



دانشکده علوم طبیعی  
گروه زیست‌شناسی گیاهی

## پایان‌نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته‌ی علوم گیاهی - گرایش اکولوژی سیستماتیک

## عنوان

مطالعه تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های مختلف شیرین‌بیان

*Glycyrrhiza glabra L.* با استفاده از نشانگرهای RAPD<sub>s</sub>

## اساتید راهنما

دکتر هوشنگ نصرتی      دکتر محمدعلی حسین‌پور فیضی

## استاد مشاور

مهندس احمد رزبان حقیقی

## پژوهشگر

معصومه موسی‌زاده نهر

تیر ۹۰

نام خانوادگی: موسی زاده نهر		نام: معصومه	
عنوان پایان نامه: مطالعه تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیت‌های مختلف شیرین بیان <i>Glycyrrhiza glabra</i> L. با استفاده از نشانگرهای RAPD <sub>s</sub>			
اساتید راهنما: دکتر هوشنگ نصرتی - دکتر محمدعلی حسین پورفیضی استاد مشاور: مهندس احمد رزبان حقیقی			
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد	رشته تحصیلی: علوم گیاهی	گرایش: اکولوژی - سیستماتیک	دانشگاه: دانشگاه تبریز
دانشکده: علوم طبیعی	تاریخ فارغ التحصیلی: ۹۰/-/-	تعداد صفحه: ۸۲	
واژه‌های کلیدی: شیرین بیان، <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.، تنوع ژنتیکی نشانگرهای RAPD <sub>s</sub>			
چکیده:			
<p>شیرین بیان (<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.) یک گیاه علوفه‌ای متعلق به تیره Fabaceae است. در این پروژه تنوع ژنتیکی بین و درون جمعیتی چهار جمعیت شیرین بیان از استان‌های آذربایجان شرقی و اردبیل با استفاده از آغازگر RAPD بررسی شد. تنوع ژنتیکی درون جمعیتی براساس شاخص نی و شاخص اطلاعات شانون و فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها نیز براساس فاصله نی و Fst محاسبه گردید. در مجموع ۷۷ نوار چندشکل با استفاده از پنج پرایمر به دست آمد. دندروگرام مربوطه توسط روش UPGMA و براساس فاصله ژنتیکی F-statistics و نی در نمونه‌های فردی و بالک، جمعیت‌ها را به صورت یکسان گروه‌بندی کرد. جمعیت ملکان بیشترین و جمعیت خلخال نرسیده به هشتچین کمترین تنوع درون جمعیتی را دارا بودند. میزان تنوع درون جمعیتی (۰/۳۰/۶۹٪) به مراتب بیشتر از تنوع بین جمعیتی (۰/۳۰/۷۰٪) به دست آمد که بیانگر آن است که شیرین بیان یک گونه دگرگرده‌افشان می‌باشد. در این گروه‌بندی ما بین فواصل ژنتیکی جمعیت‌ها و فاصله جغرافیایی آن‌ها ارتباطی وجود ندارد.</p>			

۱	مقدمه
۵	بررسی منابع
۶	۱.۱ ویژگیهای مورفولوژیکی تیره حبوبات (Fabaceae)
۸	۲.۱ تاکسونومی گونه <i>Glycyrrhiza glabra</i> L
۸	۱.۲.۱ رده‌بندی تاکسونومیک گونه <i>Glycyrrhiza glabra</i> L
۹	۲.۲.۱ نام گیاهی پذیرفته شده گونه و مترادف‌های <i>G. glabra</i> L
۹	۳.۱ ویژگی‌های مورفولوژیکی
۹	۱.۳.۱ ویژگی‌های گیاه‌شناسی و مورفولوژیکی گونه <i>Glycyrrhiza glabra</i> L
۱۲	۴.۱ خاستگاه جغرافیایی شیرین بیان
۱۳	۵.۱ اهمیت اکولوژیکی شیرین بیان
۱۴	۶.۱ خصوصیات شیمیایی و دارویی شیرین بیان <i>G. glabra</i> L
۱۸	۷.۱ اهمیت اقتصادی و کشاورزی شیرین بیان
۱۹	۸.۱ گرده‌افشانی در شیرین بیان
۱۹	۹.۱ تنوع ژنتیکی در گیاهان و بقای جمعیت
۲۲	۱۰.۱ عوامل موثر در تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها
۲۳	۱۱.۱ روش‌های بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی
۲۷	۱.۱۱.۱ نشانگر مولکولی RAPD <sub>s</sub> و کاربردهای آن
۲۸	۲.۱۱.۱ مزایای نشانگر مولکولی RAPD <sub>s</sub>
۲۹	۳.۱۱.۱ محدودیت‌های عمده نشانگر مولکولی RAPD <sub>s</sub>
۳۰	۱۲.۱ پیشینه پژوهش
۳۴	۲ مواد و روش‌ها
۳۵	۱.۲ تهیه نمونه‌های گیاهی
۳۸	۲.۲ آماده سازی بذرهای گیاهی

