

مقایسه اثر نانوکودها و کود شیمیایی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی *Lavandula stricta* Del. باززایی شده از بذر و کشت بافت

مهديه مظلومی ابوخیلی^۱، سارا خراسانی نژاد^{۲*} و مهدی علیزاده^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

پست الکترونیک: khorasaninejad@gau.ac.ir

۳- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ پذیرش: آبان ۱۳۹۶

تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۶

چکیده

اسطوخودوس راست (*Lavandula stricta* Del.) از گیاهان دارویی اسانس دار و بومی ایران می باشد که به صورت سنتی در درمان درد مفاصل، دل پیچه و زکام کاربرد دارد. در سیستم های کشاورزی متداول استفاده از کودهای مختلف و تلفیق آنها، برای بدست آوردن بیشترین عملکرد گیاه و کیفیت مواد مؤثره است. به همین منظور، برای مقایسه اثرات نانوکودها و کود شیمیایی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و فیتوشیمیایی اسطوخودوس باززایی شده از بذر و کشت بافت، آزمایشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی شامل دو نوع تیمار که عبارتند از نوع گیاه با روش های باززایی متفاوت (بذری و کشت بافتی) و انواع مختلف کود (شاهد، کود شیمیایی NPK (۲۰-۲۰-۲۰) در غلظت های ۱۰ و ۲۰ کیلوگرم در هکتار و کود نانو NPK (۱-۱-۱) در غلظت های ۱۰ و ۲۰ کیلوگرم در هکتار) بودند. در زمان شروع گلدهی، شاخص های رشدی و خصوصیات مورفولوژیکی و در زمان گلدهی کامل برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه ارزیابی شد. نتایج نشان داد که تیمار کودی اثر معنی داری روی تمامی صفات اندازه گیری شده بجز سطح برگ، ارتفاع بوته، فاصله میان گره، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن هزاردانه و فنل کل در سطح احتمال ۱٪ داشت. تفاوت در نوع نمونه کشت شده نیز سبب بروز اختلاف در ویژگی های فیتوشیمیایی و مورفولوژیکی بجز صفات ارتفاع بوته، تعداد ساقه اصلی، وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن هزاردانه شد. همچنین از اثر متقابل تیمار کودی و نوع کشت، روی تمامی خصوصیات اندازه گیری شده بجز ارتفاع بوته، وزن تر اندام هوایی و وزن هزاردانه اثر معنی داری مشاهده شد. به طور کلی نتایج نشان داد که کاربرد کود نانو NPK روی گیاهان حاصل از کشت بافت منجر به بهبود عملکرد و بازده محصول در این تحقیق گردید.

واژه های کلیدی: اسطوخودوس راست (*Lavandula stricta* Del.)، کود شیمیایی، کود نانو، NPK.

مقدمه

امروزه گیاهان دارویی به عنوان نوآوری‌های زیستی در عرصه پزشکی جایگزینی شایسته برای داروهای شیمیایی هستند که یکی از علل مهم این جایگزینی حداقل عوارض جانبی نسبت به داروهای شیمیایی است (Edzard, 2009). از این رو استفاده از طب مکمل و جایگزین به طور مداوم در حال افزایش است (Nourbala et al., 2004). از طرفی نیاز به اهلی کردن و کشت گیاهان دارویی قبل از آنکه بهره‌برداری بی‌رویه باعث انقراض آنها گردد، دارای مزایایی شامل عدم آلودگی گیاهان دارویی به مواد ناخواسته، امکان کنترل‌های پس از برداشت، شناسایی بهتر و اصلاح ژنتیکی گونه و جلوگیری از زوال تنوع ژنتیکی گونه‌های کشت شده است (Nowruze & Khyrkah, 2014).

اسطوخودوس (*Lavandula spp*) از گیاهان گلدار خانواده Lamiaceae بوده که به طور وحشی در نواحی مدیترانه، شبجزیره عربستان، جزایر قناری و هند می‌روید. تاکنون ۳۹ گونه از آن شناسایی شده است (Upson et al., 2004). این جنس در ایران دو گونه به نام‌های *L. stricta* و *L. sublepidota* دارد که در مناطق جنوبی ایران به صورت خودرو می‌رویند (Mozaffarian, 1996). اسطوخودوس راست با نام علمی *Lavandula stricta* Del. گیاهی است از خانواده نعناع، بوته‌ای با قاعده چوبی، به ارتفاع ۴۵ تا ۲۰۰ سانتی‌متر، ساقه در قسمت‌های پایینی منشعب، گیاه پوشیده از کرک‌های ساده کوتاه و کرک‌های زگیل‌مانند غده‌دار، برگ‌ها با بریدگی عمیق می‌باشد و در فارسی به آن اسطوخودوس راست یا افراشته نیز می‌گویند (Jamzad, 2012; Soltanipour, 2004). گونه *L. stricta* در شیب شمال غرب در رویشگاه کوهستانی مناطق گنو و آب گرم گنو، در اقلیم گرم و خشک بیابانی با بارندگی متوسط سالانه ۱۰۰-۲۰۰ میلی‌متر، درجه حرارت متوسط ۲۷/۵-۲۵ درجه سانتی‌گراد و در ارتفاع ۳۰۰-۵۰ متر از سطح دریا پراکنش دارد (Soltanipour, 2005). در استان هرمزگان

از برگ، گل و ساقه برای درمان درد مفاصل، دل‌پیچه و زکام استفاده می‌شود.

حاصلخیزکننده‌های خاک تأثیر مناسبی بر افزایش تولید غذا در جهان داشته و از نهاده‌های مهم در توسعه کشاورزی مرسوم هستند (Fixon & West, 2002). کودها از جمله مهمترین منبع تغذیه‌ای گیاه شناخته می‌شوند، اما به دلیل اثرات مضر کودهای شیمیایی مرسوم بر محیط‌زیست و کیفیت غذایی، مدت‌هاست که استفاده از آنها مورد نکوهش قرار گرفته است (Chinnamuthu & Boopathi, 2009). از آنجایی که کاربرد کودهای شیمیایی برای محصول مناسب انکارناپذیر است، باید به دنبال راهکارهای بهینه کردن مصرف کودها بود. بنابراین بکارگیری کودهای هوشمند مانند نانوکودها به عنوان جایگزین مرسوم کودها، می‌تواند عناصر غذایی مورد نیاز گیاه را به تدریج و به صورت کنترل شده در خاک آزاد کند (Chinnamuthu & Boopathi, 2009). از اهداف مهم دیگر کاربرد نانو کودها می‌توان به افزایش بازدهی و کیفیت منابع غذایی به دلیل سرعت جذب بالاتر، عدم اتلاف کودها از طریق آب‌شویی و جذب کامل کود به وسیله گیاه به دلیل رهاسازی عناصر غذایی کود با سرعت مطلوب در تمام طول فصل رشد، کاهش قابل توجه آلودگی خاک و غیره اشاره کرد. البته خاصیت کند رهاسازی نانو کود به استفاده بهینه از آن کمک شایانی می‌کند و از سوی دیگر نانوکمپلکس‌ها در بازه pH وسیعی قابل استفاده هستند (Mazaherinia et al., 2010). نقش نیتروژن (N)، فسفر (P) و پتاسیم (K) بر رشد و سنتز اسانس در گیاهان دارویی به خوبی شناخته شده است. به طوری که این عناصر سطح آنزیم‌هایی که در بیوسنتز ترپنوئیدها بسیار مؤثر است را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Sell, 2003). De Rosa و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی نانوتکنولوژی در کود نشان دادند که استفاده از نانو لایه‌های کنشی در طراحی و ساخت کودهای شیمیایی جدید، منجر به افزایش قابل ملاحظه کارایی مصرف عناصر غذایی و متعاقباً عملکرد محصول خواهد

تیمار که عبارتند از دو روش بازرایی متفاوت (حاصل از بذر (P1) و کشت بافت (P2)) و تیمار انواع مختلف کود (شاهد یا بدون کوددهی (F1)، کود کلات NPK در غلظت‌های ۱۰ (F2) و ۲۰ (F3) کیلوگرم در هکتار و نانوکود NPK در غلظت‌های ۱۰ (F4) و ۲۰ (F5) کیلوگرم در هکتار) با سه تکرار و هر تکرار شامل چهار واحد آزمایشی، انجام شد. کود NPK (۲۰-۲۰-۲۰) ساخت شرکت امکس آلمان و نانوکود NPK (۲۰-۲۰-۲۰) از شرکت خضراء خریداری شد. لازم به ذکر است براساس دستور شرکت سازنده کود، مقادیر برای یک هکتار در مزرعه مشخص بود که برای هر گلدان محاسبه و اعمال شد.

