نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دهم، شماره ۳۹، پاییز ۱۳۹۴ / صفحات: ۱۰-۱

تاثیر رویشگاه، قطر ریشه و نوع بافت بر میزان برخی مواد ثانویه شیرین بیان در خراسان رضوی (قوچان)

خدایار همتی[۱]، نسترن همتی*[۲]، اعظم قائدی[۳]

[۱]دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

[۲]دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[۳] کارشناس‌ارشد، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

تاریخ دریافت: ۹٤/۷/۱ تاریخ پذیرش:۹٤/۹/۷

چکیده

شیرین بیان به‌دلیل داشتن ترکیبات ثانویه و اسید گلیسیریزیک طبیعی، مورد استفاده صنایع داروسازی است. بدین‌منظور پژوهش حاضر بر اساس طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در شهرستان قوچان در دو ارتفاع (۱۲۵۲ و ۱۷۲۲ متری از سطح دریا به‌ترتیب روستای اتر آباد و نوروزی) و سه قطر (کمتر از یک، یک تا دو و بیشتر از دو سانتی‌متر) و دو اندام (پوست و چوب ریشه) انجام گردید. در این آزمایش مقدار وزن‌تر و خشک، فنل کل، فلاونوئید کل و خواص آنتی اکسیدانی ریشه شیرین‌بیان و میزان گلیسیریزین اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد ارتفاع و قطر ریشه بر کلیه صفات مورد بررسی در سطح یک درصد دارای اثر معنی‌دار بود، به‌طوری‌که بیشترین میزان وزن‌تر و خشک مربوط به ارتفاع بالا در پوست ریشه به قطر کمتر ۲-۱ سانتی‌متر بدست آمد. بیشترین میزان فنل کل مربوط به ارتفاع ۱۲۵۲ متر از سطح دریا در پوست ریشه به قطر بیشتر از دو سانتی‌متر و کمترین آن در ارتفاع ۱۷۲۲ متر از سطح دریا در پوست ریشه به قطر ۲-۱ سانتی‌متر مشاهده شد. همچنین بیشترین میزان فلاونوئید کل در ارتفاع ۱۲۵۲ متری در پوست ریشه به قطر کمتر از یک سانتی‌متر بدست آمد. بیشترین میزان گلیسیریزین در چوب ریشه نیز به قطر کمتر از یک سانتی‌متر در ارتفاع بالا و کمترین میزان آن در پوست ریشه کمتر از یک سانتی‌متر قطر در ارتفاع پایین مشاهده شد. بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی نیز مربوط به پوست ریشه به قطر بیش از ۲ سانتی‌متر در ارتفاع بالا بود.

واژه‌های کلیدی: ارتفاع، قطر، گلیسیریزین، شیرین‌بیان، قوچان

مقدمه

امروزه مقادیر فراوانی از داروهائی که در جوامع بشری مصرف می‌شوند، منشأ طبیعی از جمله گیاهی داشته و سنتز مستقل صنعتی ندارند. گیاهان آروماتیک که حاوی ترکیبات معطر و یا به عبارت دیگر اسانس هستند با تنوع فراوان در تمام کشور گسترده شده‌اند. امروزه استفاده از روغن‌های اسانسی در صنایع بهداشتی، آرایشی، غذایی و دارویی به قدری وسیع گردیده است که در بسیاری از کشورها مقادیر زیادی از این اسانس‌ها و یا ترکیبات تشکیل‌دهنده آن‌ها را به صورت سنتتیک تهیه می‌کنند. اسانس‌های طبیعی به‌دلیل عدم خطرات ناشی از آلودگی با مواد شیمیایی قابل توجه می‌باشند (امیدبیگی، ۱۳۸۵). به‌طورکلی گیاه در حالت تغییر ناگهانی عوامل محیطی بویژه رطوبت، حرارت و ارتفاع، از نظر تولید متابولیت‌های

*نویسنده مسئول: nastaran_hemmati@yahoo.com

ثانویه با یک تناقض روبروست. از یک‌سو ایجاد تنش شدید حیات گیاه را در معرض خطر قرار داده و گیاه را تضعیف می‌کند و از طرف دیگر همین تنش گیاه را به عکس‌العمل وا داشته و باعث تولید ماده مؤثره به حد مطلوب می‌شود. در این رابطه باید الگوهای بومی را به خوبی شناخت، از آن نسخه‌برداری نمود و بر اساس اطلاعات بدست آمده از آن الگو، گیاه دارویی را پرورش داد (باقرانی ترشیز، ۱۳۷٤).

