Research Article

Plant Prod., 2021, 44(3), 381-394
http://plantproduction.scu.ac.ir//

ISSN (P): 2588-543X
ISSN (E): 2588-5979

Effects of Application and Type of Amino Acids on the Activity of Antioxidant Enzymes, Proline Content and Seed yield of Lentil (*Lens culinaris* Medik.)

Ali Heidarzadeh[1]*, Seyed Ali Mohammad Modarres -Sanavy[2]

1- ***Corresponding Author:** Ph.D. Student of Agronomy, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran (Ali.heidarzadeh@modares.ac.ir)
2- Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Citation: Heidarzadeh, A., & Modarres Sanavy, S. A.M. (2021). Effects of application and type of amino acids on the activity of antioxidant enzymes, Proline content and seed yield of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Plant Productions,* 44(3), 381-394.

10.22055/ppd.2020.31327.1834

Received: 30 October, 2019 Accepted: 25 December, 2019

Abstract

Introduction

Lentil is used mainly for human consumption as a source of protein and carbohydrates in soups, stews and vegetarian dishes. It is grown to improve economical returns to producers, diversify and lengthen crop rotations and reduce the requirement for nitrogen fertilizer. Lentil, a member of the legume family, Leguminosae, can supply a significant part of its Nitrogen requirement by fixing Nitrogen from the air when inoculated with the appropriate rhizobial inoculant. The pattern of nutrients in the proximal composition of lentil is similar to that of other grain legumes, but seed protein content (19.5–35.5%) is less than in soybean. Fiber concentration is low and is largely within the seed testa, so the fiber in lentil meal can be reduced if it is de-hulled before grinding. In addition to high-quality protein, essential amino acids, and major minerals, the seed contains iron up to 505 mg kg^{-1} and zinc up to 330 mg kg^{-1} on a whole seed basis. Amino acids are help in tissue protein formation. Some amino acids are not synthesized in the body and it is necessary to take them in diet. Lentils contain different amino acids that can be used by most people. This research was carried-out to study effect of different amino acids on the activity of antioxidant enzymes, Proline content and seed yield of lentil in delayed planting.

Materials and Methods

The research was conducted as a factorial experiment based on a randomized complete block

© 2021 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Crestive Commons Attribution License (http://crestivecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

design with three replications in the Research Farm of Agricultural Faculty, Tarbiat Modares University, through May to July, 2018. The studied factors included mode of application (priming, spraying and priming + spraying) and type of amio acids (Arginine, Aspartic acid, Proline, trade amino acid (proamin) and distilled water (control). Analysis of variance (ANOVA) and also mean comparisons were accomplished using the general linear model (GLM) procedure. LSD procedure at a probability level of 0.05 was used to determine statistically significant differences among treatment means.

Results and and Discussion

The results showed that the highest total dry weight was obtained from the application of Arginine spraying (2330 kg ha^{-1}), priming + spraying aspartic acid (2388 kg ha^{-1}) and trade amino acid (2219 kg ha^{-1}). The highest amount of catalase (CAT) activity was observed in the treatment of distilled water by foliar application and its least effective activity was observed in the application of Arginine as priming. The application of aspartic acid as acidic acid with 888.7 kg ha^{-2} produced the highest yield. As a result, it is more than three times the performance of using distilled water (control). The application of Arginine (555.1 kg ha^{-2}), commercial amine (444.0 kg ha^{-2}) and Proline (327.8 kg ha^{-2}) were established in the next rank, respectively. According to the results of this study, amino acids can reduce the stress of heat. In the absence of amino acid, yield reduction will be higher. Although amino acids are a Nitrogen source, the routine concentrations involved in exogenous supply are so low that its positive effects can be attributable to an increase in Nitrogen availability.

Conclusion

Aspartic acid and Arginine due to their role in the Nitrogen cycle and also, due to the fact that amino acids are the building blocks of proteins, improved lentil yield. Therefore, it is recommended to use amino acids to increase the yield of lentils. The application of aspartic acid via both priming and spraying is suggested as the best treatment.

Keywords: Arginine, Aspartic acid, Catalase, Legume, Proline

مقاله پژوهشی

Plant Prod., 2021, 44(3), 381-394
http://plantproduction.scu.ac.ir//

ISSN (P): 2588-543X
ISSN (E): 2588-5979

اثر نوع و روش مصرف اسیدهای آمینه مختلف بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتوای پرولین و عملکرد دانه عدس (*Lens culinaris* Medik.)

علی حیدرزاده[1]* ، سید علی محمد مدرس ثانوی[2]

۱- ***نویسنده مسئول:** دانشجوی دکتری زراعت، گروه زراعت ، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
(Ali.heidarzadeh@modares.ac.ir)

۲- استاد، گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۰۴

چکیده

به منظور مطالعه اثر اسیدهای آمینه مختلف روی عملکرد و صفات بیوشمیایی عدس، آزمایشی در سال زراعی ۱۳۹۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. عوامل مورد بررسی شامل نحوه کاربرد آمینواسیدها در سه سطح بذرمال، محلول‌پاشی و بذرمال + محلول‌پاشی به‌عنوان عامل اول و کاربرد انواع آمینواسیدها در پنج سطح آرژنین، آسپارتیک اسید، پرولین، اسیدآمینه تجاری پروآمین و آب‌مقطر (شاهد) به‌عنوان عامل دوم در نظر گرفته شد. مقدار مصرف اسیدهای آمینه یک گرم در لیتر بود. نتایج نشان داد بیش‌ترین وزن خشک کل به‌ترتیب از تیمارهای بذرمال و محلوپاشی آسپارتیک اسید (۲۳۸۸ کیلوگرم در هکتار)، محلول‌پاشی آرژنین (۲۳۳۰ کیلوگرم در هکتار) و محلول‌پاشی اسیدآمینه تجاری پروآمین (۲۲۱۹ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار استفاده از آب‌مقطر به‌صورت محلول‌پاشی و کمترین فعالیت آن در کاربرد آرژنین به‌صورت بذرمال مشاهده شد. کاربرد اسیدآمینه آسپارتیک اسید با۷۱۸/۸ کیلوگرم در هکتار بیش‌ترین عملکرد را تولید کرد که بیش از سه برابر عملکرد حاصل از استفاده از آب‌مقطر (شاهد) بود. کاربرد آرژنین (۵۵۵/۱ کیلوگرم در هکتار)، اسیدآمینه تجاری پروآمین (٤٤٤/٥ کیلوگرم در هکتار) و پرولین (۳۲۷/۸ کیلوگرم در هکتار) به‌ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفت. کاربرد آسپارتیک اسید به‌صورت بذرمال و محلول‌پاشی با بیش‌ترین عملکرد به‌عنوان تیمار برتر معرفی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: آرژنین، آسپارتیک اسید، پرولین، حبوبات، کاتالاز

