

اثر نوع ماده آلی و روش‌های کشت بر محتوای گلیسیریزیک اسید و ویژگی‌های

مورفوفیزیولوژیک شیرین‌بیان

Effect of Type of Organic Matter and Cultivation Methods on Glycyrrhizic Acid Content and Morphophysiological Characteristics of Licorice

اسماعیل رشادی مؤدب، محمد جمال سحرخیز و اکبر کرمی*

بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (akbarkarami@shirazu.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱/۲۹، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۴

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی تأثیر روش‌های کاشت و نوع ماده آلی (ورمی کمپوست، تفاله شیرین‌بیان و کود دامی) بر محتوای گلیسیریزیک اسید و ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) انجام شد. تیمارها شامل ورمی کمپوست، تفاله شیرین‌بیان و کود دامی هر کدام در ۴ سطح (شاهد)، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار و نیز دو روش کشت نشایی و کشت مستقیم بذر بودند. نتایج نشان داد که برهمکنش روش کشت و نوع ماده آلی بر صفات مورفوفیزیولوژیک شیرین‌بیان معنی‌دار بود. بر اساس نتایج به دست آمده، وزن تر و خشک شاخساره و ریشه در تیمار کشت نشایی و تیمار ورمی کمپوست و کود دامی در سطح ۴۰ تن در هکتار بیشتر از سایر سطوح بود. مقدار نشاسته در روش کشت نشایی و کود ورمی کمپوست در سطح ۴۰ تن در هکتار بیشترین مقدار بوده و با ۲۰ تن در هکتار ورمی کمپوست تفاوت معنی‌داری نداشت. میزان سدیم ریشه در روش کشت نشایی و کاربرد ورمی کمپوست و کود دامی نسبت به کاربرد تفاله شیرین‌بیان به طور معنی‌داری بالاتر بود. بیشترین مقدار پتاسیم ریشه در کاربرد تفاله شیرین‌بیان و کود دامی در سطح ۴۰ تن در هکتار بود. بیشترین درصد اسید گلیسیریزیک در کاربرد ۲۰ تن در هکتار تفاله شیرین‌بیان (۲/۸٪) و بیشترین عملکرد اسید گلیسیریزیک در واحد سطح (۵۲۶/۶۹ کیلوگرم در هکتار) در تیمار کشت نشایی و کاربرد ۴۰ تن در هکتار کود دامی مشاهده شد. به طور کلی با توجه به این که در برخی گیاهان دارویی از جمله شیرین‌بیان عملکرد ریشه و میزان ماده مؤثره اهمیت دارد کاربرد سطوح ۲۰ تا ۴۰ تن در هکتار کود دامی یا ۲۰ تن در هکتار تفاله شیرین‌بیان در روش کشت نشایی موجب عملکرد بیشتری خواهد شد.

واژه‌های کلیدی: اسید گلیسیریزیک، تفاله شیرین‌بیان، ریشه شیرین‌بیان، عملکرد، کشت مستقیم، کشت نشایی، کودها گاوی، ورمی کمپوست.

مقدمه

شیرین‌بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* L. گیاهی علفی، چندساله، با ساقه‌های زیرزمینی متعدد، متعلق به تیره پروانه‌آسا^۱ است. شیرین‌بیان بین ۱ تا ۲ متر ارتفاع دارد. برگ‌های این گیاه مرکب و دارای چهار تا هفت جفت برگچه و یک برگچه انتهایی به رنگ سبز تیره است. همچنین گلها به رنگ زرد، ارغوانی یا بنفش و به صورت مجتمع در انتهای ساقه‌های گل‌دهنده مشاهده می‌شوند (Khanahmadi et al., 2013). ریشه‌ها و ریزوم‌های این گیاه دارای داروهای خام مهمی هستند که

جزء اصلی آنها، گلیسیریزین^۱ است (ماده فعال شیرین بیان که ۵۰ برابر شیرین تر از شکر است) و به مقدار زیاد به عنوان دارو و شیرین کننده طبیعی استفاده می شود (Yarnell, 2012). گلیسیریزین (C₄₂H₂₂O₁₆)، گلیکوزیدی از دسته ساپونین ها با وزن مولکولی ۸۲۲/۹ گرم می باشد و از لحاظ ساختاری یک گلیکوزید پنج حلقه ای (تری ترپنوئید)^۲ است که به ۲ مولکول گلوکورونیک اسید^۳ متصل می باشد (Eng et al., 2007). کودها و کمپوست ها منابع آلی مواد مغذی هستند که منجر به افزایش مواد آلی خاک و بهبود کیفیت خاک می شوند. کودهای دامی شمار زیادی از میکروارگانیسم ها را دارند که قادر به تجزیه آلاینده ها به ترکیبات بی ضرر مانند H₂O و CO₂ (زیست پالایی) هستند (Osman et al., 2009). کودهای دامی منابع قوی نیتروژن، کربن و دیگر مواد مغذی هستند که برای حمایت از رشد میکروارگانیسم های بسیار موثر خاک مناسب می باشند (Kadian et al., 2008). ثامنی و تاج آبادی پور گزارش دادند، کاربرد تفاله شیرین بیان اثر نامطلوب شوری خاک را کاهش داد و بهترین اثر با کاربرد مقادیر بیشتر تفاله تا ۲۰ تن در هکتار مشاهده شد (Sameni and Tajabadi Pour, 2001). با افزایش نسبت کمپوست شیرین بیان در محیط های کشت، شاخص های رشد و عملکرد گیاه دارویی زنیان افزایش یافت، تفاله شیرین بیان باعث کاهش pH، افزایش مواد آلی خاک و افزایش در غلظت عناصر معدنی خاک به جز پتاسیم می شوند (Yavari et al., 2009).

ارزیابی رشد گیاه رعنا زیبا^۴ و مارگریت^۵ در بستر کشت با نسبت های حجمی متفاوت از خاک مزرعه با بافت رسی لومی و پیت ماس نشان داد که ریشه گیاه رعنا زیبا به طور معنی داری توسعه یافته تر از گیاه مارگریت بود و به همین ترتیب کارایی جذب آب آن نیز بیشتر بود. ترکیب ۶۰-۴۰ درصد پیت با خاک مزرعه ضمن توسعه شبکه ریشه سبب افزایش معنی دار کارایی جذب آب و کاهش نیاز آبی گیاه شد (Khandan-Mirkohi et al., 2017). در گیاه همیشه بهار استفاده از کود دامی، درصد جوانه زنی، طول و وزن خشک گیاهچه، شاخص بنیه بذرها، درصد، یکنواختی و زمان رسیدن به ۹۵ درصد جوانه زنی را به طور معنی داری تحت تأثیر قرار داد (Tabrizi and Kouchaki, 2014). در روش تغذیه ارگانیک با افزایش کود دامی، عملکرد دلنه و میزان اسانس^۶ در گیاه زنیان افزایش یافت که بیشترین آن مربوط به تیمار ۳۰ تن کود دامی در هکتار بود (Akbarinia et al., 2002). در بررسی اثر تیمارهای ورمی کمپوست در سه سطح صفر، ۵ و ۱۰ تن در هکتار مشخص شد که در گیاه دارویی زنیان بیشترین ارتفاع بوته و تعداد چترک در چتر، از کاربرد ۱۰ تن در هکتار ورمی کمپوست حاصل گردید (Khalrou and Malekian, 2017). در پژوهشی روی گیاه گشنیز مشخص شد، بیشترین عملکرد دانه، درصد اسانس و عملکرد اسانس، محتوای لینالول^۷ و محتوای ژرانیل استات^۸ به ترتیب در تیمارهای کاربرد ۱۰ تن کود گاوی، ۵ تن ورمی کمپوست و ۱۰ تن کود گاوی همراه با ۵ تن ورمی کمپوست بدست آمد. همچنین بیشترین محتوای آلفاپینن^۹ و گاماترپینن^{۱۰} در اسانس در تیمار کاربرد ۱۰ تن ورمی کمپوست بدست آمد (Yari and Tab, 2018).

کاربرد ورمی کمپوست به تنهایی (۶ تن در هکتار یا بیشتر) و یا در ترکیب با کودهای شیمیایی به ویژه ۵ تن در هکتار ورمی کمپوست به همراه کود NPK (با نسبت های ۲۵:۲۵:۴۰ کیلوگرم در هکتار) از پتانسیل خوبی در بهبود وزن خشک و عملکرد اسانس مرزه برخوردار بود (Rahimi and Babakhanzadeh-Sajirani, 2021). وزن تر و خشک بوته های رقم اسفند از گیاه مورتلخ^{۱۱} بیشتر تحت تأثیر کود کمپوست زباله شهری افزایش یافت. تأثیر کودهای دامی بر مواد مؤثره نسبت به کودهای کمپوست بیشتر بود و مقدار اسانس گیاه فقط تحت تأثیر ورمی کمپوست افزایش یافت (Ghesmati and Moradinezhad, 2019). در گیاه دارویی بادرنحویه، گیاهان تیمار شده با ورمی کمپوست، از بیشترین تعداد ساقه های فرعی، وزن خشک بوته، عملکرد زیست توده و عملکرد اسانس برخوردار بودند (Bedakhshan et al., 2018). کاربرد تیمارهای ۵٪ و ۱۰٪ حجمی تفاله شیرین بیان ویژگی های مورفولوژیک و میزان جذب عناصر را به طور معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش داد. بیشترین میزان فلاونوئید در سطح کاربرد ۱۰٪ حجمی تفاله شیرین بیان بدست آمد. کاهش صفات کمی گیاه همیشه بهار بجز میزان کلروفیل و کلونیزاسیون^{۱۲} ریشه در سطح مصرف ۲۰٪ حجمی تفاله شیرین بیان مشاهده گردید (Zarei et al., 2015).