۳۸	۳.۲ استخراج DNA ژنوم هسته‌ای
۴۰	۴.۲ تعیین کیفیت و کمیت DAN
۴۱	۵.۲ واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)
۴۳	۱.۵.۲ برنامه دمایی تکثیر پس از بهینه‌سازی
۴۶	۶.۲ تهیه ژل آگارز الکتروفورز محصولات PCR
۴۷	۱.۶.۲ بارگذاری محصولات PCR
۴۸	۲.۶.۲ عکسبرداری از ژل الکتروفورز
۴۹	۷.۲ امتیازدهی باندها در تکنیک RAPD
۵۰	۸.۲ تجزیه و تحلیل داده‌ها
۵۰	۱.۸.۲ محاسبه فاصله ژنتیکی درون جمعیت‌ها
۵۰	۲.۸.۲ محاسبه فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها
۵۱	۳.۸.۲ تجزیه واریانس مولکولی AMOVA
۵۲	۹.۲ تست Correlation
۵۳	۳ نتایج
۵۴	۱.۳ چندشکلی آغازگرهای RAPD <sub>s</sub> در جمعیت‌های مورد مطالعه
۵۹	۲.۳ برآورد تنوع ژنتیکی درون جمعیت‌های مورد مطالعه
۶۰	۳.۳ برآورد فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌ها
۶۰	۱.۳.۳ فاصله ژنتیکی براساس ضریب ژنتیکی نی
۶۲	۲.۳.۳ فاصله ژنتیکی براساس آنالوگ F <sub>ST</sub>
۶۳	۴.۳ نحوه انتخاب روش مناسب برای تجزیه خوشه‌ای
۶۷	۵.۳ تجزیه واریانس مولکولی AMOVA
۶۸	۶.۳ رابطه فاصله ژنتیکی با فاصله جغرافیایی
۶۸	۶.۳ بحث و نتیجه‌گیری کلی
۷۲	۷.۳ پیشنهادات
۷۴	۴ منابع

# مقدمه

## مقدمه

آگاهی از میزان تنوع ژنتیکی یک گونه گیاهی و عوامل موثر بر آن از اهمیت بسزایی برخوردار است. یک گونه بدون داشتن تنوع ژنتیکی مناسب قادر نخواهد بود در برابر تغییرات محیطی زنده بماند. گونه‌ها با جمعیت‌های دارای تنوع ژنتیکی کم در معرض انقراض هستند و لذا بقا و دوام یک گونه گیاهی در طبیعت به تنوع ژنتیکی جمعیت‌های آن گونه بستگی دارد. بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت‌های یک گونه اطلاعات مفیدی برای حفاظت بیولوژیکی آنها فراهم می‌کند ( Qian et al, 2001).