بذر اسطوخودوس راست در فرودین سال ۹۳ از منطقه حفاظت‌شده گنو (بندرعباس) جمع‌آوری و در بهمن‌ماه ۹۴ به منظور تهیه نشاء در گلخانه کشت شد. پس از گذشت حدود سه ماه، نشاءها در مرحله سه تا چهار برگی و گیاهان بازرایی شده از کشت بافت نیز در همین زمان، به گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۵ سانتی‌متر در محیط دانشگاه منتقل گردیدند. اعمال تیمارهای کودی نیز به صورت پودری و حل شده در آب و به صورت محلول به خاک گلدان اضافه شده و در سه زمان (به فاصله زمانی ۱۰ روز) تا قبل از ظهور ساقه گل‌دهنده اعمال گردید. سپس در زمان شروع گلدهی، شاخص‌های رشدی و خصوصیات مورفولوژیکی، شامل سطح برگ، ارتفاع بوته، تعداد شاخه اصلی، تعداد شاخه جانبی، قطر ساقه اصلی، فاصله میان‌گره، تعداد برگ، تعداد گل، طول ریشه، وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه، وزن هزاردانه و در زمان گلدهی کامل برخی خصوصیات بیوشیمیایی گیاه اندازه‌گیری و میزان کلروفیل از برگ‌های جوان اواسط رشد رویشی ارزیابی شد.

تهیه عصاره متانولی

پس از سایه‌خشک شدن نمونه‌ها، نمونه‌ها با آسیاب برقی به صورت پودر شده و از هر نمونه به مقدار یک گرم

شد. طبق گزارش Yang و همکاران (۲۰۰۶) و Pandey و همکاران (۲۰۱۰) کود نانو موجب افزایش رشد و عملکرد به ترتیب در گیاه اسفناج، نخود و گندم می‌شود. در گزارش Ahmad و همکاران (۲۰۱۳) مشخص شد در نتیجه مصرف کود NPK روی گوجه‌فرنگی و کلم قمری، بالاترین رشد و عملکرد بدست آمد.

اصطلاح کشت بافت گیاهی به طور کلی به کشت درون‌شیشه‌ای تمام بخش‌های گیاه (تک‌یاخته، بافت و اندام) در شرایط گندزدایی شده گفته می‌شود و مزایای کشت بافت ازدیاد سریع و تولید گیاهانی که از نظر ژنتیکی کاملاً شبیه یکدیگرند به‌ویژه گیاهان کمیاب و نادری در دسترس هستند که استفاده از روش‌های معمول ازدیاد باعث تخریب یا از دست رفتن گیاه مادری می‌شود (Alizadeh, 2011). بنابراین با توجه به پراکنش محدود، مصرف فراوان، صادرات سنتی این گیاه به کشورهای حوزه خلیج فارس و دریای عمان، برداشت بی‌رویه از رویشگاه‌های طبیعی که موجب فرسایش ژنتیکی و از بین رفتن ذخائر ژنتیکی آن می‌شود (Soltanipour, 2004)، از این رو لازم است اقداماتی برای برنامه‌ریزی دقیق در مورد کشت و اهلی کردن این گونه انجام شود و در همین راستا این آزمایش با هدف معرفی بهترین نوع کود و بهترین روش بازرایی نمونه گیاهی بر عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی اسطوخودوس راست طراحی شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال زراعی ۹۵-۱۳۹۴ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان اجرا شد. به طوری که پس از انجام تجزیه خاک به دلیل درک شرایط خاک و در صورت نیاز تأمین اولیه نیاز کلی گیاه (جدول ۱)، به منظور مقایسه اثرات کود نانو و کود شیمیایی بر شاخص‌های رشدی، خصوصیات مورفولوژیکی و برخی خصوصیات بیوشیمیایی اسطوخودوس راست بازرایی شده از بذر و کشت بافت، در قالب آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح بلوک کامل تصادفی با دو نوع

دامنه ۵۰-۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر در متانول تهیه شد. برای رسم منحنی استاندارد از غلظت‌های مختلف استاندارد کوئرستین (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) استفاده شد. از رابطه خطی بدست‌آمده برای تعیین میزان فلاونوئید در ۱۰۰ گرم ماده خشک استفاده گردید (Bannayan *et al.*, 2008).

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH فعالیت آنتی‌اکسیدانی توسط اندازه‌گیری میزان رادیکال آزاد و پایدار DPPH اندازه‌گیری شد. در این روش یک میلی‌لیتر از محلول متانولی یک مولار DPPH با یک میلی‌لیتر از عصاره متانولی به‌شدت مخلوط شده، آنگاه مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری و در نهایت جذب آنها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. فعالیت برحسب درصد نسبی DPPH طبق رابطه ۱ محاسبه شد.

رابطه (۱)

= درصد DPPH

$100 \times$ درصد جذب شاهد (درصد جذب نمونه-درصد جذب شاهد)

اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید برگ به روش آرنون برای این منظور مقدار ۰/۵ گرم از برگ با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ ساییده شد. مخلوط بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در ۶۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس محلول رویی لوله‌ها به بالن زوژه ۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. به مواد ته‌نشین شده لوله‌ها دوباره ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ افزوده و با همان دور سانتریفوژ شد. پس از سانتریفوژ، محلول حاصل به محلول داخل بالن اضافه گردید و حجم بالن به وسیله استون ۸۰٪ به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. برای اندازه‌گیری کلروفیل از محلول درون بالن به درون کووت ریخته و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری انجام شد. مقدار جذب محلول در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ برای کاروتنوئید خوانده

در ۱۰ میلی‌لیتر حلال متانول (۸۰٪) حل و مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر قرار داده شده و بعد قسمت‌های جامد محلول توسط کاغذ صافی به‌طور کامل جدا شده و تا زمان استفاده در یخچال قرار گرفت.

اندازه‌گیری فنل کل

اندازه‌گیری فنل کل به روش فولین‌سیوکالتیو (Mrozikiewicz *et al.*, 2010) انجام و به این منظور ۲۰ میکرولیتر از عصاره تهیه شده با ۱/۶ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین به محلول فوق اضافه شد، پس از پنج دقیقه ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۰٪ به محلول اضافه و نمونه‌ها بعد از همزدن و قراردادی در بین‌ماری، جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شده و نتایج برحسب میلی‌گرم گالیک‌اسید در ۱۰۰ گرم نمونه خشک محاسبه شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های متفاوت گالیک‌اسید (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر) از متانول ۸۰٪ استفاده گردید. این مقدار برای یک گرم در لیتر محاسبه شده و فنل کل بر حسب میلی‌گرم گالیک‌اسید در ۱۰۰ گرم برگ خشک بدست آمد که از رابطه $Y=0.0063X$ محاسبه می‌شود و Y عددی است که مقابل بلانک خوانده می‌شود و از این طریق X بدست می‌آید؛ که برای یک گرم بدست آمده و پس از آن برای ۱۰۰ گرم محاسبه می‌شود (Mrozikiewicz *et al.*, 2010).