۱- Glycyrrhizin ۲- Pentacyclic (triterpenoid) ۳- Glucuronic acid ۴- *Gaillardia grandiflora* ۵-
 ۶- *Leucanthemum × superbum* Essential oil ۷- Linalool ۸- Geranyl acetate ۹- alpha-Pinene (α-) ۱۰- Pinene
 ۱۱- gamma-Terpinene (γ-Terpinene) ۱۲- Colonization *Salvia mirzayanii* Rech. f. & Esfand

با توجه به اثرات بستر کشت و روش‌های مختلف تکثیر بر رشد و عملکرد گیاهان، به‌ویژه گیاهان دارویی، این پژوهش با هدف دستیابی به بهترین تیمار کودی مناسب و همچنین روش کشت مناسب در کشت گیاه دارویی شیرین بیان به منظور تولید ماده مؤثره بیشتر در تیمارهای؛ اثرات سطوح مختلف اصلاح‌کننده‌های خاکی شامل ورمی کمپوست، تفاله شیرین بیان، کود دامی و همچنین روش‌های مختلف کاشت شامل کشت مستقیم بذر و کشت نشایی بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک، عملکرد و میزان ماده مؤثره گیاه دارویی شیرین بیان انجام شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی زمین و کشت

به‌منظور بررسی تأثیر روش‌های کاشت و انواع اصلاح‌کننده‌های خاکی بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاه شیرین بیان، طرح پژوهشی به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور کودهای آلی و روش‌های مختلف کشت، طی دو سال زراعی از بهار سال ۱۳۹۲ تا پاییز سال ۱۳۹۳ در محل مزرعه پژوهشی بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز واقع در منطقه باجگاه (۱۲ کیلومتری شمال شرقی شیراز) و ارتفاع ۱۸۱۰ متر از سطح دریا، طول ۵۲/۳۲ درجه و عرض ۲۹/۳۶ درجه اجرا شد. بدین منظور، تیمارهای ورمی کمپوست، تفاله شیرین بیان و کود دامی هر کدام در ۴ سطح (۰ (شاهد)، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار و نیز دو روش کشت نشایی و کشت مستقیم بذر، به‌صورت کرتی در هر کرت ۵ بوته اعمال گردید. نشاء به‌صورت ردیفی در فاصله ۴۰ سانتی‌متری روی هر ردیف و فاصله ۱۵۰ سانتی‌متر بین ردیف کشت شدند. بذر همانند نشاءها پس از اعمال تیمار برای رفع خفتگی (خیسانیدن به مدت ۲ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه سلسیوس و بیدرنگ ۳۰ ثانیه در آب با دمای ۴ درجه سلسیوس) در عمق تقریباً ۳ سانتی‌متری از سطح خاک کشت شدند. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه مورد آزمایش و همچنین کودهای آلی مورد استفاده در جدول‌های ۱ و ۲ آمده است.

آبیاری در این پژوهش به صورت قطره‌ای با استفاده از سیستم نوار تیپ در روی ردیف و پای بوته‌ها انجام شد. ورودی آب برای همه نوارها یکسان بوده و همگی بطور همزمان با دور سه روز آبیاری می‌شدند.

اندازه‌گیری ویژگی‌های مورفولوژیک گیاه

به‌منظور بررسی اثر مواد آلی و مقایسه آنها با یکدیگر و همچنین مقایسه روش کاشت بر برخی از ویژگی‌های مورفولوژیک گیاه شیرین بیان در انتهای فصل رشد سال دوم، زمانی که برگ‌ها پایینی کم‌کم شروع به زرد شدن کردند، برگ‌ها از ناحیه طوقه برای برآورد وزن تر اندام هوایی برداشت شدند، پس از خشک شدن، وزن خشک محاسبه شد. پس از خزان کامل گیاهان، عملیات برداشت ریشه‌ها و ریزوم‌ها انجام شد و عملکرد وزن تر و خشک آنها نیز محاسبه گردید. برای اندازه‌گیری وزن خشک، ریشه‌ها پس از جمع‌آوری شسته و به قطعات کوچک‌تر تقسیم شدند و تا رسیدن به رطوبت ۱۴-۱۰ درصد در آون با دمای ۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مزرعه در دو عمق ۳۰ و ۶۰ سانتی‌متر.

Table 1. Physicochemical properties of farm soil at two depths of 30 and 60 cm.

بافت خاک Soil texture	شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)	(mg kg ⁻¹)						درصد کلی نیتروژن T. N (%)	ظرفیت تبادل کاتیونی EC (ms/m ²)	پی اچ pH	عمق خاک Depth of soil (cm)
				فسفر P	پتاسیم K	روی Zn	منگنز Mn	آهن Fe	مس Cu				
Clay (رسی)	24.84	34.72	40.44	24	490	0.35	9.974	1.948	0.71	0.123	0.742	7.9	0-30 cm
Clay Loam (لوم رسی)	24.84	36.72	38.44	9	410	0.254	7.642	0/694	0.438	0.075	0.702	8.04	30-60 cm

جدول ۲- خصوصیات فیزیکوشیمیایی ورمی‌کمپوست، تفاله شیرین بیان و کود دامی مورد استفاده در آزمایش.

Table 2. Physicochemical properties of vermicompost, Licorice waste root and manure used in the experiment.

(mg kg ⁻¹)									درصد کلی نیتروژن T. N (%)	ظرفیت تبادل کاتیونی EC (ms/m ²)	پی اچ pH	مواد آلی Organic matters
سدیم Na	منیزیم Mg	کلسیم Ca	فسفر P	پتاسیم K	روی Zn	منگنز Mn	آهن Fe	مس Cu				
...	0.8	0.5	1.73	0.85	7.6	ورمی‌کمپوست Vermicompost
1325	156.7	53.7	2250	650	190.7	...	1273.3	53.7	1.4	1.3*	6.3*	تفاله شیرین بیان Licorice waste root
...	1818	5757	8750	3300	262.7	348.7	2450	30.6	2.1	5.9	9.4*	کود گاوی manure

*: With 5: 1 suspension (one gram of sample in 5 cc of distilled water).

#: با سوسپانسیون ۵:۱ (یک گرم نمونه در ۵ سی سی آب مقطر).

اندازه‌گیری خصوصیات فیزیولوژیک گیاه

پس از خشک شدن و پودر شدن ریشه‌ها؛ فاکتورهای فیزیولوژیکی زیر اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری قند

مقدار ۰/۱ گرم از نمونه مورد نظر کاملاً پودر شد. سپس نمونه گیاهی پودر شده را به درون میکروتیوپ ریخته و مقدار ۱۳ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد به آن افزوده شد. میکروتیوپ‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل USA, RC2-B) شدند. سپس محلول رویی به درون ارلن ۲۵ میلی‌لیتر ریخته شد و در یخچال قرار داده شد. به رسوب مجدداً ۱۲-۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد اضافه شد. مجدداً ۱۰ دقیقه در دور ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شد و محلول رویی به ارلن قبل اضافه شد. محلول فنول ۵ درصد ساخته شد. سپس ۲۵ میکرولیتر از محلول هدف به درون چاهک‌های پلیت ریخته شد، بیدرنگ ۲۵ میکرولیتر نیز از فنول ۵ درصد هم به همه چاهک‌ها اضافه شد. برای اینکه این دو ماده با یکدیگر مخلوط شوند، به آرامی به مدت ۳۰ ثانیه پلیت با دست تکان داده شد. در مرحله بعد پلیت روی یخ گذاشته شد و ۱۲۵ میکرولیتر اسیدسولفوریک غلیظ به درون چاهک‌های آن اضافه شد. مجدداً پلیت نیز به آرامی تکان داده شد تا اسید نیز با مخلوط قبلی، آمیخته شود. در این مرحله پلیت به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار گرفت. بعد از این مرحله نیز روی یخ گذاشته شد تا خنک شود و در نهایت مقدار جذب نور در طول موج ۴۹۰ یا ۴۹۲ نانومتر به وسیله دستگاه میکروپلیتریتر (مدل Epoch, شرکت Biotek، ساخت کشور آلمان) اندازه‌گیری شد. از محلول گلوکز در غلظت‌های مختلف (برحسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک) برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد (Fox and Robyt, 1991). مرحله بعد با استفاده از منحنی استاندارد فرمول را مشخص کرده و عدد توسط دستگاه میکروپلیتریتر را در فرمول قرار داده شد و محتوای واقعی قند اندازه‌گیری شد.

