تاثیر محلول‌پاشی گلوتامین، اسید سیتریک و اسید مالیک بر شاخص‌های رشد و کیفیت و مورفولوژی گیاه شیرین بیان(*Glycyrrhiza glabra*)

فاطمه سلطانی[۱]، ابراهیم هادوی (نویسنده مسئول)[۲*] و نوشین قاضی‌جهانی[۳]

۱- کارشناس‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، Fsoltani912@gmail.com

۲*- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، ehadavi@gmail.com

۳- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده کشاورزی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، nghazijahani@gmail.com

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: آذر ۱۳۹۶

The effect of foliar application of glutamine, citric acid and malic acid on the growth, quality and morphological traits of licorice(*Glycyrrhiza glabra*)

Fatemeh Soltani1, Ebrahim Hadavi*2 and Noushin Ghazi Jahani3

1- MS.c, Department of Horticulture, Agriculture college, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran, Fsoltani912@gmail.com

2*- Assistant Professor, Department of Horticulture, Agriculture college, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran, ehadavi@gmail.com

3- Assistant Professor, Department of Microbiology, Agriculture college, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran, nghazijahani@gmail.com

*Corresponding author: Ebrahim Hadavi

Received: September 2017 Accepted: November 2017

چکیده

شیرین بیان یکی از مهمترین و قدیمی‌ترین گیاهان دارویی است که کاربرد فراوانی در صنایع مختلف دارویی، غذایی، نوشابه سازی و شیرینی سازی دارد. در این پژوهش اثر محلول‌پاشی طولانی مدت برگی، اسید آمینه گلوتامین و اسیدهای آلی اسید سیتریک و اسید مالیک بر صفات رشدی و کیفیت نشا شیرین بیان مورد بررسی قرارگرفت. تیمارها شامل مقادیر گلوتامین(۳، ۶ و ۹ میلی‌مولار)، اسیدمالیک(۶، ۹ و ۱۵ میلی‌مولار) و اسیدسیتریک(۳، ۹ و ۱۵ میلی‌مولار) بود و محلول‌پاشی آب مقطر به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. فاصله اولین تا آخرین محلول‌پاشی ۱۴۰ روز بود که در مجموع گیاهان ۲۰ بار محلول‌پاشی شدند. صفات مورد بررسی در این پژوهش شامل صفات رشدی نظیر وزن تر و خشک شاخساره، برگ و ساقه، وزن تر و خشک ریشه، طول و قطر ساقه، تعداد شاخه‌های جانبی فرعی، طول و قطر ریزوم و ریشه و همچنین رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a، b و کل، کاروتنوئید کل بودند. نتایج نشان داد که کاربرد محلول‌پاشی‌های مذکور در زمان طولانی تاثیرات عمده‌ای بر صفات مورد سنجش بر جای گذاشت به این ترتیب که در تیمار مالیک اسید ۱۵ میلی مولار وزن تر و خشک شاخساره به ترتیب ۵۰۵ و ۴۰۹ درصد، وزن تر و خشک برگ به ترتیب ۳۸۷ و ۴۰۰ درصد و وزن تر و خشک ساقه به ترتیب به میزان ۴۹۴ و ۵۸۰ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. همچنین بیشترین وزن تر و خشک ریشه شیرین بیان مربوط به تیمار گلوتامین ۳ میلی مولار(G3) بود که نسبت به تیمار شاهد به ترتیب به میزان ۱۱۲۴ و ۱۴۹۷ درصد افزایش پیدا کرد.

کلمات کلیدی: اسیدهای آلی، اسید آمینه، شیرین بیان، گیاهان دارویی، محلول‌پاشی برگی.

فصلنامه زیست شناسی سلولی و مولکولی گیاهی

سال ۱۳۹۶، دوره ۱۲، شماره ۳، صص ۱۴-۵

Abstract

Licorice is one of the oldest medicinal plants that is commonly used in various industries such as pharmaceutical, food, beverages and confectionery products. this study was performed In order to evaluate the effect of foliar application of amino acids (glumaline) and organic acids (citric acid and malic acid) on growth and quality of the transplant of licorice,. glutamine (3, 6 and 9 mM), malic acid (6, 9 and 15 mM) and citric acid (3, 9 and 15 mM) and foliar application of water to be considered as control. The main traits examined in this study included;: fresh and dry weights of canopy, leaf and root, stem length and diameter, number of lateral branches, rhizome and root diameter, leaf size and trichome density and the photosynthetic pigments such as chlorophyll a, b, total, and total carotenoids. The results showed that foliar sprays of various concentrations of glutamine, malic acid, citric acid, significantly increased licorice root and shoot growth and yield as compared to the control. In the treatment of malic acid 15 mM (MA15) shoot fresh and dry weight respectively 505 and 409 %, leaf fresh and dry weight respectively 387 and 400 % and stem fresh and dry weight respectively 494 and 580% were increased compared to the control. Also the highest licorice root fresh and dry weight was in glutamine 3 mM (G3) that was increased respectively by 1124 and 1497 % compared to control. Therefore, application of appropriate levels of malic acid, citric acid and glutamine can improve the yield and quality of Licorice seedlings .

Keywords: Amino acids, Foliar sprays, Licorice, Medicinal plants, Organic acids.