ارزیابی الگوی تنوع ژنتیکی برای فهم فرایندهای مختلف در طول تاریخ تحول گونه‌ها مثل رانش-ژنتیکی، جریان ژنی، جهش و گزینش مهم است. تنوع ژنتیکی هر جمعیت گیاهی به عوامل مختلفی نظیر سیستم گرده‌افشانی بستگی دارد از این رو میزان تنوع ژنتیکی از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت است. سیستم تولیدمثلی و نوع گرده‌افشانی گونه‌های گیاهی اساس تنوع ژنتیکی جمعیت‌ها را تشکیل می‌دهند به طوری که در گونه‌های گیاهی خودگرده‌افشان تنوع ژنتیکی درون جمعیتی نسبت به تنوع بین جمعیتی پایین است در حالی که این تنوع در گونه‌های دگرگرده‌افشان در درون جمعیت‌ها نسبت به تنوع بین جمعیتی بالا است. تنوع ژنتیکی پدیده مهم و طبیعی است که تفاوت‌ها را در گیاهان ایجاد می‌کند و به گونه‌های خودرو یا وحشی اجازه می‌دهد در برابر شرایط نامساعد محیطی مقابله کنند. مسئله مهم این است که تنوع ژنتیکی گیاهان سریع‌ا در حال کاهش است بنابراین شناسایی الگوهای ژنتیکی منجر به حفظ بهتر منابع طبیعی و نوسازی آن می‌شود (Henry, 1997).

امروزه از روش‌های متنوعی برای مطالعه میزان تغییرات ژنتیکی در سطح جمعیت و افراد گونه‌های گیاهی به کار گرفته می‌شود که می‌توان به روش‌های آنزیمی،<sup>۱</sup> RFLP،<sup>۲</sup> SSR،<sup>۳</sup> AFLP،<sup>۴</sup> RAPD اشاره کرد. بر طبق مطالعات کنونی نشانگرهای مولکولی مقدار بالایی از اختلاف ژنتیکی میان جمعیت‌ها را نسبت به روش‌های آنزیمی نشان می‌دهند و دارای توانایی و دقت بالایی در ارزیابی تنوع ژنتیکی می‌باشند (Chatourou, 2001). RAPD یکی از این تکنیک‌هاست که علی‌رغم محدودیت‌هایی نظیر تکرارپذیری، حساسیت نسبت به شرایط واکنش و یکسان بودن الگوهای تولید شده به وسیله افراد هموزیگوت و هتروزیگوت، به دلیل اینکه متد ساده، سریع و ارزانی است در تهیه نقشه‌های ژنتیکی، بررسی تنوع ژنتیکی، تشخیص و گزینش ارقام، ارتباط میان ژنوتیپ‌ها و تولید نقشه فیلوژنتیکی استفاده می‌شود (Nybon et al., 2000).

گونه شیرین‌بیان با نام علمی *Glycyrrhiza glabra* L (Fabaceae) است که عدد کروموزومی این گیاه  $2n=16$  می‌باشد. شیرین‌بیان گیاهی علفی، چندساله و از جمله گیاهان دارویی وحشی است که کمتر مورد کشت و کار قرار می‌گیرد. معمولاً این گیاه در مزارع کشت به گل نمی‌نشیند و تکثیر شیرین‌بیان از طریق تقسیم ریزوم و ریشه و کاشت بذر در زمین‌های سیلیسی و رستی حاصلخیز یا شنی و یا در خاک رس نزدیک جریان رودخانه و یا جایی که آب به اندازه کافی در دسترس باشد صورت می‌گیرد (Parrveen et al, 1998). واریته‌های مختلف آن در نواحی مختلفی از مدیترانه، جنوب شرق اروپا و نواحی معتدل آسیا و در اکثر نقاط ایران رویش دارند. از جمله بخش‌های مورد

<sup>1</sup> Restriction Fragment Length Polymorphism

<sup>2</sup> Simple Sequence Repeat

<sup>3</sup> Amplified Fragment Length Polymorphism

<sup>4</sup> Random Amplified Polymorphic DNA



استفاده گیاه ریشه و عصاره استخراج شده از آن می‌باشد که دارای مزه شیرین و مصرف دارویی است. ریزوم و ریشه شیرین بیان حاوی گلوکز، ساکارز، آسپارژین، رزین و... است ولی ماده اصلی آن گلیسیریزین<sup>1</sup> یا اسید گلیسیریزیک می‌باشد که دارای طعم شیرین است. اسید گلیسیریزیک و انوگزولون از ریشه شیرین بیان استخراج می‌شوند. شیرین بیان در درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد دارد و این گیاه جز گیاهان دارویی شناخته شده است (قهرمان، ۱۳۷۷).