نشاسته

مقدار ۵ میلی‌لیتر آب مقطر همراه با ۶/۵ میلی‌لیتر اسید پرکلریک ۵۲ درصد به رسوب باقیمانده از اندازه‌گیری قند محلول اضافه شد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه تکان داده شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و پس از آن به مدت ۱۰ دقیقه در چرخش ۵۸۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل WiseSpin CF-10، ساخت کشور کره) شد. محلول رویی جدا شد و دوباره تمام مراحل بالا تکرار گردید. محلول رویی جدید نیز به محلول به‌دست‌آمده قبلی اضافه شد. محلول به مدت نیم ساعت درون یخ قرار داده شد و سپس محلول با استفاده از کاغذ صافی به درون بالون ژوژه، صاف شد. محلول به‌دست‌آمده با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد، محلول ۲ در هزار آنترون در اسیدسولفوریک سرد ساخته شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول هدف به درون لوله آزمایش اضافه شد سپس ۱۰ میلی‌لیتر از محلول آنترون به لوله آزمایش اضافه گردید. لوله‌های آزمایش به مدت ۷/۵ دقیقه درون حمام آب گرم ۱۰۰ درجه قرار گرفت. سپس لوله‌های آزمایش دارای محلول به درون یخ منتقل گردید تا خنک شود. با استفاده از دستگاه میکروپلیتریتر در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت گردید. برای تهیه محلول‌های استاندارد از گلوکز استفاده شد (Wahid *et al.*, 1989).

سدیم و پتاسیم

یک گرم پودر گیاه وزن و در کروسیبل ریخته شد. کروسیبل‌ها در کوره و در دمای ۲۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند تا تمامی دوده‌های حاصل از سوختن اولیه مواد گیاهی از کوره خارج شد. سپس دمای کوره به ۵۰۰ درجه سلسیوس رسانده شد و محتوای کروسیبل‌ها به‌طور کامل سفید شد. در مرحله بعد، ۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۲ نرمال به کروسیبل‌ها افزوده و مخلوط شد و در مرحله بعد با آب مقطر در حال جوشیدن در والیمتریک‌ها به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. مقدار عنصر پتاسیم و سدیم در عصاره فوق با استفاده از دستگاه فلیم‌فتمتر (مدل JENWAY PFP7، ساخت کشور انگلستان) اندازه‌گیری شد (Chapman and Pratt, 1961). در انتها با استفاده از منحنی استاندارد پتاسیم و سدیم مقدار نهایی پتاسیم سدیم محاسبه شد.

اندازه‌گیری محتوای گلیسیریزیک اسید

در این پژوهش بعد از عصاره‌گیری با روش ماکروویو (آون خانگی (ملیت، ژاپن، تمام توان ۷۰۰ وات) با قسمت‌های اضافی مثل استیرر مغناطیسی، کندانسور آب، دماسنج و زمان‌سنج؛ ریشه‌ها با حلال (۱۰۰ میلی‌لیتری) آماده اتانول، مخلوط شده بودند. سوسپانسیون زیر تابش موج‌های ریز (ماکروویو) در پروسه‌های از پیش تنظیم‌شده (۱۵ ثانیه روشن و ۱۵ ثانیه خاموش در ۳ تکرار در دمای تنظیم‌شده (تقریباً ۸۵ تا ۹۰ درجه سلسیوس)، سه ثانیه روشن برای گرمادهی و ۱۵ ثانیه خاموش برای خنک‌سازی) ولی اجازه داده نشد که جوش بیایند (Pan *et al.*, 2000). سپس همه نمونه‌ها با استفاده از فیلتر سرسرنگی با قطر ذرات $\mu\text{m}45/0$ (Memberan, PTFE) فیلتر شدند و سپس آنالیز شدند. دستگاه HPLC مورد استفاده در این مطالعه شامل پمپ انتقال حلال (Smartline pump 1000، شرکت Knauer، آلمان)، شناساگر UV (Smartline UV Detector 2500، شرکت Knauer، آلمان) و یک سیستم یکپارچه اطلاعات (Smartline Manager 5000، شرکت Knauer، آلمان) بود. در پیچه تزریق Knauer مورد استفاده با حجم حلقه $5\mu\text{l}$ و طول موج UV، 254 nm نانومتر استفاده شد. برای جداسازی اسید گلیسیریزیک، فاز ساکن (Vertex-Plus Column 250 * 4.6 mm , ProntoSIL 200-5 C18 ace-EPS) با فاز متحرک (نسبت حجمی/حجمی ۴۰:۶۰؛ استونیتریل و محلول ۱۵:۱ (حجمی/حجمی) استیک اسید: آب) با سرعت ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه شسته شد. زمان بازداری^۱ گلیسیریزیک اسید تقریباً $12/36$ دقیقه بود. دامنه خطی مناسب گلیسیریزین $2-1\text{ mg}$ مشخص شد. انحراف استاندارد نسبی $4/80$ بود ($n=5$). عملیات جداسازی را می‌توان با این روش در ۱۶ دقیقه به‌طور کامل انجام داد (Thomas *et al.*, 1998).

تجزیه آماری

تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار SAS 9 انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای Duncan در سطح ۵٪ و ۱٪ صورت پذیرفت.

نتایج**اثر روش کاشت و مواد آلی بر وزن تر و خشک اندام هوایی**

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، عوامل ساده روش‌های کشت، مواد آلی و سطوح آنها در سطح ۱٪ و برهمکنش روش‌های کاشت و سطح اعمال‌شده مواد آلی در سطح ۵٪ بر وزن تر اندام‌های هوایی تأثیر معنی‌دار داشتند. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که عامل کشت نشایی دارای میانگین وزن تر اندام هوایی برابر با $193/8$ گرم در بوته بود که نسبت به کشت مستقیم بذر، به میزان ۳۶٪ افزایش معنی‌دار داشت. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴) نشان داد که بیشترین وزن تر اندام هوایی ($188/9$ گرم در بوته) در تیمار ورمی‌کمپوست بود که با کود دامی تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین وزن تر اندام هوایی گیاه ($125/2$ گرم در بوته) در تیمار شاهد بدون افزودن مواد آلی مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که وزن تر اندام هوایی در سطوح اعمال‌شده ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار (از هر یک از مواد آلی) بیشتر از سایر سطوح بود. در مقایسه اثر سطوح مواد آلی، کمترین مقدار وزن تر اندام هوایی در تیمار شاهد مشاهده شد و با سطح ۱۰ تن در هکتار تفاوت معنی‌داری نداشت. مقایسه میانگین برهمکنش دوگانه روش کاشت با سطح اعمال‌شده مواد آلی (جدول ۶) نشان داد که بیشترین وزن تر اندام هوایی ($256/1$ گرم در بوته) در گیاهانی که از طریق کشت نشایی و سطح اعمال‌شده ۴۰ تن در هکتار از مواد آلی تیمار شدند مشاهده شد که با تیمار کشت نشایی و ۲۰ تن در هکتار تفاوت معنی‌داری نداشتند. عوامل ساده روش‌های کشت، مواد آلی و سطوح آنها در سطح ۱٪ و برهمکنش روش‌های کشت و سطح اعمال‌شده مواد آلی در سطح ۵٪ بر وزن خشک اندام‌های هوایی تأثیر داشتند. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که عامل کشت نشایی دارای میانگین وزن خشک اندام هوایی ($124/1$ گرم در بوته) بود و به‌طور معنی‌داری نسبت به کشت مستقیم، وزن خشک اندام هوایی را به میزان ۲۷٪ افزایش داد. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴) نشان داد که بیشترین وزن خشک اندام هوایی ($118/6$ گرم در بوته) در تیمار کود دامی بود که با تیمار ورمی‌کمپوست تفاوت معنی‌داری

نداشت. کمترین وزن خشک اندام هوایی در تیمار تفاله شاهد مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که وزن خشک اندام هوایی در سطح اعمال شده ۴۰ تن در هکتار (از هر یک از مواد آلی)، (۱۳۰/۵ گرم در بوته) بیشتر از سایر سطوح بود و با سطح ۲۰ تن در هکتار (از هر یک از مواد آلی) تفاوت معنی‌داری نداشت.

اثر روش کاشت و مواد آلی بر وزن تر و خشک ریشه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، عوامل ساده روش‌های کشت، مواد آلی و سطوح آنها و برهمکنش روش‌های کشت و سطح اعمال شده مواد آلی در سطح ۱٪ و برهمکنش مواد آلی و سطوح آنها در سطح ۵٪ بر وزن تر ریشه معنی‌دار شدند.

نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳) نشان داد که عامل کشت نشایی دارای میانگین وزن تر ریشه (۱۲۷۲ گرم در بوته) بود و به‌طور معنی‌داری نسبت به کشت مستقیم بذر وزن تر ریشه را به میزان ۶۰٪ افزایش داد. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴) نشان داد که وزن تر ریشه در تیمار کود دامی (۱۲۰۸ گرم در بوته) به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو ماده آلی دیگر (ورمی‌کمپوست و تفاله شیرین بیان) بود. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۵) نشان داد که وزن تر ریشه گیاه در سطح ۴۰ تن در هکتار (۱۳۲۴ گرم در بوته) از هر یک از مواد آلی به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر سطوح بود. کمترین وزن تر ریشه در تیمار کشت مستقیم بذر و بدون کاربرد سطوح مواد آلی مشاهده شد. مقایسه میانگین نتایج برهمکنش مواد آلی و سطوح آنها (جدول ۷) نشان داد که تیمار کود دامی در سطح ۴۰ تن در هکتار (۱۷۲۸ گرم در بوته) به‌طور معنی‌داری وزن تر ریشه را به بیشترین میزان افزایش داد و با تیمارهای ۴۰ تن در هکتار ورمی‌کمپوست تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتایج مقایسه میانگین برهمکنش دوگانه روش‌های کاشت با سطوح اعمال شده مواد آلی (جدول ۶) نشان داد گیاهانی که از طریق کشت نشایی و سطح ۴۰ تن در هکتار (۱۷۶۴ گرم در بوته) تیمار شدند بیشترین وزن خشک ریشه را تولید کردند که البته با تیمار کشت نشایی و سطح ۲۰ تن در هکتار تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج مقایسه میانگین برهمکنش دوگانه مواد آلی و سطوح آنها (جدول ۷) نشان داد، بیشترین مقدار وزن خشک ریشه (۵۶۰ گرم در بوته) در گیاهان تیمار شده با ورمی‌کمپوست در سطح ۴۰ تن در هکتار مشاهده شد. در بررسی برهمکنش سه‌گانه (جدول ۸) روش کشت، ماده آلی و سطوح اعمال شده آنها، بیشترین میزان وزن خشک ریشه (۷۳۲ گرم در بوته) تولید شده در تیمار کشت نشایی و کود دامی ۴۰ تن در هکتار بوده که با سطوح ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار از سایر مواد آلی در روش کشت نشایی تفاوت معنی‌داری نداشته است.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر ساده روش‌های کشت بر صفات مورفولوژیک گیاه دارویی شیرین بیان.

Table 3. Comparison of the mean of simple effect of culture methods on morphological traits of licorice.

گرم در بوته (g/plant)		گرم در بوته (g/plant)		روش کشت
وزن خشک ریشه Root Dry Weight	وزن تر ریشه Root Fresh Weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot Dry Weight	وزن تر اندام‌های هوایی Shoot Fresh Weight	Cultivation Method
556± 160 ^a	1272± 424 ^a	124.1± 43.5 ^a	193.8± 85.8 ^a	کشت نشایی Transplanting
352± 168 ^b	796± 388 ^b	97.7± 28.4 ^b	142.5± 48.1 ^b	کشت مستقیم بذر Seeding

The means with the same letters in each column do not differ significantly at the 5% probability level of the Duncan test.

میانگین‌های دارای حرف‌های یکسان در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر ساده مواد آلی بر صفات مورفولوژیک گیاه دارویی شیرین بیان.

Table 4. Comparison of the average simple effect of organic matter on morphological traits of licorice.

گرم دربوته (g/plant)		گرم دربوته (g/plant)		مواد آلی
وزن خشک ریشه Root Dry Weight	وزن تر ریشه Root Fresh Weight	وزن خشک اندام‌های هوایی Shoot Dry Weight	وزن تر اندام‌های هوایی Shoot Fresh Weight	Organic Matter
420± 180 ^b	704± 328 ^c	79.3± 28.1 ^c	125.2± 55.4 ^c	شاهد Control
480± 190 ^a	992± 504 ^b	118.1± 47.3 ^a	188.9± 77.6 ^a	ورمی کمپوست Vermicompost
452± 172 ^{ab}	900± 372 ^b	96.1± 26.3 ^b	131.2± 58.9 ^b	تفاله شیرین بیان Licorice root waste
432± 216 ^b	1208± 488 ^a	118.6± 36.9 ^a	184.4± 71.8 ^a	کود دامی Manure

The means with the same letters in each column do not differ significantly at the 5% probability level of the Duncan test.

میانگین‌های دارای حرف‌های یکسان در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۶- مقایسه میانگین برهمکنش بین روش‌های کشت و سطوح اعمال شده مواد آلی بر صفات مورفولوژیک و گیاه دارویی شیرین بیان.

Table 6. Comparison of the mean of interaction between culture methods and applied levels of organic matter on morphological traits and licorice.

گرم دربوته (g/plant)		گرم دربوته (g/plant)		تیمار
وزن خشک ریشه Root Dry Weight	وزن تر ریشه Root Fresh Weight	وزن خشک اندام‌های هوایی Shoot Dry Weight	وزن تر اندام‌های هوایی Shoot Fresh Weight	Treatment
456±160 ^b	936± 280 ^c	83± 27.1 ^{de}	14.2± 60.5 ^b	نشایی*بدون افزودن کود Transplanting*Control
456±116 ^b	1084± 268 ^{bc}	111.3± 23.9 ^{cd}	149.3± 57.1 ^b	نشایی*سطح ۱۰ تن در هکتار Transplanting*10 ton/ha
620±120 ^a	1300± 220 ^b	141.9± 29.5 ^{ab}	229.8± 88.2 ^a	نشایی*سطح ۲۰ تن در هکتار Transplanting*20 ton/ha
780±84 ^a	1764±384 ^a	160.3± 46.6 ^a	256.1± 78.9 ^a	نشایی*سطح ۴۰ تن در هکتار Transplanting*40 ton/ha
380±200 ^b	468± 168 ^d	75.6± 30.3 ^e	110.3± 48.5 ^b	بذری*بدون افزودن کود Seeding*control
360±180 ^b	916± 460 ^c	98.7± 15.2 ^{c-e}	137.7± 23.2 ^b	بذری*سطح ۱۰ تن در هکتار Seeding*10 ton/ha
332±164 ^b	912± 276 ^c	115.8± 21.2 ^{bc}	168.1± 49.6 ^b	بذری*سطح ۲۰ تن در هکتار Seeding*20 ton/ha
328±140 ^b	880± 436 ^c	100.7± 31.5 ^{c-e}	154± 51.7 ^b	بذری*سطح ۴۰ تن در هکتار Seeding*40 ton/ha

The means with the same letters in each column do not differ significantly at the 5% probability level of the Duncan test.

میانگین‌های دارای حرف‌های یکسان در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۷- مقایسه میانگین برهمکنش بین مواد آلی و سطوح آنها بر صفات مورفولوژیک گیاه دارویی شیرین بیان.

Table 7. Comparison of the mean of interaction between organic matter and their levels on morphological traits of licorice.

وزن خشک ریشه (گرم در بوته) Root Dry Weight (g/plant)	وزن تر ریشه (گرم در بوته) Root Fresh Weight (g/plant)	تیمار Treatment
352±180 ^{ab}	680±328 ^c	
528±152 ^{ab}	896±384 ^{bc}	شاهد Control
476±224 ^{ab}	1120±380 ^{bc}	ورمی کمپوست*سطح ۱۰ تن در هکتار *10 Vermicompost ton/ha
560±168 ^a	1252±668 ^{ab}	ورمی کمپوست*سطح ۲۰ تن در هکتار *20 Vermicompost ton/ha
368±96 ^{ab}	836±284 ^{bc}	ورمی کمپوست*سطح ۴۰ تن در هکتار *40 Vermicompost ton/ha
536±188 ^{ab}	1096±176 ^{bc}	تفاله شیرین بیان*سطح ۱۰ تن در هکتار *10 L.R.W. ton/ha
516±192 ^{ab}	988±532 ^{bc}	تفاله شیرین بیان*سطح ۲۰ تن در هکتار *20 L.R.W. ton/ha
328±152 ^b	1272±312 ^{ab}	تفاله شیرین بیان*سطح ۴۰ تن در هکتار *40 L.R.W. ton/ha
416±216 ^{ab}	1104±396 ^{bc}	کود دامی*سطح ۱۰ تن در هکتار *10 Manure ton/ha
		کود دامی*سطح ۲۰ تن در هکتار *20 Manure ton/ha
456±304 ^{ab}	1728±412 ^a	کود دامی*سطح ۴۰ تن در هکتار *40 Manure ton/ha

میانگین‌های دارای حرف‌های یکسان در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

The means with the same letters in each column do not differ significantly at the 5% probability level of the Duncan test.

Table 8. Comparison of the mean interaction of culture methods, organic matter and their levels on morphological traits of licorice

جدول ۸- مقایسه میانگین برهمکنش روش‌های کشت، مواد آلی و سطوح آنها بر صفات مورفولوژیک گیاه دارویی شیرین بیان

Root Dry Weight (g/plant) (وزن خشک ریشه (گرم در بوته)						
Seeding کشت مستقیم بذری			Transplanting کشت نشایی			Cultivation روش کشت
کود دامی Manure	تفاله شیرین بیان Licorice Root Waste	ورمی کمپوست Vermicompost	کود دامی Manure	تفاله شیرین بیان Licorice Root Waste	ورمی کمپوست Vermicompost	Treatment تیمار
						سطح به کارگیری Applied Level
						Control شاهد
604±64 ^{a-d}	296±184 ^{e-g}	240±76 ^{e-g}	440±192 ^{c-f}	464±96 ^{b-e}	464±232 ^{b-e}	۱۰ تن در هکتار
196±8 ^{fg}	320±108 ^{e-g}	568±100 ^{a-d}	460±60 ^{b-e}	420±56 ^{c-f}	488±208 ^{a-e}	10 ton/ha
244±124 ^{eg}	456±190 ^{b-e}	292±124 ^{e-g}	584±124 ^{a-d}	616±172 ^{a-d}	660±96 ^{a-c}	۲۰ تن در هکتار
184±60 ^g	384±128 ^{d-g}	416±76 ^{c-g}	732±48 ^a	648±128 ^{a-c}	704±64 ^{ab}	20 ton/ha
						۴۰ تن در هکتار
						40 ton/ha

The means with the same letters in each column do not differ significantly at the 5% probability level of the Duncan test.

