

The Role of *Azotobacter* in Improving the Agronomic Efficiency of Nitrogen Fertilizer and Growth and Root Production of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) Plants Propagated through Seeds and Rhizomes

Mahboubeh Abdolhosseinpour¹, Gholamreza Khajoei-Nejad^{2,3*} , Ghasem Mohammadi-Nejad^{2,3}, Jalal Ghanbari^{3,4}

Received: June 20, 2023

Accepted: March 16, 2024

1-MSc Student in Agronomy- Crop Ecology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

2- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

3- Research and Technology Institute of Plant Production, Afzalipour Research Institute, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran.

4-Seed and Plant Certification and Registration Institute (SPCRI), Agricultural Research, Education & Extension Organization (AREEO), Kerman, Iran.

Corresponding Author: E-mail: khajoei@uk.ac.ir

Abstract

Background and Objectives: Sustainable agricultural production requires innovative strategies to minimize the reliance on polluting agricultural chemicals, including nitrogen fertilizers. A viable agronomic solution to address these challenges is the application of biostimulants, including plant growth-promoting bacteria (PGPB). The aim of this study was to assess the possibility of reducing the chemical fertilizer application rate through inoculation of *Azotobacter* for the cultivation of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) plants through seeds and rhizomes.

Materials and Methods: A field experiment was conducted with *Azotobacter chroococcum* (Ac) alone or in combination with varying levels of chemical fertilizers at the Research Field of Shahid Bahonar University of Kerman, Iran. 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+50% N which were evaluated in both propagation methods. After measuring the leaf area index (LAI), shoot dry weight, and the number and length of rhizomes and roots and root and rhizome yield, the agronomic efficiency of fertilizer application (AEF), and nitrogen use efficiency (NUE) were determined.

Results: The observed results revealed that microbial inoculation further influenced root and rhizome biomass production more than shoot biomass production. The simultaneous inoculation of *Ac* alongside the application of 50% fertilizer, by enhancing leaf area, interestingly, resulted in an increase in the number, length, and yield of roots and rhizomes, achieving the highest NUE and AEF. The treatment of 50% fertilization combined with *Ac* in rhizome-derived plants yielded the highest Agronomic efficiency of nitrogen fertilizer, demonstrating a significant improvement in AEF compared to both 100% and 50% fertilization levels. Conversely, in seed-derived plants, although there was a 62% increase in AEF with the 50% fertilization + *Ac* treatment compared to the 50% fertilization level, no significant difference was noted between this treatment and the application of 100% fertilizer.

Conclusion: Findings suggest that *A. chroococcum* allows reducing nitrogen fertilization doses by up to 50% in licorice plants. The results of this study also showed that the licorice produced from the rhizome showed a multifold increase in various growth traits and yield compared to the licorice obtained from the seed during the first growing year.

Keywords: Agronomic Efficiency of Fertilizer, *Glycyrrhiza glabra* L., Growth-Promoting Bacteria, Root Production, Sexual and Asexual Propagation

نقش ازتوباکتر در بهبود کارایی زراعی مصرف کود نیتروژن و رشد و تولید ریشه گیاهان شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) تکثیر یافته از طریق بذر و ریزوم

محبوبه عبدالحسین پور^۱، غلامرضا خواجهویی نژاد^{۲*}، قاسم محمدی نژاد^۳، جلال قنبری^۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۳/۳۰	تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۶
--------------------------	-------------------------

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زراعت-اکولوژی گیاهان زراعی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۲- استاد گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۳- پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، پژوهشگاه افضلی پور، دانشگاه شهید باهنر کرمان
۴- موسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمان، ایران.
*مسئول مکاتبه E-mail: khajoei@uk.ac.ir

چکیده

مقدمه و اهداف: تولید پایدار کشاورزی نیازمند رویکردهای جدید برای کاهش کاربرد مواد شیمیایی آلاینده کشاورزی از جمله کودهای شیمیایی نیتروژن است. یک روش مؤثر زراعی برای رویارویی با این چالش‌ها، استفاده از محرک‌های زیستی، از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPB) است. هدف از این مطالعه ارزیابی امکان کاهش میزان مصرف کود شیمیایی از طریق تلقیح با ازتوباکتر برای کشت گیاهان شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) از طریق بذر و ریزوم بود.

مواد و روش‌ها: آزمایش مزرعه‌ای با تلقیح *Azotobacter chroococcum* (Ac) به تنهایی یا در ترکیب با سطوح مختلف کودهای شیمیایی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد. پنج تیمار آزمایش (۱) شاهد (بدون تلقیح و کوددهی)، (۲) تلقیح با Ac؛ (۳) ۱۰۰ درصد کوددهی (۱۰۰ درصد مقدار توصیه شده نیتروژن)؛ (۴) ۵۰ درصد کوددهی؛ (۵) ۵۰ درصد کوددهی+Ac بودند که در هر دو روش تکثیر مورد ارزیابی قرار گرفتند. پس از اندازه‌گیری شاخص سطح برگ (LAI)، وزن خشک اندام هوایی، تعداد و طول ریزوم‌ها و ریشه و عملکرد ریشه و ریزوم، کارایی زراعی کاربرد کود (AEF) و کارایی مصرف نیتروژن (NUE) تعیین شد.

یافته‌ها: نتایج مشاهده شده نشان داد که تلقیح میکروبی بیش از رشد رویشی و تولید زیست‌توده اندام هوایی، عملکرد ریشه را تحت تاثیر قرار داد. تلقیح هم‌زمان باکتری با کاربرد میزان ۵۰ درصد کود، با بهبود سطح برگ، منجر به افزایش تعداد، طول و عملکرد ریشه و ریزوم شد و بیشترین کارایی مصرف نیتروژن و کارایی زراعی کود را به همراه داشت. تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری در گیاهان حاصل از ریزوم، بیشترین کارایی مصرف کود نیتروژن را به همراه داشت و تفاوت چند برابری در بهبود کارایی مصرف کود نیتروژن در مقایسه با سطوح ۱۰۰ درصد و ۵۰ درصد کوددهی نشان داد. این در حالی بود که در گیاهان حاصل از بذر با وجود افزایش ۶۲ درصدی کارایی مصرف کود نیتروژن در تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری نسبت به سطح ۵۰ درصد کوددهی، تفاوت معنی‌داری بین این تیمار و اعمال ۱۰۰ درصد کود مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان داد که *A. chroococcum* می‌تواند بدون کاهش معنی‌دار عملکرد شیرین بیان، میزان کوددهی نیتروژن را تا ۵۰ درصد کاهش دهد. نتایج این مطالعه همچنین نشان داد که شیرین بیان حاصل از ریزوم در سال اول رشد در صفات مختلف رشد و عملکرد افزایش چند برابری نسبت به شیرین بیان حاصل از بذر نشان داد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های محرک رشد، تکثیر جنسی و غیرجنسی، تولید ریشه، شیرین بیان، کارایی زراعی مصرف کود

مقدمه

کشاورزی فشرده به کاربرد کودهای نیتروژن، همراه با سایر عناصر غذایی ضروری برای به حداکثر رساندن تولید محصول متکی است (بیندرا بان و همکاران ۲۰۱۵). تولید پایدار کشاورزی نیازمند رویکردهای جدید برای کاهش کاربرد مواد شیمیایی آلاینده کشاورزی است. به طور خاص، استفاده از کودهای شیمیایی نیتروژن یک تهدید زیست محیطی مهم به شمار می‌رود (ژانگ و همکاران ۲۰۱۵). از کل نیتروژن کاربردی، حدود ۴۰ تا ۵۰ درصد توسط گیاهان جذب نمی‌شوند و از طریق شستشو، دنتریفیکاسیون و تبخیر از دست می‌روند و به اشکال غیرقابل دسترس تبدیل می‌شوند که پیامدهای اقتصادی و زیست‌محیطی را به همراه دارد (لسکورت و همکاران ۲۰۱۵). کارایی جذب پایین عناصر غذایی در نهایت منجر به افزایش استفاده از کودهای شیمیایی سنتزی می‌شود که حاصل‌خیزی خاک و تنوع زیستی را کاهش می‌دهد، آب‌های زیرزمینی را آلوده می‌کند و در نتیجه بر سلامت انسان تأثیر می‌گذارد (کرایزر و همکاران ۲۰۱۱).

