Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Crop Production

Print ISSN: 2008- 739x
Online ISSN: 2008- 7403

Iranian Society of Agronomy and Plant Breeding Sciences

Influence of *Azotobacter* on photosynthesis and biomass production of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) plants produced from seeds and rhizomes under reduced nitrogen fertilization conditions

Mahboubeh Abdolhosseinpour[1], Marzieh Besharati-Far[2], Gholamreza Khajoei-Nejad[3,5*], Ghasem Mohammadi-Nejad[4,5], Jalal Ghanbari[5,6]

1. M.Sc Student in Agronomy-Crop Ecology, Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran. Email: mabdolhosseinpoor85@gmail.com
2. Ph.D. Student in Agronomy- Crop Physiology, Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email: marziehbesharati@gmail.com
3. Corresponding Author, Associate Professor, Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email: khajoei@uk.ac.ir
4. Professor, Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email: mohammadinejad@uk.ac.ir
5. Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
6. Ph.D. Graduate of Agronomy- Crop Ecology, Dept. of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. Email: jalalghanbari@agr.uk.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2023-7-7
Accepted: 2023-10-6

Keywords:
Licorice
Photosynthesis parameters
Plant growth promoting bacteria
Sexual and asexual propagation

ABSTRACT

Background and Objective: *Glycyrrhiza glabra* L., commonly known as licorice is a perennial medicinal plant, which possesses multiple health benefits. Licorice root extract can be used for traditional medicine and food and pharmaceutical industries since it contains bioactive compounds and main ingredients, glycyrrhizin, liquiritin, and glabridin. The utilization of plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers is increasingly being suggested as a way to reduce the application rate of chemical fertilizers in agricultural systems. Therefore, the aim of this study was to assess the impact of *Azotobacter* as one of the plant growth-promoting bacteria alone and in combination with a reduced application rate of chemical fertilizer on photosynthesis, gas exchange, and biomass production of licorice plants propagated through seeds and rhizomes.

Materials and Methods: A field experiment was conducted by inoculating the seeds and rhizomes of licorice plants with *Azotobacter chroococcum* (*Ac;* strain 1087) alone or in combination with reduced level of chemical fertilizer. The five treatments for the experiment were (i) control (no inoculation and fertilization) (ii) *Ac* inoculation; (iii) 100% recommended N (100% N) (iv) 50% recommended N (50% N); and (v) *Ac* inoculation + 50% N which were evaluated in both propagation methods (seeds and rhizomes). Net photosynthesis rate, leaf transpiration rate, intracellular CO_2, photosynthetic water use efficiency, chlorophyll content (SPAD value), plant height, leaf area, and shoot, root, and rhizome dry weight, and total biomass production (root + rhizome) were measured.

Results: The observed results revealed that the licorice plants

produced from the rhizomes showed an increase in plant height by 75%, a four-fold increase in the leaf area, a nine-fold increase in the shoot dry weight, a 6.6-fold increase in each rhizome weight, and increase of 23-fold, 7.3-fold, and 11.1-fold in production of the rhizome, root, and total biomass respectively, compared with the plants produced from seeds. The findings also showed that *Ac* inoculation further influenced root and rhizome biomass production more than vegetative growth-related parameters and shoot biomass production. Integrated inoculation of *Ac* with 50% N applied, interestingly, improved the plant shoot dry weight by 134 and 147% and total biomass production by 149 and 94% through improving the leaf area by 180 and 114%, SPAD value by 13 and 9%, net photosynthesis rate by 119 and 15%, and water use efficiency by 43 and 42% in plants resulted from rhizomes and seeds, respectively. Moreover, results demonstrated that simultaneous inoculation of *Ac* and the application of 50% N showed similar results compared with the application of 100% N.

Conclusion: These findings suggest that inoculation of *A. chroococcum* integrated with a reduced dose of urea can reduce the amount of nitrogen fertilization up to 50% without significantly reducing the yield of licorice produced through seeds and rhizomes. The results of this study also showed that the licorice produced from the rhizomes showed a multifold increase in various growth and yield traits compared to the licorice obtained from the seed during the first growing year. This can be considered in the production of licorice plants in different conditions, based on different production aspects.

Cite this article: Abdolhosseinpour, M., Besharati-Far, M., Khajoei-Nejad, Gh.R., Mohammadi-Nejad, Gh., Ghanbari, J. 2023. Influence of Azotobacter on photosynthesis and biomass production of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) plants produced from seeds and rhizomes under reduced nitrogen fertilization conditions. *Crop Production Journal*, 16 (4), 113-132.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/ejcp.2024.21480.258
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تولید گیاهان زراعی
شاپا چاپی: ۷۳۹x-۲۰۰۸
شاپا الکترونیکی: ۷۴۰۳-۲۰۰۸

اثر ازتوباکتر بر فتوسنتز و تولید زیست‌توده گیاهان شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) حاصل از بذر و ریزوم در شرایط کاهش کوددهی نیتروژن

محبوبه عبدالحسین‌پور[۱]، مرضیه بشارتی‌فر[۱]، غلامرضا خواجویی نژاد*[۳،۵]، قاسم محمدی‌نژاد[۴،۵]، جلال قنبری[۵،۶]

۱. دانشجوی کارشناسی‌ارشد زراعت-اکولوژی گیاهان زراعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.، رایانامه: mabdolhosseinpoor85@gmail.com

۲. دانشجوی دکتری زراعت-فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران، رایانامه: marziehbesharati@gmail.com

۳. دانشیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: khajoei@uk.ac.ir

٤. استاد گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: mohammadinejad@uk.ac.ir

۵. پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، پژوهشگاه افضلی‌پور، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

٦. دانش‌آموخته دکتری زراعت-اکولوژی گیاهان زراعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران. رایانامه: jalalghanbari@agr.uk.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۲/٤/۱٦
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۲/۷/۱٤

واژه‌های کلیدی:
باکتری‌های محرک رشد گیاه
پارامترهای فتوسنتز
تکثیر جنسی و غیرجنسی
شیرین‌بیان

چکیده

سابقه و هدف: گیاه *Glycyrrhiza glabra* L. که معمولاً به‌نام شیرین‌بیان شناخته می‌شود، یک گیاه دارویی چندساله است که از فواید مختلفی برای سلامتی برخوردار است. عصاره ریشه شیرین‌بیان را می‌توان برای طب سنتی و صنایع غذایی و دارویی استفاده کرد زیرا حاوی ترکیبات فعال زیستی و ترکیبات مهمی از جمله گلیسیریزین، لیکویریتین و گلابرین است. استفاده از ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه به‌عنوان کودهای زیستی به طور فزاینده‌ای به‌عنوان راهی برای کاهش میزان کاربرد کودهای شیمیایی در سیستم‌های کشاورزی پیشنهاد شده است. بنابراین، هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر ازتوباکتر به عنوان یکی از محرک‌های رشد گیاه به تنهایی و در تلفیق با سطح کاهش یافته کاربرد کود شیمیایی بر فتوسنتز، تبادلات گازی و تولید زیست‌توده گیاهان شیرین‌بیان تکثیرشده از طریق بذر و ریزوم بود.

مواد و روش‌ها: آزمایش مزرعه‌ای با تلقیح بذور و ریزوم‌های گیاهان شیرین‌بیان با *Azotobacter chroococcum* (*Ac*؛ سویه 1087) به‌تنهایی یا در ترکیب با سطح کاهش یافته کاربرد کودهای شیمیایی انجام شد. پنج تیمار آزمایش شامل (۱) شاهد: بدون تلقیح و کوددهی (۲) تلقیح با *Ac*؛ (۳) ۱۰۰ درصد کوددهی: ۱۰۰ درصد مقدار توصیه شده نیتروژن؛ (٤) ۵۰ درصد کوددهی و (۵) ۵۰ درصد کوددهی+ تلقیح با *Ac* بود که در هر دو روش تکثیر (بذر و ریزوم) مورد ارزیابی قرار گرفتند. سرعت فتوسنتز خالص، سرعت تعرق برگ، CO_2 بین‌سلولی، راندمان مصرف آب فتوسنتزی، محتوای کلروفیل (عدد SPAD)، ارتفاع بوته، سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی، ریشه، ریزوم و زیست‌توده کل (ریزوم+ریشه) اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج مشاهده شده نشان داد که گیاهان حاصل از ریزوم نسبت به گیاهان حاصل از بذر