اطلاعاتی در مورد تنوع ژنتیکی گونه شیرین بیان و عوامل موثر بر آن، بالاخص سیستم گرده افشانی و تاثیر آن بر مقدار و نحوه توزیع تنوع ژنتیکی در درون و بین جمعیت‌های شیرین بیان در جهت حفظ و نگهداری از این گونه ارزشمند در دست نمی‌باشد و تا کنون هیچ گونه تحقیق و بررسی در مورد تنوع ژنتیکی شیرین بیان با استفاده از نشانگر مولکولی RAPD صورت نگرفته است، بنابراین در این پروژه تنوع ژنتیکی درون و بین جمعیتی گونه (*Glycyrrhiza glabra*)، در چهار جمعیت مختلف از نواحی شمال غرب کشور با استفاده از نشانگر RAPD<sub>s</sub> و با پنج آغازگر مورد مطالعه قرار گرفت.

---

<sup>1</sup> Glycyrrhizine

# بررسی منابع

## ۱.۱ ویژگیهای مورفولوژیکی تیره حبوبات (Fabaceae)

تیره حبوبات از لحاظ تنوع و کثرت تعداد گونه‌ها و فراوانی انواع دارویی، در ردیف تیره‌های مهم گیاهان گلدار جای دارد، و مجموعاً شامل ۲۵ طایفه، ۷۰۰۰ جنس و متجاوز از ۲۰۰۰۰ گونه است (Fralish et al., 2002). تیره حبوبات جز تیره‌های مهم گیاهان گلدار است.

نیامداران از نظر اکولوژیکی متنوع هستند، به طوری که محدوده بزرگی از علف‌های کوچک و درختان بزرگ را تشکیل می‌دهند و از توندرای شمالی تا جنگل‌های بارانی گرمسیری و بیابان‌های خشک واقع شده‌اند. در مناطق گرمسیری نمونه‌های این خانواده بسیار نادر است. تیره Fabaceae دارای تعداد زیادی گونه‌های مختلف است که از نظر کشاورزی و اقتصادی اهمیت زیادی دارند و اساس بسیاری از واحدهای بزرگ کشاورزی جهان به صورت کشت و صنعت بر پایه فراورده‌های این تیره قرار دارد. دانه‌های بیشماری از تیره حبوبات مستقیماً برای تغذیه به مصرف می‌رسند (زرگری، ۱۳۶۸).

گیاهان تیره Fabaceae به صورت علفی، بوته‌های چوبی، درختچه و یا درختان بزرگ‌اند. انواع علفی آنها از نظر تعداد، بیش از سایرین است و غالباً دارای ساقه پیچنده و بالارونده می‌باشند. برگ‌های آنها معمولاً متناوب، سه برگچه‌ای و یا شامل برگچه‌های زیاده‌تر است. در بعضی از آنها نیز، برگها به صورت رشدنیافته باقی می‌ماند، در این حالت گیاه دارای استیپول‌هایی با ظاهر برگ مانند است که اعمال حیاتی گیاه را انجام می‌دهند (قهرمان، ۱۳۷۷).

گل متقارن (دوجانبه) معمولاً از خصوصیات این تیره است. گیاهان نر- ماده یا بندرت شامل یکی از اجزای اصلی گل‌اند. کاسه گل آنها شامل قطعات به هم پیوسته و جام گل آنها، مرکب از پنج قطعه به

اشکال مختلف است که پس از باز شدن کامل به شکل پروانه جلوه می‌کند. در داخل پوشش گل آنها، پرچم‌هایی به تعداد ۲ برابر گلبرگ و گاهی به تعداد کمتر یا زیادتر دیده می‌شود. تنها صفتی که تقریباً در همه آنها عمومیت دارد، وجود تخمدان آزاد یک برچه‌ای محتوی تخمک‌های خمیده در آن است. در طول رشد و نمو، تخمک‌ها به حالت کج و خمیده در تخمدان قرار می‌گیرند، که غشا بیرونی تخمدان کلفت و چندلایه و غشا داخلی از ۵-۴ لایه سلول تشکیل شده، و بخش داخلی با کوتیکول شفاف و روشن پوشیده شده است.