فصلنامه زیست شناسی سلولی و مولکولی گیاهی

سال ۱۳۹۶، دوره ۱۲، شماره ۳، صص ۱۴-۵

مقدمه و کلیات

شیرین بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* از تیره Fabaceae، یکی از مهمترین و قدیمی‌ترین گیاهان دارویی است که کاربرد فراوانی در صنایع مختلف دارویی، غذایی، نوشابه‌سازی و شیرین سازی دارد. ریشهٔ شیرین بیان در اکثر فارماکوپه ها به عنوان دارو یاد شده است و از مهمترین خواص درمانی آن می توان به معالجهٔ زخم اثنی عشر و بیماریهای معده اشاره کرد. مهمترین مادهٔ مؤثّرهٔ ریشهٔ شیرین بیان را «اسید گلیسیریزیک» تشکیل می‌دهد که این ماده ۵۰ مرتبه از شکر شیرین‌تر بوده و در صنایع غذایی کاربرد فراوانی دارد(Hornok, 1992). اگرچه شیرین بیان یکی از اقلام صادراتی ایران در حوزه گیاهان دارویی می‌باشد اما در حال حاضر عمدتا از طبیعت برداشت می شود و برداشت بی‌رویه آن می‌تواند این گیاه با ارزش را در معرض خطر انقراض قرار دهداز طرفی روش‌های استاندارد کشت و کار آن توسعه کافی نیافته است، لذا انجام پژوهش های کاربردی در جهت اهلی‌سازی و تولید زراعی آن در کشور ما ضرورت دارد. یکی از روش‌های ازدیاد شیرین بیان تکثیر از طریق بذر به طور غیرمستقیم و تولید نشا می‌باشد. کشاورزی در زمین‌هایی که حاصلخیزی بالایی ندارد و نیز دارای انواع تنش‌های محیطی مانند کم آبی، شوری و دماهای بالا و پایین هستند با مشکلات فراوانی روبرو است که عمدتا به مشکل جوانه‌زنی و استقرار مناسب محصول در مزرعه مربوط است(Itabari *et al.,* 1993) که تنها راه حل آن استفاده از نشاء سالم و قوی می‌باشد. از سوی دیگر جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاه شیرین بیان در مزرعه کند بوده و نیاز به گیاهچه های قوی و سالم می باشد و از این رو استفاده از نشاء با کیفیت در توسعه کشت آن اهمیت دارد(امیدبیگی، ۱۳۹۲). نشاکاری ضمن بهبود کارایی منابع آبی، کنترل علف‌های هرز را ساده تر نموده و امکان کنترل جمعیت گیاهان و تنظیم دقیق فاصله کشت را نیز فراهم می‌سازد و از این رو خصوصاً در گیاهان با رشد اولیه کم و همچنین بذرهای گران قیمت نسبت به روش کشت مستقیم بذر از کارآیی بیشتری برخوردار می‌باشد(Klassen, 1993) این مزایا باعث شده است که در سال‌های اخیر استفاده از نشاء در تولید تعدادی از گیاهان دارویی افزایش یابد. از سوی دیگر با پیشرفت‌های حاصله در تکنولوژی تولید و کاشت نشا، هزینه تولید نشاء کاهش و اطمینان به تولید محصول از نشا افزایش یافته که در رشد این صنعت سهیم بوده است(Lima *et al*., 2010). در شیرین بیان نیز که جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاه در مزرعه کند می‌باشد و استفاده از نشاء با کیفیت بسیار مفید می‌باشد(Wagner *et al*., 2006). محرک‌های زیستی، مجموعه ترکیباتی هستند که گروهی از آنها به عنوان ترکیبات مؤثر در واکنش و پاسخ مطلوب گیاهی به شرایط محیطی و گروهی دیگر به عنوان ترکیبات محرک افزایش رشد، می‌توانند عملکرد کمی و کیفی گیاه را بهبود بخشند. این ترکیبات باعث تحریک متابولیسم و فرآیندهای متابولیکی در جهت افزایش کارآیی گیاهان می‌شوند که از جمله آنها می‌توان به محرک های زیستی دارای فرمول پایه اسیدهای آمینه اشاره کرد که رشد کمی و کیفی گیاهان را تحریک می‌کنند(Starck, 2005). مصرف اسیدهای آمینه در شرایط نامساعد محیطی، نیاز به ساخت آن توسط گیاه را کاهش داده و به گیاه امکان می‌دهد که انرژی ذخیره شده خود را بیشتر صرف رشد و بالا بردن عملکرد و کیفیت محصول نماید.

تـاثیر مثبـت ترکیـب‌هـای حـاوی اسـیدهای آمینـه و الیگوپپتیدهای فعـال زیسـتی بـر فراینـدهای مختلـف رشد و نموی گیاهان و مقاومـت در برابـر تـنش‌هـا و شرایط نامناسـب محیطـی از جملـه سـرما و گرمـای شدید، خشکی و شوری به اثبات رسیده و طی سالیان اخیر این ترکیبها برای ارتقـای محصـولات زراعـی و باغی مورد استفاده قرار گرفتـه انـد(Thomas *et al*., 2009). افزایش عملکرد در اثر کاربرد اسیدهای آمینـه در گیـــاه ســـیر(El-Shabasi *et al*., 2005)، ســـیب‌زمینـــی(Awad *et al*., 2007)، خیـــار (Karuppaiah *et al*., 2000)، فلفل شیرین(Al-Said & Kamal, 2008) و بابونـه(Haj Seyed Hadi *et al*.,2011) گزارش شده است. اسیدهای آلـی نیـز بـه عنوان محرک زیستی در سالیان اخیر مورد توجه قـرار گرفته اند. محلول‌پاشی اسیدسیتریک موجـب افـزایش ماندگاری بعد از برداشت گل مریم و نیز تغییر الگوی ذخیره‌سازی در گیـاه گردیـده اسـت(Eidyan *et al*, 2014). در گیـاه لیلیـوم نیـز تـاثیر محلـول‌پاشـی اسیدسـیتریک بـر تقسـیم مـواد هیدروکربنـه میـان اندام‌هـای گیـاهی تاییـد گردید(دارنـده و همکـاران، ۱۳۸۹). در تحقیق دیگری بـا بررسـی تـاثیر محلـول پاشی برگی اسـید سـیتریک در گیـاه دارویـی ریحـان گزارش کردنـد کـه اسـید سـیتریک باعـث تغییـر در الگـوی جـذب مـواد معـدنی از محـیط آبکشـت شـــد(Ghazijahani *et al*., 2014). طـــالبی و همکاران(۲۰۱۴) در گیاه گازانیا نیز نشـان دادنـد کـه کاربرد سیتریک اسید و مالیک اسـید موجـب افـزایش نسبت ریشه به ساقه گردید(Talebi *et al*., 2014). در نتایج تحقیقی رحیمی شـکوه و همکـاران(۱۳۹۴) نیـز نشان داد که محلـول پاشـی اسـید سـیتریک در گیـاه دارویی عروسک پشت پرده باعث افزایش وزن تـر و خشک اندام هوایی و قطر ساقه نسبت به تیمار شـاهد شد. هـدف از انجـام پـژوهش حاضـر بررسـی تـاثیر محلول پاشی برگی اسید آمینه گلوتـامین و اسـیدهای آلی اسید سیتریک و اسید مالیـک بـر شـاخص هـای رشد و کیفیت و مورفولوژی گیـاه شـیرین بیـان مـی باشد.