اندازه‌گیری فلاونوئید کل

به روش نورسنجی کلریدآلومینیوم اندازه‌گیری شد که در این روش ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره گیاهی، ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول ۱٪ کلرایدآلومینیوم، ۰/۱ میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. منحنی کالیبراسیون محلول‌های کوئرستین در

شده و مقادیر آنها با استفاده از رابطه‌های ۲، ۳، ۴ و ۵ استون ۸۰٪ استفاده شد (Arnon, 1967). محاسبه گردید. برای نمونه شاهد (بدون ماده گیاهی) از

$$\text{Chl.a mg/g FW} = [12/7(A663) - 2/69(A645)] \times V/W \quad \text{رابطه (۲)}$$

$$\text{Chl.b mg/g FW} = [22/9(A645) - 4/68(A663)] \times V/W \quad \text{رابطه (۳)}$$

$$\text{Chl.total mg/g FW} = [20/2(A645) - 8/269(A663)] \times V/W \quad \text{رابطه (۴)}$$

$$\text{Carotenoides} = 100 \cdot (A470) - 3/27(\text{mg Chl.a}) - 104(\text{mg Chl.b})/227 \quad \text{رابطه (۵)}$$

۶۶۳A و ۶۴۵A و ۴۷۰A به ترتیب عبارتند از: مقدار جذب خوانده شده در طول موج ۶۶۳ و ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر، V حجم نهایی استون مصرفی بر حسب میلی‌لیتر و W وزن بافت تر است (Arnon, 1967).
 برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 استفاده و مقایسه میانگین داده‌ها به روش LSD و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده برای کشت گلدانی

بافت خاک	اسیدیته خاک pH	هدایت الکتریکی (ds/m)	درصد کربن آلی O.C	درصد نیتروژن	فسفر قابل جذب (mg/kg)	پتاسیم قابل جذب (mg/kg)	درصد رس	درصد لای	درصد ماسه
کلی لوم	۷/۵۴	۰/۷۲۷	۳/۸	۰/۳۸	۲۸/۳	۲۲۸	۲۴	۴۸	۲۸

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات رشدی و مورفولوژیکی اسطوخودوس راست تحت تیمار کودی و روش بازرایی

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته	میانگین مربعات				سطح برگ	تعداد شاخه اصلی	تعداد شاخه جانبی	قطر ساقه اصلی	فاصله میان‌گره	تعداد برگ
			تعداد شاخه اصلی	تعداد شاخه جانبی	قطر ساقه اصلی	فاصله میان‌گره						
بلوک	۲	۲۲/۱۱ ns	۱/۷۳ ns	۱۷/۴۳ ns	۶/۷۶ ns	۰/۶۵ ns	۹۶۶۴ ns					
تیمار کودی	۴	۲۶/۹۰ ns	۱/۲۱ *	۱۴/۳۸ *	۰/۹۸ *	۰/۱۹ ns	۸۸۴۲۳/۱۳ *					
نوع کشت	۱	۳۰۰/۸۹ ns	۰/۱۳ ns	۱۰۴/۵۳ *	۱۴/۳۲ *	۱۰/۴۹ *	۴۸۶۴۲/۱۳ *					
تیمار کود × نوع گیاه	۴	۵۴/۷۶ ns	۰/۵۵ *	۲/۱۱ *	۰/۳۸ *	۰/۲۹ *	۹۵۵۴/۴۶ *					
خطا	۱۸	۱۳۹/۷۹	۰/۸۴	۳/۸۵	۰/۲۴	۰/۴۶	۹۴۲۷/۹۵					
ضریب تغییرات (cv)	-	۱۶/۴۸	۳۳/۱۶	۱۶/۷۹	۱۰/۸۰	۲۱/۷۵	۲۷/۷۶					

ادامه جدول ۲-

میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییرات
وزن هزاردانه	وزن خشک ریشه	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن تر اندام هوایی	طول ریشه	تعداد گل		
۰/۰۵ ns	۰/۰۰۰۳ ns	۰/۲۳ ns	۰/۰۲ ns	۶/۵۶ ns	۵/۲۰ ns	۴۱۰۸۸/۱۳ ns	۲	بلوک
۰/۰۹ ns	۰/۰۴*	۲/۰۶ ns	۰/۳۱*	۲۱/۱۱ ns	۱۵۳/۹۰*	۵۱۰۴۳/۵۳*	۴	تیمار کودی
۰/۰۹ ns	۰/۱۷**	۰/۲۹ ns	۱/۳۰**	۰/۱۰ ns	۲۸۶۱/۶۳**	۱۱۸۷۴/۱۳**	۱	نوع کشت
۰/۰۵ ns	۰/۰۳*	۲/۸۰*	۰/۲۲*	۲۳/۵۳ ns	۲۱/۱۱*	۲۱۵۵۶/۴۹*	۴	تیمار کود × نوع کشت
۰/۱۱	۰/۰۱	۲/۱۰	۰/۱۲	۱۷/۷۸	۴۹/۶۱	۱۳۲۶۴/۲۸	۱۸	خطا
۵۶/۸۶	۵۲/۶۴	۴۹/۸۹	۵۰/۳۲	۴۷/۹۴	۲۱/۶۰	۳۷/۸۶	-	ضریب تغییرات (cv)

ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال خطای ۱٪ و ۵٪ و عدم معنی داری

نتایج

خشک اندام هوایی اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد ایجاد کرده است. اثر نوع کشت گیاه نیز بر همه پارامترهای رشدی بجز ارتفاع تعداد ساقه اصلی، وزن تر و خشک اندام هوایی در بسیاری از موارد در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ اختلاف معنی داری را نشان داد. همچنین اثر متقابل آنها نیز بر کلیه پارامترهای اندازه گیری شده در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شد.

همان طور که انتظار می رفت تیمارهای کود شیمیایی و نانوکود NPK در بیشتر پارامترهای رشدی اثر افزایشی بر گیاه داشت. باتوجه به جدول های تجزیه واریانس (جدول های ۲ و ۳) اثر تیمارهای کودی روی تمام پارامترهای رشدی و کل ترکیب های فنلی، فلاونوئیدی و آنتی اکسیدانی بجز سطح برگ، فاصله میان گره، وزن تر و

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اسطوخودوس راست تحت تیمار کودی و روش بازرایی

میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییرات
کاروتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	آنتی اکسیدان	فلاونوئید	فنل		
۰/۰۰۱ ns	۰/۰۵ ns	۰/۱۱ ns	۰/۰۳ ns	۱۸۸/۷۲ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۵ ns	۲	بلوک
۰/۰۲*	۰/۲۶*	۰/۱۸*	۰/۰۵*	۴۶۹/۸۵*	۰/۰۰۰۶*	۰/۰۰۳ ns	۴	تیمار کودی
۰/۰۱ ns	۰/۵۸*	۰/۲۸ ns	۰/۰۸ ns	۴۶۰۲/۴۶*	۰/۵۹۳*	۰/۷۰*	۱	نوع کشت
۰/۰۰۸*	۰/۱۱*	۰/۰۸*	۰/۰۲*	۳۸۵/۵۲*	۰/۰۰۰۳*	۰/۰۱*	۴	تیمار کود × نوع کشت
۰/۰۰۷	۰/۱۱	۰/۰۸	۰/۰۲	۲۴/۴۷	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۴	۱۸	خطا
۲۲/۳۴	۲۲/۷۹	۲۲/۵۷	۲۲/۶۰	۱۱/۴۱	۷/۵۴	۱۷/۱۸	-	ضریب تغییرات (cv)

ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال خطای ۱٪ و ۵٪ و عدم معنی داری

کودی ۲۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه کشت بافتی بیشترین وزن تر و خشک ریشه بدست آمده و بیشترین وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار کودی ۲۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه کشت بافتی بود. در همین ارتباط با توجه به جدول مقایسه میانگین اثرات متقابل (جدول ۵)، بیشترین مقادیر کلروفیل a, b و کل از تیمار کودی ۱۰ کیلوگرم کود نانو بر گیاه کشت بافتی بدست آمده و با کاربرد تیمار کودی ۱۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه کشت بافتی بیشترین میزان کاروتنوئید حاصل شد.