افزایش ۷۵ درصدی در ارتفاع بوته، افزایش چهار برابری سطح برگ در بوته، افزایش نه برابری وزن خشک اندام هوایی، افزایش ٦/٦ برابری در وزن هر ریزوم و به ترتیب افـزایش ۲۳ برابـر، ۷/۳ برابر و ۱۱/۱ برابری در تولید ریزوم، ریشه و زیست‌توده کل نشان دادند. نتـایج همچنـین نشان داد که، تلقیح با ازتوباکتر بیش از پارامترهای مرتبط با رشد رویشی و تولید زیسـت‌تـوده اندام هوایی، تولید زیست‌توده ریشه را تحت تاثیر قرار داد. از نکات جالب توجه ایـن بررسـی این بود که تلقیح هم‌زمان ازتوباکتر همراه با کاربرد میزان ۵۰ درصد کود، با بهبـود ۱۸۰ و ۱۱٤ درصدی سطح برگ، ۱۳ و ۹ درصدی محتوای کلروفیل، ۱۱۹ و ۱۵ درصدی فتوسنتز خالص و ٤۳ و ٤۲ درصدی کارایی مصرف آب فتوسنتزی، محتوای ماده خشک اندام هوایی را به‌ترتیـب ۱۳٤ و ۱٤۷ درصد و تولید زیست‌توده کل را به‌ترتیب ۱٤۹ و ۹٤ درصد به‌ترتیـب در گیاهـان حاصل از ریزوم و بذر بهبود داد. علاوه بر این، نتایج نشان داد که تلقیح هـم‌زمـان ازتوبـاکتر و کاربرد ۵۰ درصد اوره نتایج مشابهی با کاربرد ۱۰۰ درصد کود شیمیایی اوره نشان داد.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان داد که تلقیح با *A. chroococcum* در تلفیـق بـا دوز کـاهش یافتـه کاربرد اوره می‌تواند بدون کاهش معنی‌دار عملکرد شیرین‌بیان تولید شده از طریق بذر و ریزوم، میزان کوددهی نیتروژن را تا ۵۰ درصد کاهش دهد. نتایج این مطالعـه همچنـین نشـان داد کـه شیرین‌بیان حاصل از ریزوم در سال اول رشد در صفات مختلف رشد و عملکرد، افزایش چند برابری نسبت به شیرین‌بیان حاصل از بذر نشـان داد. ایـن مـی‌توانـد در فراینـد تولیـد گیاهـان شیرین‌بیان در شرایط مختلف، براساس جوانب مختلف تولید مد نظر قرار گیرد.

استناد: عبدالحسین‌پور، م.، بشارتی‌فر، م.، خواجویی‌نژاد، غ.ر.، محمدی‌نژاد، ق.، قنبری، ج. (۱٤۰۲). اثر ازتوباکتر بر فتوسنتز و تولید زیست‌توده گیاهان شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) حاصل از بذر و ریزوم در شرایط کاهش کوددهی نیتروژن. *مجله تولید گیاهان زراعی*، ۱٦ (٤)، ۱۳۲-۱۱۳.

DOI: 10.22069/ejcp.2024.21480.2587

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

© نویسندگان.

مقدمه

تامین نیتروژن یکی از مهم‌ترین فعالیت‌های به‌زراعی برای تضمین رشد، نمو و عملکرد هر محصول است. با این حال، کاربرد نادرست نیتروژن می‌تواند عواقب محیطی را به همراه داشته باشد. کشاورزی در عصر حاضر باید با چالش دوگانه تأمین نیاز غذایی جمعیت جهانی و کاهش اثرات زیست‌محیطی بخش کشاورزی روبرو شود. یک روش مؤثر زراعی برای رویارویی با این چالش‌ها، استفاده از محرک‌های زیستی، از جمله باکتری های محرک رشد گیاه (PGPB) است که روشی جذاب برای جایگزینی کودهای شیمیایی یا کاهش مقدار کاربرد آن‌ها در نظر گرفته می‌شود (۱). اخیراً، تحقیقات کاربردی بر روی گونه‌های ازتوباکتر مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته است. کاربرد این گونه‌ها باعث بهبود تغذیه نیتروژن گیاه شده که منجر به بهبود قابل توجه در بهره‌وری محصول و حاصل‌خیزی خاک می‌شود. علاوه بر این، گونه‌های ازتوباکتر می‌توانند با سنتز هورمون‌های رشد گیاهی به طور مستقیم بر رشد گیاه تأثیر گذاشته و گیاه را در برابر عوامل بیماری‌زای گیاهی محافظت کنند (۲ و ۳). علاوه بر این، سویه‌های ازتوباکتر اثرات مثبتی بر رشد گیاه، عملکرد محصول و تغذیه نیتروژن گیاه در چندین محصول مهم اقتصادی و گیاهان دارویی نشان دادند (٤، ٥، ٦، ٧ و ٨). این ویژگی‌های مثبت، منجر به ایجاد امیدواری برای تأمین بخشی از نیتروژن مورد نیاز گیاه توسط گونه‌های ازتوباکتر شده و می‌تواند اتکا به کودهای حاوی نیتروژن مانند اوره را کاهش دهد (٦).

به‌عنوان مثال، نتایج مطالعه‌ای در بررسی اثر سویه‌های باکتری ازتوباکتر در یک مطالعه گلخانه‌ای همراه با دوزهای کاهش‌یافته کود اوره در بهبود رشد پنبه (*Gossypium hirsutum* L.) نشان داد که اثر تلقیح میکروبی بر زیست‌توده گیاهی بیشتر از اثر آن بر افزایش محتوای نیتروژن بود. علاوه بر این، بین بین تلقیح هم‌زمان باکتری و کاربرد ۵۰ درصد اوره با کاربرد ۱۰۰ درصد تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (۵). اثر مثبت تلقیح با باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن (*Azospirillum brasilense* و *Azotobacter chroococcum*) در کاهش میزان کاربرد کود شیمیایی به ۵۰ درصد در کشت ریحان (*Ocimum basilicum* L.) و ذرت (*Zea mays* L.) گزارش شده است (۹). با این وجود، کاربرد این باکتری‌ها از کارایی لازم در بهبود عملکرد باقلا (*Vicia faba* L.) و بادرشبویه (*Dracocephalum moldavica* L.) در شرایط کاربرد تلفیقی با ۵۰ درصد کودهای شیمیایی در برابر اعمال ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی برخوردار نبود (۱۰).

شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده بقولات[1] است که به‌دلیل وجود ترکیبات مؤثره مختلف و مواد مؤثره ریشه آن شامل گلیسیریزین[2]، گلابریدین[3] و لیکویریتین[4] اهمیت خاصی دارد (۱۱). شیرین‌بیان از پتانسیل مناسبی برای معرفی به‌عنوان یک عامل درمانی با ارزش صادراتی برخوردار است (۱۲ و ۱۳) که می‌تواند ضمن کاهش خام‌فروشی این گیاه، ارز آوری را برای کشور به همراه داشته باشد. با این حال، برداشت بی‌رویه این گیاه علاوه بر کاهش فراوانی و تخریب تنوع گونه‌ای، منابع خاک را در عرصه‌های طبیعی در معرض خطر قرار داده است (١٤). از طرفی نیاز روزافزون صنایع مختلف و لزوم احیای عرصه‌های طبیعی و همچنین جلوگیری از فرسایش و بیابان‌زایی در مناطق خشک و نیمه خشک، لزوم تحقیق در زمینه کشت و افزایش تولید کمی و کیفی را دوچندان کرده است (۱۱ و ۱۵). تکثیر گیاه شیرین‌بیان

[1] Fabaceae
[2] Glycyrrhizin
[3] Glabridin
[4] Liquiritin

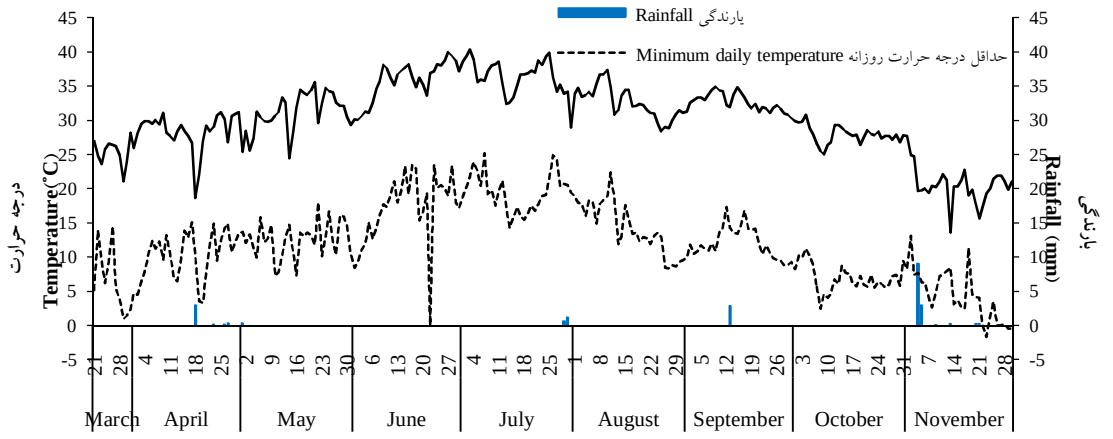
به صورت غیرجنسی و جنسی انجام می‌شود. در روش غیرجنسی که معمول‌تر است با استفاده از قلمه‌های ریشه و ریزوم اقدام به کشت و تکثیر مجدد گیاه می‌کنند. در روش تکثیر جنسی، از بذر برای تکثیر مجدد گیاه استفاده می‌شود (۱٦). در حال حاضر در اندک موارد کشت، از قلمه‌های ریزوم یا ریشه شیرین‌بیان برای کشت استفاده می‌شود (۱۷). از طرف دیگر، عدم وجود فناوری مناسب و قابلیت استقرار پایین این گیاه در مزارع از طریق بذر زمینه تحقیقات اولیه در زمینه بهبود جوانه‌زنی و رشد اولیه این گیاه را به وجود آورده است (۱۸، ۱٤ و ۱۹). با این وجود، توسعه کشت این گیاه از طریق بذر در مزرعه نیاز به مقایسه با شرایط تکثیر از طریق قمله‌های ریشه/ ریزوم دارد. تاکنون مطالعه‌ای به بررسی یا مقایسه قابلیت استقرار و میزان رشد و تولید این گیاه از طرق ذکر شده انجام نشده است. در منابع محدود به‌طور کلی عنوان شده که تکثیر از طریق ریزوم در مقایسه با تکثیر جنسی از طریق بذر از قابلیت استقرار و رشد بیشتری برخوردار است (۱٦).