فرآیند پژوهش

زمان و محل آزمایش و نوع طـرح آزمایشـی: ایـن تحقیـق در بهـار و تابسـتان سـال ۱۳۹۵ در گلخانـه تحقیقاتی دانشکده کشـاورزی دانشـگاه آزاد اسـلامی واحد کرج در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکـرار انجام شد. تیمارها شـامل مقـادیر گلوتـامین(۳، ۶ و ۹ میلی‌مولار: به ترتیب G3، G6 و G6)، اسـیدمالیک(۶، ۹ و ۱۵ میلـــی‌مـــولار: بـــه ترتیـــب MA6، MA9 و MA15) و اسید سیتریک(۳، ۹ و ۱۵ میلـی‌مـولار: بـه ترتیب CA3، CA9 و CA15) بـوده و محلـول‌پاشـی آب مقطر به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شـد. بـا تمـام محلـول‌هـا ترکیـب ترکننـده تجـاری مطـابق دستورالعمل مربوطه اضافه گردید. ماده گلیسیرین نیـز به میزان ۲میلی‌لیتر بر لیتر بـه تمـام تیمارهـا بصـورت پایه افزوده گردید.

تهیه گلدان، بستر کشت و تیمار بذر: بستر کشـت و اندازه سینی نشا و روش بهینه بهبود جوانه‌زنـی بـذور بر اساس نتایج تحقیق پاکنهاد(۱۳۹۵) انتخـاب شـدند که بستر نشا شامل کوکوپیت(۳۵ درصـد)، پرلیـت(۳۵ درصد) و ورمی‌کمپوست(۳۰ درصد) انتخاب گردید. بعد از پر کردن سینی‌های نشاء با مخلوط بدست آمده اقدام به کشت بذور شیرین بیان شد. با توجه به اینکه بذور شیرین بیـان دارای پوسـته سـخت مـی‌باشـند و درصد جوانه‌زنی آن به طور طبیعی پایین است قبل از

کشت، بذور به مدت ۲۰ دقیقه در محلول ۹۰٪ اسیدسولفوریک قرار داده و سپس شستشو شدند.

آبیاری و مراقبت از گیاهان: پس از آغاز محلول‌پاشی به منظور پیشگیری از هرگونه تداخل با محلولپاشی‌ها، آبیاری بصورت نشتی انجام گرفت. روش کار بدین صورت بود که زیر سینی های نشاء یک نایلون پلاستیکی کشیده شد و آب مورد نیاز به عمق۱/۵ سانتیمتر در سطح نایلون پلاستیکی و هر سه روز یکبار انجام شد. با رشد گیاهچه ها در مرحله ۸ تا ۱۰ برگی گیاهان به گلدانهای با قطر ۱۷ سانتیمتر منتقل شدند و در هر گلدان سه گیاه کشت شد. در طول فصل رشد گیاهان از نظر آفات و بیماری‌ها نیز با روش‌های معمول کنترل آفات در گلخانه مدیریت شدند.

اعمال تیمارهای صورت محلول‌پاشی: اولین محلول‌پاشی در مرحله دو برگی و مراحل بعدی به فاصله هر یک هفته به صورت محلول‌پاشی روی برگ‌ها انجام پذیرفت. فاصله اولین تا آخرین محلول‌پاشی ۱۴۰ روز بود.

اندازه‌گیری صفات رشدی و مورفولوژیک: اندازه‌گیری طول ساقه از محل طوقه تا جوانه انتهایی به وسیله خط‌کش با دقت میلیمتر اندازه گیری شد. صفت قطر ساقه از بالای دو برگ لپه‌ای و زیر دو برگ حقیقی اندازه گیری شد. قطر طوقه نیز از زیر دو برگ لپه‌ای و کمی بالاتر از طوقه اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری قطر ساقه و قطر طوقه به وسیله کولیس با دقت صدم میلیمتر انجام شد. پس از جدا سازی اندام هوایی از ریشه، وزن تر اندام هوایی و ریشه با ترازوی دیجتال با دقت ۰/۰۰۱ وزن شده و سپس برای سنجش وزن خشک اندام هوایی و ریشه، آنها را در دستگاه آون با درجه ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده و بعد از خشک شدن وزن هر کدام جداگانه سنجیده شد. در پایان اندازه‌گیری صفات مختلف، از داده‌های گیاهان موجود در هر تکرار میانگین گرفته شد و به عنوان داده آن تکرار لحاظ گردید.

اندازه گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی: جهت اندازه گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler(۱۹۸۷) به صورت زیر استفاده شد. ۰/۵ گرم بافت تازه از برگ را در هاون چینی سائیده سپس ۸ میلی‌لیتر الکل ۹۶٪ به آن اضافه کرده و محلول حاصل را به داخل فالکن منتقل کرده و ورتکس شد. فالکن‌ها را با فویل آلومینیوم پوشانده و یک شبانه روز در دمای یخچال قرار داده شد روز بعد نمونه ها را مجددا ورتکس کرده و اجازه داده شد تا ذرات در فالکن ته نشین شوند. سپس عصاره‌ها داخل سانتریفیوژ قرار داده شد. شدت جذب محلول رویی با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ و ۶۴۸ و ۶۶۴ نانومترخوانده شد و میزان کلروفیل و کاروتنوئید با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید(Lichtenthaler, 1987):