در ارتباط با صفات فیتوشیمیایی با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۱) مشخص گردید که کاربرد تیمارهای کودی شاهد گیاه بذری، ۱۰ و ۲۰ کیلوگرم کود شیمیایی و گیاه بذری و ۱۰ و ۲۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه بذری بیشترین درصد فنل را به خود اختصاص دادند و بیشترین درصد فلاونوئید از تیمار شاهد، ۱۰ و ۲۰ کیلوگرم کود شیمیایی و ۱۰ و ۲۰ کیلوگرم کود نانو از گیاه بذری حاصل شد (شکل ۲). همچنین از میان تیمارهای موجود تیمار کودی ۲۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه کشت بافتی بیشترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص داد (شکل ۳).

همان‌طوری که نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴) نشان داد، بیشترین میزان سطح برگ تحت تأثیر تیمار کودی ۲۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه کشت بافتی بدست آمده و با کاربرد تیمارهای کودی ۱۰ کیلوگرم کود شیمیایی و گیاه کشت بافتی، ۲۰ کیلوگرم کود شیمیایی و گیاه بذری، ۱۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه کشت بافتی و ۲۰ کیلوگرم کود نانو و هر دو گیاه بذری و کشت بافتی بیشترین تعداد شاخه‌های اصلی را به خود اختصاص دادند. همچنین نتایج مقایسه میانگین مربوط به تعداد شاخه‌های جانبی نشان داد که کاربرد تیمار کودی ۱۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه کشت بافتی بیشترین تعداد شاخه‌های جانبی را به خود اختصاص داده و بیشترین میزان قطر ساقه اصلی از تیمار کودی ۲۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه کشت بافتی حاصل شد. در همین ارتباط مشخص شد با کاربرد تیمارهای کودی ۱۰ کیلوگرم کود شیمیایی و گیاه بذری و ۱۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه بذری بیشترین فاصله میان‌گره بدست آمده و بیشترین تعداد برگ از تیمار کودی ۲۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه کشت بافتی حاصل گردیده و کاربرد تیمارهای کودی ۲۰ کیلوگرم کود نانو و گیاه کشت بافتی بیشترین تعداد گل را به خود اختصاص داد. همچنین با کاربرد تیمار

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار کودی و روش بازرایی بر شاخص‌های مورفولوژیکی اسطوخودوس راست

تیمار	سطح برگ (cm ²)	طول ریشه (cm)	تعداد شاخه اصلی	تعداد شاخه فرعی	قطر ساقه اصلی (cm)	فاصله میان‌گره (cm)	تعداد برگ	تعداد گل	وزن تر ریشه (gr)	وزن خشک ریشه (gr)	وزن خشک اندام هوایی (gr)
بذری											
F1	۲/۹۸ bc	۳۵/۶۶ bc	۱/۶۶ c	۸/۰۰ c	۳/۵۲ d	۳/۶۶ a-c	۲۲۷/۳۳ d	۱۸۰/۶۶ c	۰/۴۸ cd	۰/۱۹ b-d	۱/۰۳ b
F2	۳/۷۷ a-c	۱۸/۳۳ d	۲/۶۶ ab	۹/۰۰ c	۳/۸۲ cd	۴/۱۰ a	۲۰۵/۳۳ d	۱۹۶ bc	۰/۴۲ d	۰/۱۵ d	۲/۰۷ ab
F3	۲/۵۶ c	۲۷/۱۶ cd	۳/۰۰ a	۹/۰۰ c	۳/۷۳ cd	۳/۰۹ a-d	۴۴۲/۶۶ ab	۲۸۰ bc	۰/۵۸ bcd	۰/۱۹ b-d	۳/۴۲ ab
F4	۳/۰۵ bc	۲۳ d	۲/۶۶ ab	۱۰/۶۶ bc	۴/۲۴ b-d	۳/۸۸ a	۲۱۸/۶۶ d	۲۵۷/۳۳ bc	۰/۳۹ d	۰/۱۴ d	۲/۵۵ ab
F5	۲/۶۷ bc	۲۶/۳۳ cd	۳/۳۳ a	۱۰/۳۳ bc	۴/۰۶ b-d	۳/۸۳ ab	۴۵۳/۳۳ ab	۳۰۱/۳۳ bc	۰/۵۳ cd	۰/۱۸ cd	۲/۹۴ ab
کشت بافتی											
F1	۳/۵۵ a-c	۱۹/۳۳ d	۲/۳۳ ab	۱۱/۰۰ bc	۴/۵۳ a-d	۲/۵۰ cd	۲۴۸ cd	۲۴۱/۳۳ bc	۰/۴۲ d	۰/۱۵ d	۱/۵۷ b
F2	۳/۶۰ a-c	۳۷ bc	۳/۲۳ a	۱۱/۶۶ bc	۴/۸۷ a-d	۲/۶۶ b-d	۲۸۳/۳۳ b-d	۳۷۲ a-c	۰/۵۱ cd	۰/۱۶ cd	۱/۹۸ ab
F3	۳/۸۸ a-c	۴۴ ab	۲/۳۳ ab	۱۳/۰۰ ab	۵/۴۹ ab	۲/۶۶ b-d	۴۳۶ ab	۴۰۲ ab	۱/۱۵ ab	۰/۴۰ ab	۳/۳۱ ab
F4	۴/۱۶ ab	۴۳/۱۶ ab	۳/۰۰ a	۱۶/۳۳ a	۵/۲۵ a-c	۲/۳۳ d	۴۱۳/۳۳ a-c	۲۲۴ bc	۱/۰۳ a-c	۰/۳۶ a-c	۳/۰۸ ab
F5	۴/۸۵ a	۵۲ a	۳/۰۰ a	۱۳/۶۶ ab	۶/۱۴ a	۲/۵۰ cd	۵۶۹/۳۳ a	۵۸۶/۶۶ a	۱/۳۹ a	۰/۵۳ a	۴/۰۹ a

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌دار نیستند.

