

## تأثیر بیوچار بر میزان تريگونلین بذر اکوتیپ‌های گیاه دارویی شنبلیله (*Trigonella foenum-graceum* L.) در شرایط کم آبیاری

زهرا بیطرفان<sup>۱\*</sup>، حمیدرضا اصغری<sup>۲</sup>، طاهره حسنیلو<sup>۳</sup>، احمد غلامی<sup>۲</sup> و فواد مرادی<sup>۳</sup>

۱- نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران  
پست الکترونیک: z.bitarafan@gmail.com

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

۳- استادیار، گروه فیزیولوژی مولکولی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۶

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۹۶

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۶

### چکیده

تقاضای بالا برای استفاده از داروهای گیاهی و محدودیت منابع گیاهی مرتبط با آنها موجب شده است که توجه و تحقیق پیرامون این دسته از گیاهان به منظور افزایش عملکرد و مواد مؤثره آنها ضرورت یابد. این تحقیق به بررسی تأثیر کاربرد بیوچار بر عملکرد و میزان تريگونلین موجود در بذر اکوتیپ‌های گیاه شنبلیله (*Trigonella foenum-graceum* L.) در رژیم‌های مختلف آبیاری می‌پردازد. بدین منظور شش اکوتیپ با کوتاه دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد و خمینی‌شهر در شرایط کاربرد (به میزان ۸-۷٪ وزن حجمی خاک) و عدم کاربرد بیوچار در دو دور آبیاری ۴ (آبیاری نرمال) و ۸ (کم آبیاری) روز با استفاده از آزمایش اسپلیت پلات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در سال ۱۳۹۴ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (کرج) بررسی شدند. نتایج نشان داد که کاربرد بیوچار در شرایط آبیاری نرمال و کم آبیاری عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک را افزایش می‌دهد. با وجود پاسخ متفاوت اکوتیپ‌ها، افزایش دور آبیاری بر عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و عملکرد تريگونلین در تمام اکوتیپ‌ها اثر کاهشی نشان داد. با اعمال تیمارهای آزمایشی، تغییر میزان تريگونلین بذر در اکوتیپ‌های مختلف روند مشابهی نداشت و اکوتیپ‌ها پاسخ متفاوتی نشان دادند. به طور خلاصه، اگرچه کاربرد بیوچار با تعدیل اثرات ناشی از کم آبی توانست از کاهش رشد و عملکرد جلوگیری کند اما تأثیری بر میزان تريگونلین بذر نداشت.

واژه‌های کلیدی: اکوتیپ، بیوچار، تريگونلین، شنبلیله (*Trigonella foenum-graceum* L.)، عملکرد دانه، کم آبیاری.

### مقدمه

یونجه و سویا شناسایی شده و دارای خواص دارویی متعدد و مهمی مانند خاصیت ضددیابتی، ضدسرطانی، ضدمیگرنی و ضدعفونی‌کنندگی می‌باشد. به دلیل نقش تريگونلین در بازدارندگی فعالیت آنزیم‌های اصلی متابولیسم گلوکز که منجر به کاهش سطح گلوکز خون می‌شود، تحقیقات زیادی

تريگونلین ( $C_7H_7NO_2$ ) ترکیبی است آکالوئیدی با نقش هورمونی که از طریق متیلاسیون اسید نیکوتینیک در گیاه ساخته می‌شود (Mehrafarin et al., 2012). این متابولیت در بسیاری از گونه‌های گیاهی مانند قهوه، شنبلیله، نخود،

منجر به افزایش محصول شود (Glaser *et al.*, 2002)؛ Yamato *et al.*, 2006؛ Lehmann & Rondon, 2006؛ Atkinson *et al.*, 2010؛ Brodowski *et al.*, 2007؛ Lehmann *et al.*, 2011). افزودن بیوچار به طور بالقوه‌ای می‌تواند ظرفیت نگهداری آب را در خاک افزایش دهد. به عبارتی اصلاح خاک با بیوچار می‌تواند تولید محصول را از طریق حفظ بیشتر آب باران در مناطق خشک و همچنین کاهش تعداد دفعات یا میزان آب مصرفی آبیاری بهبود بخشد (Streubel *et al.*, 2011). Abbaspour و همکاران (۲۰۱۷) در بررسی تأثیر کاربرد بیوچار بر گیاه دارویی سیاه‌دانه در شرایط کم‌آبیاری گزارش کردند که کاربرد ۱۰ تن در هکتار بیوچار به همراه مصرف کود شیمیایی افزایش قابل توجهی در عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک در شرایط آبیاری بر اساس ۷۰٪ نیاز آبی گیاه نسبت به شاهد (عدم کاربرد بیوچار و کود شیمیایی در شرایط آبیاری براساس ۱۰۰٪ نیاز آبی گیاه) را بدنبال داشت. به عبارتی کاربرد مقدار متعادلی از بیوچار به همراه کود شیمیایی به دلیل بهبود عناصر غذایی خاک و کاهش آبتویی، علاوه بر تأثیر بهینه بر عملکرد، میزان آب مصرفی را کاهش داده است (Abbaspour *et al.*, 2017). تحقیقات متعددی در رابطه با تأثیر کاربرد بیوچار بر رشد و عملکرد گیاهان انجام شده است. با وجود این، مطالعات نسبتاً کمی در ارتباط با پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه به افزودن بیوچار گزارش شده است (Kammann *et al.*, 2011). این تحقیق با هدف بررسی تأثیر بیوچار سبوس برنج بر عملکرد و ترکیب دارویی تریگونلین موجود در بذر اکوتیپ‌های گیاه شنبلیله در دو دور آبیاری متفاوت انجام شد.