V= حجم محلول صاف شده

A= جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر

FW= وزن تر نمونه بر حسب گرم

a)کلروفیل $= 12.25\ A_{663.2} - 2.79\ A_{646.8/FW}$

b)کلروفیل $= 21.21\ A_{646.8} - 5.1\ A_{663.2/FW}$

(کلروفیل کل) $= 7.15\ A_{663.2} - 18.71\ A_{646.8/FW}$

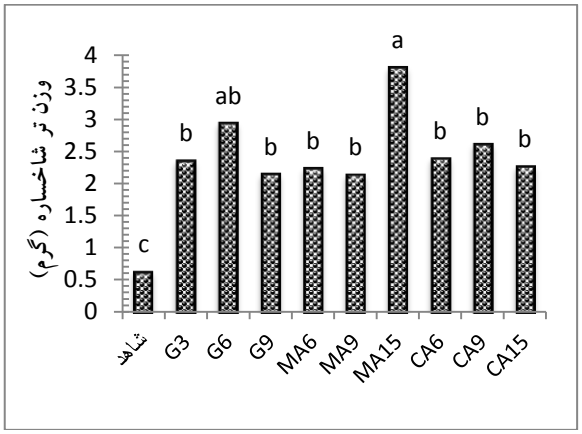
(کاروتنویید) $= (1000A_{470} - 1.8\ chla - 85.02\ chlb)/FW$

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های حاصل از آزمایش‌های این تحقیق بر اساس طرح آماری مورد استفاده، با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه

۲۰مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ ٪ انجام گرفت. رسم نمودارها و برخی از محاسبات، با استفاده از نرم افزار اکسل انجام شد.

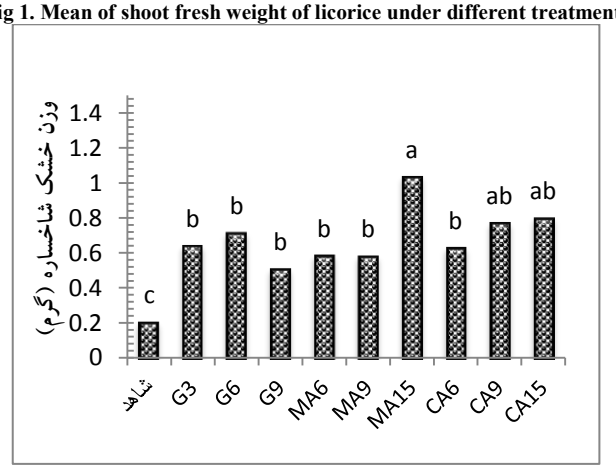
نتایج و بحث

وزن تر و خشک شاخساره: همانطور که در شکل ۱و ۲ مشاهده می‌شود بیشترین وزن تر و خشک شاخساره در تیمار MA15 حاصل شد هرچند که با غلظت‌های مختلف اسیدسیتریک اختلاف معنی‌داری نداشت ولی به طور قابل ملاحظه و معنی داری نسبت به سایر تیمارها خصوصا تیمار شاهد بیشتر بود. وزن تر و خشک شاخساره در تیمار MA15 نسبت به تیمار شاهد به ترتیب به میزان ۵۰۵ و ۴۰۹ درصد افزایش نشان داد. کلیه تیمارهای دارای اسید آلی میانگین وزن تر و خشک شاخساره بیشتری نسبت به شاهد داشتند و این تفاوت معنی دار بود. کمترین میزان وزن تر و خشک شاخساره نیز در تیمار شاهد مشاهده شد که به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود. وزن تر و خشک شاخساره با یکدیگر و نیز وزن تر و خشک ساقه و برگ همبستگی مثبت و معنی داری داشتند (جدول ۱).



شکل ۱: میانگین وزن تر شاخساره شیرین بیان تحت تاثیر تیمارهای مختلف

Fig 1. Mean of shoot fresh weight of licorice under different treatments



شکل ۲: میانگین وزن خشک شاخساره شیرین بیان تحت تاثیر تیمارهای مختلف

Fig 2. Mean of shoot dry weight of licorice under different treatments

وزن تر و خشک برگ: همانطور که در جدول ۲ ملاحظه می شود بیشترین وزن تر و خشک برگ در تیمار MA15 حاصل شد که به طور معنی‌داری بیشتر از تیمار شاهد بود و نسبت به تیمار شاهد به ترتیب

به میزان ۳۸۷ و ۴۰۰ درصد افزایش یافت. همچنین تیمار MA6 با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت و به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود. جدول همبستگی(جدول ۱) بین صفات نیز نشان میدهد که وزن تر و خشک برگ با یکدیگر و با صفات کلروفیل b، کلروفیل کل و نسبت کلروفیل کل به کاروتنوئید کل همبستگی مثبت و معنی‌داری(۱٪) داشت.

شکل ۳: مقایسه اندام هوایی شیرین بیان تحت تاثیر تیمار های مختلف

(به ترتیب از راست: تیمار شاهد، اسید سیتریک ۱۵ میلی مولار، اسید مالیک ۱۵ میلی مولار و گلوتامین ۹ میلی مولار)

Fi 3. Comparison of licorice aerial parts under different treatment.
(From right to left: Control, citric acid 15 mM, malic acid 15 mM and glutamine 9 mM)

جدول ۱: جدول همبستگی برخی از صفات در شیرین بیان

Table 1. Correlation table of some traits in licorice

	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر شاخساره	وزن خشک شاخساره	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
وزن تر ریشه	1								
وزن خشک ریشه	.937**	1							
وزن تر شاخساره	.540**	.484**	1						
وزن خشک شاخساره	.603**	.570**	.960**	1					
وزن تر برگ	.330	.358	.541**	.560**	1				
وزن خشک برگ	.360	.381*	.473**	.549**	.950**	1			
کلروفیل a	.260	.327	.198	.160	.354	.265	1		
کلروفیل b	.363*	.420*	.319	.298	.496**	.406*	.832**	1	
کلروفیل کل	.288	.413*	.299	.319	.442*	.406*	.584**	.759**	1
کاروتنوئید کل	-.121	-.210	-.353	-.419*	-.393*	-.388*	-.125	-.350	-.345