نیاز غذایی شیرین‌بیان سالانه ٤۰ کیلوگرم نیتروژن (N) و ٤۰ کیلوگرم فسفر (P_2O_5) (۲۰ و ۲۱) و ۳۵ کیلوگرم K_2O (۲۰) گزارش شده است. با این وجود، تاجدینو (۲۰۲۱) با مطالعه تولید شیرین‌بیان از طریق بذر، مزایای کاربرد محرک‌های زیستی مختلف را در ترکیب با کودهای معدنی بر جوانه‌زنی بذر، تجمع زیست‌توده، کارایی فتوسنتزی و عملکرد ریشه گزارش کرد. بالاترین عملکرد ریشه (۱۲/٦ تن در هکتار) در کوددهی $N_{100}P_{140}K_{80}$ به‌دست آمد که به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از سایر سطوح اعمال کود معدنی بود (نقل از منبع ۲۲). همچنین توصیه شده که میزان بهینه کودهای معدنی برای شیرین‌بیان کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر فسفات، ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار پتاسیم و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار نیترات آمونیوم است (۲۳). براساس دیگر منابع موجود، همچنین گزارش شده که تلقیح با ازتوباکتر (*Azotobacter* sp.) سطح برگ، محتوای کلروفیل b و کاروتنوئید و کارایی فتوسیستم ۲، فتوسنتز و تبادلات گازی را در جمعیت های شیرین‌بیان بهبود داد (٤).

بر اساس موارد ذکر شده، این مطالعه بر مبنای درک بیشتر نقش ازتوباکتر در بهبود رشد، فتوسنتز و عملکرد ریشه گیاه شیرین‌بیان در شرایط کاهش میزان کاربرد اوره (به‌عنوان منبع کودی نیتروژن) به ۵۰ درصد در تولید شیرین‌بیان حاصل از بذر و ریزوم، هدف‌گذاری شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی کارایی باکتری محرک رشد ازتوباکتر بر ویژگی‌های مختلف گیاه شیرین‌بیان در شرایط مزرعه، این آزمایش در سال زراعی ۱٤۰۱-۱٤۰۰ (در طول بهار، تابستان و پاییز ۱٤۰۱) در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان (عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۱٤ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۰۷ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۷۷۳ متر) انجام شد. برخی اطلاعات اقلیمی منطقه اجرای آزمایش در شکل ۱ ارائه شده است. نمونه‌برداری از خاک مزرعه از نقاط مختلف و از عمق ۰ تا ۵۰ سانتی‌متری به‌صورت تصادفی انجام و نمونه‌های جمع آوری شده با هم مخلوط شد و مورد آزمایش قرار گرفت. خصوصیات مختلف خاک محل اجرای آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.



شکل ۱- برخی پارامترهای هواشناسی منطقه مورد مطالعه طی فصل رشد شیرین بیان

Figure 1- Some meteorological parameters of the study site during the licorice growing season

جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش واقع در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان

Table 1- Some soil physical and chemical characteristics of the experimental site located in the research field of Shahid Bahonar University of Kerman, Iran

بافت Texture	کربن آلی(٪) Organic carbon (%)	قابلیت هدایت الکتریکی EC (dS m^{-1})	pH	ظرفیت تبادل کاتیونی CEC (meq 100 g^{-1})	نیتروژن(٪) N (%)	فسفر قابل جذب Available P (mg kg^{-1})	پتاسیم قابل جذب Available K (mg kg^{-1})
لوم رسی Clay loam	0.57	7.11	7.61	4.85	0.05	2.97	405.76

این آزمایش مزرعه‌ای در سه تکرار به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۵ تیمار شامل ۱) شاهد (بدون اعمال کود و باکتری محرک رشد)؛ ۲) تلقیح با باکتری‌های محرک رشد *Azotobacter chroococcum*؛ ۳) کود شیمیایی: ۱۰۰ درصد نیاز غذایی؛ ٤) ۵۰ درصد کود شیمیایی: کاربرد ۵۰ درصد نیاز غذایی گیاه و ۵) کاربرد ۵۰ درصد کود شیمیایی + تلقیح با باکتری برای هر روش تکثیر گیاه شیرین‌بیان به اجرا در آمد. براساس منابع محدود در دسترس، نیاز غذایی شیرین‌بیان سالانه ٤۰ کیلوگرم نیتروژن (N) و ٤۰ کیلوگرم P_2O_5 (۲۰ و ۲۱) و ۳۵ کیلوگرم K_2O (۲۰) بوده که سطوح ذکرشده مبنای اعمال سطوح کود شیمیایی برای تیمار ۱۰۰ درصد کوددهی در این آزمایش بود. بر این اساس، مقدار نیتروژن مورد نیاز از منبع اوره به‌میزان ۸۷ کیلوگرم در هکتار و در تیمارهای ۵۰ درصد، نصف این میزان به‌کار برده شد. سایر منابع نظیر فسفر و پتاسیم به‌طور ثابت برای تیمارهای کود شیمیایی و به ترتیب از منبع سوپرفسفات تریپل به میزان ۸۷ کیلوگرم در هکتار و سولفات پتاسیم به‌میزان ۷۰ کیلوگرم در هکتار تأمین شد.

اثر تیمارهای مورد بررسی در دو روش تکثیر غیرجنسی یا رویشی از طریق کاشت قطعه‌های ریزوم و تکثیر جنسی از طریق کاشت مستقیم بذر در مزرعه، بررسی شد. در روش تکثیر غیرجنسی، ریزوم‌های تهیه شده از اطراف منطقه کاشت در کرمان، ابتدا به قطعه‌های ۱۵ سانتی‌متری حاوی جوانه تقسیم شده و در هر محل کاشت، دو قلمه از ریزوم‌های مورد نظر کشت شد. در روش دیگر تکثیر، بذرهای تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان (اکوتیپ ورزنه، استان

اصفهان) پس از ضدعفونی با اتانول و محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد، به منظور حذف پوسته سخت بذر، به مدت ٦۰ دقیقه در سولفوریک‌اسید غلیظ (Merck, 95-97%) پیش‌تیمار شدند (۱۸). سپس بذرها و ریشه‌های قطعه قطعه شده شیرین‌بیان در محلول تهیه شده مایه تلقیح باکتری *Azotobacterchroococcum* به مدت دو ساعت خیسانده شد. باکتری محرک رشد ازتوباکتر سویه 1087 (10^{7}–10^{8} CFU g^{-1}) تهیه شده از بخش تحقیقات شرکت زیست‌فناور سبز تهران، به نسبت ۱۰ گرم در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر آماده شد (۲٤). جهت اطمینان از تأثیر، علاوه بر خیساندن قلمه‌های و بذرها قبل از کاشت، به ازای هر محل کاشت، میزان ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاصل، در بستر کاشت اعمال شد.

پس از آماده‌سازی اولیه بستر کاشت مزرعه، کودهای فسفره، پتاسه و نصف کود اوره قبل از کاشت در سطح مزرعه در کرت‌های مربوط به هر تیمار پخش و با خاک مخلوط شد. مابقی کود اوره به صورت سرک در مرحله رشد سریع (۵۰ روز پس از کاشت) اعمال شد. در هر دو روش کاشت، تراکم شیرین‌بیان براساس ۵ بوته در مترمربع در ردیف‌هایی به فاصله ۵۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ٤۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. ریزوم ها در عمق ۱۵ سانتی‌متری (۱٦) و بذرها در عمق حدود ۲ سانتی‌متری (۱۸) کشت شدند. پس از ظهور جوانه به منظور دستیابی به تراکم مورد نظر، عملیات تنک بوته‌ها انجام شد. مراقبت‌های موردنیاز در طول دوره آزمایش برای تمام کرت‌ها به‌صورت یکسان انجام شد. علف‌های هرز نیز به صورت دستی در طول دوره آزمایش کنترل شد. آبیاری به‌صورت غرقابی و در ابتدا هر ۷ روز و سپس هر ۱٤ روز یک‌بار انجام شد.