میوه آنها به صورت نیام، شکوفا یا ناشکوفا می‌باشد که با دو شکاف طولی باز می‌شود. دانه آنها بدون آلبومین و یا دارای آلبومین کم است.

دستگاه ترشحات گیاهان تیره Fabaceae با یکدیگر اختلاف کلی دارند به طوری که ممکن است شامل سلول‌های تانن‌داری باشند که غالباً به صورت ایف‌های دراز در اندام‌های مختلف گیاه پراکنده هستند و یا آنکه به صورت کیسه‌های ترشحاتی، مجاری ترشحاتی و یا حفره‌های دارای صمغ و ... دیده می‌شوند. بعضی از این گیاهان از نظر دارا بودن آکالوئیدهای مختلف، ساپونین‌ها، تانن‌ها، مواد رنگی و غیره به مصارف مهم دارویی یا صنعتی می‌رسند. اهمیت عمده بقولات به دلیل توانایی در تثبیت نیتروژن اتمسفری در مشارکت با انواع باکتری‌های خاک (ریزوبیوم‌ها) می‌باشد که در ساختارهای جدیدی به نام گرهک جای می‌گیرند و در ریشه‌ها و برخی موارد در ساقه‌ها یافت می‌شوند. این باکتری‌ها، ازت هوا را گرفته و در ریشه تثبیت می‌کنند که از این نظر باعث تقویت خاک می‌شوند (Zimnitskaya, 2009).

## ۲.۱ تاکسونومی گونه *Glycyrrhiza glabra* L

### ۱.۲.۱ رده‌بندی تاکسونومیک گونه *Glycyrrhiza glabra* L

براساس سیستم رده‌بندی کرانکوئیست (Cronquist) موقعیت تاکسونومی گیاه شیرین بیان به صورت زیر می‌باشد (Sofia et al., 2009):

Kingdom: سلسله (گیاهان نهاندانه دولپه) → Plantae

Division: شاخه → Magnoliophyta

Class: رده → Magnoliopsida

Sub class: زیررده → Rosidea

Order: راسته → Fabales

Familiy: تیره → Fabaceae

Genus: جنس → *Glycyrrhiza*

Species: گونه → *Glycyrrhiza glabra* L

### ۲.۲.۱ نام گیاهی پذیرفته شده گونه و مترادف‌های *G. glabra L*

Synonyms —————→ *Licorice, Glycyrrhiza inflata, Glycyrrhiza inflata, Glycyrrhiza uralensis, Liquiritia officinalis, liquorice, sweet root* (English), *Liquiritiae radix, Radix glycyrrhiza* (Latin), *Sußholzwurzel, Lakritzenwurzel* (German), *régliasse, bois doux* (French), *liquirizia* (Italian), *Lakrids* (Danish), *yashimadhu* (Sanskrit), *gancao* (Chinese), *kanzo* (Japanese), *kamcho* (Korean).

Common Name —————→ *Licorice, Jethimadh* (Mills et al., 2000).

این گیاه به زبان ترکی شیرین‌بیان، در شیراز به نام ریشه مهک (*Licorice root*)، در اصفهان مژو و در زبان عربی مهک، اصل السوس، عرق السوس و شجره السوس خوانده می‌شود (رجحان، ۱۳۸۱).

### ۳.۱ ویژگی‌های مورفولوژیکی

#### ۱.۳.۱ ویژگی‌های گیاه‌شناسی و مورفولوژیکی گونه *Glycyrrhiza glabra L*

*Glycyrrhiza* از ادغام دو کلمه یونانی قند، شیرین = glykei و ریشه = rhiza یعنی ریشه شیرین مشتق شده است (Modification, 2002). شیرین‌بیان به تیره نخود *Fabaceae* و جنس *Glycyrrhiza* تعلق دارد. نام گیاه‌شناسی شیرین‌بیان *Glycyrrhiza glabra* می‌باشد. گیاه شیرین‌بیان دیپلوئید  $2n=16$  کروموزومی است (Sofia et al., 2009).