جدول ۲: میانگین برخیرشدی شیرین بیان تحت تاثیر تیمارهای مختلف

Table 2- Mean of some growth traits of licorice under different treatments

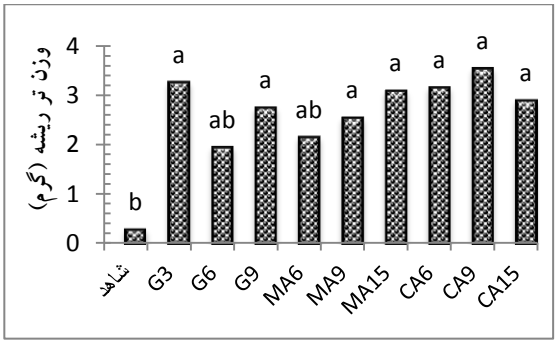
تیمار	وزن تر برگ (گرم)	وزن خشک برگ(گرم)	طول ساقه(سانتیمتر)	قطر ساقه (میلیمتر)	تعداد شاخه جانبی	قطر ریشه(میلیمتر)	طول برگ (سانتیمتر)	قطر ریزوم (میلیمتر)	تعداد گره
شاهد	0.5 d	0.13 d	17 b	0.4 e	4.5 e	0.10 d	2.2 c	1.57 e	20 abc
G3	1.7 bc	0.50 abc	26 a	1.0 abc	6.6 de	0.79 ab	4.1 ab	7.74 a	40 a
G6	1.8 ab	0.39 abc	26 a	1.0 abc	6.2 de	0.58 abc	4.5 ab	4.64 bcd	39 ab
G9	1.5 bc	0.32 bcd	21 ab	0.6 de	8.4 cd	0.30 cd	3.5 b	2.49 de	25 abc
MA6	1.0 cd	0.25 cd	25 a	1.0 abc	15.6 a	0.49 bc	4.8 a	4.89 bc	19 bc
MA9	1.4 bc	0.34 bcd	17 b	0.8 bcd	11.0 bc	0.69 abc	4.1 ab	2.66 cde	22 abc
MA15	2.5 a	0.65 a	17 b	0.7 cd	8.8 cd	0.36 cd	3.7 ab	2.64 cde	23 abc
CA6	1.7 bc	0.41 abc	23 ab	0.9 a-d	14.0 ab	0.52 abc	4.1 ab	4.01cd	17 c
CA9	1.8 abc	0.52 ab	17 b	1.1 a	13.8 ab	0.82 a	4.9 a	6.22 ab	25 abc
CA15	1.5 bc	0.37 cd	22 ab	0.8 cd	17.6 a	0.62 abc	4.5 ab	3.60 cde	30 abc

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (P≤۰/۰۵)

In each column, the same alphabets are not statistically significant (P≤0.05)

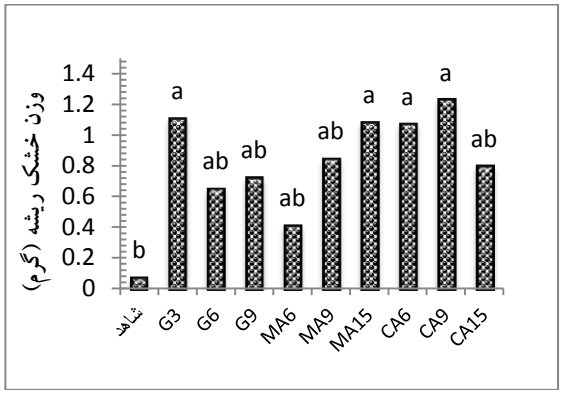
وزن تر و خشک ریشه: نتایج نشان داد که تیمار شاهد وزن تر و خشک ریشه کمتری نسبت به سایر تیمارهای محلول‌پاشی داشت. بیشترین وزن تر و خشک ریشه در تیمار CA9 حاصل شد که به طور

معنی‌دار و قابل ملاحظه‌ای بیشتر از تیمار شاهد بود و نسبت به تیمار شاهد به ترتیب به میزان ۱۱۲۴ و ۱۴۹۷درصد افزایش یافت. با این حال میزان وزن تر و خشک ریشه در تیمارCA9 اختلاف معنی داری را با سایر تیمارهای محلول‌پاشی با گلوتامین، اسیدسیتریک و اسیدمالیک نداشت(شکل ۴ و ۵). بر اساس جدول ۱ وزن تر و خشک ریشه با یکدیگر و با صفات وزن تر و خشک شاخساره و نسبت وزن تر ریشه به ساقه همبستگی مثبت و معنی‌داری(۱٪) را نشان داد.



شکل ۴: میانگین وزن تر ریشه شیرین بیان تحت تاثیر تیمارهای مختلف

Fig 4. Mean of root fresh weight of licorice under different treatments



شکل ۵: میانگین وزن خشک ریشه شیرین بیان تحت تاثیر تیمارهای مختلف

Fig 5. Mean of root dry weight of licorice under different treatments

قطر ریزوم و ریشه: همانطور که در جدول ۲ ملاحظه می شود بیشترین قطر ریزوم به میزان ۷/۷ میلی‌متر در تیمار G3 حاصل شد که اگرچه با تیمار CA9 اختلاف معنی داری نداشت ولی به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها خصوصا تیمار شاهد بود. قطر ریزوم نسبت به تیمار شاهد به میزان ۳۹۳ درصد افزایش پیدا کرد. کمترین قطر ریزوم به میزان ۱/۶ میلی‌متر در تیمار شاهد مشاهده شد که با تیمارهای G9، MA9، MA15 و CA15 اختلاف معنی داری نداشت ولی به طور معنی‌داری کمتر از سایر تیمارها بود. بیشترین قطر ریشه نیز در تیمار CA9 مشاهده شد که به طور معنی داری بیشتر از تیمارهای شاهد، G9، MA6 و MA15 بود ولی با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت. تیمارCA9 با قطر ریشه ۰/۸۲ میلیمتر افزایش ۷۲۰ درصدی را نسبت به تیمار شاهد(۰/۱۰ میلیمتر) نشان داد(جدول ۲).