### مواد و روش‌ها

به منظور بررسی تأثیر بیوچار بر عملکرد و ترکیب دارویی تریگونلین موجود در بذر اکوتیپ‌های شنبلیله در دوره‌های مختلف آبیاری آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران در شهر کرج (موقعیت جغرافیایی ۳۵ درجه و ۵۹ دقیقه شمالی، ۵۰ درجه و ۷۵

برای تولید داروهای جدید به منظور کنترل و درمان دیابت بر روی آن انجام شده است (Mehrafarin *et al.*, 2012). بنا بر گزارش‌ها این ترکیب اولین بار از گیاه شنبلیله استخراج شده است (Mehrafarin *et al.*, 2012). شنبلیله با نام علمی *Trigonella foenum-graceum* یک گیاه علفی یک‌ساله از تیره بقولات و بومی شرق مدیترانه است. بذر و قسمت‌های هوایی این گیاه منبع ارزشمندی از پروتئین در تغذیه انسان و دام بوده و به دلیل نقش گسترده‌ای که در درمان و پیشگیری بیماری‌ها داشته است از دیرباز در طب سنتی مورد استفاده بوده است (Hassanzadeh *et al.*, 2010).

شنبلیله دارای قدمت بسیار طولانی کشت در ایران می‌باشد و توده‌های متنوع و ارزشمندی از این گیاه در کشور وجود دارد. کم‌آبی یکی از عوامل مهم محدودکننده کشت شنبلیله در ایران می‌باشد. در حال حاضر هیچ راه منطقی برای افزایش نزولات جوی در طول دوره‌های خشکی وجود ندارد، از این رو بهترین راه مقابله با خشکی بکارگیری عملیات زراعی مناسب و استفاده از ارقامی است که تحمل بیشتری به خشکی داشته باشند (Ahmadi & Javidfar, 2000). یکی از عملیات زراعی مورد نظر محققان کشاورزی افزودن ترکیب‌هایی به خاک است که به عنوان جاذب رطوبت عمل کرده و بازدهی آب خاک را افزایش می‌دهند. موادی که ضمن افزایش کارایی مصرف آب و کاهش تلفات آن، به خاک و محیط‌زیست هم آسیبی وارد ننمایند. یکی از این ترکیب‌ها که اخیراً در سطح جهانی مورد توجه قرار گرفته است بیوچار می‌باشد.

بیوچار (Biochar) محصولی غنی از کربن است که از حرارت دیدن زیست‌توده‌هایی مانند چوب، کود دامی یا برگ، در یک محفظه در بسته، بدون هوای در دسترس یا حاوی مقادیر کم آن حاصل می‌گردد. به لحاظ تخصصی‌تر، بیوچار از تجزیه حرارتی مواد آلی تحت شرایط محدودیت اکسیژن و در دماهای کمتر از ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد بدست می‌آید (Lehmann & Joseph, 2009). بیوچار می‌تواند با افزایش رشد گیاه از طریق بهبود خصوصیات شیمیایی، فیزیکی و بیولوژیکی خاک مانند رطوبت در دسترس خاک

در عمق حدود ۵ سانتی‌متر زیر بذر مورد استفاده قرار گرفت. تیمار آبیاری با افزایش دور آبیاری از ۴ به ۸ روز از مرحله ۵۰٪ گلدهی اعمال شد. آزمایش در بازه زمانی اردیبهشت‌ماه تا آبان‌ماه (کاشت تا برداشت در زمان رسیدگی فیزیولوژیک) انجام شد. در مزرعه هر کرت آزمایشی شامل ۴ خط ۴ متری با فاصله خطوط ۵۰ سانتی‌متر و فاصله بوته روی خط ۴ سانتی‌متر بود که ۲ خط کناری به‌عنوان حاشیه در نظر گرفته شد. شرایط آب و هوایی منطقه در طول دوره آزمایش و همچنین خصوصیات خاک مزرعه و بیوجار مورد استفاده به‌ترتیب در جدول‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و عملکرد تریگونلین به‌صورت عملکرد در مترمربع محاسبه شدند. شاخص برداشت از تقسیم عملکرد دانه به عملکرد بیولوژیک، به‌صورت درصد محاسبه گردید.