قبل از برداشت نهایی، میزان فتوسنتز خالص (Pn)، سرعت تعرق برگ (Tr) و CO_2 بین سلولی در ۳ برگ جوان و کاملا توسعه یافته هر بوته با استفاده از سیستم قابل حمل اندازه‌گیری فتوسنتز (LC*i-T*, ADC BioScientific LTD., UK) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری‌ها در ساعت بین ۱۰ تا ۱۲ انجام شد. در نهایت، راندمان مصرف آب فتوسنتزی (WUE_P) با توجه به رابطه ۱ محاسبه شد:

$$WUE_P = Pn / Tr \quad \text{رابطه (۱)}$$

شاخص کلروفیل با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD 502, Minolta Co., Osaka, Japan) در برگ‌های جوان و کاملا توسعه یافته اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها گزارش شد.

پس از طی دوره رشد و در نیمه آذر ۱٤۰۱، جهت اندازه‌گیری‌های مرتبط، نمونه‌برداری از اندام هوایی و ریشه انجام شده و پارامترهای مختلف به شرح زیر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. پس از اندازه‌گیری ارتفاع بوته، سطح برگ (LA) با استفاده از دستگاه تعیین سطح برگ (مدل WinArea_UT_11) تعیین شد. سپس ریشه‌ها و ریزوم‌ها با دقت شستشو داده شده تعداد ریزوم شمارش شده و طول ریزوم‌ها و طول ریشه تعیین شد. جهت تعیین وزن خشک اندام هوایی، ریشه و ریزوم و وزن خشک کل، نمونه‌های ریشه، ریزوم و اندام هوایی به‌مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ٤۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از خشک شدن کامل، وزن خشک هر نمونه تعیین گردید. به‌منظور تعیین اختلاف آماری بین تیمارهای مورد بررسی، تجزیه واریانس داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزارSAS ver. 9.0 انجام شد. برای هر روش تکثیر، داده‌های حاصل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار از نظر آماری تجزیه شد. میانگین‌ها توسط آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در

سطح احتمال ۵ درصد (LSD، $P< ۰/۰۵$) مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج و بحث

ویژگی‌های مورفولوژیک اندام هوایی، کلروفیل و فتوسنتز: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در داده‌های حاصل از ویژگی‌های مورفولوژیک اندام هوایی، ارتفاع بوته شیرین‌بیان حاصل از ریزوم تحت تأثیر تیمارهای مورد بررسی قرار نگرفت در حالی که در گیاهان حاصل از بذر بین تیمارهای مورد بررسی اختلاف آماری معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد مشاهده شد (جدول ۲). همان‌طور که نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان می‌دهد (جدول ۳)، اعمال تیمارهای مختلف تغذیه نسبت به شاهد به طور معنی‌داری ارتفاع بوته شیرین‌بیان حاصل از بذر افزایش داد، این در حالی بود که بین تیمارهای مختلف اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. در مطالعات قبل نیز نتایج مشابه از گیاهان تلقیح شده با تیمارهای میکروبی + ۵۰ درصد NPK توصیه شده، مشاهده شده که دارای بالاترین ارتفاع بوته بودند (۲۵).

سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی در بوته در هر دو روش تکثیر تحت تأثیر تیمارهای مختلف تغذیه قرار گرفت (جدول ۲). در گیاهان حاصل از ریزوم، بیشترین سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی از تیمار ۵۰ درصد کوددهی در تلقیح با باکتری حاصل شد که تیمار ۱۰۰ درصد کابرد کود نیز تفاوت معنی‌داری با آن نشان نداد. تلقیح با باکتری به‌تنهایی با وجود اینکه نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری در سطح برگ ایجاد نکرد، اما وزن خشک را نسبت به شاهد ۸۷ درصد بهبود داد و از این نظر، تفاوت معنی‌داری با تیمار تلفیقی ۵۰ درصد کوددهی+باکتری و ۱۰۰ درصد کوددهی نشان نداد. کاربرد ۵۰ درصد کود شیمیایی با وجود افزایش سطح برگ نسبت به شاهد، تفاوت معنی‌داری در وزن خشک با شاهد نشان نداد (جدول ۳). در گیاهان حاصل از بذر، اعمال تمام تیمارهای تغذیه‌ای منجر به بهبود معنی‌دار سطح برگ و وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد شد.

شاخص کلروفیل در گیاهان حاصل از بذر و ریزوم تحت تأثیر تیمارهای مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). در گیاهان حاصل از ریزوم، بیشترین محتوای کلروفیل از تیمار تلفیقی ۵۰ درصد کوددهی و تلقیح با باکتری حاصل شد که تفاوت معنی‌داری با تلقیح با باکتری نشان نداد (جدول ۳). تیمارهای کود شیمیایی در گروه بعد قرار گرفتند. البته بین اعمال ۵۰ درصد کود و شاهد تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳). بالاترین محتوای کلروفیل در بین گیاهان حاصل از بذر در تیمارهای ۱۰۰ درصد کود شیمیایی و ۵۰ درصد کود شیمیایی به همراه تلقیح با باکتری حاصل شد که تفاوت آماری معنی‌داری نسبت به تیمار تلقیح با باکتری نشان نداد. کمترین میزان شاخص کلروفیل نیز از شاهد حاصل شد که تفاوت آماری معنی‌داری با تیمار ۵۰ درصد کوددهی و تلقیح با باکتری نشان نداد (جدول ۳).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای تغذیه ای بر خصوصیات مورفولوژیک اندام هوایی سرعت فتوسنتز و تبادلات گازی و محتوای کلروفیل برگ شیرین‌بیان

Table 2- Analysis of variance results of the effect of nutritional treatments on the shoot morphological characteristics, photosynthesis rate and gas exchange, and leaf chlorophyll content of licorice

روش تکثیر Propagation method	منابع تغییر SOV	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	سطح برگ Leaf area	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	شاخص کلروفیل Chlorophyll index	CO_2 بین سلولی Intercellular CO2	سرعت تعرق Transpiration rate	سرعت فتوسنتز Photosynthesis rate	کارایی مصرف آب Water use efficiency
ریزوم Rhizome	بلوک Replication	2	21.3	20263	41.9	0.8	1799	0.000022	0.000083	0.0025
	تیمار تغذیه Nutritional treatment	4	10.7 ^{ns}	101145**	432.4*	23.5**	1919 ^{ns}	0.00012 ^{ns}	0.000475*	0.066*
	خطا Error	8	93.9	14736	110.4	2.69	1460	0.000075	0.000096	0.012
	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	18.4	23.1	27.4	2.87	14.9	15.7	20.7	12.5
بذر Seed	بلوک Replication	2	10.1	1197	1.89	1.15	4777	0.000033	0.000019	0.0009
	تیمار تغذیه Nutritional treatment	4	64.8*	3741**	6.19*	17.1*	982 ^{ns}	0.000057 ^{ns}	0.000176*	0.0602**
	خطا Error	8	9.8	301	1.89	3.52	916	0.000033	0.00004	0.0071
	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	10.3	13.7	27.7	3.06	11.3	9.49	13.4	10.7

**:معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، *: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و ^{ns}: غیرمعنی‌دار

**: Significant at 1% probability level, *: Significant at 1% probability level, and ^{ns}: non-significant

جدول ۳- اثر تیمارهای مختلف تغذیه بر ویژگی‌های مورفولوژیک اندام هوایی و شاخص کلروفیل شیرین‌بیان تولید شده از طریق ریزوم و بذر

Table 3- The effect of different nutritional treatments on shoot morphological characteristics and chlorophyll index of licorice produced through rhizome and seed

روش تکثیر Propagation method	تیمارها Tratments	ارتفاع بوته (سانتی‌متر) Plant height (cm)	سطح برگ (سانتی‌متر مربع در بوته) Leaf area (cm^2/plant)	وزن خشک اندام هوایی (گرم در بوته) Shoot dry weight (g/plant)	شاخص کلروفیل (SPAD) Chlorophyll index (SPAD)
ریزوم Rhizome	شاهد Control	49.3	282 ^{c}	23.5 ^{c}	53.7 ^{d}
	ازتوباکتر *Azotobacter chroococcum* (*Ac*)	53.3	470 ^{bc}	44.0 ^{ab}	58.7 ^{ab}
	۵۰ درصد کوددهی 50% N	53.9	516 ^{b}	31.4 ^{bc}	55.1 ^{cd}
	۵۰ درصد کوددهی+ ازتوباکتر *Ac* + 50% N	53.3	790 ^{a}	55.0 ^{a}	60.7 ^{a}
	۱۰۰ درصد کوددهی 100% N	53.5	571 ^{ab}	37.5 ^{abc}	57.6 ^{bc}
	حداقل تفاوت معنی‌دار (۵ درصد) LSD (0.05)	18.2	228.6	19.8	3.09
بذر Seed	شاهد Control	22.5 ^{b}	65.9 b	2.10 ^{b}	58.3 ^{b}
	ازتوباکتر *Azotobacter chroococcum* (*Ac*)	32.5 ^{a}	138 ^{a}	4.69 ^{a}	60.8 ^{ab}
	۵۰ درصد کوددهی 50% N	29.8 ^{a}	131 ^{a}	3.81 ^{ab}	59.9 ^{b}
	۵۰ درصد کوددهی+ ازتوباکتر *Ac* + 50% N	31.5 ^{a}	142 ^{a}	5.18 ^{a}	63.6 ^{a}
	۱۰۰ درصد کوددهی 100% N	34.7 ^{a}	157 ^{a}	5.80 ^{a}	63.8 ^{a}
	حداقل تفاوت معنی‌دار (۵ درصد) LSD (0.05)	5.88	32.7	2.25	3.53

مقایسه میانگین‌ها برای هر روش تکثیر، به صورت جداگانه انجام شده است. برای هر روش تکثیر میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند (LSD, $P\leq 0.05$).