شیرین‌بیان گیاهی است با خصوصیات دارویی متنوع که علاوه بر آنکه در داروسازی جهت از بین بردن طعم ناپسند بعضی داروها نظیر سولفات کینین، آلوئس، کاسیا و غیره بکار می‌رود، با مسهل‌های قوی نیز که مصرف آن‌ها معمولاً سبب ناراحتی گوارشی می‌گردد، مخلوط می‌شود زیرا مصرف آن، انقباضات روده را کاهش می‌دهد. همچنین ریزوم و ریشه شیرین بیان دارای ۱/٤ درصد گلوکز، ۲/۵ درصد ساکارز، ۲۵ تا ۳۰ درصد آمیدون، ۲ تا ٤ درصد آسپاراژین، مواد آلبومنوئیدی، رزین، کمی اسانس و غیره است؛ ولی ماده اصلی آن گلیسیریزین یا اسید گلیسیریزیک می‌باشد که طعم شیرین داشته و بر اثر هیدرولیز، موادی نظیر اسید گلیسیرتیک، اسید گلیکورونیک حاصل می‌شود (Ambawade et al., 2001).

در تحقیق بلوری‌مقدم و همکاران (۱۳۸۸) تاثیر زمان برداشت و قطر ریشه بر میزان گلیسیریزین در گیاه شیرین‌بیان بررسی شد. این بررسی به منظور تعیین بهترین زمان برداشت و مناسب‌ترین قطر ریشه برای به‌دست آوردن بالاترین میزان گلیسیریزین در این گیاه انجام گردید. در این تحقیق استخراج گلیسیریزین با متانول و اندازه‌گیری آن با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا صورت گرفت. نتایج نشان داد که ریشه‌هایی با قطر کم، دارای کمترین درصد رطوبت و بیشترین میزان گلیسیریزین بود، همچنین ریشه‌های برداشت شده در دی ماه در مقایسه با زمان‌های دیگر برداشت، دارای درصد رطوبت کمتر و گلیسیریزین بیشتری بود. در پژوهش دیگری کیفیت ریشه‌های شیرین‌بیان جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف ایران بررسی شد. نتایج این تحقیقات نشان داد که میزان اسید گلیسیریزیک و نیز عصاره محلول در آب در نمونه‌های جمع‌آوری شده از کرمانشاه، سرحد فارس و کرمان در بالاترین میزان و در نمونه‌های متعلق به گنجنامه و اکباتان همدان در پایین‌ترین مقدار قرار دارد. همچنین میزان گلیسیریزین موجود در ریشه‌های آن، به‌طور کامل با تولید اندام‌های زیرزمینی ارتباط داشت و برای به‌دست آوردن محصول اقتصادی از شیرین‌بیان گیاهان باید بین سه تا پنج سال سن داشته باشند (حاجی مهدی‌پور و همکاران، ۱۳۸۷). همچنین در بررسی مقایسه‌ای ۲۳ اکوتیپ بابونه آلمانی از نقاط مختلف ایران، اکوتیپ‌ها در برخی صفات مانند عملکرد گل، تعداد گل در بوته، قطر گل و نهنج، ارتفاع و وزن ۱۰۰ گل و درصد اسانس تفاوت معنی داری را نشان دادند (پیرخضری و همکاران، ۱۳۸۷). طالبی کویخی و همکاران (۱۳۸٦) نیز در بررسی اسانس بذر باریجه از ۱٦ منطقه به این نتیجه دست یافتند که نمونه‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف با ارتفاع یکسان، ترکیبات ساختاری متفاوتی داشتند. با توجه به مطالب فوق هدف از انجام این پژوهش بررسی برخی خصوصیات گیاه شیرین‌بیان در دو اکوتیپ خراسان رضوی بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول شامل دو ارتفاع ۱۲۵۲ و ۱۷۲۲ متر از سطح دریا در شهرستان قوچان، فاکتور دوم سه قطر ریشه، شامل

کمتر از یک، یک تا دو و بیشتر از دو سانتی‌متر و فاکتور سوم شامل دو نوع بافت (پوست و مغز ریشه) بود (جدول ۳).

عملیات صحرایی: مطالعات میدانی و صحرایی در بهار ۱۳۹۱ در شهرستان قوچان جهت شناسایی گونه مورد مطالعه و گونه‌های همراه آن، شناسایی رویشگاه، تعیین منطقه جهت نمونه‌گیری آغاز شد. همچنین سیکل زندگی گونه *G. glabra* در منطقه مورد مطالعه طی یک دوره یک ساله از فروردین ۱۳۹۱ تا اسفند ۱۳۹۱ بررسی گردید.