دقیقه شرقی و ارتفاع از سطح دریا ۱۳۲۱ متر) در سال ۱۳۹۴ اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی شش اکوتیپ پا کوتاه شنبليله (دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد و خمینی‌شهر)، دو سطح بیوجار (عدم کاربرد و کاربرد به میزان ۸-۷٪ وزن حجمی خاک تا عمق ۳۰ سانتی‌متر) و دو سطح آبیاری (دور آبیاری ۴ روز به‌عنوان آبیاری نرمال و دور آبیاری ۸ روز به‌عنوان کم‌آبیاری) و طرح آزمایشی اسپلیت پلات فاکتوریل (آبیاری به‌عنوان عامل اصلی و ترکیب‌های بیوجار و اکوتیپ به‌عنوان عامل فرعی) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در نظر گرفته شد. ماده آلی اولیه برای تهیه بیوجار در این آزمایش سبوس برنج در نظر گرفته شد و بیوجار آن از حرارت غیرمستقیم سبوس برنج در کوره در دانشگاه صنعتی شاهرود تولید شد که به میزان ۸-۷٪ وزن حجمی خاک (تا عمق ۳۰ سانتی‌متر) در لایه بالایی خاک و

جدول ۱- شرایط آب و هوایی منطقه در طول دوره آزمایش

ماه	میانگین حداکثر دما (سلسیوس)	میانگین حداقل دما (سلسیوس)	مجموع بارندگی (میلی‌متر)	میانگین رطوبت نسبی (%)	حداکثر سرعت وزش باد (متر بر ثانیه)	ساعات آفتابی (ساعت)
اردیبهشت	۲۷/۵	۱۲/۴	۲	۳۲/۲	۱۵	۲۷۴/۸
خرداد	۳۴/۲	۱۷/۷	۷/۵	۲۹/۴	۱۷	۳۱۴/۱
تیر	۳۷/۲	۲۰/۸	۲/۶	۲۸/۵	۲۷	۳۴۱/۷
مرداد	۳۶/۳	۲۰/۷	۰	۲۶/۸	۹	۳۶۲/۱
شهریور	۳۱	۱۶/۷	۴/۴	۴۲/۴	۱۸	۳۰۹/۶
مهر	۲۵/۹	۱۳/۱	۳/۵	۴۲/۷	۱۳	۲۰۳/۱
آبان	۱۴/۹	۶/۹	۷۷/۴	۶۸/۴	۱۲	۱۵۷

منبع: اداره کل هواشناسی استان البرز

۳۰۰۰ rpm در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. محلول رویی جدا و در یخچال نگهداری و مراحل بالا برای رسوب باقی‌مانده به‌منظور استخراج کامل تریگونلین دوباره تکرار و محلول رویی حاصل از مرحله دوم به محلول اول اضافه شد. محلول حاصل تا زمان تغلیظ کامل در کانسنتریتور (Rotary Concentrator Plus, Eppendorf,)

تریگونلین به روش Shailajan و همکاران (۲۰۱۱) با اندکی تغییر اندازه‌گیری شد. بدین‌منظور ۲/۵ میلی‌لیتر متانول خالص به نیم گرم از پودر ساییده شده بذر شنبليله اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه ورتکس و بعد به مدت ۲۲ ساعت با دور ۱۶۰ rpm در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در شیکر قرار گرفت. سپس مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با دور

تریگونلین با استفاده از غلظت‌های مختلف استاندارد این ماده تعیین شد. طول موج و زمان بازداری به ترتیب ۲۶۷ نانومتر و ۲۰ دقیقه بود.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (9.2) و مقایسه میانگین اثرات اصلی با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ انجام شد. در صورت معنی‌دار بودن اثرات متقابل برش‌دهی، مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون Ismeans انجام گردید.

Germany) قرار داده شد. در زمان اندازه‌گیری تریگونلین، ۱ میلی‌لیتر متانول خالص به نمونه اضافه و پس از ورتکس و حل شدن کامل نمونه در متانول، محلول حاصل از فیلتر سر سرنگی (13mm, Millipore Filters) عبور و به صورت دستی به دستگاه HPLC تزریق شد. محلول بدست آمده توسط دستگاه HPLC (Knauer, Germany) با استفاده از ستون UV/Vis (5µm, 4×250 mm) C18 و دتکتور (K2300, Germany) و حلال متانول ۹۵٪ (HPLC grade) در شدت جریان یک میلی‌لیتر در دقیقه تجزیه و غلظت

جدول ۲- خصوصیات خاک مزرعه محل آزمایش و بیوچار تهیه شده از سیوس برنج

بیوچار (Biochar)		خاک (Soil)	
۷/۸	اسیدیته (۱:۵)	۸/۱	اسیدیته
۲/۲	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) (۱:۵)	۲/۴۲	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر)
۵/۱	آهک کل (%)	۸/۷	آهک کل (%)
۰/۷۹	نیتروژن (%)	۰/۰۵	نیتروژن کل (%)
۸/۴۳	کربن آلی (%)	۰/۳۷	کربن آلی (%)
۰/۱۳	فسفر (%)	۱۱/۴	فسفر (میلی‌گرم در کیلوگرم)
۰/۸۴	پتاسیم (%)	۱۹۸	پتاسیم (میلی‌گرم در کیلوگرم)
۰/۵	کلسیم (%)	۳۵	سیلت (%)
۰/۰۹	سدیم (%)	۲۶	رس (%)
۱/۰۳	منیزیم (%)	۳۹	شن (%)
		لومی	بافت

