

## کمی سازی تغییرات متابولیت تریگونلین در گیاهچه های شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) تحت القای کیتوزان و تنش خشکی

پریا احدی<sup>۱</sup>، حسنعلی نقدی بادی<sup>۲</sup>، محمدرضا لبافی حسین آبادی<sup>۲\*</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران  
 ۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج، ایران  
 \* آدرس مکاتبه: کرج، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، صندوق پستی: ۳۱۳۷۵-۱۳۶۹  
 تلفن: ۰۲۶-۳۴۷۶۴۰۱۰-۱۹ (۰۲۶) ۳۴۷۶۴۰۲۱ (نمبر: ۰۲۶)  
 پست الکترونیک: Mohammad1700@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۹۶/۴/۳

تاریخ دریافت: ۹۶/۲/۲۳

### چکیده

مقدمه: القای محرک های زیستی و غیرزیستی یکی از راهکارهایی است که با آن می توان سبب تغییرات کمی و کیفی متابولیت های دارویی جوانه های گیاهان دارویی شد.

هدف: هدف از انجام این آزمایش بررسی اثر محرک زیستی کیتوزان بر میزان تریگونلین جوانه های گیاه شنبلیله تحت شرایط تنش خشکی می باشد.

روش بررسی: این تحقیق در سه آزمایش جداگانه (جوانه های چهار، هشت و دوازده روزه) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تیمار در سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل: کیتوزان در پنج سطح (۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد) و تنش خشکی در سه سطح (شاهد (عدم تنش)، ۰/۲- و ۰/۴- مگاپاسگال) بود.

نتایج: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که کیتوزان، تنش خشکی و اثر متقابل کیتوزان و تنش خشکی بر میزان تریگونلین جوانه های چهار، هشت و دوازده روزه اثر معنی داری داشت. جوانه های مسن تر دارای میزان تریگونلین کمتری بودند به طوری که بیشترین میزان آن در جوانه های روز چهارم مشاهده شد.

نتیجه گیری: اگرچه با افزایش سن گیاهچه ها، میزان تریگونلین کاهش یافت ولی با اعمال تنش خشکی و مصرف مقدار بهینه کیتوزان (تا ۰/۲ درصد) سبب کاهش روند نزولی تریگونلین با افزایش سن گیاهچه ها شد.

کل واژگان: شنبلیله، تریگونلین، تنش خشکی، کیتوزان، مدلسازی



## مقدمه

شنبليله در طب سنتی ایران کاربردهای زیادی دارد [۱] و برگ آن جهت تسکین سرفه های سرد، ورم طحال و کبد، درد کمر و برودت مثانه و بذر آن ملین و نرم کننده موضعی و ضد التهاب و تسکین دهنده درد مفاصل می باشد و دم کرده آن با عسل برای تنگی نفس و ورم های داخلی توصیه شده است [۲].

دانه آن، دارای آلکالوئیدی به نام تریگونلین، ترکیب های موسیلاژی، پروتئین و روغن می باشد [۳، ۴]. تریگونلین متابولیت اصلی شنبليله، آلکالوئیدی است که دارای نقش هورمونی در گیاهان می باشد و از طریق متیلاسیون اسیدنیکوتینیک در گیاه ساخته می شود. این آلکالوئید دارای خواص دارویی مهم نظیر ضد سرطان، ضد میگرن، ضد عفونی کننده گی، پایین آورنده چربی خون و ضد دیابت می باشد. همچنین تریگونلین در گیاهان نقش های متعددی دارد و در مکانیسم بسته شدن برگ ها در شب برای برخی از گیاهان (شب خسب)، در پاسخ به تنش های اکسیداتیو، تنظیم فشار اسمزی در واکنش به تنش خشکی و شوری، تنظیم توقف چرخه سلولی گیاه در مرحله G<sub>2</sub> و بیان ژن های محرک تولید گره در ریشه لگوم ها طی فرآیند کلون سازی نقش بسیار مهمی را ایفا می کند [۵].

بذر ها و جوانه های خوراکی گیاهان یک منبع خوب از آنتی اکسیدان ها از جمله اسید های فنولی، فلاونوئیدها، عناصر کمپاب و ویتامین ها هستند [۶]. جوانه زنی بذر های خوراکی برای تولید جوانه، مقدار ارزش غذایی آن را افزایش می دهد [۷-۹]. مطالعات متعددی افزایش مواد مغذی و کاهش محتویات مواد غیر مغذی در جوانه ها را در مقایسه با بذر های جوانه زده گزارش کرده اند [۹-۱۱].

جوانه زنی موجب تغییرات معنی داری در ترکیبات فنولی می شود که عمدتاً به دلیل فعال شدن آنزیم های درونی و متابولیسم بیوشیمیایی پیچیده بذر در طی این فرآیند است [۷]. مقدار و ترکیب مواد فعال زیستی در جوانه بستگی به عوامل بسیاری، به عنوان مثال شرایط محیط رشد، شرایط ذخیره سازی جوانه، سطح بلوغ و همچنین ژنتیک آن دارد [۱۲]. تنش آبی مهم ترین عامل محدود کننده برای جوانه زنی بذور می باشد زیرا خشکی، سرعت و درصد جوانه زنی را کاهش داده و در نهایت

استقرار گیاهچه را به تأخیر می اندازد [۱۳]. در مورد گیاهان دارویی، خشکی ممکن است اثر معنی داری بر کمیت و کیفیت برخی از متابولیت ها و ترکیب ها داشته باشد [۱۴]. در همین راستا، محمدی (۱۳۹۰) گزارش نمود که تنش خشکی، محرک های زیستی و برهمکنش آنها بر میزان تریگونلین در گیاه شنبليله تأثیر معنی داری داشته است [۱۵].