میانگین‌های دارای حرف‌های یکسان در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

اثر روش کاشت و مواد آلی بر سدیم و پتاسیم ریشه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، عوامل ساده روش‌های کاشت و مواد آلی در سطح ۱٪ و برهمکنش روش‌های کاشت و مواد آلی در سطح ۵٪ بر مقدار سدیم ریشه شیرین‌بیان تأثیر معنی‌دار داشتند. مقایسه میانگین نتایج برهمکنش دوگانه روش‌های کاشت و مواد آلی (جدول ۱۰) نشان داد که گیاهانی که از طریق کشت نشایی و کود دامی پرورش یافتند، بیشترین مقدار سدیم (۰/۶ گرم در کیلوگرم وزن خشک) در آنها تجمع یافته و با گیاهان پرورش یافته از همین روش کشت و کود ورمی‌کمپوست تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار سدیم (۰/۲ گرم در کیلوگرم وزن خشک) در روش کشت مستقیم بذر و تفاله شیرین‌بیان مشاهده شد.

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، عوامل ساده روش‌های کاشت، مواد آلی و سطوح آنها در سطح ۱٪ و برهمکنش روش‌های کاشت و سطح اعمال شده مواد آلی در سطح ۵٪ بر مقدار پتاسیم شیرین‌بیان تأثیر معنی‌دار داشتند. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۹) نشان داد که بیشترین مقدار جذب پتاسیم (۸/۴ گرم در کیلوگرم وزن خشک) در تیمار تفاله شیرین‌بیان بود که با کود دامی تفاوت معنی‌داری نداشت. نتایج مقایسه میانگین برهمکنش دوگانه روش‌های کاشت و سطوح اعمال شده مواد آلی (جدول ۱۱) نشان داد که گیاهانی که از طریق کشت مستقیم بذر و سطح ۴۰ تن در هکتار پرورش یافتند، بیشترین مقدار پتاسیم (۱۱/۷ گرم در کیلوگرم وزن خشک) در آنها مشاهده شد. کمترین مقدار پتاسیم (۴/۴ گرم در کیلوگرم وزن خشک) در روش کشت نشایی و بدون افزودن سطوح کودی مشاهده شد.

اثر روش کاشت و مواد آلی بر نشاسته ریشه

بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، برهمکنش روش‌های کاشت و مواد آلی و همچنین برهمکنش مواد آلی و سطوح آنها در سطح ۵٪ بر میزان نشاسته تأثیر معنی‌دار داشتند. مقایسه میانگین نتایج برهمکنش دوگانه روش‌های کاشت با مواد آلی نشان داد گیاهانی که از طریق کشت نشایی و کود دامی تیمار شدند بیشترین مقدار نشاسته (۷۸/۱ میلی‌گرم در لیتر) را تولید کردند. کمترین مقدار نشاسته (۴۶/۸ میلی‌گرم در لیتر) در تیمار کشت مستقیم بذر و کاربرد تفاله شیرین‌بیان حاصل شد که با شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۱۱).

اثر روش کشت و مواد آلی بر اسید گلیسیریزیک ریشه

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، عوامل ساده مواد آلی و سطوح آنها در سطح ۱٪ و برهمکنش مواد آلی و سطوح آنها در سطح ۵٪ بر درصد اسید گلیسیریزیک گیاه دارویی شیرین‌بیان تأثیر معنی‌دار داشتند. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۱۲) نشان داد که بیشترین درصد اسید گلیسیریزیک (۲/۴٪) در تیمار کود دامی بود که با تفاله شیرین‌بیان تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین مقدار اسید گلیسیریزیک (۰/۲٪) در تیمار کود ورمی‌کمپوست تجمع یافت. برحسب نتایج این پژوهش (شکل ۱) گیاهانی که به روش نشایی و کاربرد ۴۰ تن در هکتار کود دامی کشت شدند بیشترین عملکرد اسید گلیسیریزیک در واحد سطح (۵۲۶/۶۹ کیلوگرم در هکتار) را نشان دادند و کمترین مقدار اسید گلیسیریزیک در واحد سطح در گیاهان کشت بذری بدون کاربرد مواد آلی (۱۱۷/۱۲ کیلوگرم در هکتار) مشاهده شد.

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر ساده مواد آلی بر صفات فیزیولوژیک گیاه دارویی شیرین‌بیان.

Table 9. Comparison of the average simple effect of organic matter on physiological traits of licorice.

اسید گلیسیریزیک (%) Glycyrrhizic Acid	پتاسیم K (g/kg d.w)	سدیم Na (g/kg d.w)	مواد آلی Organic Matter
2±0.4 ^b	7±2.7 ^b	0.5±0.13 ^a	ورمی‌کمپوست Vermicompost
2.3±0.5 ^a	8.4±3.4 ^a	0.4±0.19 ^b	تفاله شیرین‌بیان Licorice root waste
2.4±0.4 ^a	8.3±3.3 ^a	0.5±0.16 ^a	کود دامی Manure

The means with the same letters in each column do not differ significantly at the 5% probability level of the Duncan test.

میانگین‌های دارای حرف‌های یکسان در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۱۰- مقایسه میانگین برهمکنش بین روش‌های کشت و مواد آلی بر صفات فیزیولوژیک گیاه دارویی شیرین بیان.

Table 10. Comparison of the mean of interaction between culture methods and organic matter on physiological traits of licorice

سديم Na (g/kg d.w)	نشاسته Starch (mg/l)	تیمار Treatment
0.6±0.09 ^a	49.6±21.6 ^{ab}	کشت نشایی* کود ورمی کمپوست Vermicompost*Transplanting
0.5±0.12 ^b	71.9±34.8 ^{ab}	کشت نشایی* تفاله شیرین بیان L.W.R.*Transplanting
0.6±0.15 ^a	78.1±41.6 ^a	کشت نشایی* کود دامی Manure*Transplanting
0.42±0.1 ^{bc}	71.4±38.3 ^{ab}	ورمی کمپوست Vermicompost*Seeding
0.2±0.07 ^d	46.8±28.8 ^b	کشت مستقیم بذر* تفاله شیرین بیان
0.4±0.09 ^c	48.5±32.3 ^{ab}	L.W.R.* Seedling کشت مستقیم بذر* کود دامی Manure* Seedling

The means with the same letters in each column do not differ significantly at the 5% probability level of the Duncan test.

میانگین‌های دارای حرف‌های یکسان در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۱۱- مقایسه میانگین برهمکنش بین روش‌های کشت و سطوح اعمال شده مواد آلی بر مقدار پتاسیم گیاه دارویی شیرین بیان.

Table 11. Comparison of the mean of interaction between culture methods and applied levels of organic matter on potassium content of licorice

پتاسیم K (g/kg d.w)	تیمار Treatment
4.4±0.7 ^d	کشت نشایی* بدون افزودن کود Transplanting *Control
5.4±1.7 ^{cd}	کشت نشایی* سطح ۱۰ تن در هکتار Transplanting*10 ton/ha
6.3±2.4 ^c	کشت نشایی* سطح ۲۰ تن در هکتار Transplanting*20 ton/ha
4.8±1.2 ^d	کشت نشایی* سطح ۴۰ تن در هکتار Transplanting*40 ton/ha
9.4±0.6 ^b	کشت مستقیم بذر* بدون افزودن کود Seeding*Control
10.4±1.8 ^{ab}	کشت مستقیم بذر* سطح ۱۰ تن در هکتار Seeding*10 ton/ha
10.9±1.3 ^{ab}	کشت مستقیم بذر* سطح ۲۰ تن در هکتار Seeding*20 ton/ha
11.7±1.8 ^a	کشت مستقیم بذر* سطح ۴۰ تن در هکتار Seeding*40 ton/ha

The means with the same letters in each column do not differ significantly at the 5% probability level of the Duncan test.

میانگین‌های دارای حرف‌های یکسان در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۱۲- مقایسه میانگین برهمکنش بین مواد آلی و سطوح آنها بر صفات فیزیولوژیک گیاه دارویی شیرین بیان.

Table 12. Comparison of the mean of interaction between organic matter and their levels on physiological traits of licorice.