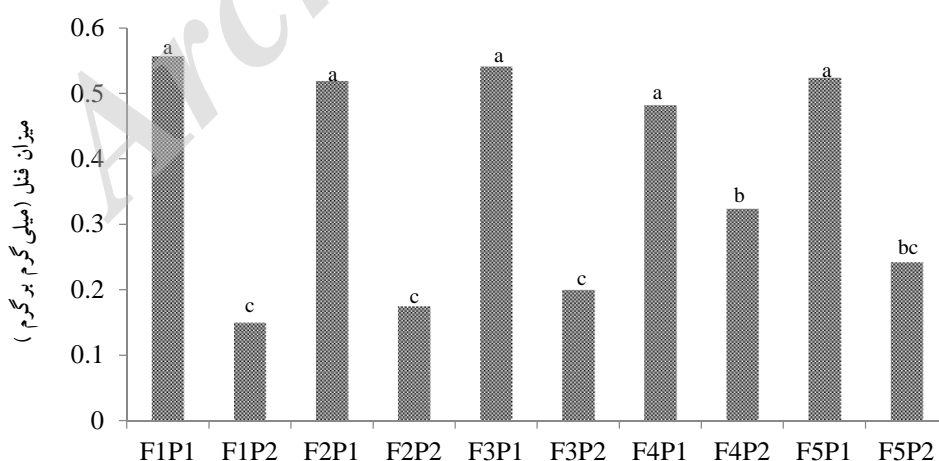
F1, F2, F3, F4 و F5: به ترتیب شاهد یا بدون کودهی، ۱۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی NPK، ۲۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی NPK، ۱۰ کیلوگرم در هکتار نانوکود NPK، ۲۰ کیلوگرم در هکتار نانوکود NPK

جدول ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل تیمار کودی و روش بازرایی بر شاخص‌های فیزیولوژیکی اسطوخودوس راست

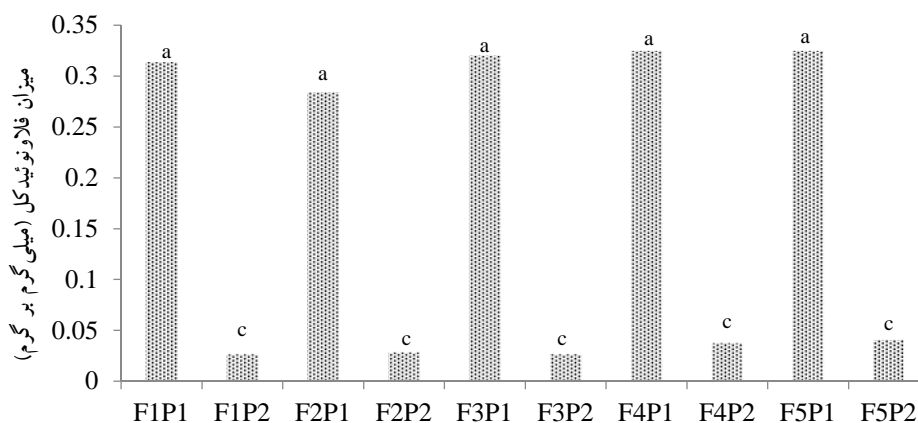
تیمار	کلروفیل a (mg g ⁻¹)	کلروفیل b (mg g ⁻¹)	کلروفیل کل (mg g ⁻¹)	کاروتنوئید (mg g ⁻¹)
بذری				
F1	۰/۷۷ b	۱/۳۹ b	۱/۵۲ b	۰/۴۴ ab
F2	۰/۴۸ c	۰/۸۶ c	۰/۹۴ c	۰/۲۹ b
F3	۰/۷۱ b	۱/۲۸ bc	۱/۳۹ bc	۰/۳۶ ab
F4	۰/۷۶ b	۱/۳۶ b	۱/۵۰ b	۰/۴۰ ab
F5	۰/۶۸ bc	۱/۲۲ bc	۱/۳۲ bc	۰/۳۷ ab
کشت بافتی				
F1	۰/۶۷ bc	۱/۲۰ bc	۱/۳۴ bc	۰/۳۷ ab
F2	۰/۷۱ b	۱/۲۲ bc	۱/۳۹ bc	۰/۲۹ b
F3	۰/۸۳ ab	۱/۵۰ ab	۱/۶۲ ab	۰/۴۳ ab
F4	۰/۹۷ a	۱/۷۴ a	۲/۰۰ a	۰/۵۴ a
F5	۰/۷۶ b	۱/۳۶ b	۱/۶۵ b	۰/۴۷ ab

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ دارای تفاوت معنی‌دار نیستند.

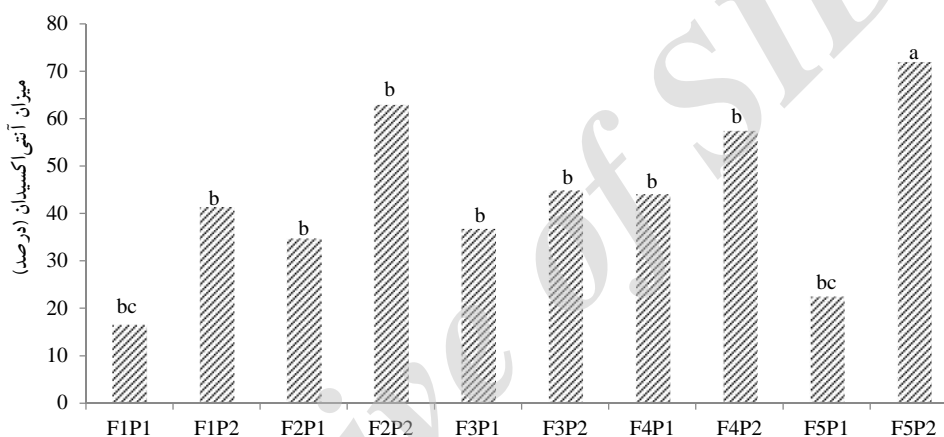
F1, F2, F3, F4 و F5: به ترتیب شاهد یا بدون کودی، ۱۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی NPK، ۲۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی NPK، ۱۰ کیلوگرم در هکتار نانوکود NPK، ۲۰ کیلوگرم در هکتار نانوکود NPK



شکل ۱- اثر متقابل تیمار کودی و روش بازرایی بر میزان فنل کل اندام هوایی



شکل ۲- اثر متقابل تیمار کودی و روش بازرایی بر میزان فلاونوئید کل اندام هوایی



شکل ۳- اثر متقابل تیمار کودی و روش بازرایی بر میزان آنتی اکسیدان کل اندام هوایی

در همه شکلها F1، F2، F3، F4 و F5: به ترتیب شاهد یا بدون کودی، ۱۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی NPK، ۲۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی NPK، ۱۰ کیلوگرم در هکتار نانوکود NPK، ۲۰ کیلوگرم در هکتار نانوکود NPK و P1 و P2: به ترتیب گیاه حاصل از بذر و کشت بافت

بحث

عملکرد کدو تنبل تحت تأثیر کود ترکیبی NPK (۱۵-۱۵-۱۵) که نشان داد بالاترین برآورد برای تعداد برگها و عملکرد برگهای جوان در تیمار ۱۸۰ کیلوگرم در هکتار بدست آمد، مطابقت داشت. همچنین نتایج Ebrahimzadeh و همکاران (۲۰۱۰) که با بررسی اثر کود NPK در مقایسه با کود گاوی، اسید هیومیک، کمپوست و اسید هیومیک روی گیاه دارویی جای ترش نشان دادند که تیمار با کود NPK بیشترین تأثیر را بر قطر ساقه داشت، همراستا می باشد. همچنین در همین ارتباط

با توجه به نتایج، بیشترین تعداد و شاخص سطح برگ، تعداد شاخه اصلی، وزن خشک ریشه و درصد مهار رادیکالهای آزاد مربوط به تیمار کودی ۲۰ کیلوگرم در هکتار نانوکود و گیاه کشت بافتی بود که با نتایج Niakan و همکاران (۲۰۰۴) که نشان دادند اثر تیمار ۲۰۰/۱۰۰/۲۰۰ کیلوگرم در هکتار N/P/K بر نفعان فلفلی موجب افزایش سطح برگ این گیاه می شود و نتایج بررسی Oloyede (۲۰۱۲) بر خصوصیات رشدی و

کود نانو باعث افزایش شاخص های رشد گیاه بادام زمینی شده است (Prasad et al., 2012).