یکی از راهکارهای کاهش خسارت تنش خشکی که اخیراً توجه محققین به آن معطوف شده است استفاده از بیوپلیمر کیتوزان می باشد. کیتوزان یک ماده غیرسمی، بیوپلیمر آلی و طبیعی، قابل تجزیه و زیستی است که از دی استیله کردن کیتین مشتق شده است [۱۶]. اثر تحریک کننده کیتوزان بر جوانه زنی و رشد گیاهچه های گندم [۱۷]، ذرت [۱۸] و بادام زمینی [۱۹] مشخص شده است. همچنین مطالعات متعددی نشان داده که رشد گیاهان مختلف از قبیل کلم [۲۰]، جوانه های سویا [۲۱] و ریحان [۲۲] را تحریک می کند.

با توجه به این که جوانه گیاهان به عنوان یک منبع ارزشمند، ارزان و نسبتاً جدید از محصولات غذایی هستند، بررسی تأثیر مواد فعال زیستی روی جوانه زنی و ارزش غذایی و دارویی جوانه های گیاهان ضروری به نظر می رسد. هدف از این مطالعه، بررسی اثر محرک زیستی کیتوزان بر میزان تریگونلین جوانه های گیاه شنبليله تحت تنش خشکی می باشد.

## مواد و روش ها

این تحقیق در سه آزمایش جداگانه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به اجرا درآمد. در آزمایش های اول، دوم و سوم به ترتیب جوانه های شنبليله در روزهای چهارم، هشتم و دوازدهم مورد ارزیابی قرار گرفتند. در هر یک از این سه آزمایش، فاکتور اول: غلظت های مختلف محرک کیتوزان در پنج سطح (۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد حجمی) و فاکتور دوم: تنش خشکی توسط پلی اتیلن گلیکول (PEG 8000) ۸۰۰۰ در سه سطح (۰، ۰/۲-، ۰/۴- مگاپاسکال) اعمال شد.

به منظور القای تنش خشکی، محلول آبی با پتانسیل اسمزی ۰/۲- و ۰/۴- مگاپاسکال توسط پلی اتیلن گلیکول ۸۰۰۰ در



اسپکتروفوتومتری فرابنفش (UV)، یک گرم پودر نمونه با یک گرم اکسید منیزیم و ۵۰ میلی لیتر آب مخلوط شده و به مدت ۲۰ دقیقه در بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد گذاشته شد. محلول فوق با اضافه کردن آب مقطر به حجم ۲۵ میلی لیتر رسانده شد و اجازه داده شد تا رسوبات ته نشین شود. سپس با کاغذ واتمن (شماره ۴) نمونه‌ها در بالن‌های ۲۵ میلی لیتری صاف شد. جذب محلول در طول موج ۲۶۸ نانومتر (ماکزیمم طول موج برای تریگونلین) در دستگاه اسپکتروفوتومتر UV خوانده شدند [۲۳].

### روش آنالیز داده‌ها

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 انجام شد. در صورتی که اثر متقابل کیتوزان و تنش خشکی معنی دار شد از رویه Lsmeans برای ارزیابی اثر متقابل استفاده شد. برازش مدل‌ها (جدول شماره ۱) با استفاده از نرم‌افزار سیگما پلات Sigma Plot 11.0 انجام شد.

آب دیونیزه شده (آب مقطر) ساخته شدند. بدین صورت که محلول‌ها شامل غلظت‌های مشخصی از پلی اتیلن گلیکول (با پتانسیل‌های ۰، ۰/۲- و ۰/۴- مگاپاسکال) همراه با درصدهای مشخص شده از غلظت کیتوزان در پنج سطح (۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد حجمی) بود. میزان پلی اتیلن گلیکول مصرفی از جدول استاندارد بین‌المللی تهیه شد. انتخاب میزان پلی اتیلن گلیکول مصرفی به دو پارامتر وابسته است که به ترتیب عبارتند از: میزان پتانسیل اسمزی مورد نظر و همچنین دما.

بذور شبلیله با کد SB-MPI-925 از پژوهشکده گیاهان دارویی تهیه شد. تمامی بذور قبل از انجام آزمایش با محلول هیپوکلریت ۳ درصد به مدت پنج دقیقه ضدعفونی و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر شستشو داده شدند. ۵۰ عدد بذر از هر گونه روی کاغذ صافی واتمن در پتری دیش‌های ضدعفونی شده کشت و در داخل ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با تنظیم روشنایی ۱۶ ساعت و تاریکی ۸ ساعت قرار داده شدند.