شکل ۶:.Error! No text of specified style in document مقایسه ریشه شیرین بیان در تیمار شاهد و گلوتامین ۳ میلی مولار (سمت راست تیمار شاهد و سمت چپ تیمار گلوتامین ۳ میلی مولار)

Fig 6. Comparison of licorice root in control and glutamine 3 mM (Right: control and left: glutamine 3 mM)

طول و قطر ساقه: همانگونه که در جدول ۲ مشاهده می‌شود بیشترین طول ساقه به میزان ۲۶ سانتیمتر در تیمارهای G3 و G6 حاصل شد(۵۲/۹ درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد) که هرچند با تیمارهای G9، MA6 و غلظت‌های مختلف اسیدسیتریک اختلاف معنی‌داری نداشت ولی به طور معنی‌داری از تیمارهای شاهد، MA9 و MA15 بیشتر بود. بیشترین قطر ساقه در تیمار CA9 حاصل شد که هرچند با تیمارهای G3، G6، MA6 و CA6 اختلاف معنی‌داری نداشت ولی به طور معنی‌داری از تیمار شاهد و سایر تیمارها بیشتر بود (جدول ۲).

تعداد شاخه‌های جانبی فرعی: بیشترین تعداد شاخه‌های جانبی فرعی به میزان ۱۷/۶ عدد در تیمار CA15 مشاهده شد هرچند که با تیمارهای MA6، CA6 و CA9 تفاوت معنی‌داری نداشت ولی به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود و افزایش ۲۹۱ درصدی را نسبت به تیمار شاهد(۴/۵) نشان داد(جدول ۲).

طول برگ و تعداد کرک: همانگونه که در جدول ۲ مشاهده می شود بیشترین اندازه برگ به میزان ۴/۹ سانتیمتر در تیمار CA9 مشاهده شد که به طور معنی‌داری(۱۲۳ درصد) بیشتر از تیمار شاهد بود و غیر از تیمار G9، با سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نداشت. بیشترین تعداد کرک نیز در تیمار G3 مشاهده شد که به طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای MA6 و CA6 بود ولی با سایر تیمارهای آزمایشی اختلاف معنی‌داری نشان نداد(جدول ۲).

کلروفیل a: نتایج نشان داد که میانگین کلروفیلa در تمام تیمارهای دارای گلوتامین و نیز اسیدسیتریک ۶ و ۹ میلی‌مولار افزایش معنی‌داری را در مقایسه با تیمار شاهد نشان داد در حالی که تیمارهای محتوی اسیدمالیک اثری بر آن نداشتند. بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار CA6 مشاهده شد اگرچه اختلاف معنی‌داری با تیمار CA9 و تیمارهای گلوتامین(G) نداشت(جدول ۳).

کلروفیل b: غیر از تیمار دارای ۶ میلی‌مولار MA که میزان کلروفیلb آن تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت، باقی تیمارها افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد نشان دادند. بیشترین میزان کلروفیل b در تیمار CA6 حاصل شد که با تیمار G6 تفاوت معنی‌داری نداشت ولی به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود(جدول ۳).

کلروفیل کل: همانطور که در جدول ۳ ملاحظه می‌شود بیشترین میزان کلروفیل کل نیز در تیمار CA6 مشاهده شد که با تیمار G3 اختلاف معنی‌داری نداشت ولی به طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمار ها بود.

کاروتنوئید کل: غیر از تیمارG9 که موجب افزایش معنی‌دار کاروتنوئید کل نسبت به شاهد گردیده بود در بقیه تیمارها افزایش معنی‌داری مشاهده نشد و

برخی از آنها(CA9 و MA15) کاهش معنی‌داری را نیز در مقایسه با شاهد نشان دادند میزان کاروتنوئید کل در همه غلظت‌های اسیدسیتریک(CAنسبت به تیمار شاهد کاهش یافته بود (جدول ۳).

جدول ۳: میانگین رنگیزه‌های فتوسنتزی شیرین بیان تحت تاثیر تیمارهای مختلف

Table 3. Mean of photosynthetic pigments of licorice different treatments

تیمار	کلروفیل a ((mg/g FW)	کلروفیل b (mg/g FW)	کلروفیل کل ((mg/g FW)	کارتنویید کل ((mg/g FW)
شاهد	4.3 ^{def}	5.9 ^{f}	23.9 ^{f}	3.2 ^{bc}
G3	7.1 ^{abc}	15.3 ^{b}	120.0 ^{ab}	4.9 ^{ab}
G6	8.4 ^{a}	19.5 ^{a}	96.3 ^{bc}	2.4 ^{cd}
G9	7.8 ^{ab}	13.1 ^{c}	37.1 ^{ef}	6.4 ^{a}
MA6	2.7 ^{f}	4.4 ^{f}	8.9 ^{f}	5.0 ^{ab}
MA9	3.7 ^{ef}	9.0 ^{e}	29.6 ^{f}	4.4 ^{b}
MA15	5.3 ^{cde}	10.8 ^{de}	83.4 ^{cd}	0.5 ^{d}
CA6	8.6 ^{a}	19.8 ^{a}	125.2 ^{a}	1.4 ^{cd}
CA9	7.6 ^{ab}	15.6 ^{b}	59.0 ^{de}	1.0 ^{d}
CA15	5.9 ^{bcd}	12.0 ^{cd}	23.0 ^{f}	2.4 ^{cd}

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری اختلاف معنی‌داری ندارند (P≤۰/۰۵)

In each column, the same alphabets are not statistically significant (P≤0.05)