یک روش مؤثر زراعی برای رویارویی با این چالش‌ها، استفاده از محرک‌های زیستی، از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPB) است که به عنوان روشی جذاب و کارآمد برای جایگزینی کودهای شیمیایی یا کاهش مقدار کاربرد آن‌ها در نظر گرفته می‌شود (کانسنتینو و همکاران ۲۰۲۲). تحقیقات در مورد استفاده از ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه (PGPR) برای ترویج رشد گیاه به دلیل مزایای بالقوه مشاهده شده در شرایط مزرعه در چند سال اخیر به طور چشم‌گیری افزایش یافته است (ساریخانی و امینی ۲۰۲۰). این باکتری‌ها علاوه بر تولید مواد تنظیم‌کننده رشد گیاه و فیتوهورمون‌ها و سرکوب پاتوژن‌های گیاهی، منجر به

تثبیت نیتروژن و معدنی‌سازی فسفر آلی می‌شوند

(تیلاگر و همکاران ۲۰۱۶).

در گروه باکتری‌های محرک رشد، باکتری *Azotobacter chroococcum* (Ac) نشان داده است که از پتانسیل قابل توجهی برای افزایش رشد محصولات مختلف در انواع خاک و شرایط آب و هوایی مختلف برخوردار است. اگرچه اثر مثبت آن در گیاهان مختلف نشان داده شده است، مطالعات اندکی پتانسیل Ac را به عنوان مکمل کاربرد کودهای شیمیایی بررسی کرده‌اند. به عنوان مثال، دو سویه‌ی AC1 و AC10 باکتری Ac در بهبود رشد پنبه در یک مطالعه گلخانه‌ای همراه با دوزهای کاهش یافته کود اوره مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که رشد پنبه به تلقیح باکتری و کاربرد کودهای شیمیایی واکنش مثبتی نشان داد. همچنین مشاهده شد که تلقیح میکروبی بیش از محتوای نیتروژن، زیست‌توده گیاهی را تحت تأثیر قرار داد. علاوه بر این، نتایج مشابهی بدون تفاوت آماری معنی‌دار بین تلقیح هم‌زمان باکتری و کاربرد ۵۰ درصد اوره با کاربرد ۱۰۰ درصد مشاهده شد (رومرو-پردومو و همکاران ۲۰۱۷). کردی و همکاران (۲۰۲۰) اثر تلقیح با باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن (*Azospirillum brasilense* و *Azotobacter chroococcum*) را در کاهش ۵۰ درصد کود شیمیایی در کشت ریحان (*Ocimum basilicum* L.) و ذرت (*Zea mays* L.) بررسی و گزارش کردند که در هر دو گیاه کشت، کاربرد این باکتری‌ها عملکرد را در مقایسه با شاهد افزایش داد. در مقابل، کاربرد این باکتری‌ها در بهبود عملکرد در شرایط کاربرد تلفیقی با ۵۰ درصد کودهای شیمیایی در برابر اعمال ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی در کشت باقلا (*Vicia faba* L.) و بادرشبویه (*Dracocephalum*)

moldavica)، از کارایی مناسب برخوردار نبود (وفادار ینگجه و همکاران ۲۰۱۸).

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L.) به دلیل وجود مواد مؤثره ریشه آن - به طور عمده گلیسیریزین^۱، گلابریدین^۲ و لیکویریتین^۳ - یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی خانواده بقولات^۴ است (هایاشی و سودو ۲۰۰۹). به دلیل افزایش تقاضا برای شیرین بیان در بازارهای جهانی و برداشت بی رویه از عرصه‌های طبیعی، منابع شیرین بیان وحشی تقریباً در حال اتمام و روند بیابان‌زایی همچنان در حال تسریع است (لیو و همکاران ۲۰۰۷). برداشت بی‌رویه، علاوه بر کاهش جمعیت و تخریب تنوع گونه‌ای این گیاه، منابع خاک را نیز در معرض خطر قرار داده است (غدیری و باقرانی ۲۰۰۰). برای جبران کمبود شیرین بیان و احیای عرصه‌های طبیعی و همچنین جلوگیری از فرسایش و بیابان‌زایی چشم اندازه‌های مناطق خشک و نیمه خشک، لزوم تحقیق در زمینه کشت، افزایش تولید کمی و کیفی و افزایش بهره‌وری در واحد سطح احساس می‌شود (ژانگ و همکاران ۲۰۰۰؛ هایاشی و سودو ۲۰۰۹).

تکثیر گیاه شیرین بیان به صورت غیرجنسی با استفاده از قلمه‌های ریشه و ریزوم و یا از طریق جنسی با استفاده از بذر انجام می‌شود (کارکانیس و همکاران ۲۰۱۸). در اندک مزارع موجود، در حال حاضر از روش کاشت ریزوم یا قلمه‌های جمع‌آوری شده از ریشه شیرین بیان استفاده می‌شود (مامبت‌نظروف و همکاران ۲۰۲۱). از طرفی پرورش شیرین بیان از طریق بذر به دلیل عدم وجود فناوری و قابلیت استقرار پایین این گیاه در مزارع، مشکل است. تحقیقات اولیه در زمینه بهبود جوانه‌زنی و رشد اولیه این گیاه نتایج مثبتی به همراه داشته است (قنبری و همکاران ۲۰۲۲؛ غدیری و باقرانی ۲۰۰۰، مائو و همکاران ۲۰۰۸). با این وجود، توسعه کشت این گیاه از طریق بذر در مزرعه نیاز به بررسی بیشتر و مقایسه با شرایط تکثیر از طریق قلمه‌های ریشه/ ریزوم دارد. تاکنون مطالعه‌ای براساس مشاهدات میدانی، مقایسه‌ای از میزان رشد و تولید این گیاه از

طرق ذکر شده انجام نشده است. در منابع محدود عنوان شده که تکثیر جنسی از طریق بذر (چه به صورت نشا یا کاشت مستقیم بذر در مزرعه) در مقایسه با تکثیر رویشی از طریق ریزوم، از رشد کمتری برخوردار است (کارکانیس و همکاران ۲۰۱۸). مطالعه ویژگی‌های گیاهان تولید شده از تولید مثل بذری و رویشی شیرین بیان می‌تواند اطلاعات مفیدی را برای تکثیر و تولید محصول این گیاه ارزشمند فراهم کند.

در زمینه تغذیه شیرین بیان، اطلاعات جامعی در دست نیست. با این حال، تلقیح با ازتوباکتر بر ۱۶ جمعیت شیرین بیان تکثیر شده توسط ریزوم تحت تأثیر شوری در آزمایش گلدانی بررسی و اثرات مثبت آن بر افزایش ارتفاع بوته، قطر طوقه و عملکرد ریشه گزارش شده است (موسوی و همکاران ۲۰۲۲a و ۲۰۲۲b).

بنابراین علاوه بر موارد ذکر شده، این مطالعه بر مبنای بررسی کارایی ازتوباکتر در بهبود رشد و تولید گیاه شیرین بیان حاصل از بذر و ریزوم و افزایش کارایی مصرف نیتروژن و کارایی کاربرد کود نیتروژن در شرایط اعمال ۵۰ درصد میزان منابع کودی نیتروژنه، هدف‌گذاری شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در فصل رشد ۱۴۰۱-۱۴۰۲ (در طول بهار، تابستان و پاییز) در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید باهنر کرمان (عرض جغرافیایی ۳۰ درجه و ۱۴ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۷ درجه و ۰۷ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۷۷۳ متر) انجام شد. قبل از اجرای آزمایش، جهت تعیین خصوصیات مختلف فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش، نمونه‌برداری از خاک مزرعه از نقاط مختلف و از عمق ۰ تا ۵ سانتیمتری به صورت تصادفی انجام شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده ابتدا خشک شده و سپس مخلوط و همگن شده و مورد آزمایش قرار گرفت و نتایج به شرح جدول ۱ حاصل شد.