### اندازه‌گیری میزان تریگونلین

برای تعیین و ارزیابی مقدار آلکالوئید تریگونلین به روش

جدول شماره ۱- توابع مورد استفاده در سیگما پلات

توابع	فرمول‌ها
Polynomial, Quadratic	$f = y_0 + a * x + b * x^2$
Polynomial, Cubic	$f = y_0 + a * x + b * x^2 + c * x^3$
Polynomial, Inverse Second Order	$f = y_0 + (a/x) + (b/x^2)$
Polynomial, Inverse third Order	$f = y_0 + (a/x) + (b/x^2) + (c/x^3)$
Sigmoidal, Sigmoid, 3 Parameter	$f = a / (1 + \exp(-(x-x_0)/b))$
Sigmoidal, Logistic, 3 Parameter	$f = \text{if}(x \leq 0, \text{if}(b < 0, 0, a), \text{if}(b > 0, a / (1 + \text{abs}(x/x_0)^b), a * \text{abs}(x/x_0)^{\text{abs}(b)} / (1 + \text{abs}(x/x_0)^{\text{abs}(b)})))$
Sigmoidal, Gompertz, 3 Parameter	$f = a * \exp(-\exp(-(x-x_0)/b))$
Sigmoidal, Hill, 3 Parameter	$f = a * x^b / (c^b + x^b)$
Exponential Decay, Single, 2 Parameter	$f = a * (1 - \exp(-b * x))^c$
Exponential Decay, Exponential Linear Combination	$f = a * \exp(-b * x)$
Peak, Gaussian, 3 Parameter	$f = a * \exp(-.5 * ((x-x_0)/b)^2)$
Peak, Gaussian, 4 Parameter	$f = y_0 + a * \exp(-.5 * ((x-x_0)/b)^2)$
Peak, Modified Gaussian, 5 Parameter	$f = y_0 + a * \exp(-0.5 * \text{abs}((x-x_0)/b)^c)$
Peak, Lorentzian, 4 Parameter	$f = y_0 + a / (1 + ((x-x_0)/b)^2)$
Peak, Pseudo-Voigt, 5 Parameter	$f = y_0 + a * (c * (1 / (1 + ((x-x_0)/b)^2)) + (1-c) * \exp(-0.5 * ((x-x_0)/b)^2))$
Peak, Log Normal, 4 Parameter	$f = \text{if}(x \leq 0, y_0, y_0 + a * \exp(-0.5 * (\ln(x/x_0)/b)^2) / x)$



## نتایج

### میزان تريگونلین جوانه های چهار روزه

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر کیتوزان و تنش خشکی در سطح یک درصد و اثر متقابل تنش خشکی و کیتوزان در سطح پنج درصد روی میزان تريگونلین جوانه های چهار روزه معنی دار بود (جدول شماره ۲). برش دهی اثر متقابل مشخص نمود که در هر سه سطح تیمار خشکی، غلظت های مختلف کیتوزان تأثیر متفاوتی بر تريگونلین گیاهچه های شنبلیله داشته است (جدول شماره ۳). تجزیه رگرسیون میزان تريگونلین در جوانه های روز چهارم و بدون تنش خشکی نشان داد که غلظت های مختلف کیتوزان با معادله درجه دو قابل توصیف است و بیشترین میزان تريگونلین در غلظت ۰/۲۱ درصد کیتوزان مشاهده شد (شکل شماره ۱).

در تیمار تنش خشکی ۰/۲- مگاپاسکال، غلظت های مختلف کیتوزان با معادله گوسن سه پارامتری بهترین تطابق را نشان داد به طوری که بیشترین میزان تريگونلین، در غلظت ۰/۲۵ درصد کیتوزان مشاهده شد (شکل شماره ۲).

در تیمار تنش خشکی ۰/۴- مگاپاسکال، غلظت های مختلف کیتوزان با معادله لرنزین سه پارامتری بهترین برازش را نشان داد

به طوری که بیشترین میزان تريگونلین، در غلظت ۰/۲۴ درصد کیتوزان مشاهده شد (شکل شماره ۳).

### میزان تريگونلین جوانه هشت روزه شنبلیله

تجزیه واریانس میزان تريگونلین جوانه هشت روزه شنبلیله نشان داد که اثر کیتوزان، تنش خشکی و اثر متقابل کیتوزان و تنش خشکی در سطح یک درصد بر صفت فوق معنی دار بود (جدول شماره ۲). برش دهی اثر متقابل نشان داد که در هر دو سطح تیمار خشکی، ۰/۲- و ۰/۴- مگاپاسکال، غلظت های مختلف کیتوزان تأثیر متفاوتی بر تريگونلین جوانه های شنبلیله گذاشته اند (جدول شماره ۳).

تجزیه رگرسیون میزان تريگونلین جوانه هشت روزه شنبلیله و تیمار تنش خشکی ۰/۲- مگاپاسکال نشان داد که اثر غلظت های مختلف کیتوزان با معادله گوسن چهار پارامتری قابل توصیف است و بیشترین میزان تريگونلین، در غلظت ۰/۱ درصد کیتوزان مشاهده شد (شکل شماره ۴).

در تیمار تنش خشکی ۰/۴- مگاپاسکال، غلظت های مختلف کیتوزان با معادله درجه دو بهترین برازش را نشان داد و بیشترین میزان تريگونلین، در غلظت ۰/۲ درصد کیتوزان مشاهده شد (شکل شماره ۵).