برداشت نمونه: ریشه‌های گیاه شیرین بیان از دو ارتفاع مختلف و در سه قطر متفاوت (کمتر از ۱، ۲-۱ و بیشتر از ۲) از هر محدوده به‌طور تصادفی برداشت شدند (شکل‌های ۱، ۲ و ۳).

جدول ۱: مشخصات منطقه نمونه‌برداری شده در شهرستان قوچان

مکان نمونه برداری	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	ارتفاع (متر)	مواد آلی خاک	pH	EC
روستای نوروزی	۳۷ ۰۱ ۵۳۰	۵۸ ۲٤ ٦۹۱	۱۷۲۲	۰/۹۷۵	۷/٤۳	۲/۹۳
روستای اترآباد	۳۷ ۰۹ ۵۰۹	۵۸ ۲۲ ٤۸۱	۱۲۵۲	۰/۷۳۰	۷/۷	۳/۵۲

شکل ۱: بوته‌های شیرین بیان در روستای اترآباد (ارتفاع ۱۲۵٤ متر از سطح دریا)

شکل۲: بوته‌های شیرین بیان در روستای نوروزی (ارتفاع ۱۷۲۲ متر از سطح دریا)

شکل ۳: بوته‌های شیرین بیان در روستای نوروزی (سمت راست) و اتر آباد (سمت چپ)

استخراج عصاره: ابتدا خشک شدن نمونه‌ها در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس نمونه‌ها پودر و به ازای دو گرم نمونه پودر گیاهی ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه و به مدت ٢٤ ساعت روی شیکر قرار گرفت و بعد از صاف شدن میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئید کل به‌صورت زیر اندازه‌گیری شد.

اندازه گیری فنل کل: برای اندازه‌گیری فنل کل ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با پنج میلی‌لیتر فولین سیوکالتیو (۱ به ۱۰ رقیق شده با آب مقطر) مخلوط و سپس به آن ٤ میلی‌لیتر کربنات سدیم یک مولار اضافه شد. برای شاهد بجای عصاره، تنها از متانول استفاده شد و بعد فولین سیوکالتیو و کربنات سدیم اضافه گردید. جذب محلول فوق بعد از قرار گرفتن در ۳۰ دقیقه در تاریکی و حمام بخار ٤٠ درجه سانتی‌گراد، در طول موج ٧٦٥ نانومتر خوانده شد (Slinkard and Singleton, 1977). برای رسم منحنی کالیبراسیون از غلظت‌های متفاوت استاندارد گالیک‌اسید استفاده شد.

اندازه‌گیری فلاونوئید کل: به این منظور ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومینیوم کلرید در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. برای تهیه شاهد به جای عصاره متانولی، تنها از متانول خالص استفاده شد. سپس مخلوط در نیم ساعت تاریکی قرار داده شده و سپس جذب آن بلافاصله در طول موج ٤١٥ نانومتر قرائت شد (Chang et al., 2002). جهت تعیین میزان فلاونوئید کل از منحنی استاندارد استفاده شد. به این منظور غلظت‌های مختلفی از کوئرستین تهیه و بعد از خوانده شدن عدد جذب، منحنی استاندارد رسم شد. از معادله خط بدست آمده از منحنی استاندارد جهت تعیین غلظت فلاونوئید کل استفاده گشت.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH: در این آزمایش از روش درصد مهار رادیکال‌های DPPH، استفاده شد (Ebrahimzadeh et al., 2008). ابتدا دو میلی‌لیتر از DPPH با غلظت ۰/۱ میلی‌مولار به لوله آزمایش اضافه و سپس ۲ میلی‌لیتر از عصاره متانولی تهیه شده با آن مخلوط شد. لوله‌های آزمایش به‌مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد. بعد از پایان واکنش بلافاصله جذب نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتردر طول موج ٥١٧ نانومتر قرائت شد. علاوه بر نمونه‌های مذکور یک لوله آزمایش به

عنوان شاهد در نظر گرفته شد که تنها حاوی ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر متانول بود. فعالیت مهار رادیکال DPPH از فرمول درصد فعالیت خنثی کنندگی رادیکال ($DPPH= ۱۰۰(۱ -A_S/A_C)$) محاسبه شد. در این معادله A_C جذب رادیکال DPPH بدون عصاره به عنوان شاهد، A_S جذب DPPH به همراه نمونه می‌باشد. از متانول نیز به عنوان بلانک استفاده شد.