⁴ Fabaceae

¹ Glycyrrhizin

² Glabridin

³ Liquiritin

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

بافت	کربن آلی (%)	pH	قابلیت هدایت الکتریکی (mS cm ⁻¹)	ظرفیت تبادل کاتیونی (meq 100 g ⁻¹)	نیتروژن (%)	فسفر قابل جذب (mg kg ⁻¹)	پتاسیم قابل جذب (mg kg ⁻¹)
لوم رسی	۰/۵۷	۷/۶۱	۷/۱۱	۴/۸۵	۰/۰۵	۲/۹۷	۴۰۵/۷۶

این آزمایش مزرعه‌ای برای هر روش تکثیر گیاه شیرین بیان به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در ۵ تیمار شامل (۱) شاهد (بدون اعمال کود و باکتری محرک رشد؛ (۲) تلقیح با باکتری *Azotobacter chroococcum*؛ (۳) کود شیمیایی: ۱۰۰ درصد نیاز غذایی؛ (۴) ۵۰ درصد کود شیمیایی: کاربرد ۵۰ درصد نیاز غذایی گیاه و (۵) کاربرد ۵۰ درصد کود شیمیایی + تلقیح با باکتری؛ به اجرا در آمد. براساس منابع محدود در دسترس، نیاز غذایی شیرین بیان سالانه ۴۰ کیلوگرم نیتروژن (N) و ۴۰ کیلوگرم فسفر (P₂O₅) (داگار و همکاران ۲۰۱۵؛ لیو و همکاران ۲۰۲۰) و ۳۵ کیلوگرم K₂O (لیو و همکاران ۲۰۲۰) در هکتار بوده که سطوح ذکر شده مبنای اعمال سطح ۱۰۰ درصد کود شیمیایی برای این آزمایش بود. بر این اساس، مقدار نیتروژن مورد نیاز از منبع اوره به میزان ۸۷ کیلوگرم در هکتار و در تیمار ۵۰ درصد نصف این میزان به کار برده شد. سایر منابع نظیر فسفر به طور ثابت برای تیمارهای کود شیمیایی به کار رفت. فسفر و پتاسیم به ترتیب از منابع سوپرفسفات تریپل به میزان ۸۷ کیلوگرم و سولفات پتاسیم به میزان ۷۰ کیلوگرم در هکتار تأمین شد.

در این آزمایش جهت بررسی پتانسیل تولید گیاه شیرین بیان براساس روش‌های تکثیر جنسی و غیرجنسی، از روش تکثیر توسط بذر و ریزوم استفاده شد. در روش تکثیر گیاهان از طریق غیرجنسی، ریزوم‌های برداشت شده از منطقه‌ای در اطراف کرمان، به قطعه‌های ۱۵ سانتی‌متری حاوی حداقل دو جوانه تقسیم شده و در هر محل کاشت، دو قلمه ریزوم کشت شد. در روش تکثیر جنسی، بذرهای شیرین بیان (اکوتیپ ورزنه، استان اصفهان) تهیه شده از شرکت پاکان بذر اصفهان ابتدا با اتانول و محلول هیپوکلریت سدیم ۵ درصد ضدعفونی شده و سپس به منظور حذف پوسته سخت بذر، در اسید سولفوریک غلیظ (Merck،

۹۵-۹۷٪) به مدت ۶۰ دقیقه پیش‌تیمار شد (قنبری و همکاران، ۲۰۲۲). سپس بذرهای و ریشه‌های قطعه قطعه شده شیرین بیان در محلول تهیه شده مایه تلقیح باکتری ازتوباکتر به مدت دو ساعت خیسانده شد. مایه تلقیح (CFU ۱۰^۸-۱۰^۷g⁻¹) در بستر جامد به نسبت ۱۰ گرم در ۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر تهیه (سهندی و همکاران ۲۰۱۹) و جهت اطمینان از تأثیر، علاوه بر خیساندن قلمه‌های ریزوم و بذرهای قبل از کاشت، به ازای هر گیاه، میزان ۱۰ میلی لیتر از سوسپانسیون حاصل، در بستر کاشت اعمال شد. مایه تلقیح باکتری مورد استفاده از بخش تحقیقات شرکت زیست فناوری سبز، تهران، تهیه شد.

پس از آماده‌سازی اولیه بستر کاشت مزرعه، نصف کود اوره و کودهای فسفره و پتاسه قبل از کاشت در سطح مزرعه براساس مقادیر هر تیمار در کرت‌های مربوط پخش و با خاک مخلوط شد. مابقی کود اوره به صورت سرک ۵۰ روز پس از کاشت و در مرحله رشد سریع اعمال شد. در هر دو روش کاشت، تراکم شیرین بیان براساس ۵ بوته در مترمربع در ردیف‌هایی به فاصله ۵۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف ۴۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. بذرهای در عمق حدود ۲ سانتی‌متری و ریزوم‌ها در عمق ۱۵ سانتی‌متری کشت شدند.

پس از ظهور جوانه به منظور دستیابی به تراکم مورد نظر، بوته‌ها تنک شدند. مراقبت‌های مورد نیاز در طول دوره آزمایش برای تمام کرت‌ها به صورت یکسان انجام شد. علف‌های هرز نیز به صورت دستی در طول دوره آزمایش کنترل شد. آبیاری به صورت غرقابی و در ابتدا به منظور استقرار بهتر هر ۷ روز و سپس هر ۱۴ روز یکبار انجام شد.

برداشت در تاریخ نیمه آذر ۱۴۰۱ انجام شد. سطح برگ (LA) با استفاده از دستگاه تعیین سطح برگ (مدل WinArea_UT_11) اندازه‌گیری و سپس براساس سطح زمین پوشانده شده توسط گیاه به شاخص سطح برگ تبدیل شد. سپس ریشه‌ها و ریزوم‌ها با دقت شستشو

داده شده و تعداد ریزوم شمارش شده و طول ریزوم‌ها و ریشه تعیین و جهت تعیین عملکرد ریشه و ریزوم و عملکرد کل، ریزوم‌ها و ریشه‌ها وزن شدند.

کارایی زراعی کاربرد کود (AEF) برای ارزیابی کارایی مصرف کود نیتروژنه از رابطه زیر محاسبه شد:
 $AEF (kg\ kg^{-1}) = (Y_t - Y_0) / FN$

Y_t عملکرد ریشه (کیلوگرم در هکتار) به ازای مقدار معین کاربرد کود نیتروژنه (FN) در هر تیمار بر حسب کیلوگرم در هکتار و Y_0 عملکرد ریشه (کیلوگرم در هکتار) اندازه‌گیری شده در تیمار شاهد (بدون کاربرد کود و تلقیح با باکتری) (زو و همکاران ۲۰۱۲).

کارایی مصرف نیتروژن (NUE) برای هر تیمار براساس رابطه زیر با توجه به عملکرد ریشه تولید شده (RY) بر حسب تن در هکتار به ازای نیتروژن کل در واحد سطح (عنصر موجود در خاک و عنصر اضافه شده توسط کود اوره (TN)) بر حسب تن در هکتار مورد محاسبه قرار گرفت (قنبری و خواجویی نژاد ۲۰۲۲).

$$NUE = RY / TN$$

به منظور تعیین اختلاف آماری بین تیمارهای مورد بررسی، تجزیه واریانس داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SAS ver. 9.0 انجام شد. میانگین‌ها توسط

آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد ($P < 0.05$, LSD) مورد مقایسه قرار گرفت.