## نتایج

(جدول ۳). با وجود این اثر متقابل سه‌گانه تیمارهای آزمایشی بر صفات مورد بررسی معنی‌دار نبود (جدول ۳). براساس نتایج بدست آمده کاربرد بیوچار در دور آبیاری ۴ و ۸ روز، میانگین عملکرد دانه را به ترتیب به میزان ۲۴/۳٪ و ۲۶/۶٪ و میانگین عملکرد بیولوژیک را به ترتیب به میزان ۲۱/۰۹٪ و ۲۵/۸٪ افزایش داد (جدول ۴).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد در بین اثرات متقابل دوگانه، اثر متقابل آبیاری×بیوچار بر عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیک در سطح ۵٪ و اثر متقابل آبیاری×اکوتیپ بر عملکرد دانه، شاخص برداشت و میزان تریگونلین بذر در سطح ۵٪ و بر عملکرد بیولوژیک و عملکرد تریگونلین در سطح ۱٪ معنی‌دار بود

جدول ۳- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی

میانگین مربعات					درجه	منبع تغییرات
میزان تریگونلین	عملکرد تریگونلین	شاخص برداشت	عملکرد بیولوژیک	عملکرد دانه	آزادی	
۰/۰۰۰۰۱ns	۰/۵ns	۴/۲ns	۷۵۳۹/۴ns	۹۰۵/۰۲*	۲	تکرار
۰/۰۰۰۱*	۹۸/۷**	۱/۶ns	۲۷۰۲۷۴۶/۳**	۷۶۵۹۰/۷**	۱	آبیاری
۰/۰۰۰۰۰۴ns	۰/۲ns	۳/۶ns	۸۹۹/۱ns	۲۱۷/۲ns	۲	تکرار × آبیاری
۰/۰۰۰۰۱ns	۲۴/۴**	۴/۸ns	۴۶۹۲۸۸/۲**	۱۶۱۷۴/۰۵**	۱	بیوچار
۰/۰۰۰۰۵**	۴۰/۵**	۲۲/۶**	۵۰۸۰۰۵/۹**	۱۲۹۸۱/۰۳**	۵	اکوتیپ
۰/۰۰۰۰۱ns	۱/۸ns	۱/۳ns	۱۸۹۳۵/۶*	۱۱۳۵/۵*	۱	آبیاری × بیوچار
۰/۰۰۰۰۰۶ns	۰/۳ns	۴/۲ns	۳۵۷۸/۲ns	۴۱۳/۱ns	۵	بیوچار × اکوتیپ
۰/۰۰۰۱*	۲/۵**	۱۰/۹*	۴۷۱۱۲/۷**	۱۱۳۲/۶*	۵	آبیاری × اکوتیپ
۰/۰۰۰۰۴ns	۰/۹ns	۲/۴ns	۲۹۰۲/۹ns	۴۱۴/۰۹ns	۵	آبیاری × بیوچار × اکوتیپ
۰/۰۰۰۰۲	۰/۵	۳/۷	۳۶۱۸/۸	۲۲۴/۵	۴۴	خطا
۱۲/۴	۱۵/۹	۱۱/۵	۹/۵	۱۴/۳	-	ضریب تغییرات (%)

\*\* و \*، به ترتیب معنی دار در سطح ۱٪ و ۵٪ و ns، غیر معنی دار می باشد.

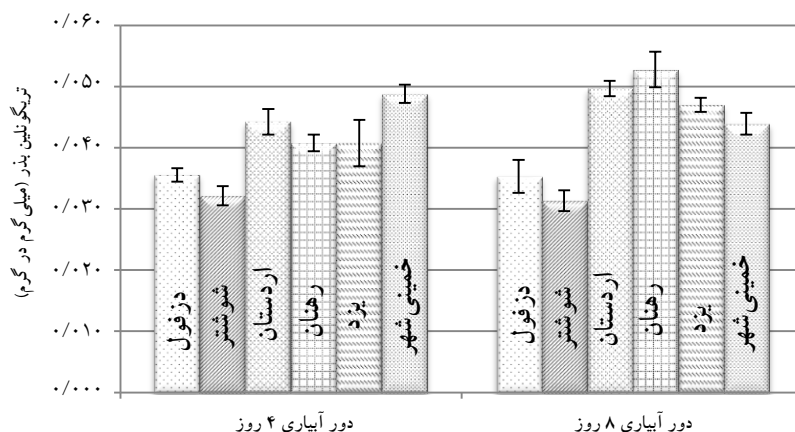
نتایج نشان داد که تغییر میزان تریگونلین بذر اکوتیپ‌های مختلف تحت تأثیر تیمارهای آزمایشی روند مشابهی نداشت و اکوتیپ‌ها پاسخ متفاوتی نشان دادند (شکل ۱). به طوری که میزان تریگونلین در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر و خمینی شهر با افزایش دور آبیاری به ترتیب به میزان ۰/۶، ۲/۵ و ۹/۹ درصد کاهش و در اکوتیپ‌های اردستان، رهنان و یزد به ترتیب به میزان ۱۱، ۲۲/۷ و ۱۳/۳ درصد افزایش داشت (شکل ۱). البته با وجود کاهش شاخص برداشت، با افزایش دور آبیاری تفاوت معنی‌داری بین اکوتیپ‌ها وجود نداشت و تنها اکوتیپ یزد شاخص برداشت پایین‌تری نسبت به بقیه اکوتیپ‌ها داشت (جدول ۴).

