰/۶۵ b	۳/۵۹ e	۵۱/۳۹ cd	۴۹/۵۵ c	۸۴/۲۲ a	۳۳۲/۵۱ bc	۱۰/۰۱ b	۵۰۳/۳۱ b	۰/۵۲ a	۰/۰۴ c	۰/۱۱ d
A	۹/۶۴ a	۰/۵۸ c	۹/۵۹ a	۷۲/۴۲ b	۵۸/۰۴ b	۵۶/۳۵ cd	۵۴۶ a	۹/۰۲ c	۳۸۶ cd	۰/۱۳ d	۰/۰۳ d	۰/۳۴ b
۰/۸A	۴/۷۸ b	۰/۴۴ e	۴/۳۵ c	۵۴/۶۵ c	۴۹/۹۲ c	۸۲/۳۳ ab	۳۴۳ bc	۶/۳۳ d	۳۹۷/۰۱ c	۰/۱۳ d	۰/۰۴ c	۰/۲۱ c
۰/۶ A	۳/۱۰ c	۰/۵۲ cd	۴/۱۲ cd	۴۰/۶۷ e	۶۷/۵۲ a	۳۷/۴۲ e	۳۰۸/۹۰ cd	۵/۷۴ e	۵۱۱/۳۱ b	۰/۴۲ b	۰/۰۷ a	۰/۴۱ a

حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌ار است. کدها طبق جدول ۱ می‌باشند.

بحث

ازت یکی از عناصر غذایی پر مصرف اساسی مورد نیاز گیاهان در شرایط درون شیشه می‌باشد، به طوری‌که مقدار و شکل ازت بکار رفته نه تنها روی رشد و فعالیتهای متابولیسمی گیاهان بلکه روی مورفولوژی سلولها و نمو بافتها هم تأثیر دارد (Hdider *et al*., 1994).

مصرف و متابولیسم ازت معدنی جذب شده ضرورتا در اولین مرحله قرار دارد که این مرحله خود تنظیم است و همچنین به وسیله مراحل بعدی احیاء نیترات و نیتریت و به وسیله مصرف و متابولیسم آمونیم به آمینواسیدها تنظیم می‌شود (Mengle *et al*., 1992). در نتیجه سیستم مسئول انتقال ازت از نظر بیان و فعالیت وابسته به قابلیت دسترسی به منبع ازت و میزان احتیاج به آن می‌باشد که در نتیجه به تنظیم خوبی هم احتیاج دارد (Wiren *et al*., 1997).

در گیاهان ذرت ورود نیترات زمانی که آمونیم حاضر بود در حد پائینتری قرار داشت که ممکن است به کاهش در فعال بودگی یا سنتز ناقلین شرکت کننده در جذب نیترات مربوط باشد (Mengle *et al*., 1992). افزایش غلظت ازت و نسبت آمونیم استفاده از کربن را افزایش می‌دهد، به‌طوری که اثرات آن در تجمع ماده خشک در گیاهچه‌ها منعکس می‌شود (Mature *et al*., 1995). در این پژوهش نمونه‌های حاصل از محیط‌های دارای آمونیم با غلظت بیشتر از شاهد دارای ماده خشک بیشتری نیز

می‌باشد. ازت غیر آلی (وابسته به منبع ازتی) اثرات متفاوتی روی کشت گیاهان دارد و نسبت بین منابع ازتی بکار رفته نقش مهمی را در تقسیم بندی زیتوده (بیوماس) و نسبت شاخه به ریشه دارد (Mezzetti *et al*., 1991) ودر بیشتر موارد آمونیم برای توسعه کشت بافت ضروری می‌باشد (Laukanen *et al*., 1997).

با پژوهش روی ریزازدیادی گیاه Jujube نشان دادند که افزایش غلظت آمونیم نیترات به پتاسیم نیترات در محیط موجب بالا رفتن تعداد شاخه و برگ در زمان کوتاهتری می‌شود (Mature *et al*., 1995).

در این پژوهش نیز در تیمارهایی که منبع ازتی تنها دارای پتاسیم نیترات بودند به خصوص با کاربرد غلظتهای پایینتر از شاهد بیشترین عوارض برگی مشاهده شد. پهنک برگها زرد و سفید شده و برگهای قدیمی‌تر شروع به ریزش کردند.