The mean comparison for each propagation method has been done separately. For each propagation method, means followed by the same letter(s) are not significantly different based on the least significant difference test at 5% of probability level (LSD, $P\leq 0.05$).

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از فتوسنتز نشان داد که میزان CO_2 درون سلولی و سرعت تعرق در هیچکدام از گیاهان حاصل از بذر و ریزوم تحت تأثیر تیمارهای تغذیه قرار نگرفت. در مقابل، سرعت فتوسنتز و کارایی مصرف آب گیاهان حاصل از بذر و ریزوم تحت تأثیر اعمال تیمارهای تغذیه‌ای قرار گرفت (جدول ۲). در گیاهان حاصل از ریزوم، اعمال تیمارهای تغذیه‌ای به طور معنی‌داری نسبت به شاهد میزان فتوسنتز و کارایی مصرف آب را بهبود داد در حالی که بین تیمارهای تغذیه‌ای تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ٤). در گیاهان حاصل از بذر، اعمال ۱۰۰ درصد کود شیمیایی بیشترین میزان فتوسنتز و کارایی مصرف آب را به همراه داشت که به ترتیب در مقایسه با شاهد ۵۱ و ٦٣ درصد افزایش در پارامترهای مذکور نشان داد. سایر تیمارهای تغذیه‌ای نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری را در میزان

فتوسنتز خالص نشان ندادند. اعمال تیمار ۵۰ درصد کوددهی + تلقیح با باکتری در کارایی مصرف آب تفاوت معنی‌داری با تیمار ۱۰۰ درصد کوددهی نشان نداد. همچنین اگرچه بین تیمار مذکور و تیمارهای تلقیح با باکتری و تیمار اعمال ۵۰ درصد کود تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد، اما نسبت به شاهد کارایی مصرف آب را ٤۲ درصد بهبود داد (جدول ٤).

جدول ٤- اثر تیمارهای مختلف تغذیه بر ویژگی‌های فتوسنتزی و تبادلات گازی شیرین‌بیان تولید شده از طریق ریزوم و بذر

Table 4- The effect of different nutritional treatments on photosynthetic characteristics and gas exchange of licorice produced through rhizome and seed

روش تکثیر Propagation method	تیمارها Treatments	CO_2 درون سلولی Intercellular CO_2 (μmol CO_2. mmol H_2O)	سرعت تعرق Transpiration rate (mmol m^{-2} s^{-1})	سرعت فتوسنتز Photosynthesis rate (mmol CO_2 m^{-2} s^{-1})	کارایی مصرف آب Water use efficiency (mmol CO_2/mmol H_2O)
ریزوم Rhizome	شاهد Control	301	0.052	0.026 ^{b}	0.624 ^{b}
	ازتوباکتر *Azotobacter chroococcum* (*Ac*)	237	0.049	0.049 ^{a}	0.973 ^{a}
	۵۰ درصد کوددهی 50% N	244	0.052	0.051 ^{a}	0.980 ^{a}
	۵۰ درصد کوددهی+ ازتوباکتر *Ac* + 50% N	249	0.064	0.056 ^{a}	0.889 ^{a}
	۱۰۰ درصد کوددهی 100% N	254	0.06	0.056 ^{a}	0.944 ^{a}
	حداقل تفاوت معنی‌دار (۵ درصد) LSD (0.05)	71.9	0.0163	0.0185	0.208
بذر Seed	شاهد Control	296	0.064	0.039 ^{b}	0.603 ^{c}
	ازتوباکتر *Azotobacter chroococcum* (*Ac*)	268	0.06	0.044 ^{b}	0.737 ^{bc}
	۵۰ درصد کوددهی 50% N	260	0.063	0.048 ^{ab}	0.757 ^{bc}
	۵۰ درصد کوددهی+ ازتوباکتر *Ac* + 50% N	265	0.053	0.045 ^{b}	0.854 ^{ab}
	۱۰۰ درصد کوددهی 100% N	247	0.061	0.059 ^{a}	0.983 ^{a}
	حداقل تفاوت معنی‌دار (۵ درصد) LSD (0.05)	57	0.0108	0.0119	0.158

مقایسه میانگین‌ها برای هر روش تکثیر، به صورت جداگانه انجام شده است. برای هر روش تکثیر میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند (LSD, $P\leq 0.05$).

The mean comparison for each propagation method has been done separately. For each propagation method, means followed by the same letter(s) are not significantly different based on the least significant difference test at 5% of probability level (LSD, $P\leq 0.05$).

افزایش سطح برگ در بوته با اعمال تیمارهای ۱۰۰ درصد کوددهی و ۵۰ درصد کوددهی+باکتری و همچنین افزایش محتوای کلروفیل در برگ گیاهان حاصل از ریزوم در تیمارهای ۵۰ درصد کوددهی+ باکتری و تلقیح با باکتری و در برگ گیاهان حاصل از بذر در تیمارهای ۱۰۰ درصد کوددهی، ۵۰ درصد کوددهی+باکتری و تلقیح با باکتری می‌تواند از دلایل افزایش در وزن خشک اندام هوایی گیاهان شیرین‌بیان

باشد. سطح برگ یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر عملکرد فتوسنتزی و تجمع محصولات فتوسنتزی توسط گیاه است. کلروفیل به‌عنوان یک جزء اصلی کلروپلاست، تابش فعال را از طریق فتوسنتز جذب می‌کند (٤). موارد فوق می‌تواند منجر به بهبود سطح فتوسنتز کننده و افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه شده که ذخایر کربنی را افزایش داده و در نهایت به بهبود وزن خشک منجر خواهد شد همان‌طور که در نتایج این مطالعه مشاهده شد.

ازتوباکتر با افزایش جذب مواد مغذی، تولید فیتوهورمون‌ها یا کاهش سطح اتیلن گیاهی به‌طور مستقیم به رشد گیاه کمک می‌کند (۷). در همین راستا گزارش شده که اثر باکتری‌های محرک رشد (گونه‌های ازتوباکتر) سطح برگ، محتوای کلروفیل a و کاروتنوئید و کارایی فتوسیستم ۲، فتوسنتز و تبادلات گازی را در جمعیت های شیرین‌بیان بهبود داد (٢٦ و ٢٧). همچنین در بخش دیگری در ارتباط با همین تحقیق، گزارش شد که تلقیح با ازتوباکتر باعث افزایش معنی‌داری در ارتفاع بوته و قطر طوقه شیرین‌بیان شد (۲۸). همچنین گزارش شده که تلقیح ازتوباکتر به همراه ۵۰ درصد اوره تأثیر قابل توجهی بر رشد پنبه دارد. علاوه بر این، در این مطالعه نشان داده شد که کوددهی ۱۰۰ درصد و کوددهی ۵۰ درصد + تلقیح با ازتوباکتر نتایج مشابهی را بدون تفاوت آماری بین دو تیمار در بر داشت. در حضور تلقیح ازتوباکتر به همراه نصف دوز اوره، افزایش طول اندام هوایی، وزن خشک اندام هوایی و وزن خشک غوزه پنبه نسبت به برنامه کوددهی ۱۰۰ درصد ۱۰، ۹ و ۵ درصد بهبود داشت (۵). نتایج مطالعه دیگری که به نقش تلقیح با باکتری‌های محرک‌های مختلف رشد شامل *Paenibacillus polymyxa* و *Pantoea agglomerans* و قارچ میکوریز *Funneliformis mosseae* در کاهش دوز نیتروژن کاربردی به ۷۵ و ۵۰ درصد پرداخته بود، نشان داده شد که ارتفاع بوته، دور ساقه، زیست‌توده خشک اندام هوایی و عملکرد لوبیا (*Phaseolus vulgaris*) در ۷۵ درصد اعمال کودها و تلقیح میکروبی بالاتر بود و از نظر آماری با تیمار NPK۱۰۰ تفاوتی نشان نداد. این نتیجه نشان می‌دهد که کاربرد کودهای شیمیایی برای کشت لوبیا را می‌توان با تلقیح میکروبی تا ۲۵ کاهش داد (۲۹). تلقیح بذر گل همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) با قارچ میکوریزا و سویه‌های مختلف ازوتوباکتر، سودوموناس و آزوسپیریلوم به‌طور قابل توجهی پارامترهای رشد، وزن خشک اندام هوایی، رنگدانه‌های فتوسنتزی و محتوای عناصر درشت مغذی در برگ و ریشه را افزایش داد (۳۰). همچنین نتایج حاصل از تلقیح بذر ارقام کنجد با استفاده از ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) در شرایط کاربرد نصف مقدار نیتروژن و فسفر در آزمایش مزرعه‌ای نشان داد که آزوسپیریلوم همراه با کاربرد نیمی از کود NP در افزایش صفات زراعی و عملکرد کنجد و ازتوباکتر به همراه نیمی از کود NP در افزایش محتوای روغن دانه مؤثر بودند (۳۱).