با وجود پاسخ متفاوت اکوتیپ‌ها به افزایش دور آبیاری، اثر کاهشی افزایش دور آبیاری بر عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و عملکرد تریگونلین در تمام اکوتیپ‌ها قابل مشاهده بود. به طوری که در اکوتیپ‌های دزفول، شوشتر، اردستان، رهنان، یزد و خمینی شهر با افزایش دور آبیاری عملکرد دانه به ترتیب به میزان ۶۱/۲، ۴۷/۵، ۵۰/۱، ۴۴/۷، ۳۸/۴ و ۴۶/۲ درصد، عملکرد بیولوژیک به ترتیب به میزان ۵۴/۷، ۴۳/۶، ۴۶/۸، ۴۶/۹، ۴۹/۱ و ۴۱/۹ درصد و عملکرد تریگونلین به ترتیب به میزان ۶۱/۰۲، ۵۰/۱، ۴۳/۷، ۲۸/۳، ۲۶/۸ و ۵۲/۲ درصد کاهش یافت (جدول ۴).

جدول ۴- تأثیر دور آبیاری × بیوچار و دور آبیاری × اکوتیپ بر صفات مورد بررسی

میانگین					
عملکرد تریگونلین (گرم در مترمربع)	شاخص برداشت (%)	عملکرد بیولوژیک (گرم در مترمربع)	عملکرد دانه (گرم در مترمربع)	تیمار	
				بیوچار	آبیاری
		۹۱۸/۹a	۱۵۵/۸a	کاربرد	دور آبیاری ۴ روز
		۷۲۵/۰۹b	۱۱۷/۸b	عدم کاربرد	
		۴۹۹/۰۷a	۸۲/۶a	کاربرد	دور آبیاری ۸ روز
		۳۷۰/۰۳b	۶۰/۶b	عدم کاربرد	
				اکوتیپ	
۴/۱c	۱۹/۶a	۶۰۱/۹d	۱۲۰/۳c	دزفول	دور آبیاری ۴ روز
۲/۴d	۱۷/۹ab	۴۱۶/۰۷e	۷۵/۱d	شوشتر	
۶/۶b	۱۶/۵b	۹۱۷/۷bc	۱۵۱/۸b	اردستان	
۸/۱a	۱۷/۵ab	۱۱۴۸/۳a	۲۰۰/۵a	رهنان	
۵/۱c	۱۳/۳c	۹۶۸/۱b	۱۳۰/۱bc	یزد	
۶/۹b	۱۶/۱b	۸۷۹/۹c	۱۴۳/۰۵bc	خمینی شهر	
۱/۶c	۱۶/۹ab	۲۷۲/۱c	۴۶/۶c	دزفول	دور آبیاری ۸ روز
۱/۲c	۱۶/۹ab	۲۳۴/۵c	۳۹/۴c	شوشتر	
۳/۷b	۱۵/۶b	۴۸۸/۰۷b	۷۵/۷b	اردستان	
۵/۸a	۱۸/۲a	۶۰۹/۷a	۱۱۰/۸a	رهنان	
۳/۷b	۱۶/۳ab	۴۹۲/۲b	۸۰/۱b	یزد	
۳/۳b	۱۵/۲b	۵۱۰/۵b	۷۶/۸b	خمینی شهر	

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ ندارند.



شکل ۱- تأثیر دور آبیاری و اکوتیپ‌های مختلف شنبلیله بر میزان تریگونلین بذر (میلی گرم در گرم)

## بحث

بر گیاه دارویی همیشه‌بهار نشان دادند که با افزایش سطح خشکی، محتوای آنتوسیانین ۲۳٪، کاروتنوئید ۷۱٪، قندهای محلول ۳۶٪، محتوای پرولین ۴۷٪ و رنگیزه‌های فتوسنتزی ۶۳٪ افزایش یافت.

نقش‌های متعددی از جمله تنظیم چرخه سلولی (Mazucca et al., 2000)، تشکیل گره‌های ریشه‌ای در لگوم‌ها (Boivin et al., 1990)، محرک قوی متابولیسم دفاعی در شرایط تنش (Berglund, 1994)، نقش فعال در متیلاسیون‌های گیاهی و واکنش شب‌تنجشی برگ (Minorsky, 2002) برای تریگونلین در گیاه گزارش شده‌اند. Berglund و همکاران (۱۹۹۶) گزارش کردند که نیکوتین آمید و متابولیت‌های آن به‌ویژه تریگونلین به‌عنوان ناقل پیام در واکنش گیاهان به تنش اکسیداتیو عمل می‌کنند. Cho و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که تنش خشکی در بادام‌زمینی سبب افزایش غلظت تریگونلین در ژنوتیپ‌های مختلف بادام‌زمینی در آبیاری کم در مقایسه با شرایط آبیاری کامل می‌شود. تریگونلین در گیاهان به‌عنوان یک متابولیت دفاعی در واکنش به کمبود آب افزایش می‌یابد و نتیجه آن کاهش تعداد گره‌ها و عملکرد است (Cho et al., 2011). اگرچه در این تحقیق میزان تریگونلین در برخی از اکوتیپ‌ها با افزایش دور آبیاری کاهش نشان داد اما تفاوت معنی‌داری