نتایج

ویژگی‌های مورفولوژیک اندام هوایی

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

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای تغذیه‌ای بر خصوصیات مورفولوژیک اندام هوایی، خصوصیات ریزوم و ریشه و عملکرد شیرین بیان

روش تکثیر	منابع تغییر	درجه آزادی	شاخص سطح برگ	وزن خشک اندام هوایی	تعداد ریزوم	طول ریزوم	وزن هر ریزوم	طول ریشه	عملکرد ریزوم	عملکرد ریشه	عملکرد کل (ریزوم و ریشه)	کارایی مصرف نیتروژن
ریزوم بلوک	۲	۰/۰۰۵۱	۴۱/۹	۰/۷۴	۶۵/۱	۸/۷۰	۱۶۹	۴/۴۵	۱۱/۴	۱۵/۱	۱/۰۵	
تیمار تغذیه	۴	۰/۰۲۵۳**	۴۳۲/۴*	۶/۹۹*	۱۴۰۹*	۵۵۷/۶**	۱۷۸ ^{ns}	۱۹۱/۶**	۴۷/۶*	۲۶۲/۵*	۱۸/۱۸*	
خطا	۸	۰/۰۰۳۷	۱۱۰/۴	۱/۵۶	۳۲۳	۵۴/۹	۳۲۰	۲۰/۶۹	۱۰/۷	۴۲/۳	۲/۹۴	
ضریب تغییرات (%)	-	۲۳/۱	۲۷/۴	۱۳/۹	۲۶/۸	۲۵/۹	۱۹/۳	۳۵/۲	۲۹/۷	۲۷/۲	۲۷/۱	
بذر بلوک	۲	۰/۰۰۰۳۰	۱/۸۹	۰/۵۲	۱/۳۶	۱/۷۹	۷۶/۳	۰/۰۱۲	۰/۱۴۴	۰/۲۴۶	۰/۰۱۷	
تیمار تغذیه	۴	۰/۰۰۰۹۴**	۶/۱۹*	۱/۷۳*	۵۲۱*	۶/۱۰*	۶۴/۲ ^{ns}	۰/۰۹۹*	۰/۵۱۰**	۰/۹۵۴*	۰/۰۶۵*	
خطا	۸	۰/۰۰۰۰۸	۱/۴۳	۰/۴۳	۹۰/۵	۰/۹۹	۶۴/۷	۰/۰۲۳	۰/۰۶۷	۰/۱۴۳	۰/۰۱۰	
ضریب تغییرات (%)	-	۱۳/۷	۲۷/۷	۲۳/۸	۲۸/۵	۲۱/۴	۱۹/۹	۲۶/۷	۱۹/۶	۲۰/۰	۲۰/۰	

*: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد، *: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و ^{ns}: غیر معنی‌دار است.

خصوصیات مورفولوژیک ریزوم و ریشه

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در حالی که تعداد و طول ریزوم در هر دو روش تکثیر تحت تأثیر مدیریت تغذیه قرار گرفت، اعمال تیمارهای تغذیه ای اثر معنی داری بر طول ریشه در گیاهان شیرین بیان حاصل از بذر و ریزوم نداشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در بوته‌های حاصل از ریزوم، بیشترین تعداد ریزوم (حدود ۱۰ ریزوم در بوته) از کاربرد تیمارهای باکتری + ۵۰ درصد کوددهی و

کوددهی ۵۰ درصد حاصل شد که تفاوت معنی داری با ۱۰۰ درصد کوددهی و شاهد نشان نداده و تنها نسبت به تلقیح با باکتری (۶/۷ ریزوم در بوته)، تفاوت معنی داری در تعداد ریزوم نشان دادند. از طرف دیگر، بیشترین میانگین طول ریزوم (۹۶/۸ سانتی‌متر) نیز در تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری مشاهده شد که با تیمارهای ۱۰۰ درصد کوددهی (۷۹/۷ سانتی‌متر) و تلقیح با باکتری (۶۵/۵ سانتی‌متر) تفاوت معنی داری نشان نداد (جدول ۴).

جدول ۳- اثر تیمارهای مختلف تغذیه بر ویژگی‌های اندام هوایی شیرین بیان تولید شده از طریق ریزوم و بذر

روش تکثیر	تیمار	شاخص سطح برگ	وزن خشک اندام هوایی (g.plant ⁻¹)
ریزوم	شاهد	۰/۱۴۱ ^c	۲۳/۵ ^c
	باکتری	۰/۲۳۵ ^{bc}	۴۴/۰ ^{ab}
	۵۰ درصد کوددهی	۰/۲۵۸ ^b	۳۱/۴ ^{bc}
	۵۰ درصد کوددهی+باکتری	۰/۳۹۵ ^a	۵۵/۰ ^a
	۱۰۰ درصد کوددهی	۰/۲۸۵ ^{ab}	۳۷/۵ ^{abc}
بذر	شاهد	۰/۰۳۳ ^b	۲/۱۰ ^b
	باکتری	۰/۰۶۹ ^a	۴/۶۹ ^a
	۵۰ درصد کوددهی	۰/۰۶۵ ^a	۳/۸۱ ^{ab}
	۵۰ درصد کوددهی+باکتری	۰/۰۷۱ ^a	۵/۱۸ ^a
	۱۰۰ درصد کوددهی	۰/۰۷۹ ^a	۵/۸۰ ^a

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 معنی دار براساس آزمون حداقل تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج درصد می‌باشند (LSD, $P \leq 0.05$).

به شاهد ۱۹۱ درصد طول ریشه را افزایش داد (جدول ۴).

متأثر از مشاهدات فوق و به دلیل افزایش در طول ریزوم، وزن هر ریزوم در گیاهان حاصل از ریزوم از تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری (۵۰/۳ گرم) و در گیاهان حاصل از بذر (۶/۱۶ گرم) از تیمار تلقیح با باکتری حاصل شد.

عملکرد و کارایی مصرف نیتروژن

نتایج تجزیه واریانس بیانگر اثر معنی دار تیمارهای تغذیه‌ای بر عملکرد ریزوم، ریشه و عملکرد کل بود (جدول ۲). همان‌طور که از نتایج خصوصیات ریزوم

در گیاهان حاصل از بذر، کاربرد تیمارهای تغذیه ای منجر به بهبود تعداد و طول ریزوم نسبت به شاهد شد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، بیشترین تعداد ریزوم از کاربرد تیمارهای ۱۰۰ درصد کوددهی، ۵۰ درصد کوددهی و ۵۰ درصد کوددهی+باکتری (به ترتیب با ۳/۵، ۳/۲۳ و ۳ ریزوم در بوته) حاصل شد که با شاهد اختلاف آماری معنی داری نشان داد. بیشترین طول ریزوم از تیمار تلقیح با باکتری (۵۰/۳ سانتی‌متر) حاصل شد که از نظر آماری با تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری (۴۰ سانتی‌متر) و ۱۰۰ درصد کوددهی (۳۵ سانتی‌متر) اختلاف معنی داری نشان نداد اما نسبت

انتظار می‌رفت، بیشترین عملکرد ریزوم در گیاهان حاصل از ریزوم با ۲۶ تن در هکتار از اعمال تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری حاصل شد که با سایر تیمارهای مورد بررسی و شاهد اختلاف معنی‌داری نشان داد. در مقابل، اعمال تمام تیمارهای تغذیه‌ای عملکرد ریشه (بین ۱۱ تا ۱۵ تن در هکتار) را نسبت به

شاهد (۴/۵ تن در هکتار) به طور معنی‌داری افزایش داد. اما در مجموع، عملکرد کل تنها با اعمال تیمار ۵۰ درصد کود شیمیایی+باکتری افزایش یافت و اعمال سایر تیمارهای تغذیه‌ای تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان نداد (جدول ۴).

جدول ۴- اثر تیمارهای مختلف تغذیه بر ویژگی‌های ریشه و ریزوم، عملکرد و کارایی مصرف نیتروژن شیرین بیان تولید شده از طریق ریزوم و بذر