اسید گلیسیریزیک (%) Glycyrrhizic Acid	نشاسته Starch (mg/l)	تیمار Treatment
2±0.5 ^{cd}	56.8±36.0 ^{a-c}	شاهد Control
2.2±0.4 ^{cd}	57.2±31.7 ^{a-c}	ورمی کمپوست* سطح ۱۰ تن در هکتار Vermi*10 ton/ha
2±0.3 ^{cd}	51.7±22.8 ^{a-c}	ورمی کمپوست* سطح ۲۰ تن در هکتار Vermi*20 ton/ha
1.9±0.6 ^d	76.5±45.1 ^{a-c}	ورمی کمپوست* سطح ۴۰ تن در هکتار Vermi*40 ton/ha
2.1±0.6 ^{cd}	40.5±21.7 ^{bc}	تفاله شیرین بیان* سطح ۱۰ تن در هکتار L.W.R.*10 ton/ha
2.8±0.2 ^a	91.3±21.2 ^a	تفاله شیرین بیان* سطح ۲۰ تن در هکتار L.W.R.*20 ton/ha
2.2±0.1 ^{cd}	36.7±17.2 ^c	تفاله شیرین بیان* سطح ۴۰ تن در هکتار L.W.R.*40 ton/ha
2.3±0.3 ^{b-d}	61.8±52.3 ^{a-c}	کود دامی* سطح ۱۰ تن در هکتار Manure*10 ton/ha
2.5±0.5 ^{a-c}	44.9±27.1 ^{bc}	کود دامی* سطح ۲۰ تن در هکتار Manure*20 ton/ha
2.7±0.4 ^{ab}	63.6±36.7 ^{a-c}	کود دامی* سطح ۴۰ تن در هکتار Manure*40 ton/ha

The means with the same letters in each column do not differ significantly at the 5% probability level of the Duncan test.

میانگین‌های دارای حرف‌های یکسان در هر ستون در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

جدول ۱۳- همبستگی پیرسون بین فاکتورهای رویشی و درصد اسید گلیسیریزیک گیاه دارویی شیرین بیان پس از برداشت.

Table 13. Pearson correlation between vegetative factors and glycyrrhizic acid content of post-harvest licorice.

درصد اسید گلیسیریزیک Glycyrrhizic Acid (%)	وزن خشک شاخساره Shoot Dry Weight	وزن خشک ریشه Root Dry Weight	
1.00	0.118 ^{ns}	0.036 ^{ns}	درصد اسید گلیسیریزیک Glycyrrhizic Acid (%)
	1.00	0.406 ^{**}	وزن خشک شاخساره Shoot Dry Weight
		1.00	وزن خشک ریشه Root Dry Weight

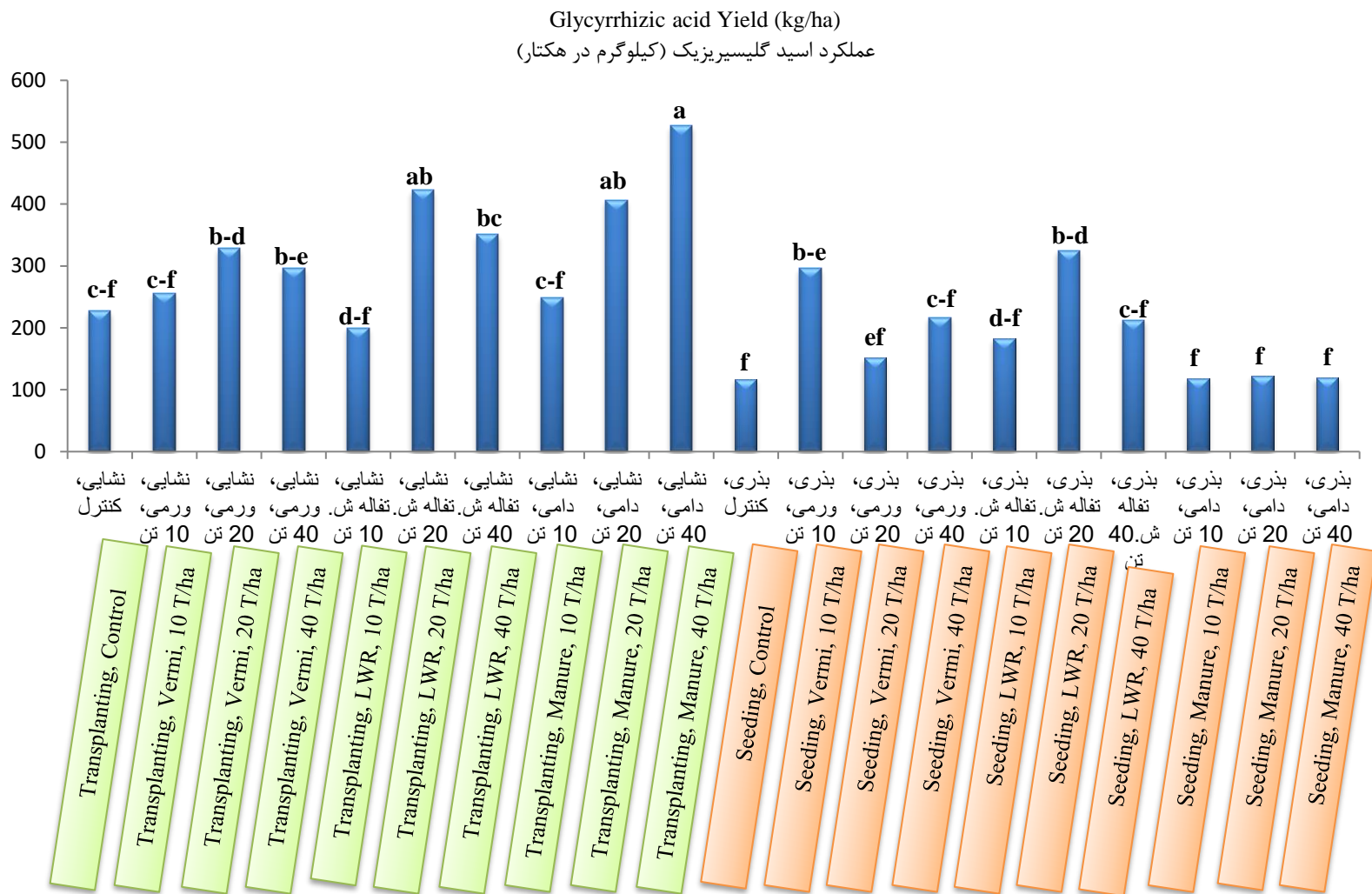
** : Significant at 1% probability level * : Significant at 5% probability level

ns: Not significant

** : معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ * : معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

همبستگی بین صفات مورد مطالعه در گیاه شیرین بیان

جدول ۱۳ همبستگی بین فعالیت فاکتورهای رویشی و درصد اسید گلیسیریزیک گیاه دارویی شیرین بیان را نشان می‌دهد. نتایج این جدول نشان داد همبستگی مثبتی وزن خشک شاخساره و وزن خشک ریشه وجود دارد. طبق نتایج جدول ۱۳ همبستگی مثبتی بین صفات رویشی اندام‌های هوایی گیاه و اسید گلیسیریزیک وجود دارد هر چند که این روند معنی‌دار نبود.



شکل ۱- نمودار عملکرد اسید گلیسیریزیک در واحد سطح (کیلوگرم در هکتار). حرف‌های غیرمشابه نشان‌دهنده معنی‌داری میانگین‌ها در سطح احتمال ۱٪ هستند.

Fig. 1. Graph of glycyrrhizic acid yield per unit area (kg / ha). Mismatched letters indicate the significance of the means at the 1% probability level.

بحث

وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه

کودهای آلی از منابع حیوانی مانند کودهای دامی و یا منابع گیاه به دست می‌آیند. استفاده مداوم از کودهای معدنی ساختار خاک را تحت تأثیر قرار می‌دهد. از این رو کودهای آلی را می‌توان به‌عنوان جایگزینی برای کودهای معدنی در بهبود بخشیدن به ساختار خاک و زیست‌توده میکروبی در نظر گرفت (Dhull *et al.*, 2004). ورمی‌کمپوست یک فرآورده حاصل از فن‌آوری زیستی تبدیل زباله‌ها به کمپوست است و تولید نهایی محصولات را بهبود می‌بخشد. افزودن کمپوست‌های زباله‌های جامد شهری به خاک‌های کشاورزی اثرات مفیدی بر توسعه و عملکرد از طریق بهبود حالت‌های فیزیکی و بیولوژیکی خاک دارد (Zarei *et al.*, 2015). درصد اسانس و وزن تر و خشک گیاه مرزنگوش پاسخ مثبتی به افزایش سطوح کودهای دامی کمپوست شده در مقایسه با کودهای شیمیایی نشان دادند (Edris *et al.*, 2003). کاربرد ورمی‌کمپوست رشد بهتر و عملکرد بیشتر گیاه را بهتر از کمپوست کودهای دامی و کودهای NPK حمایت می‌کند (Suthar, 2009). نتایج مقایسه میانگین این پژوهش نشان دادند که هر سه مواد آلی زیست‌توده^۱ بالازمینی و زیرزمینی گیاه شیرین‌بیان را به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد افزایش دادند. از میان مواد آلی افزوده شده ورمی‌کمپوست و کود دامی در سطوح ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار، بیشترین عملکرد زیست‌توده را داشتند که نسبت به بقیه سطوح و تفاله شیرین‌بیان به‌طور معنی‌داری عملکرد را افزایش داده‌اند.