مقدمه

عدس (*Lens culinaris* Medik.) جزو مهم‌ترین حبوبات بوده که به دلیل داشتن پروتئین (حدود ۲۸ درصد)، عناصر ضروری و ویتامین‌ها در جیره غذایی افراد کم درآمد نقش مهمی دارد و به دلیل ارزش علوفه‌ای، به‌عنوان خوراک دام نیز استفاده می‌شود (Majnoun Hosseini, 2008; Ahmadpour et al., 2015). هم‌چنین توانایی تثبیت نیتروژن خاک را دارد (Ghanem et al., 2015). سطح زیرکشت عدس در ایران، آسیا و جهان به‌ترتیب ۱۳۸۷۳۹، ۳۱۰۶۹۰۰ و ۶۵۸۲۷۷۹ هکتار و میانگین عملکرد آن به‌ترتیب ۶۰۱، ۹۲۱ و ۱۱۵۳ کیلوگرم در هکتار در سال ۲۰۱۷ گزارش شده است (FAO, 2019). با توجه

به این‌که بیش از ۸۰ درصد اراضی زیرکشت عدس در کشور ایران به‌صورت دیم می باشد، لذا خشکی و کمبود آب در خاک بیش‌ترین تأثیر را در کاهش عملکرد این گیاه دارد (Parsa and Bagheri, 2008). هم‌چنین تنش‌های زیستی مانند حشرات، بیماری‌ها و علف‌های هرز و تنش‌های غیرزیستی نظیر درجه حرارت، حاصلخیزی خاک و خشکسالی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید عدس به‌شمار می‌روند (Korbu, 2009).

زیست محرک‌هایی نظیر اسیدهای آمینه و الیگوپپتیدهای فعال زیستی با جذب از طریق برگ و ریشه روی فرآیندهای مختلف رشد و نموی گیاهان و مقاومت در برابر تنش‌ها و شرایط نامناسب محیطی از جمله سرما و گرمای شدید، خشکی و شوری تأثیر می‌گذارد؛ به‌طوری‌که از این ترکیب‌ها در سال‌های اخیر در کشورهای پیشرفته جهان برای افزایش بهره‌بری محصولات زراعی و باغی استفاده می‌شود (Thomas et al., 2009). کاربرد اسیدهای آمینه این امکان را برای گیاه فراهم می آورد تا انرژی ذخیره شده را صرف رشد بیش‌تر، افزایش عملکرد و کیفیت محصول نماید (Thomas et al., 2009). اسیدهای آمینه به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بر فعالیت‌های فیزیولوژیک، رشد و نمو گیاه مؤثر می‌باشند (Faten et al.,2010). گیاهان قادرند از اسیدهای آمینه به‌عنوان منبع نیتروژن استفاده کنند (El-Naggar, 2009). این ترکیبات در وضعیت آزاد همچون ذرات باردار عمل کرده و وقتی وارد سلول‌های گیاهی می‌شوند، به واسطه خلوص بالا در فرآیندهای متابولیکی دخیل می‌شوند (Thornton., & Robinson, 2005). تغذیه برگی اسیدهای آمینه آزاد می‌تواند یک منبع مهم برای سنتز پروتئین باشد (Raeisi, 2014). در واقع اسیدهای آمینه، زنجیره اصلی ساختار پروتئین‌ها بوده و به نوبه خود در رشد گیاه مؤثر هستند (Hounsome et al., 2008). Naghdi Badi et al. (2015) نشان دادند که کاربرد محرک‌های زیستی با پایه اسیدهای آمینه به همراه ۲۰ درصد حجمی متانول سبب افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه دارویی آویشن باغی شد. Karima et al. (2005) و Attoa et al. (2002) دریافتند که محلول‌پاشی اسیدهای آمینه باعث افزایش قابل توجه ارتفاع بوته، تعداد ساقه‌های فرعی، وزن تر و خشک گیاه بابونه می‌شود. محلول‌پاشی پرولین در شرایط تنش خشکی به‌طور قابل توجهی درصد و عملکرد اسانس در ریحان و بابونه را افزایش داد (Karima et al., 2005). Hoque et al. (2007) در آزمایشی که روی تنباکو انجام دادند، دریافتند که استفاده از پرولین به علت افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، نقش مهمی در کاهش اثرات تنش ایفا می‌کند. در این تحقیق واکنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد عدس به کاربرد خالص و تجاری اسیدهای آمینه و نوع کاربرد آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال زراعی ۱۳۹۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. عوامل مورد بررسی شامل نحوه کاربرد آمینواسیدها در سه سطح بذرمال، محلول‌پاشی و بذرمال + محلول‌پاشی به‌عنوان عامل اول و کاربرد انواع آمینواسیدها در پنج سطح آرژنین (L-Arginine, Merck، کشور آلمان)، آسپارتیک اسید (L-Aspartic acid, Merck، کشور آلمان)، پرولین (L-Proline, Merck، کشور آلمان)، اسیدآمینه تجاری پروآمین (Proamin, Avan Europe، کشور اسپانیا) و آب‌مقطر (شاهد) به‌عنوان عامل دوم در نظر گرفته شد. مقدار مصرف اسیدهای آمینه یک گرم در لیتر بود. میزان کل آمینواسیدهای آزاد اسیدآمینه تجاری پروآمین شامل پرولین (۹/۷۸ درصد)، سرین (۱۱/۳۲ درصد)، اسیدگلوتامیک (۹/۴۸ درصد)، گلایسین (۹/۴۸ درصد)، لیوسین (۵/۴۰ درصد)، والین (۴/۷۶ درصد)، آسپارتیک اسید (۶/۲۲ درصد)، آرژنین (۵/۲۹ درصد)، ترونین (۴/۲۰ درصد)، آلانین (۴/۱۵ درصد)، فنیل آلانین (۴/۲۸ درصد)، سیستین (۱/۱۶ درصد)، لایسین (۱/۴۸ درصد) تیروزین (۰/۷۰ درصد)، هیستیدین (۱/۴۶ درصد)، متیونین (۰/۶۰ درصد) و ایزولیوسین (۳/۰۵ درصد) می‌باشد. بعد از عملیات شخم و آماده‌سازی مزرعه، در اردیبهشت ماه اقدام به کشت بذر عدس رقم بیله سوار با وزن هزار دانه ۴۸ گرم شد. تیمارهای مربوط به بذرمالی قبل از کشت به مدت دو ساعت با اسیدهای

آمینه آغشته شدند. هر کرت آزمایشی شامل شش خط کاشت به طول پنج متر و فاصله بین خطوط ۲۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد به طوری که تراکم ۲۰۰ بوته در مترمربع حفظ شود (Mahmoudi, 2006). نیاز غذایی عدس با توجه نتایج آزمایش خاک (جدول ۱) تأمین شد. با توجه به جدول (۱)، ۲۵ کیلوگرم نیتروژن در هکتار به‌عنوان کود آغازگر قبل از کاشت اعمال شد. آبیاری به‌صورت قطره‌ای و مبارزه با علف‌های هرز در صورت نیاز به‌صورت دستی انجام گردید. محلول‌پاشی اسیدهای آمینه بعد از یک ماه کشت در سه مرحله به فواصل ۱۰ روز یک‌بار انجام گرفت. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم و صفات بیوشیمیایی در مرحله غلاف‌دهی از برگ‌های سبز نمونه‌ای تازه تهیه و با نیتروژن مایع فریز شد. اندازه‌گیری وزن خشک کل، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه و وزن خشک غلاف و عملکرد دانه در زمان رسیدگی (تیر ماه) انجام گرفت.