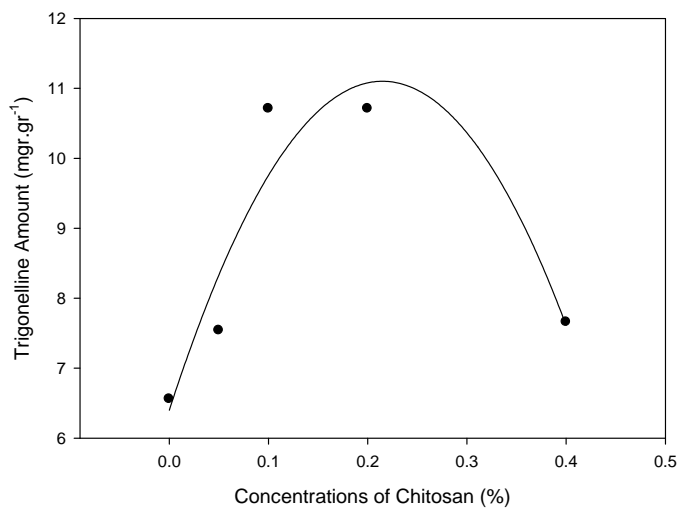
جدول شماره ۲- تجزیه واریانس اثر کیتوزان، تنش خشکی و اثر متقابل کیتوزان و تنش خشکی بر میزان تريگونلین شنبلیله

تنش خشکی بر میزان تريگونلین شنبلیله			درجه آزادی	منابع تغییر
مجموع مربعات				
میزان تريگونلین	میزان تريگونلین	میزان تريگونلین		
جوانه ۱۲ روزه	جوانه ۸ روزه	جوانه ۴ روزه		
۱۳/۷۹ **	۲۷/۳۸ **	۲۴/۵۵۵ **	۴	کیتوزان
۹/۵۶ **	۳۳/۳۲ **	۹/۲۱۳ **	۲	تنش خشکی
۳/۵۴ **	۷/۴۹ **	۱/۱۹۱ *	۸	کیتوزان × تنش خشکی
۰.۵۷	۱/۹۸	۴/۲۴۴	۳۰	خطا
۳۵/۴۶	۹/۹۲	۱۷/۵۸	-	ضریب تغییرات

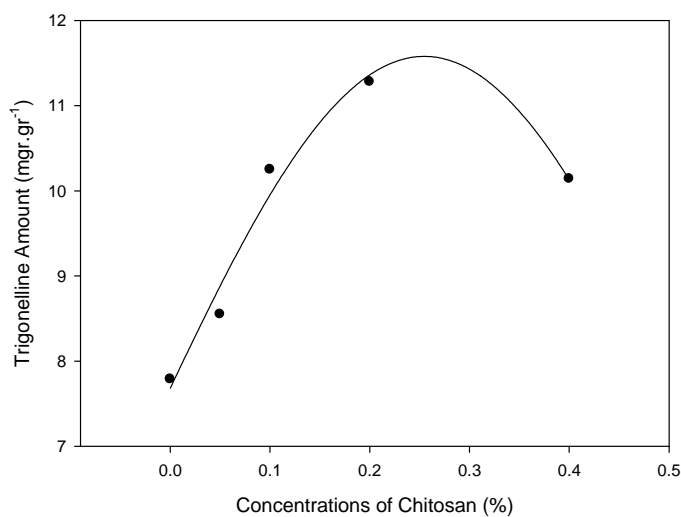


جدول شماره ۳- برش‌دهی اثر متقابل سطوح غلظت کیتوزان برای هر سطح تنش خشکی

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات		
		میزان تریگونلین	جوانه ۸ روزه	جوانه ۱۲ روزه
عدم تنش خشکی	۴	۱۱/۲۹ **	۱/۳۹ ns	۴/۵۴ **
تنش خشکی (۰/۲ مگاپاسکال)	۴	۵/۹۳ **	۱۷/۹۶ **	۷/۲۵ **
تنش خشکی (۰/۴ مگاپاسکال)	۴	۹/۷ **	۲۳/۰۲ **	۹/۰۸ **

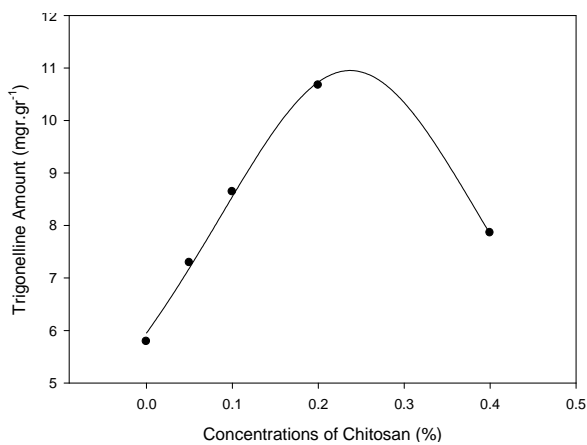


شکل شماره ۱- روند تغییر میزان تریگونلین جوانه چهار روزه شبلیله در شرایط عدم خشکی تحت تأثیر تیمار کیتوزان

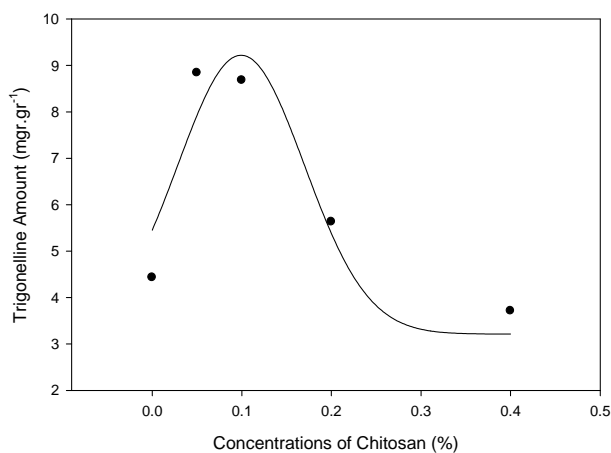


شکل شماره ۲- روند تغییر میزان تریگونلین جوانه چهار روزه شبلیله در شرایط تنش خشکی ۰/۲- مگاپاسکال تحت تأثیر تیمار کیتوزان