شیرین بیان گیاهی علفی، چند ساله، وحشی و دارای شاخه‌های فرعی است که تا  $1/5\text{ m}$  رشد می‌کنند و بر روی زمین می‌چسبند. شاخه‌ها در پایه محور دایره‌وار و در بالا گوشه‌دار و زاویه‌دار هستند (Weiss et al., 2000).

برگ‌های شیرین بیان از  $4$  تا  $7$  زوج برگچه با یک برگچه انتهایی تشکیل شده است که ظاهری سرخس مانند دارند. برگ‌ها بیضوی یا سرنیزه‌ای شکل و سبز تیره هستند که  $2-5\text{ cm}$  طول،  $1-2/5$  عرض و دم‌برگی به طول  $1-3\text{ cm}$  دارند. سطح فوقانی برگ صاف است و سطح تحتانی کم و بیش غده‌ای و به سبب ترشح شیر چسبنده می‌باشد. برگ‌های جوان کمی چسبنده هستند (Irani et al., 2010).

گل‌ها منفرد و  $1-1/5\text{ cm}$  طول دارند، گل‌ها به رنگ‌های ارغوانی، زرد یا بنفش یا آبی مایل به سفید یا آبی مایل به بنفش و مجتمع در انتهای ساقه‌های گل‌دهنده واقع در گل‌آذین محوری کپه‌ای به طول  $8-12\text{ cm}$  مشاهده می‌شوند. کاسه گل دولبه، کم و بیش کرکی، درفش باریک، بال‌ها و ناو نوک‌تیز، خامه بدون کرک و در انتها برگشته و دارای کلاله سرمانند است. زمان ظهور گل‌ها اوایل تابستان است. میوه این گیاه، نیام خطی و فشرده یا تسبیح مانند بدون کرک که با دو شکاف طولی باز می‌شود و  $2-2/5\text{ cm}$  طول و  $4-6\text{ mm}$  عرض دارد که شامل  $3$  تا  $6$  دانه لوبیایی شکل و قهوه‌ای رنگ می‌باشد.

شیرین بیان دارای ساقه‌ای به ارتفاع یک متر است که و در نواحی معتدل تا دو متر نیز می‌رسد. ضخیم و منشعب با کرک‌های پراکنده کوتاه یا کم و بیش غده‌ای است که ساقه‌های جدید هر سال تولید می‌شوند. گوشوارک‌ها کوچک، سرنیزه‌ای، درفشی و افتاده هستند (Gupta et al., 2008).

ریشه شیرین بیان عمیق با سیستم ساقه زمینی نیرومند و قوی که انشعاب گرفته از ریشه عمودی اصلی است. ریشه اصلی عمودی، بلند و استوانه‌ای شکل است که به ۳-۵ ریشه فرعی تقسیم می‌شود. انشعابات بلند ریشه و استولون<sup>۱</sup> می‌تواند تا ۲ m یا بیشتر رشد کند. ساقه زیرزمینی قوی و چوبی است که حدود ۱ cm ضخامت دارد. سطح خارجی ریشه به رنگ قهوه‌ای تیره با شیارهای طولی نامنظم است که می‌تواند به صورت رشته‌های طولی کشیده شود و سطح داخلی آن به رنگ زرد روشن می‌باشد. رنگ زرد ریشه به دلیل محتوی فلاونوئید است که شامل *Isoliquiritin*، *Liquiritin*، *Flavonones*، ایزوفلاونوئید، استرول و همچنین روغن‌های فرار است و دارای ویژگی با مزه شیرین می‌باشد. نزدیک ۸۰٪ جرم ریشه در بالای ۳۰ cm خاک است که با بالا رفتن سن گیاه از درصد ریشه در بالای خاک کاسته می‌شود (Asada et al., 2000).

---

<sup>1</sup> Stolon





شکل ۱-۱. مورفولوژی گیاه *Glycyrrhiza glabra* L.