به منظور تعیین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ‌ها طبق روش توصیف شده توسط Jiang et al. (2016) عصاره استخراج گردید. طبق این روش، ۰/۵ گرم برگ تازه گیاه عدس به یک آون چینی سرد شده اضافه و با چهار میلی‌لیتر بافر استخراج شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۸)، یک درصد (وزنی به حجمی) پلی‌ونیل‌پیرولیدون (PVP) با متوسط وزن مولکولی ۴۰۰۰۰ و ۰/۱ میلی‌مولار اتیلن دیامین تترا استیک اسید، همگن گردید و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. نهایتاً فاز بالایی محلول سوپرنوتانت جهت آزمون پروتئین کل برگ و آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و پلی‌فنل اکسیداز (PPO) مورد استفاده قرار گرفت. میزان پروتئین کل برگ به روش Bradford (1976) اندازه‌گیری شد. برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (POX)، ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷/۰) با ۱۰۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسیداز (۰/۱mM) و ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربات اسید ۱۵ میلی‌مولار مخلوط و به آن، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد و در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. یک واحد فعالیت آنزیم به مقدار آنزیمی گفته می‌شود که در مدت یک دقیقه میزان جذب نور را کاهش دهد. در نهایت داده‌های به دست آمده، به فعالیت آنزیم در هر گرم وزن تر برگ در دقیقه تبدیل شد.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با تعیین اکسیداسیون گایاکول توسط هیدروژن پراکسیداز تعیین شد. محلول واکنش شامل ۱۰۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۰)، ۲۰ میلی‌مولار گایاکول، ۲۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسیداز (۰/۱ mM) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیم بود. میزان تغییرات جذب به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت یک دقیقه اندازه‌گیری و فعالیت آنزیم محاسبه گردید. آنزیم کاتالاز، هیدروژن پراکسیداز را بدون نیاز به فاکتور احیاکننده به اکسیژن و آب تبدیل می‌کند. برای اندازه‌گیری این آنزیم، ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۰)، ۱۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسیداز (۰/۱mM) و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه شده در کووت مخلوط و میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت یک دقیقه ثبت شد (Flocco and Giulietti, 2007; Tijssen, 1985). سنجش میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز طبق روش ارایه‌شده توسط Kar and Mishra (1985) انجام گردید. محلول واکنش برای اندازه‌گیری فعالیت آن شامل ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷/۰)، ۱۰۰ میلی‌مولار پیروگالول و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم بود. میزان جذب واکنش در طول موج ۴۲۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و میزان فعالیت آنزیم بر حسب مقادیر اکسید شده پیروگالول محاسبه شد. میزان پرولین نیز به روش Bates et al. (1973) اندازه‌گیری شد.

Table 1. Farm soil physicochemical properties

Soil depth (cm)	Soil texture	N (%)	P ($mgkg^{-1}$)	K ($mgkg^{-1}$)	pH	EC (dSm^{-1})	Organic matter (%)
0-30	Sandy loam	0.063	29.4	440	7.91	0.971	1.1766
30-60	Sandy loam	0.044	45.9	407	7.59	1.627	0.7060

نتایج و داده‌های آماری حاصل از نمونه‌برداری‌ها برای سهولت در محاسبات ریاضی در صفحات برنامه Excel وارد شده و برای تجزیه وتحلیل داده‌ها از رویه آماری PROC ANOVA برنامه آماری SAS استفاده شد. سپس آزمون مقایسات میانگین صفات مورد مطالعه به روش آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار انجام گرفت.

نتایج و بحث

جدول تجزیه واریانس نشان داد که عوامل مورد بررسی تأثیر معنی‌داری (P ≤۰/۰۱) روی وزن خشک کل، ساقه، برگ و غلاف عدس گذاشت (جدول ۲). جدول مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین وزن خشک کل عدس از محلول‌پاشی آرژنین (۲۳۳۰ کیلوگرم در هکتار)، بذرمال و محلوپاشی آسپارتیک اسید (۲۳۸۸ کیلوگرم در هکتار) و اسیدآمینه تجاری پروآمین (۲۲۱۹ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد (جدول ۳) ولی اختلاف معنی‌داری با بذرمال آرژنین (۲۰۷۳ کیلوگرم در هکتار) و آسپارتیک اسید (۲۰۹۲ کیلوگرم در هکتار) نشان نداد (جدول ۳). بیش‌ترین وزن خشک برگ از کاربرد آسپارتیک اسید به‌صورت بذرمال و محلول‌پاشی (۱۰۲۳/۱ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد (جدول ۳) اما با کاربرد اسیدآمینه تجاری پروآمین به‌صورت بذرمال و محلول‌پاشی (۹۹۴/۴ کیلوگرم در هکتار) و تنها بذرمال (۸۷۶/۷ کیلوگرم در هکتار) و آرژنین به‌صورت بذرمال (۸۸۵/۴ کیلوگرم در هکتار) تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). در بررسی جدول مقایسه میانگین مشاهده شد که بیش‌ترین وزن خشک ساقه از کاربرد آرژنین به‌صورت محلول‌پاشی (۹۷۱/۱ کیلوگرم در هکتار) به‌دست آمد (جدول ۳). جدول مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین وزن خشک غلاف از کاربرد

Table 2. Analysis of variance of some of lentil traits affected by type and mode of application of amino acid

S.O.V.	d.f	Mean squares			
		Total dry weight	Leaf dry weight	Stem dry weight	Pod dry weight
Block	2	174219.68^{ns}	27152.93^{ns}	15496.56^{ns}	52.85^{ns}
Mode of application (H)	2	174150.95^{ns}	71959.06**	7719.72^{ns}	6469.13**
Type of amino acid (T)	4	882130.76**	119676.85**	102625.42**	138726.94**
HT	8	671142.15**	118063.58**	86414.45**	75200.83**
Error	28	59641.13	9779.84	11349.57	752.92
C.V (%)		14.86	14.87	15.77	9.12

ns, * and ** represent no significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively.