اندازه‌گیری گلیسیریزین با استفاده از دستگاه HPLC: به منظور اندازه‌گیری گلیسیریزین از کروماتوگرافی با کارایی بالا استفاده شد. در این آزمایش از دستگاه کروموتوگرافی با کارایی بالا مارک هیتاچی با مشخصات زیر استفاده شد:

پمپ: لاکروم، مدل ل- ۷۱۰۰، دتکتور: UV، ستون: C-18 با ابعاد ٤/٦×۲۵۰ میلی‌متر، اندازه ذرات: ۵ میکرومتر

نمونه‌ها با سرعت جریان یک میلی متر در دقیقه در طول موج ۲٥٤ نانومتر اندازه‌گیری شدند. فاز متحرک شامل متانول به میزان ۷۰ میلی‌لیتر به اضافه یک میلی‌لیتر اسید استیک و ۲۹ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه بود.

آماده‌سازی نمونه: برای آماده‌سازی نمونه جهت تزریق به دستگاه HPLC، ابتدا نمونه در دمای اتاق خشک شده و سپس آسیاب شد. ۵۰ میلی‌گرم از نمونه پودر شده به ارلن مایر ۵۰ میلی‌لیتری حاوی ۱۲/۵ میلی‌لیتر ترکیب متانول و آب به نسبت ۸۰ به ۲۰ (v/v) اضافه شد. سپس ۳۰ دقیقه در اولتراسوند قرار داده شد (تولید امواج مافوق صوت توسط این دستگاه سبب بهتر حل شدن ذرات ریز می گردد) و پس از آن آب دو بار تقطیر به نسبت ۱:۱ به عصاره اضافه گردید (۱۲/۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر اضافه شد). محلول حاصله به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۵۰۰۰ تا ٦۰۰۰ سانتریفیوژ شد. بخش فوقانی محلول سانتریفیوژ شده به ظروف مخصوص HPLC انتقال داده شد و در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند .

تهیه نمودار کالیبراسیون برای گلیسیریزین: به منظور تهیه منحنی کالیبراسیون و معادله خط مربوطه از غلظت‌های ۵۰۰، ۲۵۰، ۱۰۰، ۵۰، ۲۰ و ۱۰ میلی‌گرم بر لیتر گلیسیریزین استفاده شد. به این صورت ابتدا یک محلول پایه از گلیسیریزین با غلظت ۵۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تهیه و سپس حجم معینی از آن در بالن ژوژه ۱۰ میلی‌لیتر با متانول خالص رقیق شده تا هر یک از غلظت‌های فوق حاصل گردد. هر یک از استانداردهای فوق را سه بار به دستگاه تزریق تا از کالیبره بودن دستگاه اطمینان حاصل گردد. سپس با استفاده از مساحت سطح زیر منحنی هر یک از استانداردها نمودار کالیبراسیون مربوطه رسم و معادله خط حاصل بدست آمد.

تزریق نمونه گیاهی: نمونه‌ها با سرنگ‌های مجهز به فیلتر واتمن کاملا صاف شد به‌طوری‌که هیچ ذره ناخالصی در آن وجود نداشته باشد. سپس نمونه‌ای از استاندارد گلیسیریزین به دستگاه تزریق شد.

به منظور شناسایی پیک مربوط به گلیسیریزین در نمونه‌های تهیه شده، زمان بازداری آن در نمونه با زمان بازداری ترکیب استاندارد در هر تزریق مقایسه شد. برای اطمینان بیشتر نمونه‌ای همراه با استاندارد به صورت اینترنال استاندارد تزریق شد. میزان گلیسیریزین بر حسب میلی‌گرم در گرم بیان می شود. X مجهول در فرمول منحنی با جایگزین کردن سطح زیر نمودار نمونه‌های تزریق شده به دست آورده شد. واحد مجهول (x) بر حسب پی پی‌ام می‌باشد. با توجه به اینکه عصاره خشک قبل از تزریق در محلول ۲۵ میلی‌لیتر متانول و آب مقطر حل شده بود، مقدار میلی‌گرم گلیسیریزین در حجم ۲۵ میلی‌لیتر به‌دست آورده می‌شود. با توجه به اینکه از ۵۰ میلی‌گرم برگ خشک در ۲۵ میلی‌لیتر آب و متانول استفاده شده بود،

می‌توان با استفاده از تناسب، مقدار گلیسیریزین را بر حسب میلی‌گرم در گرم ریشه خشک بیان کرد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS و بررسی مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد و ترسیم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

براساس نتایج تجزیه واریانس اکوتیپ و نوع اندام (پوست و مغز ریشه) بر وزن تر و خشک، فنل کل، فلاونویید کل وگلیسیریزین درسطح پنج درصد و نوع قطر بر میزان فنل کل درسطح ۱ درصد معنی‌دار بود در صورتی که قطر ریشه روی میزان فلاونویید و گلیسیریزین اثر معنی‌دار نداشت. همچنین اثرمتقابل دوگانه و سه‌گانه تیمارهای مذکور روی متغیرهای اندازه‌گیری شده با ۹۹ درصد اطمینان معنی‌دار بود.