روش تکثیر	تیمار	تعداد ریزوم در بوته	طول ریزوم (cm)	وزن هر ریزوم (g)	طول ریشه (cm)	عملکرد (ton.ha ⁻¹)			کارایی مصرف نیتروژن
						ریزوم	ریشه	کل	
ریزوم	شاهد	۸/۵۰ ^{ab}	۴۷/۸ ^{bc}	۲۲/۹ ^{bc}	۸۵/۸	۹/۷۱ ^b	۴/۴۶ ^b	۱۴/۲ ^b	۳/۷۶ ^b
	باکتری	۶/۷۲ ^b	۶۵/۵ ^{abc}	۲۵/۲ ^{bc}	۹۴/۸	۸/۴۵ ^b	۱۵/۲ ^a	۲۳/۷ ^b	۶/۲۸ ^b
	۵۰ درصد کوددهی	۱۰/۰ ^a	۴۵/۷ ^c	۱۳/۷ ^c	۸۳/۶	۶/۲۵ ^b	۱۱/۹ ^a	۱۸/۲ ^b	۴/۷۹ ^b
	۵۰ درصد کوددهی+باکتری	۱۰/۷ ^a	۹۶/۸ ^a	۵۰/۳ ^a	۱۰۰/۳	۲۶/۳ ^a	۱۲/۴ ^a	۳۸/۸ ^a	۱۰/۲ ^a
	۱۰۰ درصد کوددهی	۹/۰۰ ^{ab}	۷۹/۷ ^{ab}	۳۰/۹ ^b	۹۹/۳	۱۳/۸ ^b	۱۱/۱ ^a	۲۴/۹ ^b	۶/۵۴ ^b
بذر	شاهد	۱/۶۷ ^b	۱۷/۳ ^c	۵/۶۵ ^a	۳۴/۷	۰/۴۱ ^c	۰/۶۸ ^c	۱/۰۸ ^c	۰/۲۸۷ ^c
	باکتری	۲/۳۳ ^{ab}	۵۰/۳ ^a	۶/۱۶ ^a	۳۹/۷	۰/۷۲ ^{ab}	۱/۴۲ ^{ab}	۲/۱۴ ^{ab}	۰/۵۶۷ ^{ab}
	۵۰ درصد کوددهی	۳/۳۳ ^a	۲۳/۵ ^{bc}	۲/۸۱ ^c	۳۷/۳	۰/۴۲ ^c	۱/۲۳ ^b	۱/۶۵ ^{bc}	۰/۴۳۶ ^{bc}
	۵۰ درصد کوددهی+باکتری	۳/۰۰ ^a	۴۰/۳ ^{ab}	۳/۵۳ ^{bc}	۴۴/۵	۰/۵۰ ^{bc}	۱/۵۱ ^{ab}	۲/۰۰ ^{ab}	۰/۵۲۹ ^{ab}
	۱۰۰ درصد کوددهی	۳/۵۰ ^a	۳۵/۳ ^{ab}	۵/۰۹ ^{ab}	۴۵/۵	۰/۸۱ ^a	۱/۷۸ ^a	۲/۵۹ ^a	۰/۶۸۰ ^a

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≤ 0.05).

در گیاهان حاصل از بذر، بیشترین عملکرد ریزوم از ۱۰۰ درصد کوددهی شیمیایی (۰/۸۱ تن در هکتار) حاصل شد که با تیمار تلقیح با باکتری (۰/۷۲ تن در هکتار) اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد. به طور مشابه بیشترین عملکرد ریشه نیز از اعمال ۱۰۰ درصد کوددهی با عملکرد ریشه ۱/۷۱ تن در هکتار حاصل شد که با تیمارهای ۵۰ درصد کوددهی+باکتری و تلقیح با باکتری (به ترتیب با ۱/۵۱ و ۱/۴۲ تن در هکتار) اختلاف آماری معنی‌داری نشان نداد و به طور کلی منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد کل (ریزوم و ریشه) در تیمارهای مذکور (به ترتیب ۲/۵۹، ۲/۱۴ و ۲ تن در هکتار) نسبت به شاهد (۱/۰۸ تن در هکتار) شد (جدول ۴).

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که کارایی مصرف نیتروژن در هر دو روش تکثیر، در سطح احتمال ۵ درصد تحت تأثیر تیمارهای مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). در گیاهان حاصل از ریزوم، بیشترین کارایی مصرف نیتروژن از تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری حاصل شد و سایر تیمارهای تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان ندادند و اثر معنی‌داری در تغییر کارایی مصرف نیتروژن نداشتند. در گیاهان حاصل از بذر، اعمال تیمارهای ۱۰۰ درصد کود شیمیایی، ۵۰ درصد کود شیمیایی+باکتری و تلقیح با باکتری منجر به افزایش کارایی مصرف نیتروژن نسبت به شاهد شدند. اعمال ۵۰ درصد کوددهی نیز تفاوتی با تیمارهای باکتری و شاهد نشان نداد (جدول ۴).

کارایی زراعی مصرف کود نیتروژن

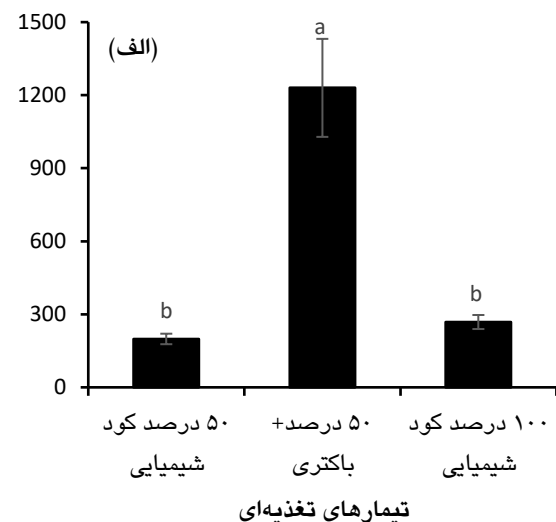
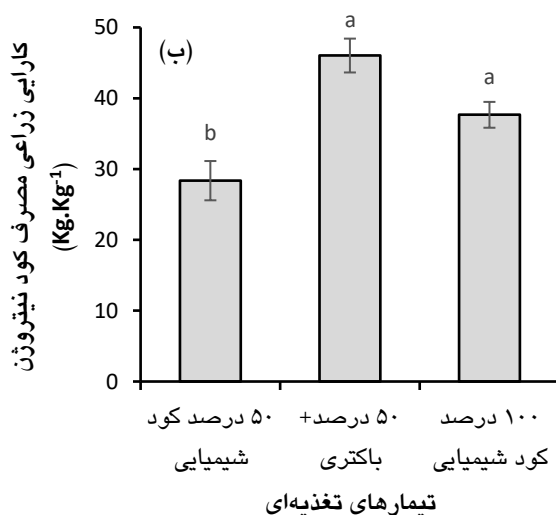
نتایج تجزیه واریانس حاصل از بررسی کارایی مصرف کود نیتروژن نشان داد که تیمارهای مورد بررسی در گیاهان حاصل از هر دو روش تکثیر، اثر معنی‌داری بر این ویژگی نشان دادند (جدول ۵). با توجه به تاثیر قابل توجه تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری در گیاهان حاصل از ریزوم، در تولید ریزوم و ریشه، این تیمار از بیشترین کارایی مصرف کود نیتروژن برخوردار بود و تفاوت چند برابری در بهبود کارایی

مصرف کود نیتروژن با سطوح ۱۰۰ درصد و ۵۰ درصد کوددهی نشان داد. بین سطوح ۱۰۰ درصد و ۵۰ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱-الف). این در حالی بود که در گیاهان حاصل از بذر با وجود افزایش ۶۲ درصدی کارایی مصرف کود نیتروژن در تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری نسبت به سطح ۵۰ درصد کوددهی، تفاوت معنی‌داری بین این تیمار و اعمال ۱۰۰ درصد کود مشاهده نشد (شکل ۱-ب).

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای تغذیه‌ای بر کارایی مصرف کود نیتروژن در شیرین بیان حاصل از بذر و ریزوم

منابع تغییر	درجه آزادی	کارایی مصرف کود نیتروژن	
		ریزوم	بذر
بلوک	۲	۳۴۸۹۳	۱۷/۰
تیمار تغذیه	۲	۹۹۶۶۰**	۲۳۴/۳*
خطا	۴	۴۵۲۹۵	۱۶/۶
ضرب تغییرات	-	۳۷/۶	۱۰/۹

*: معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد و **: معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد است.



شکل ۱- کارایی مصرف کود نیتروژن تحت تأثیر تیمارهای مختلف تغذیه در شیرین بیان حاصل از ریزوم (الف) و بذر (ب).