نتایج و بحث

تاثیر تیمارهای مختلف محلول‌پاشی بر رشد اندام‌های هوایی شیرین بیان: جعفری و هادوی(۲۰۱۲b) قبلا در تحقیقی گزارش کردند که اسیدسیتریک و اسیدمالیک می‌تواند باعث افزایش رشد و عملکرد گیاه شوید شود. نیکرو(۱۳۹۴) گزارش نمود که محلول‌پاشی گلوتامین در گل اطلسی می‌تواند باعث افزایش رشد گیاه گردد. در تحقیق دیگری نیز در گل اطلسی، فهیمی(۱۳۹۴) به این نتیجه رسیدکه تیمارهای گلوتامین خصوصا در غلظت ۶ میلی مولار منجر به افزایش معنی‌دار در بیوماس تر ، قطر و طول ساقه و وزن تر اندام هوایی نسبت به شاهد گردید. در پژوهش ما تمامی تیمارهای محلولپاشی با گلوتامین، اسیدمالیک و اسیدسیتریک شاخص‌های رشد اندام های هوایی را نسبت به تیمار شاهد افزایش دادند. در آزمایش ما نیز که این ترکیبات به مدت طولانی تر و دفعات محلول‌پاشی بیشتری به کار رفتند و علاوه تایید نتایج فوق، نشان داده شد که افزایش تعداد محلولپاشی‌ها اثر فزاینده‌ای بر بهبود صفات مورد نظر داشته است. نتایج ما نشان داد که از بین تیمارهای مختلف محلول‌پاشی، تیمار اسیدمالیک ۱۵ میلی‌مولار(MA15) بیشترین اثر مثبت را نسبت به سایر غلظت‌های گلوتامین، اسیدمالیک و اسیدسیتریک بر رشد اندام‌های هوایی شیرین بیان داشت به طوریکه در تیمار مالیک اسید ۱۵ میلی‌مولار وزن تر و خشک شاخساره به ترتیب ۵۰۵ و ۴۰۹ درصد، وزن تر و خشک برگ به ترتیب ۳۸۷ و ۴۰۰ درصد و وزن تر و خشک ساقه به ترتیب به میزان ۴۹۴ و ۵۸۰ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان داد که این مقیاس از تغییرات در تحقیقات قبل گزارش نشده بود

تاثیر تیمارهای مختلف محلول‌پاشی بر رشد اندام‌های زیرزمینی شیرین بیان: در آزمایش ما همه تیمارهای محلول‌پاشی با اسید آلی و اسید آمینه وزن تر و خشک ریشه را به طور معنی داری نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. در آزمایش ما گلوتامین ۳ میلی‌مولار موجب افزایش ۳۹۳ و ۶۹۰ درصدی قطر ریزوم و ریشه نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت که با تحقیق اخلاقی‌نیا(۱۳۹۲) که بیشترین وزن تر و

خشک ریشه نشا را در تیمار گلوتامین ۳ میلی‌مولار گزارش نمود مطابقت داشت. فهیمی(۱۳۹۴) نیز در گل اطلسی نشان داد که محلولپاشی گلوتامین ۶ میلی مولار و مالیک اسید ۶ میلی مولار باعث افزایش معنی دار وزن تر و خشک ریشه نسبت به تیمار شاهد گردید که با نتایج ما سازگاری دارد. ضمناً افزایش رشد ریشه گیاه گازانیا با کاربرد اسید سیتریک و مالیک قبلا از سوی طالبی و همکاران(۲۰۱۴) نیز گزارش گردیده بود. این نتایج نشان می‌دهد که تیمارهای محلول‌پاشی فوق الذکر میتوانند وزن تر و خشک ریشه را که یکی از صفات مهم در ارزیابی کیفیت این گیاه که اصولاً ریشه آن مورد بهره برداری می‌باشد را بهبود بخشند. پیشنهاد شده است که مصرف خارجی اسیدهای آلی می‌توانید تولید آنها در داخل ارگانیسم را افزایش دهد(Cantino & Goldstein, 1967). جعفری و همکاران(۲۰۱۲a) پیشنهاد نمودند که کاربرد اسیدهای آلی موجب افزایش تولید آنها در گیاه و انتقال آنها به ریشه و در نتیجه افزایش جذب در ریشه گیاهان در اثر افزایش ترشح آنها به محیط خاک گردد. قاضی‌جهانی و همکاران(۲۰۱۴) نشان دادند که محلول‌پاشی اسیدهای آلی در محیط هیدروپونیک به تغییر در الگوی جذب عناصر غذایی در گیاهان انجامیده است که این مشاهده فرضیه‌های قبلی در این خصوص را تقویت نمود. بنا بر این در آزمایش ما نیز میتوان حداقل بخشی از افزایش در درشد ریشه و به تبع آن اندام هوایی را به همین پدیده نسبت داد.

تاثیر تیمارهای مختلف محلول‌پاشی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی در شیرین بیان: قبلا افزایش در میزان کلروفیل با محلول‌پاشی اسید مالیک گزارش شده است(دارنده و هادوی، ۲۰۱۲). نیکرو(۱۳۹۴) با محلول‌پاشی اسیدسیتریک و گلوتامین افزایش در میزان کلروفیل کل در گل اطلسی را گزارش نمود و فهیمی(۱۳۹۴) نیز در همان گیاه نشان داد که محلولپاشی ۶ میلی‌مولار اسید مالیک موجب افزایش معنی داری در محتوای کلروفیل b و کلروفیل کل گردید. در این آزمایش نیز میزان کلروفیل در پاسخ به محلول‌پاشی اسیدسیتریک و گلوتامین نسبت به شاهد افزایش نشان دادند در حالی که اسیدمالیک بر کلروفیل بی‌تاثیر بود. همچنین علاوه بر سایر رنگدانه‌ها میزان کاروتنوئید کل نیز در تیمار گلوتامین ۹ میلی‌مولار به طور معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت که به دلیل نقش محافظتی آن در برابر نور شدید و نیز سازگاری با شرایط کم نور دارای اهمیت می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

محلول‌پاشی برگی گیاه دارویی شیرین بیان با اسیدآمینه گلوتامین و اسیدهای آلی، اسیدسیتریک و اسیدمالیک به مدت طولانی منجر به افزایش قابل توجه در شاخص‌های مهم رشد از جمله بیومس اندام هوایی و ریشه در مقایسه با پژوهشهای قبل گردید که در آنها این ترکیبات به مدتهای کمتر و دفعات محدود تری به کار رفته بودند. لذا به نظر میرسد تغییرات ایجاد شده در مسیرهای متابولیکی در گیاه با امتداد مصرف این ترکیبات عمق بیشتری یافته و به پاسخ‌های تشدید یافته منجر می گردد. با توجه به گزارشات موجود مبنی بر اثرات ضد تنشی این ترکیبات این احتمال نیز قابل طرح است که مصرف مداوم آنها توانسته باشد سازگاری گیاهان به عوامل نامساعد محیطی را بهبود بخشد.

منابع

۱- اخلاقی‌نیا، م. ۱۳۹۲. اثر محلول‌پاشی اسیدسیتریک و

گلوتامین در افزایش کیفیت گل جعفری، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، گروه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج.