در این پژوهش عملکرد زیست‌توده تر و خشک، بالازمینی و زیرزمینی در کشت نشایی به‌طور معنی‌داری نسبت به کشت مستقیم بذر، بالاتر بود. گیاهان حاصل از کشت مستقیم بذر، ریشه اصلی قوی را توسعه می‌دهند، در حالی که نشاها ممکن است سیستم ریشه‌ای متمایزی از طریق احیاء زودتر ریشه اصلی در شاسی‌های کشت توسعه دهند و به دنبال آن ریشه‌های قاعده‌ای و جانبی را توسعه دهند (Leskovar *et al.*, 1989). اکبری‌نیا و همکاران گزارش کردند، کاربرد کود دامی عملکرد دانه و اسانس گیاه دارویی زنیان را افزایش داده است (Akbarinia *et al.*, 2002). مشخص شد مورفولوژی ریشه گیاه به‌وسیله آب و مواد مغذی در دسترس و کاربرد خارجی هورمون‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد (López-Bucio *et al.*, 2003). در پژوهشی، Canellas و همکاران گروهی از اکسین‌ها را که مسئول طویل شدن ریشه، ظهور ریشه‌های جانبی و فعالیت آنزیم H^+ -ATPase در غشای پلاسمایی ریشه‌های ذرت بود، شناسایی کردند که قابل تغییر به هیومیک اسید^۲ در عصاره استخراج شده از کودهای دامی بودند (Canellas *et al.*, 2002). تفاله شیرین‌بیان مورد استفاده در این طرح دارای اسیدیته بالا و قطعات درشت بود که احتمالاً دسترسی گیاه را به مواد مغذی موجود در آن را محدود ساخته است. با توجه به اینکه کشور ایران بخصوص استان فارس از منابع مهم شیرین‌بیان است، کمپوست کردن این ضایعات و سپس به‌کارگیری کودهای آلی در فرایندهای تولید محصولات کشاورزی امری مهم است.

سدیم و پتاسیم

کمپوست سبب افزایش غلظت پتاسیم در گیاهان می‌شود. در استفاده از کمپوست ضایعات زیتون و گنجاله پنبه، افزایشی در محتوای کلی فسفر و پتاسیم در گیاه چمن طی دو چین اول مشاهده شد (Albuquerque *et al.*, 2007). ریشه گیاه شیرین‌بیان دارای رشد گسترده‌ای است از این رو نسبت سطح به حجم بالایی ایجاد می‌کند. گزارش شده شیرین‌بیان در مراحل اولیه دانه‌های جذب پتاسیم بالایی دارد و ممکن است به خاطر تحمل شرایط استرس‌زای محیط باشد (Liu *et al.*, 2007). سدیم نقش یک ریزمغذی در گیاه دارد و جذب آن به‌وسیله گیاه بسیار کم است. از جهتی اگر مقدار آن در خاک زیاد باشد سبب بالا بردن EC خاک شده و رشد گیاه را کاهش می‌دهد. در این پژوهش ممکن است EC و pH بالای تفاله شیرین‌بیان به ریشه شیرین‌بیان تنش وارد کرده و مانع از جذب عنصر سدیم توسط گیاه شده باشند. با توجه به افزایش عملکرد اسید گلیسیریزیک در روش کشت مستقیم بذر و با در نظر گرفتن این موضوع که گلیسیریزین مخلوطی از نمک‌های کلسیم و پتاسیم اسید گلیسیریزیک است، امکان تعریف نقشی مضاعف بر فعالیت‌های ضروری پتاسیم در گیاه را می‌دهد.

قند و نشاسته

ترکیبات صابونی از دو بخش ترکیبات قندی (گلیکون^۱) و ترکیبات ساپونینی (آگلیکون^۲) تشکیل شده‌اند (Sapna et al., 2009). قندها بخش گلیکونی ترکیبات گلیکوزیدی فعال ریشه شیرین بیان هستند. قندهایی از جمله گلوکز، رامنوز^۳ و زایلوز^۴ با گلیکوزیدها پیوند برقرار می‌کنند (Varshney et al., 1983). مزه شیرین ریشه شیرین بیان مربوط به وجود ترکیب بدون کالری تری‌ترپنوئیدی گلیکوزید گلیسیریزین در ریشه گیاه هست که از تجزیه آن اسید گلیسیرتینیک^۵ و گلوکز حاصل می‌شوند. از این رو عصاره این گیاه را بدون کالری در نظر می‌گیرند (Varshney et al., 1983). بررسی مقایسه میانگین مقادیر حاصل از اندازه‌گیری نشاسته موجود در ریشه شیرین بیان نشان داد که برهمکنش روش‌های کشت و مواد آلی بر مقدار نشاسته تأثیر معنی‌داری داشت. گزارش شده گیاهان سیب‌زمینی تیمار شده با کودهای آلی دارای محتوای نشاسته بالاتر و قادر به تحمل شرایط استرس‌زای محیطی و انبارداری بیشتری نسبت به گیاهان تغذیه‌شده با کودهای معدنی هستند. بر این باورند که مقاومت در برابر تجزیه و کیفیت انباری سیب‌زمینی و کیفیت نشاسته گندم در تیمار با کودهای آلی بیشتر است (Gransted and Kjellenberg, 1997). هرچند زنجیره طولیل قندی، نشاسته را به وجود می‌آورد، در این پژوهش تفاوت معنی‌داری بین مقدار قند اندازه‌گیری شده در روش‌های کشت و مواد آلی مشاهده نشد. ولی مقدار نشاسته در تیمار کشت نشایی و کاربرد کود دامی در بیشترین مقدار بوده است.

اسید گلیسیریزیک

در این پژوهش پاسخ گیاه شیرین بیان به تفاله شیرین بیان می‌تواند ناشی از محتوای تغذیه‌ای پایین آن و همچنین میزان پتاسیم قابل جذب آن برای ریشه باشد، زیرا پتاسیم خود جزء ساختار گلیسیریزین بوده و شکل ظاهری تفاله شیرین بیان نیز نامناسب بود به صورتی که اندازه شکل ظاهری آنها بسیار بزرگ‌تر از دو کود دیگر بودند و نسبت سطح به حجم پایینی در مقایسه با آنها داشتند. بدین صورت سطح تماس و ریشه با آنها و جذب عناصر به‌طور نسبی پایین بود. مطالعات محدودی بر روی به‌کارگیری اصلاح‌کننده‌های خاکی و تأثیر آنها بر محتوای زیست‌توده انجام‌شده از جمله؛ استفاده از کودهای دامی قبل از کشت شیرین بیان (Zarei et al., 2015)، یک‌بار کاربرد کود کامل NPK با نسبت‌های (۱۰۰:۴۴:۱۶۶) روی عملکرد گیاهان سه‌ساله و همچنین نتایج مطالعاتی نشان دادند که کاربرد تغذیه‌کننده‌های گیاهی سبب افزایش زیست‌توده شیرین بیان شد (Marzi et al., 1993). با این وجود، نتایج این تحقیقات نشان دادند که کاربرد کودهای حاوی نیتروژن و فسفات تأثیری روی غلظت گلیسیریزین ندارد. در این پژوهش نیز کودهای دامی و ورمی‌کمپوست به‌طور معنی‌داری مقدار زیست‌توده گیاهی را نسبت به تفاله شیرین بیان افزایش دادند و بیشترین وزن خشک ریشه در نتیجه کاربرد ورمی‌کمپوست در سطح ۴۰ تن در هکتار حاصل شد. در آزمایش کود دامی نشان داده شد که میزان شوری این اصلاح‌کننده خاکی بالا بوده ($5/9 \text{ ms/m}^2$) و از آنجایی که متابولیت‌های ثانویه^۶ در پاسخ به این استرس‌های محیطی بیشتر تولید می‌شوند و همچنین تفاله شیرین بیان نسبت به سایر اصلاح‌کننده‌ها از نیتروژن کمتری جهت تغذیه گیاه برخوردار بوده، از این نظر ممکن است خود نوعی تنش تغذیه‌ای بوده و منجر به افزایش تولید اسید گلیسیریزین در ریشه شیرین بیان شده که در نتایج پژوهش بدست آمد.

نتیجه‌گیری

در بررسی روش‌های کشت مشخص گردید، عملکرد شاخساره و ریشه در روش کشت نشایی بیشتر بودند. بیشترین عملکرد شاخساره و همچنین ریشه و ریزوم در سطح ۴۰ تن در هکتار و کاربرد دو ماده آلی ورمی‌کمپوست و کود دامی بوده که با سطح ۲۰ تن در هکتار از آن دو تفاوت معنی‌داری نداشت. بیشترین درصد اسید گلیسیریزیک از کاربرد ۲۰ تن در هکتار تفاله شیرین بیان حاصل شد که با سطوح ۲۰ و ۴۰ تن در هکتار کود دامی تفاوت معنی‌داری نداشته و همچنین بیشترین عملکرد اسید گلیسیریزیک در واحد سطح، در روش کشت نشایی و کاربرد ۴۰ تن در هکتار کود دامی بدست آمد که با کاربرد ۲۰ تن در هکتار کود دامی و

همین سطح از تفاله شیرین‌بیان، در روش کشت نشایی تفاوت معنی‌داری نداشته است. نظر به صرف هزینه‌های اقتصادی جهت تولید مواد آلی و روش مرغوب کشت، کاربرد ۲۰ تن در هکتار و کشت نشایی پیشنهاد می‌گردد.