Table 3. Mean comparison of the total, leaf, stem and pod dry weight affected by the interaction of type of amino acids and their mode of application (Means with the same letter in each column are not significantly different at 1 % probability level)

Treatments		Total dry weight (kg ha^{-1})	Leaf dry weight (kg ha^{-1})	Stem dry weight (kg ha^{-1})	Pod dry weight (kg ha^{-1})
Priming	Arginine	2073.9±172.7^{ab}	885.4±82.7^{a}	804.7±93.4^{a-c}	383.8±15.8^{b}
	Aspartic acid	1497±207.2^{cd}	573.9±78.3^{c-f}	571.9±77^{d-g}	334.8±21.3^{c}
	Proline	1300.3±193.7^{c-e}	600±46.4^{c-f}	537.7±79.2^{e-g}	162.5±0.9^{ef}
	Trade amino acid	2092.2±57.7^{ab}	876.7±33.3^{c-e}	909.6±38.2^{ab}	305.9±16.7^{c}
	Distilled water	1687.1±263.3^{bc}	620.4±16.9^{c-e}	682.8±86.8^{c-f}	384±8.9^{b}
Spraying	Arginine	2330.3±577^{a}	719.3±5.8^{bc}	971.1±5.8^{a}	639.3±5.8^{a}
	Aspartic acid	1653.6±171.2^{c}	668.2±11.9^{cd}	675.6±91.7^{c-f}	309.8±25.5^{c}
	Proline	1489.5±86.1^{cd}	553.6±37^{d-f}	702.4±46^{cd}	233.5±15.7^{d}
	Trade amino acid	1094.5±70.8^{de}	439.8±26.6^{f}	511.5±43.4^{fg}	143.1±21.9^{ef}
	Distilled water	1043.3±57.7^{e}	545.3±5.8^{d-f}	439.3±5.8^{g}	58.1±5.8^{g}
Priming + spraying	Arginine	1464.2±171.4^{cd}	548.6±29.1^{d-f}	612.3±61.9^{d-g}	303.3±18^{c}
	Aspartic acid	2388.4±127.9^{a}	1023.1±31.8^{a}	733.1±63.7^{b-d}	632.2±14. 2^{a}
	Proline	1114.5±70.4^{de}	437±45.2^{f}	493.7±76.6^{g}	183.8±7.6^{e}
	Trade amino acid	2219±7.4^{a}	994.4±35. 1^{a}	901.8±35^{ab}	306.1±20.8^{c}
	Distilled water	1198.4±233^{de}	486.8±61.8^{ef}	581.9±27.3^{d-g}	129.7±3.2^{f}

اسیدآمینه آرژنین به‌صورت محلول‌پاشی با ۶۳۶/۳ کیلوگرم در هکتار و آسپارتیک اسید به‌صورت بذرمال و محلول‌پاشی با ۶۳۲/۲ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد (جدول ۳). کم‌ترین میزان وزن خشک غلاف نیز در تیمار آب‌مقطر (شاهد) به‌صورت بذرمال و محلول‌پاشی با ۱۲۹/۷ کیلوگرم در هکتار تولید شد (جدول ۳). اسیدهای آمینه به دلیل نقش مهمی که در متابولیسم گیاهی و تجمع پروتئین دارند سبب افزایش وزن تر و خشک گیاه می‌شوند (Shehata et al., 2016). گزارش شده است که با کاربرد خارجی اسیدآمینه رشد و عملکرد در گیاهان کاهو (Polo et al., 2006)، کرفس (Shehata et al., 2016)، اسفناج (Kunicki et al., 2010)، فلفل (Haghighi and Barzegar, 2017) افزایش پیدا کرده است.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل نوع اسیدآمینه و نحوه کاربرد آن روی پروتئین برگ عدس تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد گذاشت (جدول ۴). شکل مقایسه میانگین پروتئین برگ نشان داد که بیش‌ترین مقدار پروتئین کل برگ از بذرمال با آرژنین و بذرمال و محلوپاشی اسیدآمینه تجاری پروآمین به‌دست آمد. بیشترین مقدار پروتئین برگ در کاربرد آرژنین (۴۰۱ میلی‌گرم در لیتر) حدود ۲۳ درصد بیش‌تر از عدم کاربرد آمینواسید (آب‌مقطر) مشاهده شد (جدول ۵).

Table 4. Analysis of variance of lentil biochemistry traits affected by type and how of application of amino acid.

S.O.V.	df	Mean squares						
		Leaf protein	Catalase	Guaiacol peroxidase	Polyphenol oxidase	Ascorbate peroxidase	Proline	Seed yield
Block	2	126^{ns}	5940^{ns}	1571^{ns}	614^{ns}	0.08^{ns}	0.01^{ns}	974^{ns}
Mode of application (H)	2	2591**	9252691**	52871683**	151936**	48.97**	2835**	212383**
Type of amino acid (T)	4	6689**	16483049**	2119514**	6036**	14.82**	9538**	338919**
HT	8	6742**	20466406**	12961464**	74586**	4517**	7749**	58746**
Error	28	376	3648	10100	370	0.35	3.84	2543
C.V. (%)		5	1	1	2	4	3	11

ns, * and **represent no-significant and significant at 5% and 1% probability level, respectively.

Table 5. Mean comparison of leaf total peotein, catalase, guaiacol peroxidase, polyphenol oxidase and ascorbat peroxidase enzymes activity and proline (Means with the same letter in each column are not significantly different at 1 % probability level)

Treatments		Leaf total protein (mg l^{-1})	Catalase (U g F.W^{-1})	Guaiacol peroxidase (U g F.W^{-1})	Polyphenol oxidase (U g F.W^{-1})	Ascorbat peroxidase (U g F.W^{-1})	Proline (µmol proline g F.W^{-1})
Priming	Arginine	461.6^{a}	1614.7^{m}	11791.4^{e}	741.6^{f}	14.00^{f}	37.70^{h}
	Aspartic acid	405.4^{b}	7574.6^{c}	11529.1^{f}	897.3^{cd}	19.41^{a}	58.50^{g}
	Proline	368.7^{c}	6090.4^{e}	16752.5^{a}	955.5^{b}	15.16^{e}	57.06^{g}
	Trade amino acid	320.4^{ef}	6319.1^{d}	12255.4^{d}	924.8^{bc}	15.67^{de}	86.64^{d}
	Distilled water	376.1^{c-f}	5154.6^{h}	14679.7^{b}	925.0^{bc}	16.69^{e}	164.36^{b}
Spraying	Arginine	406.8^{b}	3420.0^{k}	10386.4^{i}	987.8^{a}	15.51^{e}	35.64^{h}
	Aspartic acid	342.4^{c-f}	2465.2^{l}	11191.5^{g}	648.4^{h}	17.70^{b}	38.48^{h}
	Proline	348.9^{d-e}	5549.5^{f}	9578.6^{j}	683.3^{g}	19.86^{a}	188.52^{a}
	Trade amino acid	367.0^{cd}	9636.5^{b}	13541.5^{c}	765.0^{f}	10.17^{h}	91.28^{c}
	Distilled water	314.7^{f}	10779.4^{a}	9205.7^{k}	639.6^{h}	8.57^{i}	16.66^{j}
Priming + spraying	Arginine	334.9^{d-f}	5348.1^{g}	11251.1^{g}	524.3^{j}	14.07^{f}	27.12^{i}
	Aspartic acid	338.6^{c-e}	5092.9^{h}	8904.6^{lm}	841.4^{e}	10.11^{h}	15.86^{j}
	Proline	359.2^{cd}	5303.1^{g}	8850.0^{m}	655.5^{gh}	10.39^{h}	73.05^{e}
	Trade amino acid	446.3^{a}	4103.8^{j}	9060.7^{kl}	584.1^{i}	16.60^{cd}	65.35^{f}
	Distilled water	320.0^{ef}	4279.1^{i}	10744.9^{h}	868.9^{de}	11.77^{g}	90.57^{c}

اسیدهای آمینه به دلیل این‌که واحدهای سازنده پروتئین بوده و در سنتز آن‌ها نقش داد، لذا با افزایش اسیدهای آمینه میزان پروتئین افزایش یافته است.که با یافته‌های کاریما و همکاران (Karima et al., 2005) در گیاه بابونه مطابقت دارد. به دلیل نقش آسپارتیک اسید در متابولیسم گیاه و آسیمیلاسیون پروتئین، کاربرد آن سبب افزایش وزن تر و خشک گیاه می‌شود (Abo Sedra et al., 2010).