باتوجه به نتایج، بیشترین تعداد شاخه فرعی، کلروفیل a، کل و کاروتنوئید مربوط به تیمار کودی ۱۰ کیلوگرم در هکتار نانوکود و گیاه کشت بافتی بود که با نتایج Hosseini-Mazinani و Hadipour (۲۰۱۳) که در بررسی روی اسطوخودوس (*Lavandula sp.*) مشاهده کردند که اثر مقادیر مختلف اوره بر تعداد شاخه های فرعی معنی دار بود. به طوری که تیمار ۱۸۰ کیلوگرم در هکتار بیشترین تعداد شاخه های فرعی اسطوخودوس را دارا بود و نتایج Parhizkar khajani و همکاران (۲۰۱۲) که با بررسی سطوح مختلف NPK روی کتان روغنی بیان کردند با مصرف ۹۰، ۱۲۰، ۸۰ کیلوگرم در هکتار نیتروژن، فسفر و پتاسیم تعداد شاخه فرعی به طور معنی داری افزایش پیدا کردند، مطابقت دارد. Sajed و همکاران (۲۰۰۲) مصرف کود فسفره را باعث افزایش تعداد ساقه های جانبی دانسته اند. به طور کلی افزایش کاربرد نیتروژن به دلیل افزایش سطح سبز فتوسنتزکننده موجب افزایش جذب و انتقال مواد فتوسنتزی و هورمون های تحریک کننده رشد به مریستم های انتهایی و مریستم جانبی می شود و در نتیجه مجموع این عوامل سبب افزایش تحریک مریستم انتهایی و مریستم جانبی و افزایش تولید شاخه های جانبی در سطح بالای نیتروژن می گردد (Parhizkar Khajani et al., 2012). همچنین این نتایج با نتایج بررسی انجام شده روی ریحان (*Ocimum basilicum*) که نشان داد تأثیر تیمارهای مختلف نانوکود فسفر بر روی محتوای کلروفیل برگ معنی دار بود، مطابقت داشت (Nikzad et al., 2014) و نتایج Heidari و Khahlil (۲۰۱۴) که بیان کردند تیمار کودی فسفر تأثیر معنی داری بر رنگدانه های فتوسنتزی و کاروتنوئید در برگ گیاه چای ترش داشت، به طوری که بیشترین مقدار از سطح کودی ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار بدست آمد، هم راستا می باشد. از سوی دیگر نیتروژن یکی از اجزای پدیدآورنده کلروفیل است که چهار اتم آن به همراه منیزیم در حلقه یورفیرین واقع شده اند (Hapkins, 1999). بنابراین کمبود نیتروژن یکی از عوامل

محدودکننده اصلی در تشکیل کلروفیل می باشد و بهتر از هر عامل دیگری در سنتز کلروفیل لازم می باشد. در همین ارتباط Lingzhi و همکاران (۲۰۰۴) و Duli و Oosterhuis (۲۰۰۰) به ترتیب در گیاهان تربیتی کاله و پنبه به نتایج مشابهی دست یافتند. همچنین در تحقیق جاری مشخص گردید که کاربرد نانوکود NPK در غلظت ۱۰ کیلوگرم در هکتار از گیاه کشت بافتی بر میزان کلروفیل و کاروتنوئید اثرگذار است. در همین ارتباط نتایج بررسی انجام شده روی ریحان (*Ocimum basilicum*) نتایج نشان داد که تأثیر غلظت های مختلف نانوکود فسفر بر روی محتوای کلروفیل برگ معنی دار بود (Nikzad et al., 2014). Kumar و Kumar (۲۰۰۸) گزارش کردند که با افزایش مصرف سولفات پتاسیم افزایش در محتوای نسبی کلروفیل دیده شد.

همچنین با توجه به نتایج، بیشترین طول ریشه، قطر شاخه اصلی و تعداد گل وزن خشک اندام هوایی و وزن تر ریشه مربوط به تیمار کودی ۲۰ کیلوگرم در هکتار کود شیمیایی و نانوکود و گیاه کشت بافتی بود که با نتایج Goldani و همکاران (۲۰۱۶) که در بررسی روی گیاه سرخارگل بیان کردند با افزایش سطح فسفر به ۱/۵ گرم میانگین طول ریشه به طور معنی داری افزایش یافت، مطابقت دارد. همچنین با نتایج گزارش Kumar و همکاران (۲۰۱۳) روی تأثیر کود NPK بر رشد و عملکرد گوجه فرنگی که نشان داد استفاده از دو میزان کود N1 و N2 به ترتیب ۱۲۰ و ۱۸۰ کیلوگرم در هکتار و یک دوز ۸۰ و ۷۵ کیلوگرم در هکتار کود فسفر و پتاسیم به ترتیب بالاترین عملکرد گل و میوه شناخته شده است، هم راستا می باشد. همچنین Sabet Teimouri و همکاران (۲۰۱۳) بیان کردند که بیشترین عملکرد خشک اندام هوایی اسطوخودوس با کاربرد ۵۰ کیلوگرم کود شیمیایی NPK حاصل شد و Mardani-Nejad و همکاران (۲۰۰۳) روی گیاه اسطوخودوس و Kazemi (۲۰۱۳) روی زیره سبز نشان دادند که کاربرد نیتروژن منجر به افزایش رشد رویشی و افزایش تجمع ماده خشک در گیاهان می شود. در همین راستا Karami و Khoshkui

برگ‌های هر گیاه به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای با افزایش میزان نیتروژن افزایش می‌یابد. طبق نتایج این بررسی نانو کود NPK تأثیر مثبت و معنی‌داری بر شاخص‌های رشدی و مورفولوژیکی گذاشت (Choudhary & Choudhary, 2005). همچنین نقش پتاسیم در بزرگ و طویل شدن سلول‌ها به‌عنوان بخشی از فرایند رشد سلولی و دیگر فرایندهایی که به‌وسیله عمل تورژسانس تنظیم می‌شود، با غلظت پتاسیم در واکوئل ارتباط دارد. به‌علاوه رابطه تنگاتنگی بین پتاسیم، رشد بافت‌های مریستمی و نیز تقویت اثر این عنصر بر هورمون‌های رشد مانند ژبیرلین و اکسین وجود دارد که این امر رشد طولی سلول‌ها و در نتیجه رشد طولی اندام‌های گیاهان را به دنبال دارد (Shabala, 2003). از سوی دیگر نقش الیگودینامیکی پتاس (فعال‌کننده کینازها) و نیز دخالت آن بر فتوسنتز را نیز نباید نادیده انگاشت (Malakouti, 2005; Hapkins, 1999).

به‌طور کلی نتایج این تحقیق حکایت از آن داشت که گیاهان باززایی شده از شرایط کشت بافت همراه با کاربرد کود نانو NPK عملکرد مناسب‌تری نسبت به سایر تیمارهای کودی و نوع کشت در گیاه اسطوخودوس راست داشتند. از آنجایی که کاربرد کودهای شیمیایی برای بدست آوردن عملکرد مناسب در گیاهان انکارناپذیر است، باید به‌دنبال راهکارهای بهینه کردن مصرف کودها بود، از این‌رو با توجه به مطالب بیان شده می‌توان چنین بیان کرد که سرعت بالا و تولید زیاد در واحد سطح از ویژگی‌های ریزازدیادی است.