کاهش میزان عملکرد و افزایش میزان متابولیت‌های ثانویه به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اسمزی در اثر کم‌آبی در این پژوهش مشابه گزارش‌های انجام شده بر روی بسیاری از گیاهان است (Cho et al., 2011; Ardakani et al., 2007; Dadrasan et al., 2015; Jafarzadeh et al., 2014). Baradaran و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی اثرات دور آبیاری (۴، ۸ و ۱۲ روز) بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه شنبلیله نشان دادند که با کاهش دور آبیاری عملکرد دانه و علوفه، ارتفاع بوته، تعداد غلاف در بوته، تعداد بذر در غلاف و وزن هزاردانه افزایش می‌یابد. البته کاهش عملکرد دانه و علوفه شنبلیله با کاهش آب مصرفی مربوط به کاهش ارتفاع گیاه، کاهش سطح برگ و افزایش اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه می‌باشد (Sreevalli et al., 2001). Ardakani و همکاران (۲۰۰۷) گزارش دادند که بیشترین عملکرد اندام هوایی، ارتفاع، طول و عرض برگ در گیاه بادرنجبویه از تیمار بدون تنش حاصل شد ولی بیشترین عملکرد اسانس از تیمار ۶۰٪ ظرفیت زراعی و بیشترین درصد اسانس از تیمار ۲۰٪ ظرفیت زراعی بدست آمد. Jafarzadeh و همکاران (۲۰۱۴) نیز در بررسی اثرات افزایش قابلیت رطوبت خاک از ۵/۰ اتمسفر تا ۱۰ اتمسفر

و به دنبال آن گسترش سلول‌های گیاهی حاصل می‌شود، با کاهش بیان ژن‌های کنترل‌کننده سازوکارهای دفاعی گیاه شامل مسیرهای بیوستنتز اسید سالیسیلیک و جاسمونیک و اغلب متابولیت‌های ثانویه در ارتباط است. به‌عنوان مثال، آنان کاهش چشمگیر میزان آنتوسیانین‌ها، فلاونول‌ها و گلوکوزینولات‌ها را در آراییدوپسیس و کاهوی تیمار شده با بیوچار خرده چوب صنوبر گزارش کردند. برخلاف نتایج بدست‌آمده توسط Viger و همکاران (۲۰۱۵)، Elad و همکاران (۲۰۱۱) و همچنین Meller Harel و همکاران (۲۰۱۲) نقش مثبت بیوچار در مقاومت اکتسابی سیستماتیک به‌دنبال تنش زیستی را گزارش کردند. در این تحقیق کاربرد بیوچار اگرچه باعث افزایش عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و عملکرد تریگونلین شد اما تأثیری بر میزان تریگونلین آنها نداشت. به‌عبارتی تعامل پیچیده بین انواع مختلف گونه‌های گیاهی، خاک و بیوچار، دامنه‌ای از نتایج را به‌دنبال دارد که نیاز به تحقیقات بیشتر را در این زمینه نشان می‌دهد.

### منابع مورد استفاده

- Abbaspour, F., Asghari, H.R., Rezvani Moghaddam, P., Abbasdokht, H., Shabahang, J. and Baig Babaei, A., 2017. Effect of biochar application on yield and yield components of black seed (*Nigella sativa* L.) under low irrigation condition. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 33(5): 837-852.
- Ahmadi, M.R. and Javidfar, F., 2000. Evaluation and drought tolerance improvement methods in oil species of *Brassica* genus. *Agricultural Research and Education Organization Press*, 11: 121-128.
- Akhtar, S.S., Li, G., Andersen, M.N. and Liu, F., 2014. Biochar enhances yield and quality of tomato under reduced irrigation. *Agricultural Water Management*, 138: 37-44.
- Ardakani, M.R., Abbaszadeh, B., Sharifi Ashorabadi, E., Lebaschi, M.H. and Paknejad, F., 2007. Evaluation effect of water deficit on quantity and quality of *Melissa officinalis* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 23(2): 251-261.
- Artiola, J.F., Craig, R. and Robert, F., 2012. Effects of a biochar-amended alkaline soil on the growth of