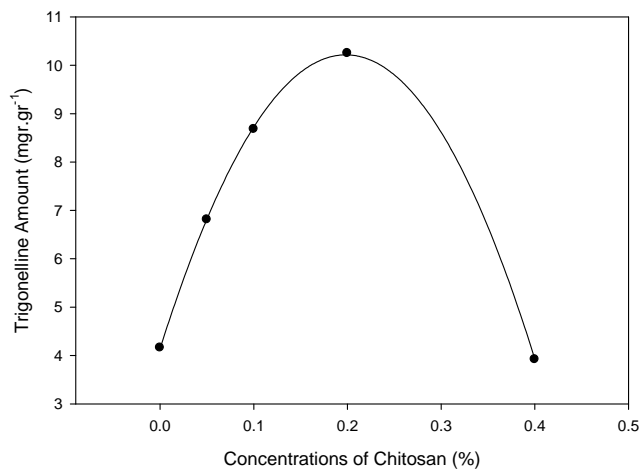




شکل شماره ۳- روند تغییر میزان تریگونلین جوانه چهار روزه شنبليله در شرایط تنش خشکی ۰/۴- مگاپاسکال تحت تأثیر تیمار کیتوزان



شکل شماره ۴- روند تغییر میزان تریگونلین جوانه هشت روزه شنبليله در شرایط تنش خشکی ۰/۲- مگاپاسکال تحت تأثیر تیمار کیتوزان



شکل شماره ۵- روند تغییر میزان تریگونلین جوانه هشت روزه شنبليله در شرایط تنش خشکی ۰/۴- مگاپاسکال تحت تأثیر تیمار کیتوزان



میزان تريگونلین جوانه دوازده روزه شنبلیله

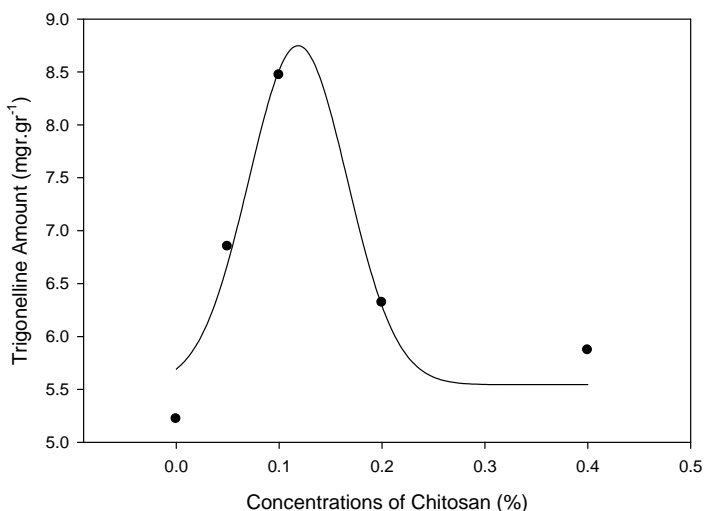
تجزیه واریانس میزان تريگونلین جوانه دوازده روزه شنبلیله نشان داد که اثر کیتوزان، تنش خشکی و اثر متقابل کیتوزان و تنش خشکی در سطح یک درصد بر صفت مذکور معنی دار بود (جدول شماره ۲). برش دهی اثر متقابل مشخص نمود که در هر سه سطح تیمار خشکی، غلظت های مختلف کیتوزان تأثیر متفاوتی بر تريگونلین گیاهچه های شنبلیله داشته اند (جدول شماره ۳).

تجزیه رگرسیون میزان تريگونلین در تیمار عدم تنش خشکی نشان داد که غلظت های مختلف کیتوزان با معادله گوسن چهار پارامتری بهترین برازش را داشتند و بیشترین میزان

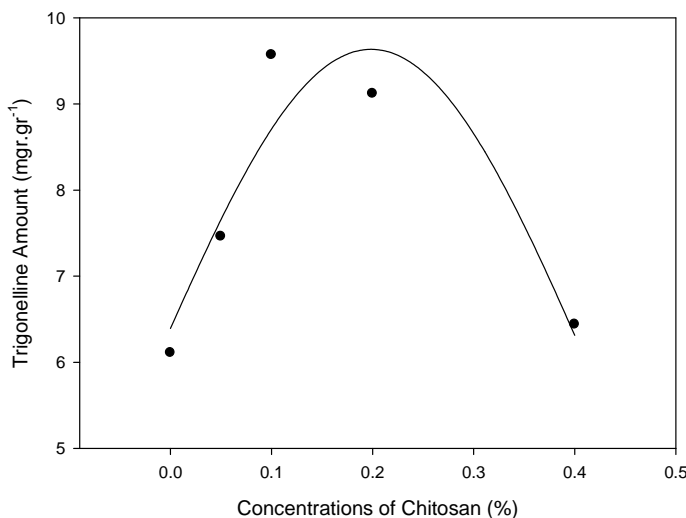
تريگونلین، در غلظت ۰/۱۲ درصد کیتوزان مشاهده شد (شکل شماره ۶).