وزن خشک ریزوم، ریشه و وزن خشک کل: وزن خشک ریزوم، ریشه و وزن خشک کل (ریزوم و ریشه) در هر دو روش تکثیر تحت تأثیر تیمارهای مختلف مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۵). در گیاهان حاصل از ریزوم، بیشترین وزن خشک ریزوم با ۹/۲۱ تن در هکتار از تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری حاصل شد و اختلاف آماری معنی‌داری با سایر تیمارهای مورد بررسی و شاهد نشان داد. اعمال تیمار ۱۰۰ درصد کوددهی با عملکرد ٦/١٤ تن در هکتار در گروه بعد قرار گرفت و بین سایر تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ٦). تلقیح با باکتری و تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری نیز بیشترین میزان تولید وزن خشک

ریشه را به‌ترتیب با ۷/٥٤ و ٥/۸۷ تن در هکتار به خود اختصاص دادند. تیمارهای کوددهی ۱۰۰ درصد و ٥۰ درصد نیز نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری در وزن خشک ریشه (به‌ترتیب ۱۷٥ و ۱٦۱ درصد) نشان دادند. تغییرات مشاهده شده منجر به تولید بیشترین عملکرد کل در تیمار ٥۰ درصد کوددهی+ باکتری (۱٥/۱ تن در هکتار) شد و تیمارهای ۱۰۰ درصد کوددهی و تلقیح با باکتری نیز در گروه بعدی قرار گرفتند. بین اعمال ٥۰ درصد کوددهی و شاهد نیز اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. تغییرات مشاهده شده می‌تواند نتیجه اثر قابل توجه تیمارهای مذکور در افزایش وزن خشک هر ریزوم باشد. همان‌طور که مشاهده می‌شود کاربرد باکتری در تلفیق با ٥۰ درصد کوددهی بیشترین وزن خشک هر ریزوم را موجب شد که تفاوت آماری معنی‌داری با ۱۰۰ درصد کوددهی و همچنین با تیمار تلقیح با *Ac* نشان نداد (جدول ٦).

جدول ٥- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای تغذیه‌ای بر وزن خشک ریزوم و ریشه شیرین‌بیان

Table 2- Analysis of variance results of the effect of nutritional treatments on rhizome and root dry weight of licorice

روش تکثیر Propagation method	منابع تغییر SOV	درجه آزادی df	وزن خشک هر ریزوم Unitary rhizome weight	وزن خشک ریزوم Rhizome dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن خشک کل (ریزوم و ریشه) Total dry weight (rhizome+root)
ریزوم Rhizome	بلوک Replication	2	0.97	0.031	0.77	0.75
	تیمار تغذیه Nutritional treatment	4	68.07*	20.52**	12.21**	37.25**
	خطا Error	8	16.19	1.141	0.93	2.47
	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	34	20.8	18.4	15.2
بذر Seed	بلوک Replication	2	0.096	0.0016	0.026	0.038
	تیمار تغذیه Nutritional treatment	4	0.869*	0.0151*	0.147**	0.238**
	خطا Error	8	0.166	0.0026	0.011	0.016
	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	22.6	23.0	15.0	13.7

**: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، *: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و ns: غیر معنی‌دار

**: Significant at 1% probability level, *: Significant at 1% probability level, and ns: non-significant

در گیاهان حاصل از بذر، اعمال ۱۰۰ درصد کود شیمیایی با تولید ۰/۳۱۳ تن در هکتار بیشترین عملکرد ریزوم را به خود اختصاص داد و با تیمار تلقیح با باکتری (۰/۲۷٥ تن در هکتار) تفاوت معنی‌داری نشان نداد. عدم تفاوت مشاهده شده بین این دو تیمار می‌تواند به دلیل افزایش قابل توجه وزن خشک هر ریزوم در تیمار تلقیح با باکتری باشد (جدول ٦). همچنین، اعمال ۱۰۰ درصد کود با تولید ۰/۹٤۹ تن در هکتار منجر به تولید بیشترین وزن خشک ریشه شد که با تیمار ٥۰ درصد کوددهی+باکتری و تیمار تلقیح با باکتری تفاوت معنی‌داری نشان نداد. این تغییرات منجر به مشاهده

بیشترین عملکرد کل (ریشه و ریزوم) با ۱/۲۶ تـن در هکتار در تیمار ۱۰۰ درصد کوددهی شد که بـا تیمـار تلقـیح بـا بـاکتری تفـاوت معنـی‌داری نشـان نـداد. تیمارهـای تلقـیح بـا بـاکتری و اعمـال ۵۰ درصـد کود+باکتری نیز اختلاف معنی‌داری باهم نشان ندادنـد اما نسبت به شاهد منجر به افزایش معنی‌دار (بـین ۹۶ تا ۱۰۸ درصد) در عملکرد خشک کل شدند (جـدول ٦).

جدول ٦- اثر تیمارهای مختلف تغذیه بر وزن خشک ریزوم و ریشه شیرین‌بیان تولید شده از طریق ریزوم و بذر.

Table 4- The effect of different nutritional treatments on rhizome and root dry weight of licorice produced through rhizome and seed

روش تکثیر Propagation method	تیمارها Treatments	وزن خشک هر ریزوم (گرم) Unitary rhizome weight (g)	وزن خشک (تن در هکتار) Dry weight (t/ha)		
			ریزوم Rhizome	ریشه Root	کل Total
ریزوم Rhizome	شاهد Control	9.60 ^{bc}	4.04 ^{c}	2.00 ^{c}	6.04 ^{c}
	ازتوباکتر *Azotobacter chroococcum* (*Ac*)	11.8 ^{abc}	3.66 ^{c}	7.54 ^{a}	11.2 ^{b}
	۵۰ درصد کوددهی 50% N	5.64 ^{c}	2.60 ^{c}	5.22 ^{b}	7.82 ^{c}
	۵۰ درصد کوددهی+ ازتوباکتر *Ac* + 50% N	18.5 ^{a}	9.21 ^{a}	5.87 ^{ab}	15.1 ^{a}
	۱۰۰ درصد کوددهی 100% N	13.7 ^{ab}	6.14 ^{b}	5.51 ^{b}	11.7 ^{b}
	حداقل تفاوت معنی‌دار (۵ درصد) LSD (0.05)	7.58	2.01	1.81	2.96
بذر Seed	شاهد Control	2.20 ^{a}	0.151 ^{c}	0.362 ^{c}	0.51 ^{c}
	ازتوباکتر *Azotobacter chroococcum* (*Ac*)	2.37 ^{a}	0.275 ^{ab}	0.786 ^{ab}	1.06 ^{ab}
	۵۰ درصد کوددهی 50% N	1.12 ^{c}	0.168 ^{c}	0.656 ^{b}	0.82 ^{b}
	۵۰ درصد کوددهی+ ازتوباکتر *Ac* + 50% N	1.37 ^{bc}	0.192 ^{bc}	0.806 ^{ab}	1.00 ^{b}
	۱۰۰ درصد کوددهی 100% N	1.95 ^{ab}	0.313 ^{a}	0.949 ^{a}	1.26 ^{a}
	حداقل تفاوت معنی‌دار (۵ درصد) LSD (0.05)	0.767	0.095	0.200	0.240

مقایسه میانگین‌ها برای هر روش تکثیر، به صورت جداگانه انجام شده است. برای هر روش تکثیر میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند (LSD, $P\leq 0.05$).

The mean comparison for each propagation method has been done separately. For each propagation method, means followed by the same letter(s) are not significantly different based on the least significant difference test at 5% of probability level (LSD, P≤0.05).