بین آنها وجود نداشت. Labbafi و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی تجزیه علیت صفات مؤثر بر درصد تریگونلین دانه و عملکرد تریگونلین نشان دادند که وزن خشک اندام هوایی با اثر مستقیم و مثبت مؤثرترین صفت در تعیین درصد تریگونلین دانه بوده و عملکرد دانه به همراه درصد تریگونلین دانه اثر مستقیم بر عملکرد تریگونلین داشتند. تحقیقات نشان داده‌اند که افزودن بیوچار می‌تواند ظرفیت نگهداری آب خاک را افزایش دهد. در نتیجه اصلاح خاک با بیوچار منجر به افزایش تولید محصولات زراعی از طریق حفظ بیشتر آب ناشی از بارندگی‌ها در مناطق خشک و کاهش دفعات آبیاری و میزان آب مصرفی در آبیاری‌ها می‌گردد (Streubel *et al.*, 2011). Basso و همکاران (۲۰۱۳) با کاربرد بیوچار در خاک شنی، ۲۳٪ افزایش در ظرفیت نگهداری آب خاک در مقایسه با کنترل را گزارش کردند. افزایش ظرفیت نگهداری آب خاک ناشی از قدرت جذب بالا و ساختار متخلخل بیوچار گزارش شده است. وزن حجمی بیوچار نسبت به خاک‌های معدنی پایین‌تر است، بنابراین کاربرد بیوچار متناسب با میزان مصرفی موجب اصلاح وضعیت آبی خاک به‌دلیل تغییر در تخلخل و در طولانی‌مدت در دانه‌بندی خاک می‌گردد (Novak *et al.*, 2009؛ Artiola *et al.*, 2012؛ Basso *et al.*, 2013). Akhtar و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که افزودن بیوچار محتوای رطوبتی خاک را در شرایط کم‌آبیاری افزایش و متعاقباً منجر به بهبود فیزیولوژی، عملکرد و کیفیت محصول در گوجه‌فرنگی می‌گردد. بنابراین انتظار می‌رود بیوچار با تعدیل شرایط، اثرات ناشی از تنش خشکی از جمله تجمع تنظیم‌کننده‌های اسمزی را کاهش دهد. از سوی دیگر تأثیر خود بیوچار بر تجمع این گونه متابولیت‌ها نیاز به بررسی دارد. با وجود بررسی‌های متعدد تأثیر بیوچار بر رشد و عملکرد گیاهان، اطلاعات کمی در رابطه با پاسخ‌های فیزیولوژیک گیاه به افزودن بیوچار وجود دارد. نتایج بدست آمده از روی بیان ژن در گیاهان تیمار شده با بیوچار توسط Viger و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که تأثیرات مثبت بیوچار بر رشد گیاهان که عمدتاً بر اثر افزایش میزان اکسین



- Hassanzadeh, E., Rezazadeh, S.H., Shamsa, S.F., Dolatabadi, R. and Zaringhalam, J., 2010. Review on phytochemistry and therapeutic properties of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). Journal of Medicinal Plants, 9: 1-18.
- Jafarzadeh, L., Omid, H. and Bostani, A.A., 2014. The study of drought stress and bio fertilizer of nitrogen on some biochemical traits of marigold medicinal plant (*Calendula officinalis* L.). Journal of Plant Researches (Iranian Journal of Biology), 2: 180-193.
- Kammann, S.I., Sebastian, L., Johannes, W.G. and Hans-Werner, K., 2011. Influence of biochar on drought tolerance of *Chenopodium quinoa* Willd and soil-plant relations. Plant Soil, 345: 195-210.
- Labbafi, M.R., Naghdi Badi, H., Zand, E., Qaderi, A., Noormohammadi, G., Khalaj, H. and Mehrafarin, A., 2014. Determination of yield components of trigonelline in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seed based on path analysis and regression. Journal of Medicinal Plants, 2(50): 144-155.
- Lehmann, J., Rillig, M.C., Thies, J., Masiello, C.A., Hockaday, W.C. and Crowley, D., 2011. Biochar effect on soil biota- a review. Soil biology and biochemistry, 43: 1812-1836.
- Lehmann, J. and Rondon, M., 2006. Bio-char soil management on highly weathered soils in the humid tropics: 517-530. In: Uphoff, N., (Ed.). Biological Approaches to Sustainable Soil Systems. CRC Press, Boca Raton, 784p.
- Lehmann J. and Joseph, S., 2009. Biochar for Environmental Management: Science and Technology. Earthscan, London, UK, 449p.
- Mazzuca, S., Bitonti, M.B., Innocenti, A.M. and Francis, D., 2000. Inactivation of DNA replication origins by the cell cycle regulator, trigonelline, in root meristems of *Lactuca sativa*. Planta, 211: 127-132.
- Mehrafarin, A., Qavami, N., Naghdi Badi, H. and Qaderi, A., 2012. Trigonelline alkaloid, a valuable medicinal metabolite plant. Journal of Medicinal Plants, 1(41S8): 12-29.
- Meller Harel, Y., Elad, Y., Rav-David, D., Borenshtin, M., Shulchani, R., Lew, B. and Graber, E.R., 2012. Biochar mediates systemic response to strawberry to fungal pathogens. Plant and Soil, 357: 245-257.
- Minorsky, P.V., 2002. Trigonelline a diverse regulator in plants. Plant physiology, 128(1): 7-8.
- Novak, J.M., Lima, I., Xing, B.S., Gaskin, J.W., Steiner, C., Das, K.C., Ahmedna, M., Rehrah, D., Watts, D.W., Busscher, W.J. and Schomberg, H., 2009. Characterization of designer biochar produced Romaine lettuce and bermudagrass. Soil Science, 177: 561-570.
- Atkinson, C.J., Fitzgerald, J.D. and Hipps, N.A., 2010. Potential mechanisms for achieving agricultural benefits from biochar application to temperate soils: a review. Plant and Soil, 337: 1-18.
- Baradaran, R., Shokhmgar, M., Mosavi, G. and Arazmjo, E., 2013. Effects of irrigation interval and nitrogen on seed yield and yield components of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*). Journal of Horticultural Sciences, 27(3): 295-300.
- Basso, A.S., Miguez, F.E., David, A.L., Robert, H. and Westgate, M., 2013. Assessing potential of biochar for increasing water-holding capacity of sandy soils. GCB Bioenergy, 5(2): 132-143.
- Berglund, T., 1994. Nicotinamide, a missing link in the early stress response in eukaryotic cells- a hypothesis with special reference to oxidative stress in plants. FEBS Letters, 351: 145-149.
- Berglund, T., Kalbin, G., Strid, A., Rydstrom, J. and Ohlsson, A.B., 1996. UV-B and oxidative stress induced increase in nicotinamide and trigonelline and inhibition of defensive metabolism induction by poly (ADPribose) polymerase inhibitor in plant tissue. FEBS Letters, 380: 188-193.
- Boivin, C., Camut, S., Malpica, C.A., Truchet, G. and Rosenberg, C., 1990. *Rhizobium meliloti* genes encoding catabolism of trigonelline are induced under symbiotic conditions. Plant Cell, 2: 1157-1170.
- Brodowski, S., Amelung, W., Haumaier, L. and Zech, W., 2007. Black carbon contribution to stable humus in German arable soils. Geoderma, 139: 220-228.
- Cho, Y., Kodjoe, E., Puppala, N. and Wood, A.J., 2011. Reduced trigonelline accumulation due to rhizobial activity improves grain yield in peanut (*Arachis hypogaea* L.). Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil and Plant Sciences, 61(5): 395-403.
- Dadrasan, M., Chaichi, M.R., Pourbabaee, A.A., Yazdani, D. and Keshavarz-Afshar, R., 2015. Deficit irrigation and biological fertilizer influence on yield and trigonelline production of fenugreek. Industrial Crops and Products, 77: 156-162.
- Elad, Y., Cytryn, E., Meller Harel, Y., Lew, B. and Graber, E.R., 2011. The biochar effect: plant resistance to biotic stresses. Phytopathologia Mediterranea, 50: 335-349.
- Glaser, B., Lehmann, J. and Zech, W., 2002. Ameliorating physical and chemical properties of highly weathered soils in the tropics with charcoal-a review. Biology and Fertility of Soil, 35: 219-230.