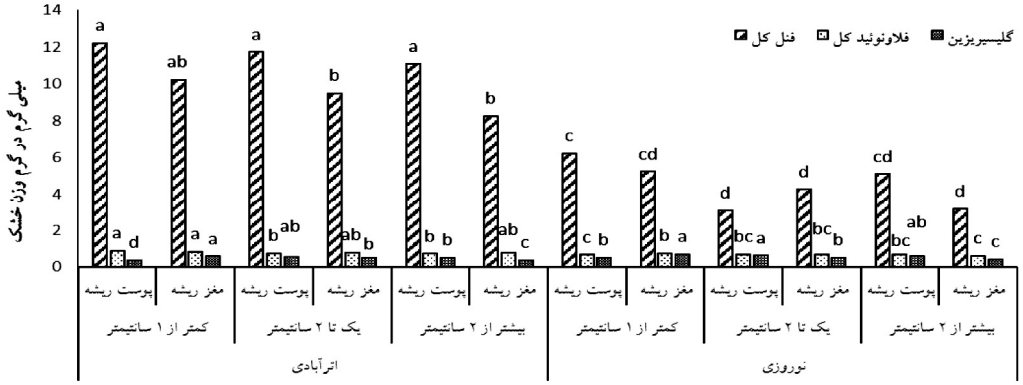
مقایسه میانگین اثر متقابل اکوتیپ، قطر و نوع اندام (پوست و چوب) بر میزان وزن تر و خشک ریشه شیرین بیان: نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (جدول۱) نشان داد که بیشترین میزان وزن تر (۱۰۹/۹ گرم) در قطر ریشه ۲-۱سانتی‌متر در پوست شیرین‌بیان در روستای نوروزی و کمترین آن (۳۷/۲۳ گرم) در قطر ریشه کمتر از ۱ سانتی‌متر در مغز ریشه در روستای نوروزی تولید گردید. بیشترین میزان وزن خشک (۲٤/۱٤۸ گرم) در قطر ۲-۱ سانتی‌متر در پوست ریشه در روستای نوروزی و کمترین (۳۳/۱۲۱ گرم) در قطر ریشه کمتر از یک سانتی‌متر در پوست ریشه در روستای استرآباد بود که برای همان قطر در مغز ریشه روستای استرآباد و مغز ریشه بیشتر از ۲ سانتی‌متر قطر در روستای نوروزی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج نشان داد وزن تر و خشک رابطه مستقیم وجود داشته و هرچه میزان وزن تر بیشتر باشد میزان ماده خشک نیز بیشتر می‌گردد.

جدول ۱: مقایسه میانگین مربوط به اثرات متقابل اکوتیپ، قطر و بافت شیرین‌بیان روی وزن تر و وزن خشک

اکوتیپ	قطر	بافت	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)
اترآبادی	کمتر از ۱ سانتی‌متر	پوست ریشه	٤٦/۱۲ ^{c}	۳۳/۱۲۱ ^{d}
اترآبادی	کمتر از ۱ سانتی‌متر	مغز ریشه	٤۷/۲۱ ^{c}	۳٤/۱۲٥^{d}
اترآبادی	یک تا ۲ سانتی‌متر	پوست ریشه	٥۸/۷۲^{bc}	٤٤/۲۰۳^{bc}
اترآبادی	یک تا ۲ سانتی‌متر	مغز ریشه	٥۷/٤۷^{bc}	٤۱/۱۳۸^{c}
اترآبادی	بیشتر از ۲ سانتی‌متر	پوست ریشه	٥٥/۰۷^{c}	۳٦/۱۹۸^{cd}
اترآبادی	بیشتر از ۲ سانتی‌متر	مغز ریشه	٥٦/۲٤^{c}	٤۰/۰۸٥^{c}
نوروزی	کمتر از ۱ سانتی‌متر	پوست ریشه	٤۸/۲۰^{c}	۳۱/۰٦۷^{d}
نوروزی	کمتر از ۱ سانتی‌متر	مغز ریشه	۳۷/۲۳^{d}	۲٤/۱٤۸^{e}
نوروزی	یک تا ۲ سانتیمتر	پوست ریشه	۱۰۹/۰۹^{a}	۷٤/۱٥۷^{a}
نوروزی	یک تا ۲ سانتیمتر	مغز ریشه	۷٦/۲٦^{b}	٥۰/۰٦٦^{b}
نوروزی	بیشتر از ۲ سانتیمتر	پوست ریشه	٦۱/۰۹^{b}	٤۰/۱٦۰^{c}
نوروزی	بیشتر از ۲ سانتیمتر	مغز ریشه	٦۱/۱۹^{b}	۳٥/۰۹٥^{d}