همان‌طور که انتظار می‌رفت، برتری تیمارهای ۵۰ درصد کوددهی+بـاکتری و ۱۰۰ درصـد کـوددهی در بهبود وزن هر ریزوم در گیاهـان حاصـل از ریـزوم و همچنین اثر قابل توجـه تلقـیح بـذر شـیرین‌بیـان بـا باکتری نیز منجر به بهبـود معنـی‌دار وزن خشـک هـر ریزوم شد (جدول ٦). به‌طور مشابه، افـزایش طـول و وزن ریشه در پنبه تحت کوددهی ۱۰۰ درصـد اوره و پس از آن با کاربرد میزان کاهش یافته اوره همـراه بـا

تلقیح با باکتری ازتوباکتر گزارش شده است (۵). این تغییرات منجر به افزایش وزن خشک ریزوم در تیمارهای مذکور شد. همچنین افزایش وزن خشک ریشه و افزایش وزن خشک ریزوم منجر به بهبود وزن خشک کل از تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری در روش تکثیر ریزومی و ۱۰۰ درصد کوددهی و تیمار تلقیح با باکتری در گیاهان حاصل از بذر شد (جدول ٦). تاجدینو (۲۰۲۱) با مطالعه تولید شیرین‌بیان از طریق بذر، مزایای کاربرد محرک‌های زیستی مختلف را در ترکیب با کودهای معدنی بر جوانه‌زنی بذر، تجمع زیست‌توده، کارایی فتوسنتزی و عملکرد ریشه گزارش کرد. بالاترین عملکرد ریشه (۱۲/٦ تن در هکتار) در کوددهی $N_{100}P_{140}K_{80}$ به‌دست آمد که به طور قابل توجهی بالاتر از سایر سطوح اعمال کود معدنی بود (نقل از منبع ۲۲). همسو با نتایج حاصل از این مطالعه، موسوی و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که تلقیح باکتریایی عملکرد ریشه شیرین‌بیان را به طور معنی‌داری افزایش داد (۲۸). همچنین، اخیراً برهمکنش بین ریزوبیا و سودوموناس (*Pseudomonas*) در شیرین‌بیان رشد در خاک گلدان ارزیابی و افزایش زیست توده، تعداد گره‌ها و محتوای نیتروژن گیاه پس از تلقیح ترکیبی مشاهده و گزارش شده است (۳۲). اثر *Pseudomonas extremorientalis* TSAU20 همراه با سویه‌های Mesorhizobium، عملکرد و محتوای نیتروژن در اندام هوایی و ریشه شیرین‌بیان را بهبود دادند (۳۲). همچنین بهبود خصوصیات رشد ریشه در گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) در تلقیح بذر با قارچ میکوریزا و سویه‌های مختلف ازوتوباکتر، سودوموناس و آزوسپیریلوم گزارش شده است (۳۰).

در بسیاری از صفات کاربرد هم‌زمان تلقیح و ۵۰ درصد کوددهی حتی از کاربرد ۱۰۰ درصد تأثیر بهتری به خصوص در گیاهان حاصل از ریزوم به همراه داشت. در بسیاری مطالعات اثر تلقیح به همراه کاربرد قسمتی از کود شیمیایی بدون کاهش معنی‌دار عملکرد منجر به بهبود کارایی مصرف کود شده است. به‌عنوان مثال، نتایج آزمایش گلدانی نشان داده که نتایج مشابهی بدون تفاوت آماری معنی‌دار بین تلقیح هم‌زمان باکتری و کاربرد ۵۰ درصد اوره با کاربرد ۱۰۰ درصد مشاهده شد. این یافته ها نشان می‌دهد که تلقیح مشترک سویه‌های *A. chroococcum* می‌تواند بدون کاهش معنی‌دار عملکرد میزان کوددهی نیتروژن را تا ۵۰ درصد در رشد پنبه کاهش و کارایی کاربرد کود نیتروژنه را افزایش دهد (۵). نتایج مشابه از طریق تلقیح میکروبی با قارچ میکوریزا (*Funneliformis mosseae*) و باکتری محرک رشد *Bacillus sonorensis* همراه با میزان ۵۰ درصد، ۷۵ درصد کودهای شیمیایی در مقایسه با شاهد و کاربرد ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی در کشت فلفل (*Capsicum annuum* L.)، گزارش شده است (۲۵). همچنین کاربرد باکتری‌های محرک رشد در کاهش میزان کاربرد کودهای دامی (۳۳) و شیمیایی (۳٤) در سیستم کشت گیاهان دارویی گزارش شده است. همچنین، تلقیح خاک با PGPR در شرایط کوددهی با میزان ۵۰ درصد کودهای آلی و ۵۰ درصد کودهای شیمیایی باعث افزایش رشد گیاه *Pennisetum clandestinum* شده و عملکردی مشابه با کاربرد ۱۰۰ درصد کود نیتروژنه نشان داد (۳۵).

مقایسه تولید بین گیاهان حاصل از بذر و ریزوم: نتایج حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای مختلف در گیاهان حاصل از بذر و ریزوم بیانگر تفاوت‌های قابل ملاحظه در بسیاری از صفات به‌خصوص صفات مرتبط با رشد و عملکرد بود. گیاهان حاصل از ریزوم افزایش ۷۵ درصدی در ارتفاع بوته، افزایش چهار برابری سطح برگ در بوته، نه برابری وزن خشک اندام هوایی، سه برابری تعداد ریزوم، دو برابری در

طول ریزوم، شش برابری در وزن هر ریزوم، ۲/۳ برابری در طول ریشه، ۲۳ برابری در عملکرد ریزوم، هشت برابری در عملکرد ریشه و ۱۳ برابری در عملکرد کل نسبت به گیاهان حاصل از بذر نشان دادند. نتایج حاصله به وضوح نشان‌دهنده میزان اختلاف بین دو روش تکثیر جنسی و غیرجنسی در شیرین بیان بود. تاکنون مقایسه ای در رشد و اجزای مختلف عملکرد این گیاه بین دو روش مختلف تکثیر انجام نشده و گزارشی علمی بر مبنای داده‌های میدانی در این زمینه در دسترس نیست. منشأ این تفاوت‌ها در سرعت ظهور و قدرت استقرار اولیه گیاهچه‌های حاصل از دو روش تکثیر است. تنها در یک منبع علمی موجود گزارش شده که گیاهان حاصل از تکثیر جنسی از طریق بذر، رشد کمتری در مراحل اولیه رشد نشان می‌دهند (۱۶). این مطالعه میزان تفاوت در تولید را بین گیاهان شیرین‌بیان حاصل از بذر و ریزوم را از نظر صفات مختلف در سال اول رشد، نشان داد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که علی‌رغم این‌که شیرین‌بیان گیاهی کم‌توقع با نیاز غذایی پایین است، اما به‌طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به بهبود شرایط شیمیایی و بیولوژیکی خاک واکنش داده و تولید را افزایش می‌دهد. همان‌طور که در نتایج مشاهده شد، شیرین‌بیان حاصل از ریزوم در سال اول رشد در صفات مختلف رشد و عملکرد افزایش چندبرابری نسبت به شیرین‌بیان حاصل از بذر نشان داد. این می‌تواند در فرایند تولید گیاهان در شرایط مختلف تولید مد نظر قرار گیرد. با این حال، با توجه به اینکه شیرین بیان گیاهی چندساله بوده و عملکرد اقتصادی آن بعد از سال چهارم مشاهده می‌شود، نیاز به بررسی‌های تکمیلی در یک دوره طلانی‌تر احساس می‌شود. در گیاهان حاصل از هر دو روش، اعمال تیمارهای ۱۰۰ درصد کوددهی و ۵۰ درصد کوددهی+ باکتری *Azotobacter chroococcum* از کارایی بالایی در بهبود خصوصیات رشد رویشی، محتوای کلروفیل، میزان فتوسنتز و کارایی مصرف آب برخوردار بوده که منجر به بهبود در خصوصیات ریزوم و ریشه و وزن خشک نهایی شد. همچنین این نتایج نشان دهنده‌ی این است که تلقیح مشترک ازتوباکتر می‌تواند حداقل ۵۰ درصد کوددهی اوره را بدون کاهش رشد و عملکرد در تولید شیرین‌بیان، کاهش دهد. این مطالعه می‌تواند نقطه شروعی برای تحقیقات آینده فراهم سازد که در آن بتوان از روش‌های تغذیه آلی و زیستی در جهت تولید پایدار این گیاه ارزشمند بهره برد و فشار ناشی از برداشت از عرصه‌های طبیعی را کاهش داد.

سپاسگزاری

هزینه اجرای این پژوهش از محل طرح شماره ۷٤۱٤/۰۱ مصوب پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی دانشگاه شهید باهنر کرمان تأمین شده است که به‌این‌وسیله قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Consentino, B. B., Aprile, S., Rouphael, Y., Ntatsi, G., De Pasquale, C., Iapichino, G., … Sabatino, L. (2022). Application of PGPB combined with variable n doses affects growth, yield-related traits, N-fertilizer efficiency and nutritional status of lettuce grown under controlled condition. *Agronomy*, *12*(2), 236. https://doi.org/10.3390/agronomy12020236.
2. Sahoo, R. K., Ansari, M. W., Dangar, T. K., Mohanty, S., & Tuteja, N. (2014). Phenotypic and molecular characterisation of efficient nitrogen-fixing *Azotobacter* strains from rice fields for crop improvement.

Protoplasma, *251*, 511–523.