اسیدهای آمینه به‌عنوان پیش‌سازه‌های حیات، شرکت در ساختمان پروتئین‌ها و پپتیدها در تمام عملکرد گیاه اعم از ساختاری، آنزیمی و متابولیکی و در بیوسنتز هومون‌های گیاهی و متابولیت‌های ثانویه نقش دارند (Gawronaka, 2008). طبق جدول تجزیه واریانس اثر متقابل نوع اسیدآمینه و نحوه کاربرد آن تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر آنزیم کاتالاز داشت (جدول ۴). بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار استفاده از آب‌مقطر به‌صورت محلول‌پاشی و کمترین فعالیت آن در کاربرد آرژنین به‌صورت بذرمال مشاهده شد (جدول ۵). همانطور که در جدول ۵ مشاهده می‌شود با کاربرد اسیدهای آمینه میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافته است. این کاهش در کاربرد اسیدآمینه تجاری پروآمین، پرولین، آسپارتیک اسید و آرژنین نسبت به آب‌مقطر (شاهد) به‌ترتیب یک، ۱۶، ۲۵ و ۴۹ درصد می‌باشد (جدول ۵). بررسی‌ها نشان می‌دهد که وجود اسیدهای آمینه برای فعالیت آنزیم کاتالاز ضروری می‌باشد (Fujikawa et al., 2018). هم‌چنین بذرمال و محلول‌پاشی بیش‌ترین تأثیر را در کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز نشان داد (جدول ۵). از نظر فیزیولوژیکی، اسیدهای آمینه باعث رشد گیاه شده و آن را در برابر سمیت آمونیاک محافظت می‌کنند و هم‌چنین به‌عنوان منبع کربن و انرژی در گیاه استفاده می‌شود (Abdel Aziz et al., 2010).

آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر اثر متقابل نوع اسیدآمینه و نحوه کاربرد آن در سطح احتمال یک درصد قرار گرفت (جدول ۴). جدول مقایسه میانگین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نشان داد که بیش‌ترین میزان فعالیت این آنزیم از کاربرد پرولین به‌صورت بذرمال و کم‌ترین میزان فعالیت آن از کاربرد پرولین و آسپارتیک اسید به‌صورت بذرمال و محلول‌پاشی به‌دست آمد (جدول ۵). محلول‌پاشی و محلول‌پاشی به همراه بذرمال نسبت به بذرمال به تنهایی به‌ترتیب ۲۰ و ۲۷ درصد فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز را کاهش داد.

اثر متقابل نوع اسیدآمینه و نحوه کاربرد آن روی آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد را نشان داد (جدول ۴). با بررسی جدول مقایسه میانگین تیمارهای مورد بررسی مشاهده شد که بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز از کاربرد آرژنین به‌صورت محلول‌پاشی حادث شد (جدول ۵) و کم‌ترین میزان فعالیت آن نیز از کاربرد آرژنین به‌صورت بذرمال و محلول‌پاشی به‌دست آمد (جدول ۵).

جدول تجزیه واریانس نشان داد که آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر اثر متقابل نوع اسیدآمینه و نحوه کاربرد آن ($P \leq 0.01$) قرار گرفت (جدول ۴). بیش‌ترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از کاربرد پرولین به‌صورت محلول‌پاشی و آسپارتیک اسید به‌صورت بذرمال به‌دست آمد (جدول ۵). مقدار فعالیت این آنزیم در کاربرد آب‌مقطر به جای اسیدهای آمینه به‌صورت محلول‌پاشی در کم‌ترین میزان خود بود (جدول ۵). آرژنین و پرولین به‌عنوان مولکول‌های سیگنالینگ عمل کرده و در فعالیت آنزیم‌ها نقش دارند (Häusle et al., 2014).

افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (POX) و پلی‌فنل اکسیداز (PPO) با کاربرد خارجی آسپارتیک اسید در گوجه فرنگی گزارش شده است (Akladious and Abbas, 2013). هم‌چنین کاربرد خارجی آسپارتیک اسید سبب افزایش فعالیت ویژه آنزیم فنل پراکسیداز در شرایط مواجه با تنش شد و در نتیجه اثرات مخرب آن را کاهش داد (Sairam et al., 2005).

پرولین عامل تنظیم‌کننده فشار اسمزی درون سلول، پایدار کننده ساختار پروتئین و غشای سلول، نابودکننده گونه‌های اکسیژن رادیکال و تنظیم‌کننده pH سلولی بوده و در واکنش‌های اکسیداسیون و احیا نقش بسیار مهمی ایفا می‌کند (Wu et al., 2011). نتایج جدول تجزیه واریانس حاکی از معنی‌داری ($P \leq 0.01$) اثر متقابل نوع اسیدآمینه و

نحـوه کـاربرد آن روی پـرولین می‌باشـد (جـدول ۴). در بررسی جدول مقایسه میانگین صفت پرولین مشاهده شد کـه بیش‌ترین میزان پرولین در گیاه از کاربرد پـرولین به‌صـورت محلول‌پاشی به‌دست آمد (جدول ۵) که نشـان‌دهنده نفـوذ و تأثیر پـرولین بـه گیـاه در اثـر کـاربرد خـارجی آن می‌باشـد. کم‌تـرین میـزان پـرولین در کـاربرد آب‌مقطـر به‌صـورت محلول‌پاشـی و کـاربرد آرژنـین به‌صـورت محلول‌پاشـی و بذرمال مشاهده شد (جـدول ۵). بیش‌تـرین میـزان پـرولین از کاربرد پرولین خـالص بـا ۱۰۶ میکرومـول در گـرم وزن تـر به‌دست آمد (جدول ۵) که دلیل زیـاد بـودن ایـن نسـبت بـه سایر اسیدهای آمینه آب‌مقطر کـاربرد خـارجی آن می‌باشـد که در گیاه تجمـع یافتـه اسـت. پـس از آن آب‌مقطـر بـا ۹۱ میکرومول در گـرم وزن تـر بـرگ بـیش از سـایر اسـیدهای آمینه پرولین داشت (جـدول ۵). ایـن بـه دلیـل اثـرات تـنش گرما می‌باشد که گیاه برای مقابلـه چنـین شـرایط، پـرولین را که یک ماده ضد تنش شناخته شده است تولید کـرده اسـت (Deivanai et al., 2011). آرژنـین و آسـپارتیک اسـید به‌ترتیب ۳۳ و ۳۸ میکرومول در گرم وزن تـر بـرگ پـرولین داشـت (جـدول ۵). کـه بـا نتـایج Jahani et al. (2018) و Ashrafi (2014) مطابقت داشت. افزایش پرولین به دلیل نقش این اسـیدآمینه در تنظـیم فشـار اسـمزی اسـت و بـه خاطر ایجاد پیونـد بـا پروتئین‌هـای غشـا، سـبب پایـداری ساختار آن در زمان تنش می‌شود(Forde and Lea, 2007; Biancucci et al., 2015). کـاربرد خـارجی پـرولین سـبب افزایش قابل توجه پرولین آزاد در برگ‌ها می‌شود. هم‌چنـین گزارش شده است که کاربرد خارجی پـرولین سـبب طویـل شدن ریشه گیاه شده که این امر نیـز در مقاومـت گیاهـان بـه شرایط تنش بسـیار حـائز اهمیـت می‌باشـد (Cambri et al., 2008; Biancucci et al., 2015).