منابع مورد استفاده

- Alizadeh, M., 2011. Plant Tissue Culture and Micropropagation User Guide. Publications Nowruzzi, Grgan, Iran, 320p.
- Ahmad, Sh., Ahmad, F., Hussain, F. and Hussain, M., 2013. Effect of different NPK levels on the growth and yield of kohlrabi (*Brassica caulorapa*) at nohrten areas of Pakistan. Asian Journal of Plant Sciences, 2(3): 336-338.
- Arnon, A.N., 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23: 112-121.

(۲۰۰۶) در مطالعه‌ای که روی جمعیت اهلی و وحشی بابونه آلمانی داشتند، بیشترین وزن اندام هوایی را در تیمار کاربرد ۱۲۰ کیلوگرم نیتروژن و فسفر در هکتار مشاهده کردند. طبق نتایج این بررسی بیشترین تعداد گل با افزایش غلظت نانو کود از گیاه کشت بافتی حاصل گردید. به‌طوری که در کشت درون‌شیشه‌ای در اغلب موارد گزارش شده‌است که با افزایش میزان قندها در محیط کشت میزان تولید متابولیت‌های ثانویه افزایش می‌یابد (Misawa, 1985) و وجود تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط کشت مانند نوع و مقدار اکسین یا سیتوکینین، یا نسبت اکسین به سیتوکینین، تشکیل و تجمع متابولیت‌های ثانویه را در سلول‌های گیاهی کشت‌شده تغییر می‌دهد (Bohn & Rink, 1988) که با نتایج پژوهش جاری مطابقت دارد. به‌طوری که بیشترین درصد فنل و فلاونوئید از غلظت‌های مختلف هر دو کود شیمیایی و نانو کود از گیاهان بذری حاصل شد. همان‌طور که در نتایج دیده می‌شود بیشترین فاصله میان‌گره فلاونوئید کل و فنل کل مربوط به گیاهان بذری بود. در محلول‌پاشی کود نانو پتاسیم بر اندام‌های هوایی دو رقم گندم نیز، نتایج نشان داد که کاربرد غلظت‌های مختلف کود نانو پتاسیم، باعث افزایش ترکیب‌های فنلی اندام هوایی شده است (Tavan et al., 2014).

در این راستا ادعان می‌شود که عوامل محیطی رویش گیاهان دارویی که تأثیر بسیار عمده‌ای بر کمیت و کیفیت مواد مؤثره آنها می‌گذارد، خاک (تغذیه) و موجودات پیرامونی آن است (Narayana et al., 2001) که افزایش میزان عناصر غذایی گیاه به‌ویژه نیتروژن و فسفر باعث تحریک رشد گیاه شده و با افزایش رشد، تعداد ساقه فرعی در بوته نیز افزایش پیدا می‌کند. معمولاً در گیاهان همه پارامترهای رشد رویشی به تدریج و به‌صورت معنی‌داری با افزایش سطح کاربرد کودهای نیتروژنی افزایش می‌یابد. البته تغذیه مقادیر مطلوب نیتروژن ممکن است در کارایی بهتر عناصر غذایی دیگر نیز مؤثر باشد (Sori, 2016). تأثیر سطوح مختلف نیتروژن روی رشد، عملکرد و کیفیت محصول نشان داد که پارامترهای رشد، ارتفاع، پهنا و تعداد

- officinalis* L.) To different treatments of nitrogen. Journal of Plants and Ecosystems, 35(1): 57-66.
- Jamzad, Z., 2012. Flora of Iran, No.76: Dark Mint. Research Institute of Forests and Rangelands Published.
 - Karami, L. and Khoshkui, M., 2006. Effects of nitrogen, phosphorus and potassium on yield and quantitative characteristics of cultivated and wild populations of German chamomile (*Chamomilla recutita* L.). Iranian Journal of Horticultural Science and Technology, 7(3): 181-192.
 - Kazemi, M., 2013. Effect of foliar application of iron and zinc on growth and productivity of cucumber. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 2(11): 11-14.
 - Kumar, A.R. and Kumar, M., 2008. Studies on the efficacy of sulphate of potash on physiological, yield and quality parameters of Banana cv. Robusta (Cavendish-AAA). Asian Journal Biological of Science, 2: 102-109.
 - Kumar, M., Meena, M.L., Kumar, S., Maji, S. and Kumar, D., 2013. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers on the growth, yield and quality of tomato var. Azad T-6. The Asian Journal of Horticulture, 8(2): 616-619.
 - Lingzhi, T., Zhaorong, D., Jie, S., Bo, Z., Chngan, L. and Yan, L., 2004. Effect of mowing and topdressing of nitrogen on photosynthetic characteristics in triticale. Journal of Anhui Agricultural University, 31(1): 72-75.
 - Malakouti, M.J., 2005. Sustainable Agriculture and Increase Performance by Optimizing the Use of Fertilizers in Iran. Publications Sana, Tehran, Iran, 701p.
 - Mardani-Nejad, Sh., Khold Barin, B., Sadat, Y., Morad Shahi, A. and Vazir Pour, M., 2003. Vegetative behavior change and the amount of essential oil of lavender (*Lavandula officinalis*) in response to different amounts of ammonium nitrate. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 19: 16-35.
 - Mazaherinia, S., Astaraei, A.R., Fotovat, A. and Monshi, A., 2010. Nano iron oxide particles efficiency on Fe, Mn, Zn and Cu concentrations in wheat plant. Journal World Applied Sciences, 7: 36-40.
 - Misawa, M., 1985. Production of useful plant metabolites: 59-88. In: Flechter, A., (Ed.). Plant Cell Culture. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology (Vol. 31). Berlin: Springer-Verlag, 133p.
 - Mozaffarian, V., 1996. A Dictionary of Iranian Plant Names. Farhang Moaser, Tehran, 740p.
 - Bannayan, M., Nadjafi, F., Azizi, M., Tabrizi, L. and Rastgoo, M., 2008. Yield and seed quality of *Plantago vate* and *Nigella sativa* under different irrigation treatments. Industrial Crops and Products, 27: 11-16.
 - Bohn, H. and Rink, E.B., 1988. Laboratory Procedures and Their Applications, 449-463, In: Constabel, F. and Vasil, I., (Eds.). Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. New York, Academic Press.
 - Chinnamuthu, C.R. and Boopathi, P.M., 2009. Nanotechnology and agroecosystem. Madras Agricultural Journal, 96: 17-31.
 - Choudhary, R.K. and Choudhary, D.N., 2005. Effect of different levels of nitrogen and phosphorus on growth, yield and quality of hybrid Cabbage. Haryana Journal of Horticultural Sciences, 34(1/2): 145-146.
 - De Rosa, M.R., Monreal, C., Schnitzer, M., Walsh, R. and Sultan, Y., 2010. Nanotechnology in fertilizers. Nature Nanotechnology, 5: 91-92.
 - Duli, Z. and Oosterhuis, D.M., 2000. Nitrogen application effect on leaf photosynthesis, nonstructural carbohydrate concentrations and yield of field-grown cotton. Special Report-Arkansas Agricultural Experiment Station, 198: 69-71.
 - Edzard, E., 2009. The efficacy of herbal medicine an overview. Fundamental & Clinical Pharmacology, 19(4): 405-409.
 - Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi, S.F., Nabavi, S.M. and Eslami, B., 2010. Antihypoxic and antioxidant activity of *Hibiscus esculentus* seeds. Grasasy Aceites, 61(1): 30-36.
 - Fixon, P.E. and West, F.B., 2002. Nitrogen fertilizers: meeting contemporary challenges. Ambio: A Journal of the Human Environment, 31(2): 169-176.
 - Goldani, M., Zare, H. and Kamali, M., 2016. Evaluation of different levels of nitrogen and phosphorus fertilizers on shoot and root characteristics of *Echinacea purpurea*. Journal of Horticultural Science, 30(3): 366-375.
 - Hapkins, W.G., 1999. Introduction to plant physiology. Land 2, John Wiley and Sons, New York, 528p.
 - Heidari, M. and Kahlil, S., 2014. Effect of humic acid and phosphorus fertilizer on seed and flower yield, photosynthetic pigments and mineral elements concentration in sour tea (*Hibiscus sabdariffa* L.). Iranian Journal of Field Crop Science, 45(2): 191-199.
 - Hosseini-Mazinani, S.M. and Hadipour, A., 2013. The reaction of dry matter yield in lavender (*Lavandula*