3. Arora, M., Saxena, P., Abdin, M. Z., & Varma, A. (2018). Interaction between Piriformospora indica and *Azotobacter chroococcum* governs better plant physiological and biochemical parameters in *Artemisia annua* L. plants grown under in vitro conditions. *Symbiosis*, *75*, 103–112.
4. Mousavi, S. S., Karami, A., & Maggi, F. (2022). Photosynthesis and chlorophyll fluorescence of Iranian licorice (*Glycyrrhiza glabra* l.) accessions under salinity stress. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 984944. https://doi.org/10.3389/fpls.2022.984944.
5. Romero-Perdomo, F., Abril, J., Camelo, M., Moreno-Galván, A., Pastrana, I., Rojas-Tapias, D. F., & Bonilla, R. (2017). *Azotobacter chroococcum* as a potentially useful bacterial biofertilizer for cotton (*Gossypium hirsutum*): Effect in reducing N fertilization. *Revista Argentina de Microbiologia*, *49*(4), 377–383. https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.04.006.
6. Wani, S. A., Chand, S., Wani, M. A., Ramzan, M., & Hakeem, K. R. (2016). *Azotobacter* chroococcum–a potential biofertilizer in agriculture: an overview. *Soil Science: Agricultural and Environmental Prospectives*, 333–348.
7. Aasfar, A., Bargaz, A., Yaakoubi, K., Hilali, A., Bennis, I., Zeroual, Y., & Meftah Kadmiri, I. (2021). Nitrogen fixing *Azotobacter* species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 354. https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628379.
8. Chaudhary, D., Narula, N., Sindhu, S. S., & Behl, R. K. (2013). Plant growth stimulation of wheat (*Triticum aestivum* L.) by inoculation of salinity tolerant *Azotobacter* strains. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, *19*, 515–519.
9. Kordi, S., Salmasi, S. Z., Kolvanagh, J. S., Weisany, W., & Shannon, D. A. (2020). Intercropping system and N2 fixing bacteria can increase land use efficiency and improve the essential oil quantity and quality of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Frontiers in Plant Science*, *11*, 2069. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.610026.
10. Vafadar-Yengeje, L., Amini, R., & Dabbagh Mohammadi Nasab, A. (2019). Chemical compositions and yield of essential oil of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) in intercropping with faba bean (*Vicia faba* L.) under different fertilizers application. *Journal of Cleaner Production*, *239*, 118033. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.118033.
11. Hayashi, H., & Sudo, H. (2009). Economic importance of licorice. *Plant Biotechnology*, *26*(1), 101–104. https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.26.101.
12. Bahmani, M., Rafieian-Kopaei, M., Jeloudari, M., Eftekhari, Z., Delfan, B., Zargaran, A., & Forouzan, S. (2014). A review of the health effects and uses of drugs of plant licorice (Glycyrrhiza glabra L.) in Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, *4*(S2), S847–S849.
13. Jiang, M., Zhao, S., Yang, S., Lin, X., He, X., Wei, X., … Zhang, J. (2020). An "essential herbal medicine"—Licorice: A review of phytochemicals and its effects in combination preparations. *Journal of Ethnopharmacology*, *249*, 112439. https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112439.
14. Ghadiri, H., & Bagherani, T. N. (2000). Effects of scarification and temperature on germination of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) seeds. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *2*(4), 257–262. Retrieved from http://jast.modares.ac.ir/article-23-11099-en.html
15. Zhang, J., Yao, J., Ding, L., Guo, S. J., & Yang, Y. L. (2000). Study advances on the utilization of Glycyrrhiza. *Grassland Turf*, *89*(2), 12–17.
16. Karkanis, A., Martins, N., Petropoulos, S. A., & Ferreira, I. C. F. R. (2018).

Phytochemical composition, health effects, and crop management of liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.): A medicinal plant. *Food Reviews International*, *34*(2), 182–203.

17. Mambetnazarov, A. B., Aybergenov, B. A., Kurbaniyazova, B. J., Jumatova, R. M., Turimbetov, M. S., Sabirova, M. G., & Sabirov, G. (2021). To the development of optimal methods for licorice seeds growing (*Glycyrrhiza glabra* L.) in irrigated lands of the Republic of Karakalpakstan. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 937, p. 32102). IOP Publishing.
18. Ghanbari, J., Besharati-Far, M., & khajoei-Nejad, G. (2022). Response of Seed Germination and Seedling Growth of Licorice to Chemical Scarification and Gibberellic Acid Levels. *Journal of Crops Improvement*, *24*(4), 1311–1324. https://doi.org/10.22059/jci.2021.328615.2595. [In Persian]
19. Mao, P.-S., Wang, Y.-H., Wang, X.-G., Lian, J.-J., & Huang, Y. (2008). Conditions and Stimulation for Germination in Glycyrrhiza uralensis Fisch Seeds. *Agricultural Sciences in China*, *7*(12), 1438–1444. https://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60400-9.
20. Liu, Y., Li, Y., Luo, W., Liu, S., Chen, W., Chen, C., … Wei, G. (2020). Soil potassium is correlated with root secondary metabolites and root-associated core bacteria in licorice of different ages. *Plant and Soil*, *456*(1), 61–79. https://doi.org/10.1007/s11104-020-04692-0.
21. Dagar, J. C., Yadav, R. K., Dar, S. R., & Ahamad, S. (2015). Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): a potential salt-tolerant, highly remunerative medicinal crop for remediation of alkali soils. *Current Science*, *108*(9), 1683–1688. Retrieved from http://www.jstor.org/stable/24905534.
22. Khaitov, B., Karimov, A., Khaitbaeva, J., Sindarov, O., Karimov, A., & Li, Y. (2022). Perspectives of Licorice Production in Harsh Environments of the Aral Sea Regions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(18), 11770. https://doi.org/10.3390/ijerph191811770.
23. Babu, S., Singh, R., Yadav, D., Rathore, S. S., Raj, R., Avasthe, R., … Singh, V. K. (2022). Nanofertilizers for agricultural and environmental sustainability. *Chemosphere*, *292*, 133451. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133451.
24. Sahandi, M. S., Mehrafarin, A., Badi, H. N., Khalighi-Sigaroodi, F., & Sharifi, M. (2019). Improving growth, phytochemical, and antioxidant characteristics of peppermint by phosphate-solubilizing bacteria along with reducing phosphorus fertilizer use. *Industrial Crops and Products*, *141*, 111777.
25. Thilagar, G., Bagyaraj, D. J., & Rao, M. S. (2016). Selected microbial consortia developed for chilly reduces application of chemical fertilizers by 50% under field conditions. *Scientia Horticulturae*, *198*, 27–35. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.021.
26. Baligar, V. C., Fageria, N. K., & He, Z. L. (2001). Nutrient use efficiency in plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *32*(7–8), 921–950. https://doi.org/10.1081/CSS-100104098.
27. Baligar, V. C., Fageria, N. K., & He, Z. L. (2007). Communications in Soil Science and Plant Analysis, (December 2012), 37–41. Retrieved from https://doi.org/10.1081/CSS-100104098.
28. Mousavi, S. S., Karami, A., Saharkhiz, M. J., Etemadi, M., & Zarshenas, M. M. (2022). Evaluation of metabolites in Iranian Licorice accessions under salinity stress and *Azotobacter* sp. inoculation. *Scientific Reports*, *12*(1), 15837. https://doi.org/10.1038/s41598-022-20366-6.
29. Chauhan, H., & Bagyaraj, D. J. (2015). Inoculation with selected microbial consortia not only enhances growth and yield of French bean but also reduces fertilizer application under field condition. *Scientia Horticulturae*, *197*,

441–446. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.10.001.

30. Hosseinzadah, F., Satei, A., & Ramezanpour, M. R. (2011). Effects of mycorhiza and plant growth promoting rhizobacteria on growth, nutrients uptake and physiological characteristics in Calendula officinalis L. *Middle East Journal of Scientific Research*, *8*(5), 947–953.
31. Nosheen, A., Bano, A., Naz, R., Yasmin, H., Hussain, I., Ullah, F., … Tahir, A. T. (2019). Nutritional value of Sesamum indicum L. was improved by *Azospirillum* and *Azotobacter* under low input of NP fertilizers. *BMC Plant Biology*, *19*(1), 466. https://doi.org/10.1186 /s12870-019-2077-3.
32. Egamberdieva, D., & da Silva, J. A. T. (2015). Medicinal plants and PGPR: a new frontier for phytochemicals. *Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plants*, 287–303.
33. Babakhani, V., Tohidi-Nejad, E., Khajoei-Nejad, G., & Ghanbari, J. (2022). Biomass Production and Nitrogen Use Efficiency in Dill-Fenugreek Intercropping in Response to Biofertilizers and Manure. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, *32*(4), 1–18. https://doi.org/10.22034/saps.2022.48673.2759. [In Persian]
34. Khanamani, A., Tohidi-Nejad, E., Khajoei-Nejad, G., & Ghanbari, J. (2023). Evaluation of Efficiency in Fenugreek-Black Cumin Intercropping Under Application of Growth-Promoting Bacteria and Nitrogen Fertilizer Amounts. *Journal of Crops Improvement*, *25*(1), 159–175. https://doi.org/10.22059/jci.2022.336635.2661. [In Persian]
35. Paungfoo-Lonhienne, C., Redding, M., Pratt, C., & Wang, W. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria increase the efficiency of fertilisers while reducing nitrogen loss. *Journal of Environmental Management*, *233*, 337–341. https://doi.org/10.1016 /j.jenvman.2018.12.052.