- of contrasting biochar types on five soils at increasing rate of application. *Soil Biology and Biochemistry*, 75: 1402-1413.
- Viger, M., Hancock, D.R., Miglietta, F and Taylor, G., 2015. More plant growth but less plant defence? First global gene expression data for plants grown in soil amended with biochar. *GCB Bioenergy*, 7: 658-672.
  - Yamato, M., Okimori, Y., Wibowo, I.F., Anshori, S. and Ogawa, M., 2006. Effects of the application of charred bark of *Acacia mangium* on the yield of maize, cowpea, peanut and soil chemical properties in south Sumatra, Indonesia. *Soil Science and Plant Nutrition*, 52: 489-495.
  - at different temperatures and their effects on a loamy sand. *Annals of Environmental Science*, 3: 195-206.
  - Shailajan, S., Menon, S., Singh, A., Mhatre, M. and Sayed, N., 2011. A Validated RP-HPLC method for quantitation of trigonelline from herbal formulations containing *Trigonella foenum graecum* L. seeds. *Pharmaceutical Methods*, 2(3): 157-160.
  - Sreevalli, Y., Baskaran, K., Chandrashekara, R.S and Kulkarni, R.N., 2001. Preliminary observations on the effect of irrigation frequency and genotypes on yield and alkaloid concentration in petriwinkle. *Journal of Medicinal and Aromatic Plant Science*, 22: 356-358.
  - Streubel, J.D., Collins, H.P., Garcia-Perez, M., Tarara, J., Granatstein, D. and Kruger, C.E., 2011. Influence

## Biochar effect on seed trigonelline content of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) ecotypes under deficit irrigation

Z. Bitarafan<sup>1\*</sup>, H.R. Asghari<sup>2</sup>, T. Hasanloo<sup>3</sup>, A. Gholami<sup>2</sup> and F. Moradi<sup>3</sup>

1\*- Corresponding author, Ph.D. student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran, E-mail: z.bitarafan@gmail.com

2- Department of Agronomy and Plant Breeding, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran

3- Department of Molecular Physiology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

Received: September 2017

Revised: February 2018

Accepted: February 2018

### Abstract

High demand for herbal medicines and the limited plant sources necessitates more research on these plants to increase their yield and effective compounds. The present study assessed the effect of biochar on yield and seed trigonelline content of fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.) ecotypes under different irrigation regimes. Six branched fenugreek ecotypes including Dezful, Shushtar, Ardestan, Rehnan, Yazd and Khomeyni Shahr were treated by biochar application (at a rate of 7-8% of soil v/v) and non-application under two irrigation intervals of 4 (normal irrigation) and 8 (deficit irrigation) days using a split plot factorial experiment in a randomized complete block design with three replications. The study was conducted in the research field of Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran in 2015. According to the results, biochar application increased the seed yield and biological yield under both irrigation intervals. The decreasing effect of increasing water intervals on seed yield, biological yield and trigonelline yield was observed in all ecotypes. Changes in seed trigonelline content did not follow a similar trend in different ecotypes. In summary, although biochar prevented the growth and yield reduction by decreasing water deficiency effects, it did not have any significant effect on seed trigonelline content.

**Keywords:** Ecotype, biochar, trigonelline, fenugreek (*Trigonella foenum-graceum* L.), seed yield, deficit irrigation.