References

منابع

- Akbarinia, A., Ghalavand, A., Safidkan, F., Rezaei, M., & Ashourabadi, A. (2003). Evaluation of the effect of chemical, animal and fertilizer fertilizers on the yield and amount of essential oil compounds of Zanian medicinal plant. *Research and Construction in Agriculture and Horticulture*, 61, 32-41 (In Persian).
- Albuquerque, J. A., Gonzalvez, J., Garcia, D., & Cegarra, J. (2007). Effects of a compost made from the solid by-product ("alperujo") of the two-phase centrifugation system for olive oil extraction and cotton gin waste on growth and nutrient content of ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Bioresource Technology* 98, 940-945.
- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Okorokova-Facanha, A. L., & Facanha, A. R. (2002). Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H-ATPase activity in Maize roots. *Plant Physiology*, 130, 1951-1957.
- Chapman, H. D., & Pratt, P. F. (1961). Ammonium vanadate-molybdate method for determination of phosphorus. *Methods of Analysis for Soils, Plants and Water 1*, 184-203.
- Dhull, S., Goyal, S., Kapoor, K., & Mundra, M. (2004). Microbial biomass carbon and microbial activities of soils receiving chemical fertilizers and organic amendments. *Archives of Agronomy and Soil Science* 50, 641-647.
- Edris, A. E., Shalaby, A., & Fadel, H. M. (2003). Effect of organic agriculture practices on the volatile aroma components of some essential oil plants growing in Egypt II: sweet Marjoram (*Origanum marjorana* L.) essential oil. *Flavour and Fragrance Journal* 18, 345-351.
- Eng, A. T. W., Heng, M. Y., & Ong, E. S. (2007). Evaluation of surfactant assisted pressurized liquid extraction for the determination of glycyrrhizin and ephedrine in medicinal plants. *Analytica Chimica Acta* 583, 289-295.
- Fox, J. D., & Robyt, J. F. (1991). Miniaturization of three carbohydrate analyses using a microsample plate reader. *Analytical Biochemistry* 195, 93-96.
- Ghesmati, M. & Moradinezhad, F. (2019). Influence of different levels of organic fertilizers on quantitative and biochemical properties of *Salvia mirzayanii* Rech. F. & Esfand. *Ecophytochemical Journal of Medicinal Plants*. 26, 78-90. (In Persian).
- Kadian, N., Gupta, A., Satya, S., Mehta, R. K. & Malik, A. (2008). Biodegradation of herbicide (atrazine) in contaminated soil using various bioprocessed materials. *Bioresource Technology* 99, 4642-4647.
- Khalesrou, SH., & Malekian, H. (2017). Evaluation of application of vermicompost and humic acid on morphological traits, yield, amount and composition of essential oils in organic culture of (*Trachyspermum ammi* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 32, 968-980 (In Persian).
- Khanahmadi, M., Naghdiabadi, H., Akhondzadeh, S., Sigaroudi, F. K., Mehrafarin, A., Shahreyari, S., & Hajiaghaye, R. (2013). A review of licorice (*Glycyrrhiza glabra*L). *Medicinal Plants*, 12, 1-12. (In Persian).
- Khandan-Mirkohi, A., Fayyaz, H., & Moshrefi Eraqi, M. A. (2017). Evaluation of water uptake efficiency and growth of Gaillardia and Margaret ornamental plants in different substrates. *Horticultural Sciences of Iran*, 48, 459-468 (In Persian).
- Leskovar, D. I., Cantliffe, D. J. & Stoffella, P. J. (1989). Pepper (*Capsicum annum* L.) root growth and its relation to shoot growth in response to nitrogen. *Journal of Horticultural Science (UK)* 64, 711-716.
- Liu, D., Song, D., Guo, G., Wang, R., Lv, J., Jing, Y., & Zhao, L. (2007). The synthesis of 18 β -glycyrrhetic acid derivatives which have increased antiproliferative and apoptotic effects in leukemia cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15, 5432-5439.
- López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., & Herrera-Estrella, L. (2003). The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Opinion in Plant Biology*, 6, 280-287.
- Marzi, V., Ventrelli, A., & De Mastro, G. (1993). Influence of intercropping and irrigation on productivity of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). *Acta Horticulturae*, 331, 71-78.
- Osman, K. A., Al-Rehiyani, S. M., Al-Deghairi, M. A., & Salama, A. K. (2009). Bioremediation of oxamyl in sandy soil using animal manures. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63, 341-346.
- Pan, X.J., Liu, H.Z., Jia, G.H., & Shu, Y.Y. (2000). Microwave-assisted extraction of glycyrrhizic acid from licorice root. *Biochemical Engineering Journal* 5: 173-177.
- Rahimi, A., & Babakhanzadeh-Sajirani, B. (2021). Effect of vermicompost and some of macro nutrients on plant growth, nutrient uptake and quantity and quality of Savory (*Satureja hortensis* L.) essential oil. *Journal of Plant Production Researches*, 27, 33-149 (In Persian).
- Sapna, D. D., Desai, D. G., & Kaur, H. (2009). Saponins and their Biological Activities. *Pharma Times*, 41, 13-16.

- Suthar, S. (2009). Impact of vermicompost and composted farmyard manure on growth and yield of garlic (*Allium stivum* L.) field crop. *International Journal of Plant Production*, 3, 27-38.
- Tabrizi, L., & Kouchaki, A. (2014). Effect of organic inputs on organic seed production of pot Marigold (*Calendula officinalis* L.). *Iranian Journal of Seed Science and Technology*, 4, 81-96 (In Persian).
- Thomas, J., Kumar, B. M., Wahid, P. A., Kamalam, N. V., & Fisher, R. F. (1998). Root competition for phosphorus between ginger and *Ailanthus triphysa* in Kerala, India. *Agroforestry Systems*, 41, 293-305.
- Varshney, I.P., Jain, D.C., & Srivastava, H.C. (1983). Study of saponins from *Glycyrrhiza glabra* root *Pharmaceutical Biology*, 21, 169-172.
- Wahid, P. A., Kamalam, N. V., Ashokan, P. K., & Vikraman Nair, R. (1989). Root activity pattern of cocoa (*Theobroma cacao*). *Journal of Nuclear Agriculture Biology*, 18, 153-156.
- Yari, A., & Tab, A. (2018). Evaluation of different organic and chemical nutrition systems on yield, quantity and quality of coriander essential oil (*Coriandrum sativum* L.). *Jornal of Plant Production Researches*, 24, 13-29 (In Persian).
- Yarnell, E. (2012). Botanical medicines used for kidney disease in the United States. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 6, 407-418.
- Yavari, S., Najafian, SH., Eshghi, S., & Tafazoli, A. (2009). Preparation of organic compost from licorice and olive processing residues and comparison of their effects on growth and yield of Lovage (*Trachyspermum ammi* Sprague). *6th Iranian Congress of Horticultural Sciences*, 1069-1071 (In Pesian).
- Zarei, M., Merikhi, M., & Saharkhiz, M. J. (2015). The effect of arbuscular mycorrhizal fungus and licorice waste root on morphological and physiological characteristics of *Calendula officinalis* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Researches*, 30, 391-403 (In Persian).

Effect of Type of Organic Matter and Cultivation Methods on Glycyrrhizic Acid Content and Morphophysiological Characteristics of Licorice

E. Rashadi Moaddab, M. J. Saharkhiz and A. Karami*

Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran

* Corresponding Author, Email: (akbarkarami@shirazu.ac.ir)

This study aimed to investigate the effect of cultivation methods and different organic matters (vermicompost, Licorice root waste and manure) on glycyrrhizic acid content and morphophysiological characteristics of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). Treatments comprised of two cultivation methods (transplanting and direct seeding) in combination with three types of organic matter (vermicompost, Licorice root waste and manure) at four levels of 0, 10, 20 and 40 tons per hectare. Results showed that the highest root fresh and dry weight was achieved in transplanting method in 40 tons per ha of each manure. The highest starch content was attained from transplanting method in addition vermicompost at 20 and 40 tons per ha with no significant differences. The amount of root sodium in transplanting cultivation method and application of vermicompost and manure was significantly higher than the application of Licorice waste root together with seedling cultivation method. The highest amount of root potassium was obtained in the application of 40 ton per ha of Licorice waste root and manure. The maximum glycyrrhizic acid percent was received in the application of 20 ton per ha of licorice waste root and the highest glycyrrhizic acid yield per ha was obtained from transplanting method plus application of manure at 20 and 40 tons per ha and Licorice root waste at 20 ton per hectare with no significant differences. In general, transplanting method as well as application of 20 to 40 tons per hectare manure or 20 tons per hectare of Licorice root waste is recommended. **Keywords:** Glycyrrhizic acid, Licorice root, Licorice waste root, Manure, Seedling, Transplanting, Vermicompost, Yield.