#### ۴.۱ خاستگاه جغرافیایی شیرین بیان

بابلیان در حدود ۴۰۰۰ سال پیش شیرین بیان را به عنوان تقویت کننده بدن می شناخته اند. همچنین مصریان عهد باستان از ریشه آن عصاره تهیه می کردند. چنانکه در سال ۱۹۲۳ میلادی از مقبره توتانخامون ریشه این گیاه یافت شد. پزشکان مصر قدیم عصاره شیرین بیان را جهت کاستن از تلخی داروهای تلخ مزه و معالجه امراض کبد و دستگاه گوارش به کار می برده اند. ریشه شیرین بیان در قرون وسطی مورد استفاده کیمیاگران غربی بود و بعدها توسط گیاه شناسان قرن شانزدهم M. gerard

و Nicolas Culpeper کشف و از قرن هفدهم شیرین بیان به طور کامل شناخته شد. شیرین بیان به عنوان گیاه دارویی در چین، هند، مصر، یونان، اروپای شمالی استفاده می‌شود. این گیاه در چین هزاران سال مورد استفاده در غذا و درمان دارویی بوده است و یکی از مهمترین گیاهان چینی است (Ried, 2001).

### ۵.۱ اهمیت اکولوژیکی شیرین بیان

شیرین بیان از جمله گیاهان دارویی وحشی است و کمتر مورد کشت و کار قرار می‌گیرد. شیرین بیان گیاهی نورپسند است که در مدت رویش به هوای گرم و رطوبت متوسط نیاز دارد و در آب و هوای معتدل و نیمه گرمسیری رشد می‌کند. اندام‌های هوایی گیاه شیرین بیان که به سرما حساس هستند، در زمستان از بین می‌روند و در بهار، دوباره از اندام‌های زیرزمینی رشد می‌کنند (Martin et al., 1997). از شرایط مطلوب برای رشد این گیاه، خاکهای حاصلخیز در زمینهای کم ارتفاع از سطح دریا است که به خوبی زهکشی شده باشند (در مناطقی که سطح آب زمین بالاست) و همچنین باید از آفتاب کافی برخوردار باشند. این گونه بومی جنوب شرق اروپا و نواحی جنوب غرب آسیا از جمله ایران است. در اکثر نقاط ایران خصوصاً در شهرستان اقلید و نواحی شرقی و شمال شرقی و همچنین آذربایجان به فراوانی می‌روید (Nassiri-Asl et al., 2008). گونه *Glycyrrhiza glabra* گونه غالب شیرین بیان در ایران است. ریزوم‌های این گیاه با داشتن جوانه‌های متعدد و اندوخته کافی، قدرت زیادی برای تکثیر و تولید گیاهان جدید دارد. (زرگری، ۱۳۶۸). روش تکثیر این گیاه تقسیم ریزوم و ریشه و همچنین کاشت بذر در زمین‌های سیلیسی و رستی حاصلخیز و یا در خاک رس نزدیک جریان رودخانه و یا جایی که آب به اندازه کافی در دسترس باشد صورت می‌گیرد. زمین‌های