با رشد و عملکرد بود. گیاهان حاصل از ریزوم افزایش ۴ برابری شاخص سطح برگ، ۹ برابری وزن خشک اندام هوایی، ۳ برابری تعداد ریزوم، ۲ برابری در طول ریزوم، ۶ برابری در وزن هر ریزوم، ۲/۳ برابری در طول ریشه، ۲۳ برابری در عملکرد ریزوم، ۸ برابری در

بحث

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 به خصوص صفات مرتبط

عملکرد ریشه، ۱۳ برابری در عملکرد کل، و درنهایت افزایش حدود ۱۳ برابری در کارایی مصرف نیتروژن 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 مقایسه‌ای 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 مورد بررسی است. گیاهچه‌های حاصل از ریزوم از قدرت ظهور و رشد اولیه بالاتر و همچنین رشد سریعتر در سال اول برخوردار بوده و با تشکیل برگ‌های مرکب، سطح برگ را به سرعت گسترش داده و منجر به ایجاد تفاوت قابل ملاحظه در بیومس اندام هوایی و ریشه در سال اول کاشت، می‌شود. 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 (کارکانیس و همکاران ۲۰۱۸). با این وجود، میزان تولید ریشه و خصوصیات مختلف رشد به خصوص در سال‌های ابتدایی رشد بررسی نشده است.

اثر بر ویژگی‌های ریشی و فتوسنتزی

در گیاهان حاصل از ریزوم، بهترین نتایج برای وزن خشک اندام هوایی از کاربرد ۵۰ درصد کود+باکتری حاصل شد که با تیمار ۱۰۰ درصد کوددهی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در گیاهان حاصل از بذر نیز نتایج مشابهی مشاهده شد (جدول ۳). افزایش سطح برگ در بوته و در نتیجه شاخص سطح برگ با اعمال تیمارهای ۱۰۰ درصد کوددهی و ۵۰ درصد کوددهی+باکتری می‌تواند از دلایل افزایش در وزن خشک گیاهان باشد. سطح برگ یکی از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر عملکرد فتوسنتزی و تجمع محصولات فتوسنتزی توسط گیاه است (موسوی و همکاران ۲۰۲۲). 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 (جدول

۳). ازتوباکتر با افزایش جذب مواد مغذی، تولید فیتوهورمون‌ها یا کاهش سطح اتیلن گیاهی به طور مستقیم به رشد گیاه کمک می‌کند. یکی از فرآیندهای کلیدی که توسط آن باکتری‌ها بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارند، تولید اکسین توسط این میکروارگانیسم‌هاست (آسفار و همکاران ۲۰۲۱).

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 (رومرو-پردومو و همکاران ۲۰۱۷). نتایج مطالعه دیگری که به نقش تلقیح با باکتری‌های محرک‌های مختلف رشد شامل (*Paenibacillus polymyxa* و *Pantoea agglomerans*) و قارچ میکوریزا (*Funneliformis mosseae*) در کاهش دوز نیتروژن کاربردی به ۷۵ و ۵۰ درصد پرداخته بود، نشان داد که ارتفاع بوته، دور ساقه، زیست‌توده خشک اندام هوایی و عملکرد لوبیا در ۷۵ درصد اعمال کودها و تلقیح میکروبی بالاتر است و از نظر آماری با تیمار ۱۰۰ NPK تفاوتی نشان نداد، که نشان می‌دهد که کاربرد کودهای شیمیایی برای کشت لوبیا فرانسوی را می‌توان تا ۲۵ کاهش داد (چاهان و بای‌اراج ۲۰۱۵). تلقیح بذر گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) با قارچ میکوریزا و سویه‌های مختلف ازتوباکتر، 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 (حسین زاده و همکاران ۲۰۱۱). همچنین 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

و آزوسپیریلوم گزارش شده است (حسین زاده و همکاران ۲۰۱۱). در این راستا، نتایج مطالعه‌ای نشان داد که تلقیح گیاه با *Azospirillum brasilense* تلقیح شده و با ۳۰ یا ۶۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار و گیاهان تلقیح شده با *Pseudomonas* sp. و در شرایط کاربرد ۱۲۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار، بهترین نتایج را از نظر صفات مختلف رشد گیاه کاهو، عملکرد و درصد ماده خشک نشان داد (کانسنتینو و همکاران ۲۰۲۲).

کارایی مصرف عناصر و کود نیتروژنه

تأمین نیتروژن یک روش بنیادی زراعی برای تضمین رشد، نمو و عملکرد هر گیاه است. با این حال، کاربرد نادرست نیتروژن می‌تواند عواقب مضر محیطی را به همراه داشته باشد. یک روش زراعی برای رویارویی با این چالش، استفاده از محرک‌های زیستی، از جمله باکتری‌های محرک رشد گیاه است که حتی در بسیاری مطالعات برای جایگزینی کودهای شیمیایی پیشنهاد شده است (رومرو-پردومو و همکاران ۲۰۱۷؛ نوشین و همکاران ۲۰۱۹؛ آسفار و همکاران ۲۰۲۱؛ کانسنتینو و همکاران ۲۰۲۲).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بهبود در عملکرد ریشه شیرین بیان توسط تیمارهای مذکور مهم‌ترین عامل بهبود کارایی مصرف عناصر و همچنین کارایی مصرف کود نیتروژنه بود (جدول ۴ و شکل ۱). در این راستا، نتایج مطالعه‌ای نشان داد که تلقیح گیاه با *A. brasilense* در ترکیب با دوزهای کاهش یافته ۳۰ یا ۶۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار منجر به حصول بالاترین کارایی مصرف نیتروژن شد که بر اهمیت باکتری‌های محرک رشد در بهبود شاخص‌های تغذیه نیتروژن برای غلبه بر محدودیت‌های رشد گیاه در شرایط محدودیت تأمین عناصر تأکید داشت (کانسنتینو و همکاران ۲۰۲۲). مشاهدات مطالعات دیگر نیز قویاً نشان می‌دهد که تلقیح با ازتوباکتر تا حدی جایگزین دوزهای کودهای نیتروژن شده است، به این معنی که کاهش میزان کاربرد اوره به نصف مقدار، با اعمال تیمارهای بیولوژیکی امکان‌پذیر است. در نتیجه می‌تواند کارایی مصرف نیتروژن و کارایی کاربرد کودهای نیتروژنه را افزایش دهد (رومرو-پردومو و همکاران ۲۰۱۷).

هماره نیمی از کود NP در افزایش محتوای روغن دانه مؤثر بودند (نوشین و همکاران ۲۰۱۹).

خصوصیات و عملکرد ریشه

همان‌طور که انتظار می‌رفت، برتری تیمارهای ۵۰ درصد کوددهی+باکتری و ۱۰۰ درصد کوددهی در بهبود تعداد، طول و وزن هر ریزوم در گیاهان حاصل از بذر و ریزوم نیز مشاهده شد. همچنین تلقیح بذر شیرین بیان با باکتری به تنهایی نیز منجر به بهبود قابل توجه طول ریزوم شد (جدول ۴). به طور مشابه، افزایش طول ریشه در پنبه تحت کوددهی ۱۰۰ درصد اوره و پس از آن با کاربرد میزان کاهش یافته اوره همراه با تلقیح با باکتری ازتوباکتر گزارش شده است (رومرو-پردومو و همکاران ۲۰۱۷).

این تغییرات در خصوصیات ریزوم و ریشه منجر به بهبود عملکرد ریزوم، ریشه و عملکرد کل شده است (جدول ۴). تاجدینو (۲۰۲۱) با مطالعه تولید شیرین بیان از طریق بذر، مزایای کاربرد محرک‌های زیستی مختلف را در ترکیب با کودهای معدنی بر جوانه‌زنی بذر، تجمع زیست‌توده، و عملکرد ریشه گزارش کرد. بالاترین عملکرد ریشه (۱۲/۶ تن در هکتار) در کوددهی $N_{100}P_{140}K_{80}$ به دست آمد که به طور قابل توجهی بالاتر از سایر سطوح اعمال کود معدنی بود (نقل از منبع خایتوف و همکاران ۲۰۲۲). همسو با نتایج حاصل از این مطالعه، موسوی و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که تلقیح باکتریایی عملکرد ریشه شیرین بیان را به طور معنی‌داری افزایش داد. همچنین، اخیراً برهمکنش بین ریزوبیا و سودوموناس در شیرین بیان رشد در خاک گلدان ارزیابی و افزایش زیست توده، تعداد گره‌ها و محتوای نیتروژن گیاه پس از تلقیح ترکیبی مشاهده و گزارش شده است (اگامبردیو و همکاران ۲۰۱۷). اثر *Pseudomonas extremorientalis* TSAU20 همراه با سویه‌های *Mesorhizobium* sp. عملکرد و محتوای نیتروژن در اندام هوایی و ریشه را بهبود دادند (اگامبردیو و همکاران ۲۰۱۶). همچنین بهبود خصوصیات رشد ریشه در گل همیشه بهار (*Calendula officinalis* L.) در تلقیح بذر با قارچ میکوریزا و سویه‌های مختلف ازتوباکتر، سودوموناس