تغییرات pH محیط‌های پایه که توسط گونه‌های گیاهی مختلف ایجاد می‌شود متفاوت است و این تفاوت می‌تواند از اختلاف بین جذب آمونیم و نیترات حاصل شود (Marschner, 1995; Mercier *et al*.,1997). در حضور منبع آمونیمی چنانچه گیاه یون‌های آمونیم را جذب کند pH کاهش یافته و در نتیجه جذب آمونیم در گیاه کاهش می‌یابد و جذب ازت در شکل نیتراتی ارجحیت پیدا می‌کند و همانطور که نتایج این پژوهش نیز نشان می‌دهد حضور پتاسیم نیترات با مقادیر کمتر می‌تواند از کاهش یا افزایش بیش از حد pH جلوگیری کند (Leifert *et al*., 1992; Gamborg *et al*., 1970). بنابراین جهت ایجاد ضریب ازدیاد بالا در گیاهان و رشد ایده‌آل بررسی تغییرات نمکهای معدنی در محیط درون شیشه و بدست آوردن توازن صحیح نیترات به آمونیم ضروری به نظر می‌رسد.

مطابق نتایج Raab و Terry (۱۹۹۵) نوع تغذیه ازتی بر متابولیسم کربن، ازت و جذب و انتقال سایر یونها مؤثراست. نتایج این پژوهش نیز نشان داد که نوع تغذیه ازتی بر مقدار عناصر درون بافتی مؤثر بود و بیشترین ماده خشک در ۳۰ روز اول با حضور غلظتهای پائینتر از شاهد بدست آمد، ولی با گذشت زمان کشت بیشترین مقدار ماده خشک با حضور نسبت مولی ۱:۱ از نیترات و آمونیم با غلظتهای بیشتر از شاهد و با نسبت مولی ۱:۲ در غلظت پایینتر از شاهد حاصل شد. با طی زمان کوتاهتر و با نسبت مولی یکسان از نیترات و آمونیم ماده خشک بیشتری ایجاد شد. در تیمارهایی که آمونیم حاضر می‌باشد اندازه کلروپلاست دو برابر می‌شود و افزایش ازت در گیاهان تحت آمونیم مربوط به تجمع N در پروتئین کلروپلاستی می‌باشد (Raab *et al*., 1995).

فسفر در گیاه متحرک بوده و جزء ساختمانی تعدادی از ترکیبهای حیاتی از قبیل مولکولهای انتقال‌دهنده انرژی می‌باشد و نقش مهمی‌در سلامتی غشاء به عهده دارد. بالا رفتن مقدار فسفر در تعدادی از تیمارها درطی ۳۰ روز پس از کشت موجبات افزایش توان شاخه‌زایی و تولید ماده خشک را در دوره ٤۵ روزه کشت ایجاد کرد.

گیاهان تحت تیمار با نسبت بیشتر نیترات دارای مقادیر بیشتری از کلسیم بودند که احتمالا به نحوه انتقال نیترات مربوط می‌باشد. مقایسه مقدار کلسیم و ازت در تیمارهای ۱و۳ نشان داد که با افزایش میزان جذب N مقدار کلسیم درون بافتی نیز افزایش یافته و در تیمار ۳ نسبت به تیمار ۱ مقدار کلسیم بیشتر می‌باشد که احتمالا مربوط به بیشتر بودن نسبت نیترات به آمونیم در تیمار۳ می‌باشد (Kirkby *et al*., 1967).

مقدار پتاسیم و سدیم در اواسط دوره رشد افزایش یافت ولی در پایان دوره رو به کاهش گذاشت. پتاسیم در گیاهان مولکولهای عالی پیچیده تشکیل نمی‌دهد و عمدتا به صورت فعال کننده آنزیمها یا کوآنزیمها عمل می‌کند. در محیط‌های کشت شناخته شده جهت کشت بافت

گیاهان نسبت به سایر عناصر غذایی پر مصرف از غلظت بحرانی کمتری برخوردار است.

بهترین نسبت مولی برای این گونه گیاهی در تیمارهای ازتی با نسبت ۱:۱، $NO_3^-:NH_4^+$ بودکه با استفاده از منبع ازتی به شکل NH_4NO_3 قابل حصول بود. مطابق نتایج بدست آمده این گونه گیاهی در ابتدای دوره کاشت جذب ازت از منبع آمونیمی را بر جذب منبع نیتراتی ترجیح داد و به دنبال تغییر غلظت و منابع ازت، شاخص‌های رشدی نیز تغییر می‌یابد که احتمالا مربوط به اثرات این تیمارها بر مقدار درون بافتی ازت و جذب سایر یونها می‌باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش در محل مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع در قالب یک طرح انجام گردید. بدین‌وسیله از ریاست محترم وقت مؤسسه، جناب آقای دکتر عادل جلیلی و همکاران محترم ایشان که امکانات لازم جهت انجام طرح را در اختیار اینجانب قرار دادند، تشکر می نمایم.