در تیمار تنش خشکی ۰/۲- مگاپاسکال، غلظت های مختلف کیتوزان با معادله گوسن سه پارامتری بهترین تطابق را نشان داد به طوری که بیشترین میزان تريگونلین، در غلظت ۰/۲ درصد کیتوزان مشاهده شد (شکل شماره ۷).

در تیمار تنش خشکی ۰/۴- مگاپاسکال، غلظت های مختلف کیتوزان با معادله گوسن سه پارامتری بهترین برازش را نشان داد به طوری که با انجام محاسبات بیشترین میزان تريگونلین در غلظت ۰/۲۱ درصد کیتوزان مشاهده شد (شکل شماره ۸).

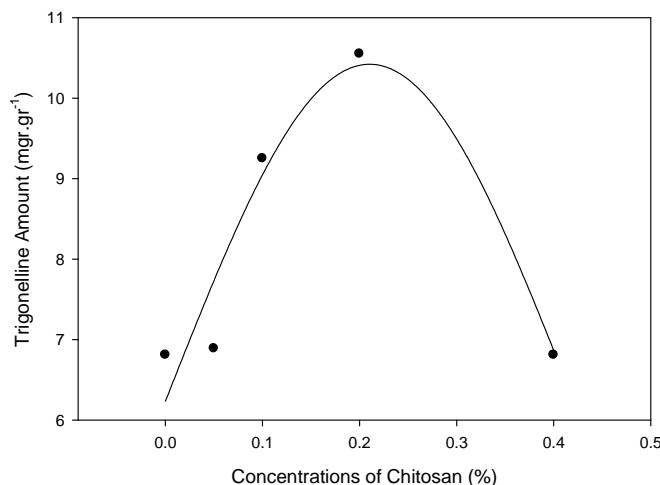


شکل شماره ۶- روند تغییر میزان تريگونلین جوانه دوازده روزه شنبلیله در شرایط عدم تنش خشکی تحت تأثیر تیمار کیتوزان



شکل شماره ۷- روند تغییر میزان تريگونلین در شرایط تنش ۰/۲- مگاپاسکال در جوانه دوازده روزه شنبلیله روز تحت تأثیر تیمار کیتوزان





شکل شماره ۸- روند تغییر میزان تريگونلین جوانه دوازده روزه شنبلیله در شرایط تنش ۰/۴- مگاپاسکال تحت تأثیر تیمار کیتوزان

## بحث

منتقل و مانند دیگر ترکیبات در طی جوانه زنی ذخیره می شود. بنابراین تريگونلین به عنوان شکل ذخیره ای اسیدنيکوتینیک در جوانه زنی عمل می کند. تريگونلین اثری روی رشد گیاهچه ها ندارد اما اسیدنيکوتینیک و نيکوتین امید نقش مهمی در بازدارندگی رشد ریشه دارند. پس یکی از دلایل ستنز تريگونلین در گیاهچه های ماش، کاهش مقدار زیاد اسیدنيکوتینیک و نيکوتین آمیدی است که از چرخه NAD در سلولها رها شده است [۲۷]. نتایج این تحقیق نشان داد که تنش خشکی میزان تريگونلین را در گیاهچه شنبلیله افزایش می دهد و استفاده از محرک زیستی کیتوزان تا ۰/۲ درصد موجب افزایش میزان تريگونلین شده است. همچنین مشخص شد که با افزایش تنش خشکی میزان بهینه کیتوزان نیز افزایش یافته است. در گیاهان، تريگونلین به عنوان یک متابولیت دفاعی در واکنش به کمبود آب افزایش می یابد و نتیجه آن کاهش تعداد گره ها و عملکرد است. در آزمایشی نشان داده شد که تنش خشکی در گیاه بادام زمینی سبب افزایش غلظت تريگونلین در ژنوتیپ های مختلف بادام زمینی در آبیاری کم در مقایسه با شرایط آبیاری کامل شده است [۲۸]. مهدوی و همکاران (۲۰۱۳) نتیجه گرفتند که پیش تیمار بذرهاي گلرنگ با غلظت های پایین کیتوزان (۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد) اثر مثبتی بر جوانه زنی داشته و با تأثیر بر سیستم دفاع آنتی اکسیدانی گیاه سبب افزایش مقاومت گیاهچه های گلرنگ به

نتایج این بررسی نشان داد که با گذشت زمان میزان تريگونلین گیاهچه شنبلیله کاهش یافت و بیشترین میزان این متابولیت ثانویه در مراحل اولیه جوانه زنی بود. البته با اعمال تنش خشکی و مقدار بهینه کیتوزان کاهش میزان تريگونلین با گذشت زمان به حداقل رسید. زنگ و همکاران (۲۰۰۴) گزارش نمودند که در هنگام جوانه زنی به دلیل مصرف تريگونلین مقدار آن در بذر کاهش می یابد [۲۴]. در گزارش دیگری [۲۵] بالاترین میزان تريگونلین در طی روزهای آغازی بعد از جوانه زنی مشاهده شد که با نتایج به دست آمده در این آزمایش همخوانی دارد.