در بررسی عملکرد دانه عدس، جدول تجزیـه واریـانس نشان می‌دهد که اثر متقابل نوع اسیدآمینه و نحوه کاربرد آن معنی‌دار ($P \leq 0.01$) بود (جدول ۴). جدول مقایسه میـانگین عملکرد دانه تحت تأثیر کاربرد انواع مختلف اسیدهای آمینه به‌صـورت بـذرمال و محلول‌پاشـی نشـان داد کـه کـاربرد اسیدآمینه آسپارتیک اسید به‌صورت محلول‌پاشی و بـذرمال بـا ۹۵۸/۶ کیلـوگرم در هکتـار بیش‌تـرین عملکـرد دانـه را داشت (شکل ۱). کم‌ترین میزان تولید دانه عدس از اسـتفاده از آب‌مقطر به جای اسیدهای آمینـه به‌صـورت محلول‌پاشـی به‌دست آمد (شکل ۱). در بررسی اثر کاربرد اسیدهای آمینه مشاهده شد که کاربرد اسیدآمینه آسپارتیک اسـید بـا ۷۱۸/۸ کیلوگرم در هکتار بیش‌ترین عملکرد را تولیـد کـرد (شـکل ۱) کـه بـیش از سـه برابـر عملکـرد حاصـل از اسـتفاده از آب‌مقطر (شاهد) می‌باشد. کاربرد آرژنین (۱/ ۵۵۵ کیلوگرم در هکتار)، اسیدآمینه تجاری پروآمین (۴۴۴/۵ کیلـوگرم در هکتار) و پرولین (۸/ ۳۲۷ کیلـوگرم در هکتـار) بـه‌ترتیب در رتبه‌های بعدی قـرار گرفـت کـه بالاتفـاق از شـاهد (۲۲۰/۹ کیلـوگرم در هکتـار) عملکـرد بـالایی داشـتند (شـکل ۱). هم‌چنین نحوه کاربرد بذرمال و محلول‌پاشی بـاهم نسـبت بـه تک تک آن‌ها عملکرد بالایی را تولید نمود (شکل ۱).

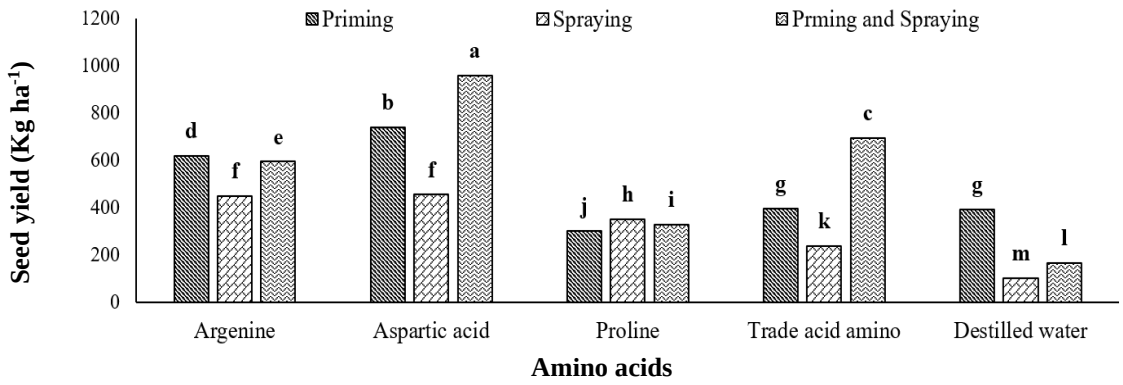

Figure 1. Effect of type and mode of application of amino acids on seed yield (The similar letters indicate there are no significant differences at 0.01 probability level)