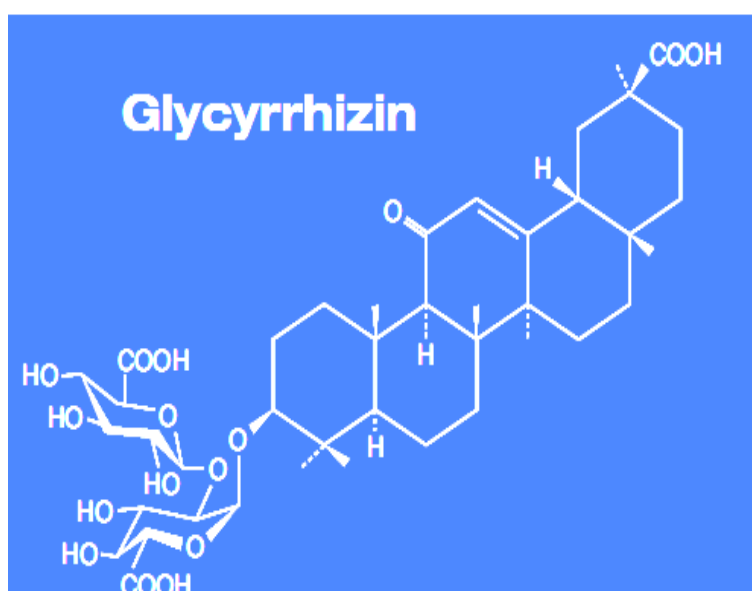
مرطوب و قابل نفوذ که به سهولت در تابستان خشک می‌گردند برای زراعت آنها مناسب نیستند. از شرایط مهم خاک pH حدود ۶-۷ می‌باشد. اگر pH بالاتر از ۶ باشد گوگرد به خاک اضافه می‌شود و اگر خاک خیلی اسیدی باشد از آهک به جای گوگرد استفاده می‌شود و اگر تست خاک نشان دهد که میزان مواد مغذی کم است درخواست کود برای بدست آوردن سطح متوسط از P, S, K خاک می‌شود. شیرین بیان به سطح بالایی از مواد مغذی نیاز ندارد. زمین‌های کمی شور نیز می‌توانند برای کشت مورد استفاده قرار بگیرند. در فصل پاییز (آبان‌ماه) ریزوم گیاهان سه تا چهارساله را پس از خروج از خاک به قطعات ۱۵ تا ۲۵ سانتیمتری تقسیم کرده و می‌کارند. پس از کاشت باید آبیاری انجام گیرد. پژوهش نشان داده که بهینه عملکرد ریشه وقتی است که گیاه با فاصله ۱×۱ متر و ۰/۲۵×۰/۲۵ متر کاشته شود. مکان تولید باید عاری از علف‌های هرز چند ساله برای حفظ رطوبت باشد. از مشخصات پرورش شیرین بیان آن است که در مزارع کشت معمولاً گیاه به گل نمی‌نشیند. برداشت ریشه‌های این گیاه در فصل پاییز سال سوم یا چهارم صورت می‌گیرد. این عمل در سطوح کم وسعت با استفاده از بیل و در سطوح وسیع با ماشین‌های مخصوص انجام می‌گیرد (Parrveen et al., 1998).

### ۶.۱ خصوصیات شیمیایی و دارویی شیرین بیان *G. glabra* L

ریزوم و ریشه شیرین بیان حاوی ترکیبات متعددی از جمله ۰/۹-۰/۵٪ اسید گلیسیریزیک، ۲۰٪ نشاسته، ۳٪ ساکارز، ۳٪ گلوکز، ۶-۲٪ آسپارژین، فلاونوئید، مانیتول، اتروپین، بتائین، پروژسترون، تانن، اسانس و ده‌ها ماده مهم دیگر می‌باشد که در پزشکی، داروسازی و صنایع غذایی و بهداشتی مصارف متعدد دارد.

از ویتامین‌های موجود در شیرین بیان A، B<sub>1</sub>، B<sub>2</sub>، E<sub>1</sub> و مواد معدنی آن K، Na، Mg، Ca، Fe و Zn را می‌توان نام برد. پلی ساکاریدهای شیرین بیان از رامنوز، گلوکز، آرابینوز و گالاکتوز تشکیل شده است (Kaur et al., 2009).

ماده اصلی شیرین بیان گلیسیریزین یا اسید گلیسیریزیک است که مقدار آن با توجه به شرایط محیطی و گونه گیاه بین ۵ تا ۲۰ درصد متغیر است و با افزایش سن گیاه افزایش می‌یابد. اسید گلیسیریزیک با فرمول (C<sub>42</sub>H<sub>22</sub>O<sub>16</sub>) و وزن مولکولی ۸۸۲/۹ گرم می‌باشد که از لحاظ ساختاری یک گلیکوزید پنتاسیکلیک (تری ترپنوئید) است که به دو مولکول گلوکورونیک اسید متصل است. دارای طعم شیرین بوده طوری که گلیسیریزین ۵۰ مرتبه شیرین تر از قند و نیشکر است و میزان این ماده در گونه‌های مختلف شیرین بیان متفاوت است و به شرایط آب و هوایی و محل جغرافیایی بستگی دارد و مهمترین معیار ارزیابی کیفیت ریشه شیرین بیان درصد اسید گلیسیریزیک آن می‌باشد ( Mills, 1991).



شکل ۱-۲. ساختار ترکیب گلیسیریزیک اسید