اخیراً برهمکنش بین باکتری‌های ریزوبیوم و سودوموناس بر رشد شیرین بیان در خاک گلدان ارزیابی و افزایش زیست توده، تعداد گره‌ها و محتوای نیتروژن گیاه پس از تلقیح ترکیبی مشاهده و گزارش شده است (اگامبردیوا و همکاران ۲۰۱۷). اثر *P. extremorientalis* TSAU20 همراه با سویه‌های *Mesorhizobium* sp. عملکرد و محتوای نیتروژن در اندام هوایی و ریشه را بهبود دادند. این مطالعات تایید کرد که تلقیح با ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه می‌تواند رویکرد جدیدی برای بهبود تغذیه نیتروژن شیرین بیان در شرایط تنش شوری باشد (اگامبردیوا و همکاران ۲۰۱۶).

اثرات بهبود تغذیه نیتروژن ناشی از تلقیح مزوریزوبیوم (*Mesorhizobium tianshanense*) هم در محتوای نیتروژن اندام هوایی و هم ریشه در مقایسه با گیاهان غیر تلقیح شده تحت تنش خشکی نیز مشاهده شد (هائو و همکاران ۲۰۱۹) که نقش مؤثر این میکروارگانیسم‌ها را در بهبود تغذیه و تولید گیاه و بهره‌برداری مناسب‌تر از منابع تغذیه‌ای را نشان می‌دهد.

در مطالعه حاضر، تلقیح بذره‌های شیرین بیان نیز اگرچه در تیمار ۵۰ درصد کوددهی+باکتری بهترین نتایج را به همراه داشت، اما کارایی مصرف نیتروژن در تیمار ۱۰۰ درصد کودهای شیمیایی نیز قابل توجه بود و کاهش معنی‌داری نشان نداد (شکل ۱). در این مطالعه میزان کودهای نیتروژنه کاربردی براساس منابع مورد بررسی، مقدار زیادی در نظر گرفته نشده و این می‌تواند یکی از دلایل کارایی بالای تیمار ۱۰۰ درصد کود شیمیایی باشد. از طرف دیگر، اثر بهبود دهندگی این تیمار در افزایش عملکرد اقتصادی گیاه نیز یکی از دلایل مهم دیگر در افزایش کارایی مصرف عناصر و افزایش کارایی مصرف کود نیتروژنه در این مطالعه بود (جدول ۴ و شکل ۱-ب). در همین خصوص گزارش شده که بالاترین عملکرد ریشه (۱۲/۶ 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 خایتوف و همکاران، ۲۰۲۲). کارایی ریزوباکتری‌های

محرک رشد گیاه (PGPR) در بهبود مصرف کودهای نیتروژن و فسفات (NP) تا ۵۰ درصد، توسط کاربرد آزوسپیریلوم و ازتوباکتر برای تلقیح بذر در کنجد نشان داده شده است (نوشین و همکاران ۲۰۱۹) که بهره‌وری بالاتر را در این گیاه نیز به همراه داشته است. علاوه بر این، 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 یافته‌ها نشان می‌دهد که تلقیح با 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 (رومرو-پردومو و همکاران ۲۰۱۷).

با هدف بررسی امکان کاهش مصرف کودهای شیمیایی 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.)، نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که ۵۰ درصد از کود NPK توصیه شده را می‌توان از طریق تلقیح میکروبی کاهش داد، بدون اینکه تأثیر نامطلوبی بر رشد، تغذیه و عملکرد گیاه داشته باشد که به نوبه خود باعث افزایش کارایی مصرف عناصر، بهبود سلامت خاک و کاهش آلودگی محیط زیست می‌شود (تیلاگر و همکاران ۲۰۱۶). همچنین کاربرد باکتری‌های محرک رشد در کشت مخلوط شوید و شنبلیله، در تلفیق با ۵۰ درصد کوددهی آلی، تفاوت معنی‌داری با کاربرد ۱۰۰ درصد کود آلی نشان نداد که منجر به افزایش کارایی کود آلی و افزایش کارایی مصرف نیتروژن و سودمندی سیستم کشت شد (باباخانی و همکاران، ۲۰۲۲). به طور مشابه، تلقیح باکتریایی در شرایط کاهش کوددهی شیمیایی به میزان ۵۰ درصد، کارایی زراعی کود را به خصوص در سیستم تک‌کشتی شنبلیله در مقایسه با سیستم‌های مختلف کشت شنبلیله-سیاهدانه افزایش داد (خنامانی و همکاران، ۲۰۲۲). همچنین، تلقیح خاک با PGPR در شرایط

۱۰۰ درصد کوددهی و ۵۰ درصد کوددهی+باکتری از کارایی بالایی در بهبود خصوصیات رشد ریشی برخوردار بوده که منجر به بهبود در خصوصیات ریزوم و عملکرد نهایی شد. همچنین این نتایج نشان دهنده این است که تلقیح مشترک باکتری محرک رشد ازتوباکتر می‌تواند حداقل ۵۰ درصد کوددهی اوره را بدون کاهش رشد و عملکرد در تولید شیرین بیان، کاهش دهد و منجر به افزایش کارایی مصرف نیتروژن و بهبود کارایی مصرف کود نیتروژن شود. این مطالعه نقطه شروعی را برای تحقیقات آینده فراهم می‌کند که در آن بتوان از روش‌های تغذیه آلی و زیستی در جهت تولید پایدار این گیاه ارزشمند بهره برد.

سپاسگزاری

هزینه اجرای این پژوهش از محل طرح شماره ۷۴۱۴/۰۱، مصوب پژوهشکده فناوری تولیدات گیاهی، پژوهشگاه افصلی‌پور، دانشگاه شهید باهنر کرمان تأمین شده است که بدین‌وسیله قدردانی به عمل می‌آید.

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 (پانگفو-لانگهین و همکاران ۲۰۱۹).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که علی‌رغم اینکه شیرین بیان گیاهی کم‌توقع با نیاز غذایی پایین است اما به طور قابل ملاحظه‌ای نسبت به بهبود شرایط شیمیایی و بیولوژیکی خاک واکنش داده و تولید را افزایش می‌دهد. همان‌طور که در نتایج مشاهده شد، شیرین بیان حاصل از ریزوم در سال اول رشد در صفات مختلف رشد و عملکرد افزایش چند برابری نسبت به شیرین بیان حاصل از بذر نشان داد. این می‌تواند در فرایند تولید گیاهان در شرایط مختلف، براساس جوانب مختلف اقتصادی یا بوم‌سازگار (مانند برداشت برای تأمین ریزوم مورد نیاز کاشت از منابع طبیعی) مد نظر قرار گیرد. در گیاهان حاصل از هر دو روش، اعمال تیمارهای

منابع مورد استفاده

- Aasfar A, Bargaz A, Yaakoubi K, Hilali A, Bennis I, Zeroual Y and Meftah Kadmiri I. 2021. Nitrogen fixing Azotobacter species as potential soil biological enhancers for crop nutrition and yield stability. *Frontiers in Microbiology*, 12: 354. <http://doi.org/10.3389/fmicb.2021.628379>
- Babakhani V, Tohidi-Nejad E, Khajoei-Nejad G and 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. (In Persian with English Abstract). <http://doi.org/10.22034/saps.2022.48673.2759>
- Bindrabab PS, Dimkpa C, Nagarajan L, Roy A and Rabbinge R. 2015. Revisiting fertilisers and fertilisation strategies for improved nutrient uptake by plants. *Biology and Fertility of Soils*, 51: 897-911. <http://doi.org/10.1007/s00374-015-1039-7>
- Chauhan H and Bagyaraj DJ. 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. <http://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.10.001>
- Consentino BB, Aprile S, Rouphael Y, Ntatsi G, De Pasquale C, Iapichino G, Alibrandi P and 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: 236. <http://doi.org/10.3390/agronomy12020236>
- Dagar JC, Yadav RK, Dar SR and Ahamad S. 2015. Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): a potential salt-tolerant, highly remunerative medicinal crop for remediation of alkali soils. *Current Science*, 108: 1683-1688.
- Egamberdieva D, Li L, Lindström K and Räsänen LA. 2016. A synergistic interaction between salt-tolerant