شیمیزو و مزافرا (۲۰۰۰) در تحقیقی، تغییر در مقدار تريگونلین بذر قهوه را در مراحل ابتدایی جوانه زنی بررسی کردند و نتیجه گرفتند که در طی جوانه زنی، تريگونلین انباشته شده در بذرها به اسید نيکوتینیک تبدیل شده و برای ساخت NAD استفاده می شود. بنابراین، تريگونلین به عنوان مخزن اسید نيکوتینیک در گیاهان عمل می کند. بخشی از اسید نيکوتینیک تشکیل شده از تريگونلین در مراحل بعدی تبدیل به دیگر متابولیت ها می شود [۲۶]. اما زنگ و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که در مراحل اولیه جوانه زنی ماش، فعالیت آنزیم تريگونلین سنتاز در محور جنینی افزایش و در لپه ها کاهش می یابد. در نتیجه تريگونلین لپه ها به محور جنینی





جوانه‌زنی شنبلیله دارد [۵].

### نتیجه‌گیری

نتایج این آزمایش نشان داد که میزان تریگونلین پس از جوانه‌زنی با گذشت زمان کاهش می‌یابد و می‌توان با اعمال تنش خشکی و استفاده از محرک زیستی کیتوزان این روند نزولی میزان تریگونلین را کاهش داد. به هرحال از آنجایی که بذر شنبلیله به عنوان درمان کمکی برای بیماران دیابتی نوع دوم کاربرد دارد می‌توان با تحقیقات بیشتر از جوانه شنبلیله در اصلاح رژیم غذایی این بیماران استفاده نمود.

تنش کم آبی شده است [۲۹].

در این آزمایش، معادلات پلی‌نومیال (درجه دو) و پیک (گوسین سه و چهار پارامتری و لرنزین)، اثر کیتوزان بر میزان تریگونلین را تحت تنش خشکی در روزهای مختلف با بیشترین دقت برآورد کردند. آزمایشات زیادی بر مدل‌سازی جوانه‌زنی گیاهان مختلف در تنش خشکی انجام نشده است. اسلام‌پور و همکاران (۲۰۱۴) بهترین مدل برای برازش جوانه‌زنی گلرنگ تحت تنش خشکی را ویبول اعلام کرده‌اند [۳۰]. همچنین بستامی و همکاران (۲۰۱۴) از مدل‌های هیدروتایم براساس داده‌های تجمعی جوانه‌زنی بر روی بذور گلرنگ استفاده کرده‌اند [۳۱]. مهرآفرین و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای گزارش کرده‌اند مدل گامپرتز برازش مناسبی برای تخمین درصد

### منابع

1. Avicenna A. Ghanoon dar Teb. Soroush Press. 1988, pp: 244 - 251.
2. Salehi Sormaghi M. Medicinal plants and herbal therapy. Donyaye taghzieh press. Vol. 1. 2007, 406.
3. Seghat Aleslami M J and Ahmadi Bonakdar K. The Effect of Sowing Date and Plant Density on Yield and Yield Components of Fenugreek (*Trigonella foenum-gracum* L.). *Bimonthly Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants* 2010; 2 (2 (48)): 265-74.
4. Bernath J. Wild and cultivated medicinal plants. Budapest: Mezo Publication. 1993.
5. Mehrafarin A, Naghdibad H, Noormohammadi G, Zand E, Rezazadeh S and Qaderi A. Effects of environmental factors and methanol on germination and emergence of Persian Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *African Journal of Agricultural Research* 2011; 6 (19): 4631-4641.
6. Pasko P, Barton H, Zagrodzki P, Gorinstein S, Folta M and Zachwieja Z. Anhocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry* 2009; 115: 994-8.
7. Dueñas M, Hernández T, Estrella I and Fernández D. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). *Food Chem.* 2009; 117: 599-607.
8. Hung PV, Hatcher DW and Barker W. Phenolic acid composition of sprouted wheats by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and their antioxidant activities. *Food Chem.* 2011; 126: 1896-901.
9. Martinez-Villaluenga C, Peñas E, Ciska E, Piskula M K, Kozłowska H and VidalValverde C. Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds. *Food Chem.* 2010; 120: 710-6.
10. Oloyo R A. Chemical and nutritional quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. *Food Chem.* 2004; 85: 497-502.
11. Zielin'ski H, Frias J, Piskula MK, Kozłowska



H and Vidal-Valverde C. Vitamin Bland B, dietary fiber and minerals content of Cruciferae sprouts. *European Food Research and Technology* 2005; 221: 78-83.

12. Cevallos-Casals BA and Cisneros-Zevallos L. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chem.* 2010; 119: 1485-90.

13. Rahimian Mashhadi H, Bagheri A and Paryab A. The potential effects of the polyethylene glycol and sodium chloride with temperature on germination of wheat in dryland stand. *Journal of Agricultural Sciences and Technol.* 1991; 5: 36-45.

14. Petropoulos S A, Dimitra D, Polissiou MG and Passam HC. The effect of water deficit stress on the growth, yield and composition of essential oils of parsley. *Scientia Horticulturae* 2008; 115: 393-7.

15. Mohammadi M, Qualitative and quantitative performance evaluation of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) stimulte under the influence of biological, chemical fertilizers and drought, in Department of Agronomy. Shahed University Faculty of Agriculture. 2011, 146.

16. No H K, N Y P, S H L and P M S. Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights. *Int. Food Microbiol.* 2002; 74: 65-72.