لذا طبق این پژوهش کاربرد آسپارتیک اسید به‌صورت پرایمنگ و محلول‌پاشی با بیش‌ترین عملکرد به‌عنوان تیمار برتر معرفی می‌شود. آسپارتیک اسید به دلیل نقشی که در انتقال و ذخیره نیتروژن بخصوص در گرده‌افشانی و دانه‌بندی دارد، سبب افزایش عملکرد شده است (Jahani et al., 2018). هم‌چنین آرژنین به‌عنوان منبع ذخیره و انتقال نیتروژن در گیاهان نقش دارد (Foyer et al., 2003; Dmello, 2015) و به این صورت در پر شدن دانه تأثیرگذار می‌باشد. به‌طوری‌که آرژنین در ۵۰ درصد نیتروژن پروتئین دانه و بیش از ۹۰ درصد نیتروژن بافت‌های رویشی وجود دارد (Polacco and Holland, 1993; Nordin and Naesholm, 1997). همین‌طور آرژنین پیش‌ساز سنتز پلی‌آمین‌ها و نیتریک اکسید می‌باشد و به‌عنوان واسطه در متابولیسم سایر اسیدهای آمینه مانند گلوتامین و پرولین نقش داد (Forde and Lea, 2007). نتایج بررسی‌های مختلف مؤید آن است که اسیدهای آمینه به‌عنوان منبع تأمین نیتروژن، در افزایش نورساخت و بهبود سرعت رشد و پر شدن دانه‌ها نقش مؤثری دارند (Haj Seyed Hadi and Rezaee Ghale, 2016). افزایش عملکرد در اثر کاربرد اسیدهای آمینه در گیاه سیر (Shalaby and El-Ramady, 2014)، سیب‌زمینی (Awad et al., 2007)، خیار (Karuppaiah et al., 2000)، و فلفل شیرین (Al-Said et al., 2008) نیز گزارش شده است. هم‌چنین گزارش شده است که با کاربرد خارجی اسیدآمینه رشد و عملکرد در گیاهان کاهو (Polo et al., 2006; Salinas et al., 2019)، اسفناج (Kunicki et al., 2010)، تربچه (Liu et al., 2008)، فلفل (Haghighi and Barzegar, 2017) افزایش پیدا کرده است که با نتایج این پژوهش هم‌سو می‌باشد.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، بیش‌ترین وزن خشک کل عدس از محلول‌پاشی آرژنین (۲۳۳۰ کیلوگرم در هکتار)، بذرمال و محلول‌پاشی آسپارتیک اسید (۲۳۸۸ کیلوگرم در هکتار) و اسیدآمینه تجاری پروآمین (۲۲۱۹ کیلوگرم در هکتار)، بیش‌ترین وزن خشک برگ از کاربرد آسپارتیک اسید به‌صورت بذرمال و محلول‌پاشی (۱۰۲۳/۱ کیلوگرم در هکتار)، بیش‌ترین مقدار پروتئین کل برگ از بذرمال با آرژنین و بذرمال و محلوپاشی اسیدآمینه تجاری پروآمین به‌دست آمد. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار استفاده از آب‌مقطر به‌صورت محلول‌پاشی و کمترین فعالیت آن در کاربرد آرژنین به‌صورت بذرمال مشاهده شد. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز از کاربرد آرژنین به‌صورت محلول‌پاشی و بیش‌ترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز از کاربرد پرولین به‌صورت محلول‌پاشی و آسپارتیک اسید به‌صورت بذرمال به‌دست آمد. کاربرد اسیدآمینه آسپارتیک اسید به‌صورت محلول‌پاشی و بذرمال با ۹۵/۸۶ گرم در مترمربع بیش‌ترین عملکرد دانه را داشته و کم‌ترین میزان تولید دانه عدس از استفاده از آب‌مقطر به جای اسیدهای آمینه به‌صورت محلول‌پاشی به‌دست آمد. کاربرد آرژنین (۵۱/ ۵۵ گرم در مترمربع)، اسیدآمینه تجاری پروآمین (۴۴/۴۵ گرم در مترمربع) و پرولین (۳۲/۷۸ گرم در مترمربع) به‌ترتیب در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند که بالاتفاق از شاهد (۲۲/۰۹ گرم در مترمربع) عملکرد بالاتری داشتند.

آسپارتیک اسید و آرژنین به دلیل نقشی که در چرخه نیتروژن ایفا می‌کنند و با توجه به این‌که اسیدهای آمینه واحدهای سازنده پروتئین‌ها می‌باشد؛ سبب بهبود عملکرد در عدس شد و توصیه می‌شود از اسیدهای آمینه برای افزایش عملکرد عدس استفاده شود. طبق نتایج این پژوهش کاربرد آسپارتیک اسید به‌صورت بذرمال و محلول‌پاشی به علت تولید بیش‌ترین عملکرد به‌عنوان تیمار برتر معرفی می‌شود.

سپاس‌گزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند تا از دانشگاه تربیت مدرس به دلیل در اختیار قرار دادن مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه‌های تخصصی جهت انجام این پژوهش و همچنین از داوران ناشناس که باعث بهبود کیفیت ارائه نتایج این پژوهش شدند، کمال تشکر و قدردانی نمایند.

References

Abdel Aziz, N. G., Mazher, A. A. M., Farahat, M. M. (2010). Response of vegetative growth and chemical constituents of *Thuja orientalis* L. plant to foliar application of different amino acids at *Nubaria*. *The Journal of American Science*, 6(3), 295-301.

Abo Sedera, F. A., Amany, A. L., Abd El-Latif, A. A., Bader, A., & Rezk, S. M. (2010). Effect of NPK mineral fertilizer levels and foliar application with humic acid and amino acids on yield and quality of strawberry. *Egyptian Journal of Applied Science*, 25, 154-169.

Ahmadpour, R., Hosseinzadeh, S. R., Armand, N., & Fani, E. (2015). Effect of methanol on germination caracteristics of lentil (*Lens culinaris* Medik.) under drought stress. *Iranian Journal of Seed Research*, 2(1), 83-96. [In Farsi]

Akladious, S. A., & Abbas, S. M. (2013). Alleviaton of seawater stress on tomato by foliar application of aspartic acid and glutathione. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 9(3), 282-298.

Al-Said, M. A., & Kamal, A. M. (2008). Effect of folair spray with folic acid and some amino acids and some amino acids on flowering yield and quality of sweet pepper. *Journal of Agricultural Science*, 33(10), 7403-7412.

Ashrafi, S. (2014). Foliar spray effects of urea and some amino acids on morphological, physiological and biochemical characteristics of costmary (*Tanacetum balsamita* L.). M.Sc. Thesis of Horticulture, Urmia University, Urmia, Iran. [In Farsi]

Attoa, G. E., Wahba, H. E., & Frahat, A. A. (2002). Effect of some amino acids and sulphur fertilizers on growth and chemical composition of *Iberis amara* L. plant. *Egyptian Journal of Horticultural*, 29, 17-37.

Awad, E. M., Abd El-Hameed, A. M., & Shall, Z. S. (2007). Effect of glycine, lysine and nitrogen fertilizer rates on growth, yield and chemical compositionof potato. *Journal of Agricultural Science*, 32(10), 8541-8551.

Bates, L. S., Waldern, R. P., & Teave, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.

Biancucci, M., Mattioli, R., Moubayidin, L., Sabatini, S., Costantino, P., & Trovato, M. (2015). Proline affects the size of the root meristematic zone in Arabidopsis. *BMC Plant Biology*, 15(263), 1-14.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

Cambri, D., Filippini, L., Apone, F., Arciello, S., Colucci, G., & Portoso, D. (2008). Effect of Aminoplant on expression of selected genes in Arabidopsis thaliana spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Folia Horticulturae*, 22, 9-13.

Deivanai S., Xavier R., Vinod V., Timalata K., & Lim O. F. (2011). Role of exogenous proline in ameliorating salt stress at early stage in two rice cultivars. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 7(4), 157-174.

Dmello, J. P. F. (2015). *Amino asids in higher plants*. UK: Formerly of SAC, University of Edinburgh King's Buildings Campus, Edinburgh.

El-Naggar, A. H. (2009). Response of *Dianthus caryophyllus* L. plants to foliar nutrition. *World Journal of Agricultural Sciences*, 5(5), 622-630.

Faten, S. A., Shaheen, A. M., Ahmed, A. A., & Mahmoud, A. R. (2010). Effect of foliar application of amino acids as antioxidants on growth, yield and characteristics of Squash. *Research Journal of Agriculture and Biological Science*, 6(5), 583-588.

Flocco, C. G., & Giulietti, A. M. (2007). Methods in biotechnology. In N. Wiley (Ed.), *Phytoremediation: methods and reviews* (Vol. 23, pp. 161-173). Totowa, New Jersey: Humana Press Inc.

Food and Agriculture Organization. (2019). *Data, crops.* Retrieved from http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC.

Forde, B. G., & Lea, P. J. (2007). Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signaling. *Journal of Experimental Botany*, 58(9), 2339-2358.