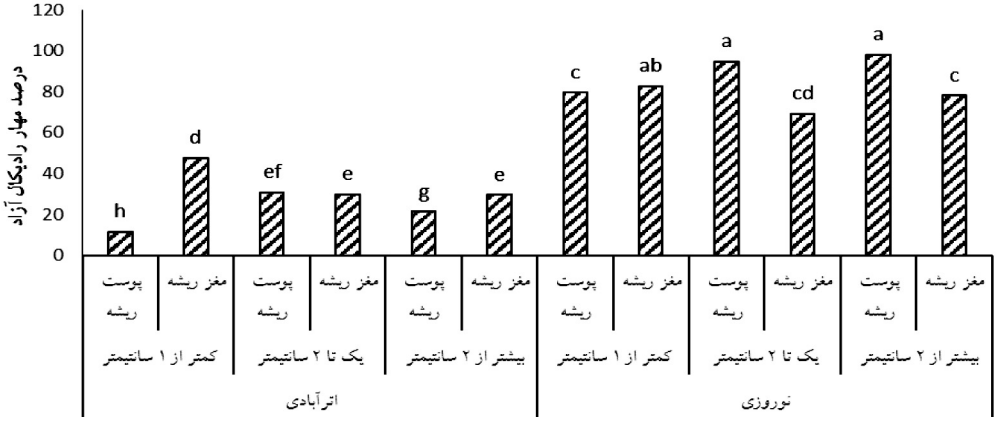
میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌دار ندارند.

اثر متقابل تیمارها بر میزان فنل کل، فلاونوئید کل، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و گلیسیریزین در ریشه شیرین‌بیان: اثر متقابل قطر، نوع بافت و ارتفاع (اکوتیپ) با ۹۹ درصد اطمینان روی متغیرهای اندازه‌گیری شده اثر معنی‌دار داشت. بیشترین میزان فنل کل (۱۱/۷۲ میلی‌گرم درگرم وزن خشک) در قطر ۱ الی ۲ سانتی‌متر در روستای اترآباد (ارتفاع بالا) تولید شد که با قطر ریشه کمتر از ۱ سانتی‌متر روستای اترآباد اختلاف نداشت. کمترین میزان آن (۳/۰۹ میلی‌گرم در گرم خشک) درپوست ریشه به قطر ۱ الی ۲ سانتی‌متر در روستای نوروزی مشاهده شد که با قطرهای ۱ الی ۲ سانتی‌متر و بیش از ۲ سانتی‌متر روستای نوروزی اختلاف معنی‌دار نداشت (شکل ۱).



شکل ۱: مقایسه مربوط به اثرات متقابل اکوتیپ، قطر و بافت شیرین بیان روی فنل کل، فلاونوئید کل و گلیسیریزین
میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌دار ندارند.

بر اساس مقایسه میانگین‌ها بیشترین درصد خواص آنتی‌اکسیدانی ریشه شیرین‌بیان در روستای نوروزی و در مغز ریشه‌های با بیشتر از ۲ سانتی‌متر قطر مشاهده گردید (شکل ۲).



شکل۲: مقایسه مربوط به اثرات متقابل اکوتیپ، قطر و بافت شیرین بیان بر خواص آنتی اکسیدانی
میانگین‌های دارای حرف مشترک در هر ستون اختلاف معنی‌دار ندارند.

بحث

بر اساس نتایج این پژوهش بین وزن تر و خشک ریشه گیاه شیرین بیان رابطه مستقیم داشته و هرچه میزان وزن تر بیشتر باشد میزان ماده خشک نیز بیشتر می‌گردد. در این راستا بر میزان وزن تر و خشک سرخ‌ولیک و شیرین‌بیان در مناطق مختلف نتایج مشابه

گزارش گردید (همتی و همکاران، ۱۳۸٦؛ بلوری مقدم و همکاران، ۱۳۸۸).