17. Wei S, Zang X M, Xue J P and G X. Effect of chitosan on seeds germination and seedling physiological property of wheat. Periodicals. *Core Journals Biology Journal* 2007; 24 (2): 51-53.

18. Winter Y, House Q P, Xiu-juan W, Zhi-Meng Z and You-rong S. Effect of chitosan on physiological activities in germinating seed and seedling leaves of maize. Periodicals Hebei Vocational and Technical Teachers College Journal, 2001; 15 (4): 9-12.

19. Winter Y, House Q P, Zhi-Meng Z, Xiujuan W and Xiao-jun H. Germinating seed of peanut effects of chitosan on some physiological activity in germinating seed of peanut. *Core Journals Journal of Peanut Science* 2002; 31 (1): 22-25.

20. Hirano S. The activation of plant cells and their self-defence function against pathogens in connection with chitosan. *Nippon Nogeikagaku Kaishi* 1988; 62: 293-5.

21. Lee YS, Kang CS and Lee YS. Effects of chitosan on production and rot control of soybean sprouts. *Korean Journal of Crop Science* 1999; 44: 368-72.

22. Kim HJ. Characterization of bioactive compounds in essential oils, fermented anchovy sauce, and edible plants, and, induction of phytochemicals from edible plants using methyl jasmonate (MeJA) and chitosan. Clemson University: USA. 2005, 356.

23. Sahari Moghadam A, Mehrafarin A and Naghdi Badi H. Changes of Trigonelline, Nicotinic Acid and Proline Content in Early Growth Stages of *Trigonella foenum-graecum* L. under Saline Condition. *Journal of Medicinal Plants* 2016; 15 (57): 47-55.

24. Zheng XQ and Ashihara H. Distribution, biosynthesis and function of purine and pyridine alkaloids in *Coffea Arabica* seedlings. *Plant Sci.* 2004; 166: 807-13.

25. Martinez- Villaluenga C, Kuo Y-H, Lambein F, Frias J and Vidal- Valverde H. Kinetics of free protein amino acids, free non-protein amino acids and trigonelline in soybean (*Glycin max* L.) and lupin (*Lupinus angustifolius* L.) sprouts. *Eur. Food Res. Technol.* 2006; 224: 177-86.

26. Shimizu MM and Mazzafera P. A role for trigonelline during imbibition and germination of coffee seeds. *Plant Biol.* 2000; 2: 605-11.

27. Zheng X, Hayashibe E and Ashihara H. Changes in trigonelline (N-methylnicotinic acid) content and nicotinic acid metabolism during germination of mungbean (*Phaseolus aureus*) seeds. *J. Experimental Botany* 2005; 56 (416): 1615-23.

28. Cho Y, Kodjoe E, Puppala N and Wood A J. Reduced trigonelline accumulation due to rhizobial activity improves grain yield in peanut (*Arachis*



*hypogaea* L.). *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science* 2011; 61 (5): 395-403.

**29.** Mahdavi B, Modarres Sanavy S A M, Aghaalikhani M and Sharifi M. Effect of chitosan on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Seed Germination and antioxidant enzymes activity under water stress. *Journal of Plant Researches (Iranian Journal of Biology)* 2013; 26 (3): 325-65.

**30.** Eslamipour F, Gharine D, Fathi Q F and

Derakhshan A, Modeling hydrotime germination of seeds of safflower (*Carthamus tinctorius*), in 1st International & 13th National Iranian Crop Science Congress. 2014.

**31.** Bastami M and Majidian M, Evaluation of salinity on seed germination and seedling growth Coriander (*Coriandrum sativum*) L., in 1st International & 13th National Iranian Crop Science Congress. 2014.



## Quantitative Changes of Trigonelline Metabolite in Fenugreek (*Trigonella foenum-gracum* L.) Sprouts under Chitosan and Water Stress Induction

Ahadi P (M.Sc.)<sup>1</sup>, Naghdi Badi H (Ph.D.)<sup>2</sup>, Labbafi M.R (Ph.D.)<sup>2\*</sup>

1- Department of Horticulture Science, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

2- Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran

\*Corresponding author: Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran

Tel: +98-26-34764010-9, Fax: +98-26-34764021

Email: Mohammad1700@yahoo.com

### Abstract

**Background:** Application of bio-stimulants is one of solutions to quantitative and qualitative changes in metabolites of medicinal plants sprouts.

**Objective:** The aim of this study is to investigate the effect of chitosan bio-stimulation on trigonelline content of sprout under water stress.

**Methods:** This study was conducted in three separate factorial experiments (three times of 4, 8 and 12 days after planting) based on completely randomized design with 15 treatment in 3 replications. The treatments were chitosan in five levels (0, 0.05%, 0.1%, 0.2% and 0.4%) and water stress in 3 levels (control without stress treatment, -0.2 and 0.4 Mpa).

**Results:** The result of variance analysis showed that chitosan, under stress and interaction effect of chitosan and water stress had significant effect on trigonelline content of 4, 8 and 12-day sprout. The trigonelline content decreased during the experiment in a way that the highest content of that was observed at the first days of seed germination.

**Conclusion:** By induction of water stress and application of chitosan with optimum amount (to 0.2%) decrease in trigonelline content attained to the lowest trend during the experiment.

**Keywords:** *Trigonella foenum-gracum* L., Bio-stimulant, Environmental stress, Modeling, Sprout