- Pseudomonas and Mesorhizobium strains improves growth and symbiotic performance of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fish.) under salt stress. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100: 2829–2841. <http://doi.org/10.1007/s00253-015-7147-3>
- Egamberdieva D, Wirth S, Li L, Abd-Allah EF and Lindström K. 2017. Microbial cooperation in the rhizosphere improves liquorice growth under salt stress. *Bioengineered* 8: 433–438. <http://doi.org/10.1080/21655979.2016.1250983>
- Ghadiri H and Bagherani TN. 2000. Effects of scarification and temperature on germination of licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) seeds. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2: 257–262.
- Ghanbari J, Besharati-Far M and 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. (In Persian with English Abstract). <http://doi.org/10.22059/jci.2021.328615.2595>
- Ghanbari J and Khajoei-Nejad G. 2022. Relationships between growth indices, dry matter production, and nutrient use efficiency in saffron: Integrative effect of mycorrhizal inoculation and nutrient resources. *Journal of Plant Nutrition*, 45: 2077–2095. <http://doi.org/10.1080/01904167.2022.2063138>
- Hao Z, Xie W, Jiang X, Wu Z, Zhang X and Chen B. 2019. Arbuscular mycorrhizal fungus improves rhizobium–glycyrrhiza seedling symbiosis under drought stress. *Agronomy*, 9: 572. <https://doi.org/10.3390/agronomy9100572>
- Hayashi H and Sudo H. 2009. Economic importance of licorice. *Plant Biotechnology*, 26: 101–104. <http://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.26.101>
- Hosseinzadah F, Satei A and Ramezanpour MR. 2011. Effects of mycorrhiza and plant growth promoting rhizobacteria on growth, nutrients uptake and physiological characteristics in *Calendula officinalis* L. *Middle East Journal of Scientific Research*, 8: 947–953.
- Karkanis A, Martins N, Petropoulos SA and Ferreira ICFR. 2018. Phytochemical composition, health effects, and crop management of liquorice (*Glycyrrhiza glabra* L.): A medicinal plant. *Food Reviews International*, 34: 182–203. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1261300>
- Khanamani A, Tohidi-Nejad E, Khajoei-Nejad G and 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. (In Persian with English Abstract). <http://doi.org/10.22059/jci.2022.336635.2661>
- Khaitov B, Karimov A, Khaitbaeva J, Sindarov O, Karimov A and 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). <http://doi.org/10.3390/ijerph191811770>
- Kordi S, Salmasi SZ, Kolvanagh JS, Weisany W and Shannon DA. 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>
- Kraiser T, Gras DE, Gutiérrez AG, Gonzalez B and Gutiérrez RA. 2011. A holistic view of nitrogen acquisition in plants. *Journal of Experimental Botany*, 62: 1455–1466. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq425>
- Lescouret F, Magda D, Richard G, Adam-Blondon A-F, Bardy M, Baudry J, Doussan I, Dumont B, Lefèvre F, Litrico I, Martin-Clouaire R, Montuelle B, Pellerin S, Plantegenest M, Tancoigne E, Thomas A, Guyomard H and Soussana J-F. 2015. A social–ecological approach to managing multiple agro-ecosystem services. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 14: 68–75. <http://doi.org/10.1016/j.cosust.2015.04.001>
- Liu J, Wu L, Wei S, Xiao X, Su C, Jiang P, Song Z, Wang T and Yu Z. 2007. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, nutrient uptake and glycyrrhizin production of licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulation*, 52: 29–39. <https://doi.org/10.1007/s10725-007-9174-2>
- Liu Y, Li Y, Luo W, Liu S, Chen W, Chen C, Jiao S, 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:

- 61–79. <http://doi.org/10.1007/s11104-020-04692-0>
- Mambetnazarov AB, Aybergenov BA, Kurbaniyazova BJ, Jumatova RM, Turimbetov MS, Sabirova MG and 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. IOP Publishing, p 32102. <http://doi.org/10.1088/1755-1315/937/3/032102>
- Mao P-S, Wang Y-H, Wang X-G, Lian J-J and Huang Y. 2008. Conditions and stimulation for germination in *Glycyrrhiza uralensis* fisch seeds. *Agricultural Sciences in China*, 7: 1438–1444. [http://doi.org/10.1016/S1671-2927\(08\)60400-9](http://doi.org/10.1016/S1671-2927(08)60400-9)
- Mousavi SS, Karami A, Saharkhiz MJ, Etemadi M and Zarshenas MM. 2022a. Evaluation of metabolites in Iranian Licorice accessions under salinity stress and *Azotobacter* sp. inoculation. *Scientific Reports*, 12: 15837. <http://doi.org/10.1038/s41598-022-20366-6>
- Mousavi SS, Karami A, Saharkhiz MJ, Etemadi M and Ravanbakhsh M. 2022b. Microbial amelioration of salinity stress in endangered accessions of Iranian licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.). *BMC plant biology*, 22: 322. <http://doi.org/10.1186/s12870-022-03703-9>
- Mousavi SS, Karami A and Maggi F. 2022c. Photosynthesis and chlorophyll fluorescence of Iranian licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) accessions under salinity stress. *Frontiers in Plant Science*, 13: 984944. <http://doi.org/10.3389/fpls.2022.984944>
- Nosheen A, Bano A, Naz R, Yasmin H, Hussain I, Ullah F, Keyani R, Hassan MN and Tahir AT. 2019. Nutritional value of *Sesamum indicum* L. was improved by *Azospirillum* and *Azotobacter* under low input of NP fertilizers. *BMC plant biology*, 19: 466. <http://doi.org/10.1186/s12870-019-2077-3>
- Paungfoo-Lonhienne C, Redding M, Pratt C and Wang W. 2019. Plant growth promoting rhizobacteria increase the efficiency of fertilisers while reducing nitrogen loss. *Journal of Environmental Management*, 233: 337–341. <http://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.12.052>
- Romero-Perdomo F, Abril J, Camelo M, Moreno-Galván A, Pastrana I, Rojas-Tapias DF and 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: 377–383. <http://doi.org/10.1016/j.ram.2017.04.006>
- Sahandi MS, Mehrafarin A, Badi HN, Khalighi-Sigaroodi F and 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. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111777>
- Sarikhani MR and Amini R. 2020. Biofertilizer in Sustainable Agriculture: Review on the Researches of Biofertilizers in Iran. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 30(1): 329-365.
- Tajetdinov N. 2021. Development of Agrotechnology for Growing Naked Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) from Seeds on Meadow-alluvial Soils of the Aral Sea Region. Ph.D. Thesis, Agrarian University, Nukus, Karakalpakstan.
- Thilagar G, Bagyaraj DJ and Rao MS. 2016. Selected microbial consortia developed for chilly reduces application of chemical fertilizers by 50% under field conditions. *Scientia Horticulturae*, 198: 27–35. <http://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.11.021>
- Vafadar Yengageh L, Amini R and Dabbagh Mohammadi Nasab A. 2018. Assessment of growth characteristics and yield of Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica*) under different fertilizer treatments in intercropping with faba bean (*Vicia faba* L.). *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 28(2): 35-51. (In Persian with English Abstract).
- Xu G, Fan X and Miller AJ. 2012. Plant nitrogen assimilation and use efficiency. *Annual Review of Plant Biology*, 63: 153–182. <http://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105532>
- Zhang J, Yao J, Ding L, Guo SJ and Yang YL. 2000. Study advances on the utilization of *Glycyrrhiza*. *Grassland Turf*, 89: 12–17.

Zhang X, Davidson EA, Mauzerall DL, Searchinger TD, Dumas P and Shen Y. 2015. Managing nitrogen for sustainable development. *Nature*, 528: 51–59. <http://doi.org/10.1038/nature15743>