همچنین بیشترین میزان فنل کل در ارتفاع ۱۲۵۲ متر از سطح دریا در پوست ریشه به قطر بیشتر از ۲ سانتی‌متر و کمترین آن در ارتفاع ۱۷۲۲ متر از سطح دریا در پوست ریشه به قطر ۲-۱ سانتی‌متر مشاهده شد. بیشترین میزان فلاونوئید کل نیز در ارتفاع ۱۲۵۲ در پوست ریشه به قطر کمتر از ۱ سانتی‌متر بدست آمد. بیشترین میزان گلیسیریزین در چوب ریشه به قطر کمتر از ۱ سانتی‌متر در ارتفاع بالا و کمترین میزان آن در پوست ریشه کمتر از یک سانتی‌متر قطر در ارتفاع پایین مشاهده شد. بیشترین خواص آنتی‌اکسیدانی نیز در پوست ریشه به قطر بیش از ۲ سانتی‌متر در ارتفاع بالا مشاهده گردید. همتی و همکاران (۱۳۹۱)، در بررسی اثر رویشگاه برخی ترکیبات فلاونوئیدی برگ، گل، براکته، میوه و پوست نمدار در دومنطقه پراکنش گرگان و کلاردشت گزارش کردند که بین اندام‌های مختلف و مناطق رشد از نظر میزان ترکیبات فلاونوئیدی اندازه‌گیری شده در اکثر موارد اختلاف معنی‌داری وجود دارد، به‌طوری که بیشترین میزان روتین (۰/۵۳درصد) کرسیترین (۲/۱۸درصد) به ترتیب در درختان نمدار منطقه کلاردشت مشاهده شد که این نتایج با گزارش این تحقیق که نشان داد با افزایش ارتفاع میزان فنل کل و فلاونوئید افزایش می‌یابد مطابقت دارد و می‌توان به این نتیجه رسید که تولید متابولیت‌های ثانویه در ارتفاعات بالاتر بیشتر از ارتفاع پایین است. تغییرات اقلیمی می‌تواند به طور اساسی بر روی میزان و ترکیبات روغن تاثیر بگذارد. اطلاعات به دست آمده از نواحی مختلف دنیا نشان می‌دهد که میزان و ترکیبات روغن کرچک به دست آمده از مناطق مختلف متفاوت بوده و به اقلیم، روش‌های کاشت و روش‌های فرآوری بستگی دارد (Douglas et al., 2004). تحقیقات نشان داده است که میزان مواد موثره در اندام‌ها و گیاهان هیچ‌گاه ثابت نیست و تناسب با مراحل رشد گیاه و شرایط محیطی قابل تغییر است. همچنین گزارش شده است شرایط محیطی مختلف مانند ویژگی‌های اقلیمی، تغییرات فصلی و شرایط نور، دما، رطوبت و خاک می‌تواند ترکیبات ساپونینی گیاهان را نیز تحت تاثیر قرار دهد (Miranda et al., 2012).

تفاوت مورفولوژیکی و بیوشیمیایی بین اکوتیپ های گیاهی به اثبات رسیده است و این اختلافات می‌تواند به دلیل تغذیه گیاهی و انتخاب بهترین کمیت و کیفیت مورد استفاده قرارگیرد (Sato et al., 2004). رشد و عملکرد گیاهان در اکوسیستم‌ها، تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر نوع گونه، اقلیم منطقه، نوع خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی قرار دارد. هر یک از این عوامل می‌توانند تاثیر به سزایی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان داشته باشند هر چند تولید متابولیت‌های ثانویه تحت کنترل ژن‌ها می‌باشد، ولی میزان تولید آن‌ها به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر شرایط محیطی قرار می‌گیرند (Somjen et al., 2004).

تاثیر اوضاع اقلیمی بر گیاهان مختلف متفاوت است و همواره باید با تحقیقات مناسب به بررسی نقش عوامل اقلیمی بر رشد، نمو و مواد موثره گیاهان دارویی پرداخت. مهم‌ترین عوامل محیطی رویش گیاهان دارویی که تاثیر عمده‌ای بر کمیت و کیفیت موادموثره آن‌ها می‌گذارد، نور، درجه حرارت، بارندگی، طول روز، عرض جغرافیایی، خصوصیات خاک، ارتفاع محل و تغذیه می‌باشد. به طور کلی، عوامل محیطی شامل خصوصیات اقلیمی، توپوگرافی و خاکی است که باید هر کدام از آن‌ها بر رشد، نمو، عملکرد و میزان مواد موثره گیاهان دارویی توجه داشت (Somjen et al., 2004).