منابع مورد استفاده

ابراهیم زاده، ح.، ۱۳۷۳. فیزیولوژی گیاهی (مبحث تغذیه و جذب). انتشارات دانشگاه تهران، ۳۷۰ صفحه.

اوسطی آشتیانی، ز.، ۱۳۶۹. روشهای آزمایشگاهی بیوشیمی، انتشارات جهاد دانشگاهی، تهران، ۱۶۰ صفحه.

دزفولی هاشمی، س.ا. و عالمی، س. خ.،۱۳۷۶. اثرات درجه حرارت و غلظت نمک بر روی جوانه‌زنی دانه‌ها و رشد اولیه گیاهچه‌های هوهوبا. مجله بیابان، جلد، ۲ شماره ۲، ص ۲۳-۱۳.

ناصری، ف.، (وایس.ای.آ)،۱۳۷۰. دانه‌های روغنی. مؤسسه چاپ و انتشارات آستان قدس رضوی، تهران،۳۵۰ صفحه.

نصیری، م. و حاج نجاری، ح.، ۱۳۷۷. جوجوبا (بررسی روشهای تولید نهال از طریق بذر و ریزازدیادی. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، ۱۵۰ صفحه.

Allawzi, M., Abu-Arabi, M.K., Zoubi, H.S. and Tamimi, A., 1992. Physiochemical characteristics and stability of jordanian jojoba oil. Journal of the American Oil Chemists' Society. 75(1):57-62.

Aragoa, G.M., 1976. Growth and morphogenesis of Jojoba shoot tips in vitro agriculture. Plant Physiology. University of Arizona.

Avila, A., Pereyra, S.M. and Arguella, J.A., 1998. Nitrogen concentration and proporation of NH_4^+-N affect potato cultivar response in solid and liquid media. Hort Science. 33(2): 336-338.

Cantrel, C., Couilot-Salomon, T., Brown, S.C., Marie, D. and Dubacq, J.P., 1991. Isolation and biochemical characterization of protoplast of Jojoba. Plant Cell Physiology. 32(7): 959-967.

Cokelaere, M.M., Dangreau, H.D., Arnouts, S., Kuhn, E.R. and Decuypere, E.M.P., 1992. Influence of pure simmondsin on the food intake in rats. J. Agric. Food Chem. 40:1839-1842.

Debergh, P.C., Deriek, J. and Matthys, D., 1994. Nutrient supply and growth of plants in culture, Physiology, growth and development of plant in culture lumsden. Kluwer Academic publishers, Dordre cht, Nutherlands.

Flo, G., Daenens, P., Van Boven, M., Vermaut, S., Decupere, E. and Cokelaere, M.M., 1997. Absorption and excretion of Simmondsin after different administration routes in rates. J. Agric. Food. Chem. 45:185-188.

Gamborg, O.L. and Shyluk, J.P., 1970. The culture of plant cells with ammonium salts as the sole nitrogen source. Plant Physiology. 45: 598-600.

Girma, M., Sundia, P., Adalsteinsson, S and Jensen, P., 1997. Uptake and translocation of N and P in Leucanen leucosephal growth at different N, P and Al concentrations. Plant Nutrition for Sustainable Food Production and Environment. 135-136.

Hdider, C., Vezina, L. P. and Desjardins, Y., 1994. Short-term studies of $No_3^-$and NH_4^+ uptake by micropropagated strawbwrry shoots culture with or without CO2 enrichment. Plant Cell, Tissue and Organ Culture.37: 185-191.

Hille brand, W.F. and Lundell, G.E.F., 1953. Applied inorganic analysis p.694-710.

Kayani, S.A., Nagvi, H.H. and Ting, L.P., 1990. Salinity effects on germination and mobilization of reserves in jojoba seed. Crop Sci. 30:704-708.

Kirkby, E.A. and Mengel, K., 1967. Ionic balance in different tissue of the tomato plant in relation to nitrate, urea or ammonium nutrition. Plant Physiology. 42: 6-14.

Laukanen, H., Julkunen, T.R. and Hohtola, A., 1997. Effect of different nitrogen nutrition on the viability, protein synthesis and tannin production of scots pine callus. Physiologya Plantarum . 100:982-988.