- Prasad, T.V., Sudhakar, P., Sreenivasulu, Y., Latha, P., Munaswamy, V., Raja, A., Reddy, K., Sreeprasad, T.S., Sajanlal, P.R. and Pradeep, T., 2012. Effect of nanoscales zinc oxide on the germination, growth and yield of peanut. *Journal of Plant Nutrition*, 35: 905-927.
- Sabet Teimouri, M., Koocheki, A.R. and Mahallati, N., 2013. The effect of different contents of manure fertilizer and irrigation intervals on some criteria of (*Hymenocrater platystegius* Rech.f.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 6(12): 878-884.
- Sajed, M.A., Hosseini-Moghaddam, H., Yazdani, D. and Ahmadi-Aval, P., 2002. Effect of plastic mulch of soil, plant spacing and P and K fertilization level on growth and seed and oil yield of medicinal squash. *Proceedings of Iranian Conference on Medicinal Herbs*, Tehran, Iran, 13-15 February: 188.
- Sell, C.S., 2003. *A Fragrant Introduction to Terpenoid Chemistry*. The Royal Society of Chemistry, 426p.
- Shabala, S., 2003. Regulation of potassium transport in leaves: From molecular to tissue level. *Annual of Botany*, 92: 627-634.
- Soltanipour, M.A., 2004. Ecological study of plant species essential oil of Hormozgan. *Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants*, 20(4): 547-560.
- Soltanipour, M.A., 2005. Medicinal plants of the Geno protected area. *Pajouhesh & Sazandegi*, 68: 27-37.
- Sori, M.K., 2016. *Kalat and Mynvklat and Nutritional Properties of Plants*. Agricultural Extension Publications, Tehran, Iran, 188p.
- Tavan, T., Neyakan, M. and Noreyneya, A.A., 2014. Effect of nano-potassium fertilizer on growth factors, photosynthetic system and protein content in wheat (*Triticum aestivum* L. CV. N8019). *Journal of Plant Environmental Physiology*, 9(3): 61-71.
- Upson, T., Andrews, S. and Harriott, G., 2004. *The genus Lavandula*. Timber press, Portland, Oregon, 442p.
- Yang, F., Hong, F.S., You, W.J., Liu, C., GAO, F.Q., Wu, C. and Yang, P., 2006. Influences of nanoanatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Journal Biological Trace Element Research*, 110(2): 179-190.
- Mrozikiewicz, P.M., Bogacz, A., Karasiewicz, M., Mikolajcza, P.L., Ozarowski, K.M., Seremak-Mrozikiewicz, A., Czerny, B., Bobkiewicz-Kozłowska, T. and Grzeskowiak, E., 2010. The effect of standardized *Echinacea purpurea* extract on rat cytochrome P450 expression level. *Phytomedicine*, 17: 830-833.
- Narayana, K.R., Reddy, M.S., Chaluvadi, M.R. and Krishana, D.R., 2001. Bioflavonoids classification, pharmacological, biochemical effects and therapeutic potential. *India Journal of Pharmacology*, 33: 2-16.
- Niakan, M., Khavarynejad, R.A. and Rezaee, M.B., 2004. Effect of different rates of N/P/K fertilizer on leaf fresh weight, dry weight, leaf area and oil content in *Mentha piperita* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 20(2): 131-148.
- Nikzad, T., Mahdian, S.A. and Aakbarpoor, V., 2014. Nanotech impact assessment vegetative traits basil and mushrooms phosphorus fertilizer *Piriformospora indica*. *Second National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture*, Shahid Mofateh University, Hamedan, 23 August.
- Nourbala, A., Tahmasebipour, A., Akhoundzadeh, N., Khani, S., Jamshidi, M. and Jamshidi A.H., 2004. *Crocus sativus* L. in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized and placebo controlled trial. *Journal of Medicinal Plants*, 3(10): 31-38.
- Nowruze, M. and Khyrkah, M., 2014. *Domestication of Medicinal Plants*. Higher Education Complex Shirvan, Shirvan, Iran.
- Oloyede, F.M., 2012. Growth, yield and antioxidant profile of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) leafy vegetable as affected by NPK compound fertilizer. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 12(3): 379-387.
- Pandey, A.C., Sanjay, S.S. and Yadav, R.S., 2010. Application of ZnO nanoparticles in influencing the growth rate of *Cicer arietinum* L. *Journal of Experimental Nanoscience*, 5: 488-497.
- Parhizkar Khajani, F., Irannezhad, H., Majidian, M. and Oraki, H., 2012. Influence of different levels of nitrogen, phosphorus and potassium on yield and yield components of flax seed oil (*Linum usitatissimum* L.) variety Lirina. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(6): 1050-1054.

Comparison of the effects of nano fertilizer and chemical fertilizer on morphophysiological and phytochemical properties of *Lavandula stricta* Del. regeneration from seed and tissue culture

M. Mazloomi Abukhyly¹, S. Khrasanynzhad^{2*} and M. Alizadeh³

1- M.Sc. Student of Medicinal Plant, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2*- Corresponding author, Department of Horticulture, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, E-mail: khorasaninejad@gau.ac.ir

3- Department of Horticulture, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Resources, Gorgan, Iran

Received: July 2017

Revised: October 2017

Accepted: October 2017

Abstract

Lavandula stricta Del. is a native aromatic plant in Iran from Lamiaceae, traditionally used for treatment of rheumatic and stomach pain and cough. In usual agricultural systems, the purpose of using fertilizers and their combination is to obtain the highest seed yield and quality of the active substances. This study was aimed to compare the effects of nanofertilizer and fertilizer on growth indices, morphological and biochemical properties of lavender "Upright" (*Lavandula stricta* Del.) regenerated from seed and tissue culture. The experiment was conducted as factorial design based on randomized complete block design with three replications and four experimental units at the research farm of Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, during the growing season of 2016-2017. The treatments were two plants with different regeneration methods (seeds and tissue culture) and various types of fertilizers (control or no fertilizer, NPK fertilizer at concentrations of 10 and 20 kg per hectare and nanofertilizer at concentrations of 10 and 20 kg ha). The results showed that fertilizer treatments had significant effects on all measured properties except leaf area, shoot height, internodes length, shoot fresh and dry weight, 1000-seed weight and total phenol content ($P < 0.01$). The type of plant also caused differences in biochemical, developmental and morphological properties except shoot height, number of main stem, shoot fresh and dry weight, and 1000-seed weight. Interaction effect of fertilizer and type of plant was significant for all measured properties except shoot height, shoot fresh weight and 1000-seed weight. In general, the results showed that application of NPK nano fertilizer had positive effect on the growth of tissue culture plants and resulted in improved yield.

Keywords: *Lavandula stricta* Del., fertilizer, nano fertilizer, NPK.