نتیجه‌گیری نهایی

مواد ثانویه از نظر کمی و کیفی تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی قرار می گیرند. عوامل محیطی شامل: اقلیم منطقه، نوع خاک، ارتفاع از سطح دریا و موقعیت جغرافیایی در این تحقیق روی برخی از مواد موثره اثر معنی‌دار داشت. پژوهش حاضر نشان داد ارتفاع و قطر ریشه بر کلیه صفات مورد بررسی شامل وزن‌تر، وزن خشک، فنل کل، فلاونوئید کل و خواص آنتی اکسیدانی ریشه شیرین بیان و میزان گلیسیریزین در سطح یک درصد اثر معنی‌دار بود. نتایج این پژوهش با گزارش علمی پژوهشگران دیگر در خصوص ارتباط بین قطر ریشه و ارتفاع بر میزان این ترکیبات این گیاه مطابقت داشت.

منابع

امیدبیگی، ر. (۱۳۸۵). تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد سوم، انشارات آستان قدس رضوی.

باقرانی ترشیز، ن. (۱۳۷٤). تکثیر شیرین بیان با استفاده از بذر و ریزوم و واکنش جوانه‌زنی بذر آن به خراش‌دهی و درجه حرارت. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد، دانشگاه شیراز.

بلوری مقدم، ا.، همتی، خ.، بشیری‌صدر، ز. و مشایخی، ک. (۱۳۸۸). تاثیر زمان برداشت و قطر ریشه بر میزان گلیسیریزین در گیاه شیرین‌بیان *Glycyrrhiza glabra*. فصلنامه پژوهش‌های تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. جلد ۱٦. شماره ۲. صفحات ٤٥-۲۹.

پیر خضری، م.، حسینی، م.ی.، حسن‌لو، ط.، شکرچی، م.، عابدی، ز. و پیرعلی همدانی، م. (۱۳۸۷). بررسی کیفیت ریشه‌های شیرین‌بیان جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های مختلف ایران. مجله گیاهان دارویی. جلد ۲۷. شماره ۷. صفحات ۱۱٤-۱۰٦.

طالبی کویخی، ا.، محمدعلیها، م. و نقوی، م. (۱۳۸٦). بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های باریجه (*Ferula gummosa* Boiss.) ایران، با استفاده از مارکرهای مولکولی RAPD. تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. جلد ۲۳. شماره ٤. صفحات ۵۲۲-۵۱٤.

همتی، خ.، قاسم‌نژاد، ع.، مشایخی، ک. و بشیری صدر، ز. (۱۳۹۱). اثر رویشگاه بر میزان برخی از ترکیبات فلاونوئیدی درخت نمدار *Tillia platifolia* L.. مجله پژوهش‌های تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. جلد ۱۹. شماره ۲. صفحات ۱٤۸-۱٤۱.

متی، خ.، بشیری صدر، ز.، و برزعلی، م. و کلاتی، ح. (۱۳۸٦). تاثیر اقلیم و اندام‌های مختلف روی برخی فلاونوئیدهای درختچه سرخ ولیک. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان. جلد ۱٤. شماره ٤. صفحات ۱٦۰-۱۵۱.

Ambawade, S., Kasture, V. and Kasture, S.B. (2001). Anxiolytic activity of *Glycyrrhiza glabra* Linn. Journal of Natural Remedies. 1(2): 130-134.

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 10(3): 178-82.

Douglas, J.A., Douglas, M.H., Lauren, D.R., Martin, R.J., Deo, B., Follett, J.M. and Jensen, D.J. (2004). Effect of plant density and depth of harvest on the production and quality of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) root harvested over 3 years. New Zeland Journal of Crop and Horticultural Science. 32:363-373.

Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J. and Hamidinia, A. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. Pharmacology Online. 1: 7-14.

Miranda, M., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., Rodríguez, M. J., Maureira, H. and Martínez, E. A. (2012). Nutritional aspects of six quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) ecotypes from three geographical areas of Chile. Chilean Journal of Agricultural Research. 72(2):175-181.

Sato, S., Ikeda, H., Furukawa, H., Murata, Y. and Tomoda, M. (2004). Effect of nutrient solution concentration on inorganic and glycyrrhizin content *Glycyrrhiza glabra*. Yakugaku Zasshi. 124(10): 705-709.

Slinkard, K. and Singleton, V.L. (1977). Total phenolic analysis: automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture. 28: 49-55.

Somjen, D., Knoll, E. and Vaya, J. (2004). Estrogen-like activity of licorice root constituents: glabridin and glabrene, in vascular tissues *in vitro* and *in vivo*. Journal of Steroid Biochemical Molcular Biology. 91: 147-155.