Foyer, C. H., Parry, M., & Noctor, G. (2003). Markers and signals associated with nitrogen assimilation in higher plants. *Journal of Experimental Botany*, 54(382), 585-593.

Fujikawa, Y., Suejawa, M., Endoo, S., Fukami, Y., Mano, S., Nishimura, M., & Esaka, M. (2018). Effect of mutation of C-terminal and heme binding region of Arabidopsis catalase on the import to peroxisomes. *Bioscience, Biotechnology, and Agrochemistry*, 83(2), 1-4.

Gawronaka, H. (2008). *Biostimulators in modern agriculture (general aspects).* Warszawa, Poland: House Wies Jutra, Limited.

Ghanem, M. E., Marrou, H., Biradar, C., & Sinclair, T. R. (2015). Production potential of lentil (*Lens culinaris* Medik.) in East Africa. *Agricultural Systems*, 137, 24-38.

Haghighi, M., & Barzegar, M. R. (2017). Effect of amino acid and mycorrhiza inoculation on sweet pepper growth under greenhouse conditions. *Iran Agricultural Research*, 36(2), 47-54. [In Farsi]

Haj Seyed Hadi, M. R., & Rezaee Ghale, H. (2016). Effects of vermicompost and foliar application of amino acids and urea on quantitative and qualitative yield of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 31(6), 1057-1070. [In Farsi]

Häusler, R. E., Ludewig, F., & Krueger, S. (2014). Amino acids-A life between metabolism and signaling. *Plant Science*, 229, 225-237.

Hoque M. A., Okuma, E., Banum M. N. A., Nakamura, Y., Shimoishi Y., & Murata, N. (2007). Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *Journal of Plant Physiology*, 164(5), 553-561.

Hounsome N., Hounsome B., Tomos D., & Edwards-Jones G. (2008). Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *Journal of Food Science*, 73(4), 48-65.

Jahani, R., Hassani, A., & Samadi, A. (2018). Effect of foliar application of urea, aspartic acid and glutamic acid on growth, physiological and biochemical characteristics of anise hyssop (*Agastache foeniculum*). *Applied Soil Research*, 5(2), 95-107. [In Farsi]

Jiang, Z., Ma, B., Erinle, K. O., Cao, B., Liu, X., Ye, S. & Zhang, Y. (2016). Enzymatic antioxidant defense in resistant plant: *Pennisetum americanum* (L.) K. Schum during long-term atrazine exposure. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 133, 59-66.

Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57(2), 315-319.

Karima A., Gamal El-Din, K. M., & Abdel-Wahed, M. S. A. (2005). Effect of some amino acids on growth and essential oil content of chamomile plant. *International Journal of Agriculture and Biology*, 7(3), 376-380.

Karuppaiah, P., Manivonnar, K., Andrasakaron, S. V., & Kuppusamy, G. (2000). Responses of cucumber to foliar application of nutrients on light minespoil. *Journal of the Indian Society of Soil Science*, 49(1), 150-153.

Korbu, L. (2009). *Improving production and productivity of chickpea and lentil in Ethiopia production manual*. Melkasa: Ethiopia.

Kunicki, E., Grabowska, A., Sekara, A., & Wojciechowska, R. (2010). The effect of cultivar type, time of cultivation, and biostimulant treatment on the yield of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Folia Horticulturae*, 22(2), 9-13.

Liu, X. Q., Ko, K. Y., Kim, S. H. & Lee, K. S. (2008). Effect of amino acid fertilization on nitrate assimilation of leafy radish and soil chemical properties in high nitrate soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 39 (1-2), 269-281.

Mahmoudi, A. A. (2006). Effect of sowing season and seeding density on grain yield in lentil (Local var. Robat) under dryland conditions of Nothern Khorasan. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 8(3), 232-240. [In Farsi]

Majnoun Hosseini, N. (2008). *Grain legume production.* Tehran: Jahad Daneshgahi of Tehran University. [In Farsi]

Naghdi Badi, H., Labbafi, M. R., Qavami, N., Qaderi, A., Abdossi, V., Agharebparast, M. R., & Mehrafarin, A. (2015). Responses of quality and quantity yield of garden thyme (*thymus vulgaris* l.) to foliar application of bio-stimulator based on amino acids and methanol. *Journal of Medicinal Plants*, 14(54), 146-194. [In Farsi]

Nordin, A., & Naesholm, T. (1997). Nitrogen storage forms in nine boreal understorey plant species. *Oecologia*, 110(4), 487-492.

Parsa, M., & Bagheri, A. (2008). *Legumes.* Mashhad: Mashhad University Jahad Press. [In Farsi]

Polacco, J. C., & Holland, M. A. (1993). Roles of urease in plant cells. *International Review of Cytology*, 145, 65-103.

Polo, J., Barroso, R., Rodenas, J., Azcon- Bieto, J., Caceres, R., & Marfa, O. (2006). Porcine hemoglobin hydrolysate as a biostimulant for lettuce plants subjected to conditions of thermal stress. *Hort Technology*, 16(3), 483-487.

Raeisi M., Farahani L., & Palashi M. (2014). Changes of qualitative and quantitative properties of radish (*Raphanus sativus* L.) under foliar spraying through amino acid. *International Jornal of Biosciences*, 4(1), 463-468.

Sairam, R. K., Srivastava, G. C., Agarwal, S. A., & Meena, R. C. (2005). Difference in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Plant Biology*, 49(85), 85-91.

Salinas, M., E., Gandolfo, Hakim, G., Giardina, E., & Di Benedetto, A. (2019). Foliar amino acids sprays on lettuce (Lactuca sativa L.) biomass accumulation. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(01), 2183-2196.

Shalaby, T. A., & El-Ramady, H. R. (2014). Effect of foliar application of bio-stimulants on growth, yield, components, and storability of garlic (*Allium sativum* L.). *Australian Journal of Crop Science*, 8(2), 271-275.

Shehata, S. M., Schmidhalter, U., Valsikova, M., & Junge, H. (2016). Effect of biostimulants on yield and quality of head lettuce grown under two sources of nitrogen. *Gesunde Pflanzen*, 68, 33-39.

Thomas, J., Mandal, A. K. A., Raj Kumar, R., & Murugan, A. C. (2009). Role of biologically active amino acid formulations on quality and crop productivity of Tea (*Camellia* sp.). *International Journal of Agricultural Research*, 4(7), 228-236.

Thornton, B., & D. Robinson. (2005). Uptake and assimilation of nitrogen from solutions containing multiple N sources. *Plant Cell and Environment*, 28, 813-821.

Tijssen, T. (1985). *Enzymes for immunoassays*. In R. H. Burdon, & P.H. van Knippenberg (Eds.), *Practice and theory of enzyme immunoassays.* Amsterdam, New York: Elsevier, 173-220.

Wu, X., Zhu, W., Zhang, H., Ding, H., & Zhang, H. J. (2011). Exogenous nitric oxide protects against salt-induced oxidative stress in the leaves from two genotypes of tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.). *Acta Physiologiae Plantarum*, 33, 1199-1209.