۲- امیدبیگی، ر. ۱۳۹۲، تولید و فرآوری گیاهان دارویی، جلد دوم، انتشارات به نشر. ۴۳۸ صفحه.

۳- پاکنهاد، ر. ۱۳۹۵، بررسی بستر کشت و اندازه سینی در تولید نشاء شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra*)، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، گروه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج.

۴- دارنده، ن.، هادوی، ا.، شور م. و حکمتی، ج. ۱۳۸۹. اثر محلول‌پاشی اسیدهای آلی بر محتوی کلروفیل برگ و عمر پس از برداشت در گل سوسن رقم برونلو. پنجمین همایش ملی ایده‌های نو در کشاورزی. ۴ صفحه.

۵- رحیمی‌شکوه، ع.، مهرآفرین، ع. و نقدی‌بادی، ح. ۱۳۹۴. مطالعه واکنش‌های مورفومتری عروسک پشت پرده(*Physalis alkekeng*) به کاربرد ترکیبی محرک‌های زیستی،IBA و اسید سیتریک. اولین همایش علمی پژوهشی زیست‌شناسی و علوم باغبانی ایران. ۱۱ صفحه. http://www.civilica.com/Paper-BPCONF01-BPCONF01_195.html

۶- فهیمی، س. ۱۳۹۴. تاثیر محلوپاشی گلوتامین و اسیدسالسیلیک و اسیدمالیک بر شاخص‌های رشد و کیفیت نشای اطلسی(*Petunia × hybrida*)، پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، گروه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج.

۷- نیکرو، س. ۱۳۹۴. تاثیر محلول‌پاشی گلوتامین و اسیدسیتریک بر شاخص‌های رشد و کیفیت نشای اطلسی(*Petunia × hybrida*). پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، گروه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج.

8- Al-Said, M. A., and Kamal, A. M. 2008. Effect of foliar spray with folic acid and some amino acids on flowering yield and quality of sweet pepper. Journal of Agricultural Sciences Mansoura University, 33(10): 7403-7412.

9- Awad, E. M. and Shall, Z. S. 2007. Effect of glycine, lysine and nitrogen fertilizer rates on growth, yield and chemical composition of potato. J Agric Sci Mansoura Univ, 32(10), 8541-8551.

10- Cantino, E. C. and Goldstein, A. 1967. Citrate-induced citrate production and light-induced growth of Blastocladiella emersonii. *Microbiology*, 46(3), pp.347-354.

11- Eidyan, B., Hadavi, E. and Moalemi, N. 2014. Pre-harvest foliar application of ironsulfate and citric acid combined with urea fertigation affects growth and vaselife of tuberose *(Polianthes tuberosa* L.) 'Por-Par'. Hortic. Environ. Biotechnol.55, 9–13.

12- El-Shabasi, M. S. S., Mohamed, S. M. A. and Mahfouz, S. A. 2005. Effect of foliar spray with amino acids on growth, yield and chemical composition of garlic plants. The 6th Arabian Conference for Horticulture, Ismailia, Egypt.

13- Ghazijahani, N., Hadavi, E. and Jeong, B. R. 2014. Foliar sprays of citric acid and salicylic acid alter the pattern of root acquisition of some minerals in sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Frontiers in plant science, 5, 573.

14- Haj Seyed Hadi, M. R., Darzi, M. T., Riazi, G. and Ghandehari, Z., 2011. Effects of vermicompost and amino acids on the flower yield and essential oil production from *Matricaria chamomile*. Journal of Medicinal Plants Research, 5(23): 5611-5617.

15- Hornok, L. 1992.*Cultivation and processing of medicinal plants*. John Wiley & Sons Ltd.

16- Itabari, J. K., Gregory, P. J. and Jones, R. K. 1993. Effects of temperature, soil water status and depth plating on germination and emergence of maize (*Zea mays* L.) adapted to semi-arid eastern Kenya. Exprimental Agriculture. 29: 351- 364.

17- Jafari, N. and Hadavi, E. 2012a. Growth and Essential Oil Yield of Dill (*Anethum graveolens*) as Affected by Foliar Sprays of Citric Acid and Malic Acid. Acta Horticulturae 955: 287-290.

18-

19- Jaafari, N. and Hadavi, E. 2012b. Growth and essential oil yield of basil (*Ocimum basilicum* L.) as affected by foliar spray of citric acid and salicylic acid. Z. Arznei Gewurzpfl 17(2): 80-83.

20- Karuppaiah, P., Manivonnar, K., Sriramach rasakaron, M. V. and Kuppusamy, G. 2000. Responses of cucumber to foliar application of nutrients on Lignite mine spoil. Journal of the Indian Society of Soil Science, 49(1): 150-153.

21- Kelassen, P. 1993. Transition to transplants. American Vegetable. 41(4): 19-21.

22- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*, *148*, 350-382.

23- Lima, C. S. L., Gonçalves, M. A., Tomaz, Z. F. P., Rufato, A. R. and Fachinello, J. C. 2010. Periods replanting and training systems of Cape-gooseberry. Ciência Rural 40(12):2472-2479.

24- Starck, Z. 2005. Growing assistant: Application of growth regulators and biostimulators in modern plant cultivation. *Rolnik Dzierawca*; 2: 74 - 6.

25- Talebi, M., Hadavi, E. and Jaafari, N. 2014. Foliar Sprays of Citric Acid and Malic Acid Modify Growth, Flowering, and Root to Shoot Ratio of Gazania (*Gazania rigens* L.): A Comparative Analysis by ANOVA and Structural Equations Modeling. Advances in Agriculture.

26- Thomas, J., Mandal, A. and Raj Kumar, R. 2009. Role of biologically active amino acid formulations on quality and crop productivity of tea (*Camellia* sp.).*Chordia A. Int. J. Agric. Res*; 4: 228 - 36.

27- Wagner-Júnior, A., Santos, C. E. M., Silva, J. O. C., Alexandre, R. S., Negreiros, J. R. S., Pimentel, L. D., Álvares, V. S. and Bruckner, C. H. 2006. Influence of soaking water ph and substrates in the seeds germination and initial development of the sweet passion fruit. Curr. Agric. Sci. Technol. 12(2):231-236.