Leifert, C., Pryce, S., Lumsden, P.J. and Woutes, W.M., 1992. Effect of medium acidity on growth and rooting of different plants growing in vitro. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 30: 171-179.

Podwyszynska, M., Olszewski, T., 1995. Influence of gelling agents on shoot multiplication and the uptake of macroelements by in vitro culture of rose, cordyline and homalomena. Scientia Horticulture. 64:77-84.

Raab, T. K. and Terry, N., 1995. Carbon and nitrogen nutrient interactions in *Beta vulgaris* L. as influenced by nitrogen source NO3- versus NH4+. Plant Physiology. 107: 575-584.

Robbelene, G. E., Downey, R. K., Ashri, A., 1989. Oil crops of the world, their breeding and utilization, Section: 25.

Rost, T.L. and Hinchee, M.A.W., 1980. Preliminary report of the production of callus, organogenesis and regeneration of Jojoba in tissue culture. J. Horticulture Science. 55(3): 299-305.

Sutcliffe, J.F. and Baker, D.A., 1974. Plant and mineral salts. Edward Anold. London.220 p.

Weatherburn, M. W., 1967. Phenol-hypocholorite reaction and determination of ammonia. Anal. Chem. 39:971-974.

Wiren, N.V., Gazzarrini, S. and Frommer, W.B., 1997. Regulation of mineral nitrogen uptake in plants. plant and soil. 196:191-199.

Yermanos, D.M., 1979. Jojoba: A crop whose time come California .Agriculture. 33(788):4-11.

Marschner, H.,1995. Mineral nutrition of higher plants, Academic Press, 674p.١٠

Mature, N., Ramawat, K.G. and Nandwani, D., 1995. Rapid *in vitro* multiplication of Jujobe through mature stem explants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 43: 75-77.

Mengel, K. and Pibeam, D.J., 1992. Some aspects of the utilization of nitrate and ammonium by plants nitrogen metabolism. Section: 5, p.65.

Mengel, K. and Pilbeam, D. J., 1992. Transport of nitrate and ammonium through plant membranes. Nitrogen metabolism. Section 11. p. 121.

Mercier, H., Kerbauy, G.B., Sotta, B. and Miginiac, K., 1997. Effect of No_3^-, NH_4^+ and urea nutrition on endogenus levels of IAA and four cytokinins in two epiphytic bromeliads. Plant cell and environment, 20:387-392.

Mezzetti, B., Rosati, P. and Casalicchio, G., 1991. Actinidia deliciosa deliciosa C. F. liang in vitro I. Growth and mineral uptake by explants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 25:91-98.

Peuke, A. D. and Tischner, R., 1990. Effects of variation in nitrogen nutrition on growth of poplar (*Populus trichocarpa*) clones Plant nutrition-physiology and applications. Kluwer Academic Publishers.

Evaluation of ionic equilibrium and propagation coefficient of jojoba (*Simmondsia chinensis* (link) Sch.) *in vitro*

T. Hasanloo[1], H. Hajnajjari[2], H. Fahimi[1] and M. Nasiri[3]

1- Department of biology, Faculty of science, Tehran University E-mail: thasanloo@yahoo.com
2- Seed and Plant Improvement Institute (SPII)
3- Research Institute of Forests and Rangelands

Abstract

Correlation between media and explants in micropropagation method in different stages of growth and absorption, transport and collection of materials are unknown. Different species of plants that grown in the same conditions differ in use of salts. The form of N uptake is also determined by plant preferences for certain N forms. The form of N uptake is also subject to plant preferences by which plants maintain their cation/anion balance during uptake. Ion equilibrium and propagation coefficient of jojoba were analyzed on the treatment media (different sources and concentrations of N compared to MS medium). The explants grown in MS medium containing 0.5 mgl^{-1} BA and 0.01 mg l^{-1} IAA for 30 days. The explants were transferred to treatment media (NH_4NO_3 ¸ KNO_3 and KNO_3 + NH_4NO_3). They were left under controlled environment with temperature of 25 °C and day length of 18 hours. We analyzed content of N, P, K, Na, Ca, propagation coefficient and dry weight of samples. The highest content of mineral elements was in samples from media including NH_4NO_3 or KNO_3 + NH_4NO_3. Contents of K and Na in samples showed no significant difference. An increase in ion content, dry weight and propagation coefficient was observed after 45 days of transplanting to the treatment media including NH_4NO_3.

Key words: Jojoba, Ion equilibrium, Propagation coefficient and Nitrogen.