نسخه پذیرفته شده پیش از انتشار

The effect of foliar application of glutamic acid, aspartic acid, and nicotinic acid on the growth, yield, and morpho-physiological and biochemical characteristics of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.)

DOI: 10.22055/ppd.2024.47919.2204

Sepideh Dalvand [1], Hasan Mumivand [2*], Bahman Zahedi [3] and Abdollah Ehtesham Nia [4]

1. PhD Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Iran

2- *Corresponding Author: Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran (Email: mumivand.h@lu.ac.ir)

3- Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

4- Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Introduction

Biostimulants, such as amino acids and nitrogen-containing compounds, play a vital role in the biochemical and physiological processes of plants. These molecules serve as precursors and raw materials for the production of other essential compounds and are crucial for the regulation and control of cellular activities and various biological systems. Amino acids and nitrogen-containing compounds are essential for optimal plant growth and development, and improving nitrogen nutrition and amino acid management can enhance plant growth, yield, and resilience to environmental stresses.Foliar application of amino acids and nitrogen-containing biostimulants helps plants channel more of their stored energy into growth, development, and overall quality.

Materials and Methods

This study aimed to investigate the effects of amino acid and nitrogen-containing biostimulants on the growth, performance, and morpho-physiological and biochemical characteristics of fenugreek at Lorestan University. The experiment was conducted in a greenhouse using a completely randomized design with 10 treatments and three replications. The treatments included a control (spraying with distilled water) and foliar applications of aspartic acid, glutamic acid, and nicotinic acid, each at three levels (75, 150, and 300 mg/L). The first foliar application was performed during the 4 to 6 leaf stage, with subsequent applications every 14 days (for a total of 4 applications).

Results and Discussion

The results indicated that applying nicotinic acid and aspartic acid at a concentration of 300 mg/L significantly increased plant height. Foliar application of all three biostimulants at concentrations of 150 and 300 mg/L resulted in a significant increase in leaf area and fresh weight of root. The application of nicotinic acid and aspartic acid also led to a significant increase in the fresh weight of the plant. However, the positive effect of nicotinic acid on plant fresh weight was greater than that of aspartic acid. Nicotinic acid treatment at all three levels increased the dry weight of the plant. Foliar application of glutamic acid and aspartic acid at concentrations of 150 and 300 mg/L also increased the dry weight of the plant. However, root dry weight increased only with concentrations of 150 and 300 mg/L of nicotinic acid and aspartic acid, and 300 mg/L of glutamic acid. Foliar application of all three compounds—glutamic acid, nicotinic acid, and aspartic acid—resulted in significant increases in chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll. The most positive effect on chlorophyll was observed with aspartic acid application. Carotenoid levels were also significantly increased with the application of nicotinic acid and aspartic acid compared to the control, while glutamic acid only

increased carotenoids at the highest concentration. Photosynthesis rate, stomatal conductance, CO_2 concentration under the stomatal chamber, and total nitrogen were significantly increased with the foliar application of all three compounds—glutamic acid, nicotinic acid, and aspartic acid.

Conclusion

The results of the present study showed that the application of biostimulants such as nicotinic acid, aspartic acid, and glutamic acid generally led to improvements in the studied characteristics. Overall, it can be concluded that the use of biostimulants, particularly nicotinic acid and aspartic acid (especially at a concentration of 300 mg/L), is recommended for improving the growth, performance, and morpho-physiological traits of fenugreek.

Keywords: Amino acid, Biostimulant, Chlorophyll, Gas exchange, Photosynthesis

تأثیر محلولپاشی برگی گلوتامیک‌اسید، آسپارتیک‌اسید و نیکوتینیک‌اسید بر رشد، عملکرد و ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.)

سپیده دالوند [۱]، حسن مومیوند [۲*]، بهمن زاهدی [۳] و عبداله احتشام نیا [۴]

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

۲-***نویسنده مسئول:** دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران (ایمیل: mumivand.h@lu.ac.ir)

۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

۴- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

چکیده

محرک‌های زیستی، مانند اسیدهای آمینه و ترکیبات نیتروژن‌دار، در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاهان نقش حیاتی دارند. این مولکول‌ها به عنوان پیش‌سازها و مواد اولیه برای تولید سایر ترکیبات ضروری عمل می‌کنند و برای رشد و توسعه بهینه گیاهان ضروری هستند. مطالعه حاضر در سال ۱۴۰۲، با هدف بررسی تأثیر محرک‌های زیستی حاوی نیتروژن بر رشد، عملکرد و ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی شنبلیله، در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه لرستان انجام شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر) و محلول‌پاشی آسپارتیک‌اسید، گلوتامیک‌اسید و نیکوتینیک‌اسید هرکدام در سه سطح (۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. اولین مرحله محلول‌پاشی گیاهان در مرحله ۴ تا ۶ برگی و محلول‌پاشی‌های بعدی هر ۱۴ روز یکبار (جمعا ۴ بار) صورت گرفت. نتایج نشان داد که کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری سبب افزایش ارتفاع بوته شد. تیمار هر سه محرک زیستی در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به افزایش معنی‌دار سطح برگ و وزن تر ریشه گردید. کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید نیز افزایش معنی‌دار وزن تر بوته را به همراه داشت. با این حال اثر مثبت نیکوتینیک‌اسید بر وزن تر بوته بیشتر از آسپارتیک‌اسید بود. تیمار نیکوتینیک‌اسید در هر سه سطح موجب افزایش وزن خشک گیاه شد. محلول‌پاشی گلوتامیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید نیز در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به افزایش وزن خشک بوته گردید. اما وزن خشک ریشه تنها در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید و غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر گلوتامیک‌اسید افزایش یافت. محلول‌پاشی هر سه ترکیب گلوتامیک‌اسید، نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید افزایش معنی‌دار کلروفیل آ، کلروفیل ب و کلروفیل کل را به همراه داشت. با این حال، بیشترین تاثیر مثبت بر کلروفیل مربوط به

نسخه پیش از انتشار

کاربرد آسپارتیک‌اسید بود. میزان کاروتنویید نیز با کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد، در حالی‌که محلول‌پاشی گلوتامیک‌اسید تنها در بالاترین غلظت منجر به افزایش کاروتنویید شد. میزان فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، غلظت دی اکسید کربن زیر اتاقک روزنه و نیتروژن کل نیز با محلول‌پاشی هر سه ترکیب گلوتامیک‌اسید، نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. در مجموع و بر اساس نتایج می‌توان گفت که به ترتیب کاربرد محرک‌های زیستی نیکوتینیک اسید و آسپارتیک اسید (به‌ویژه در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) جهت بهبود رشد، عملکرد و صفات مورفوفیزیولوژیکی شنبلیله پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: آمینواسید، محرک زیستی، کلروفیل، تبادلات گازی، فتوسنتز

مقدمه

شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) یک محصول مهم از خانواده نخود، یکساله و بومی آسیا و اروپای جنوبی است (Naghdi Badi *et al.*, 2018). این گیاه دارای برگ‌های متناوب و مرکب سه برگچه‌ای است و ارتفاع آن تا ۵۰ سانتی‌متر می‌رسد. خاستگاه این گیاه از ایران تا قسمت‌های شمالی هندوستان گزارش شده است. شنبلیله در طب سنتی ایران و ملل مختلف مصرف دیرینه داشته و خواص درمانی فراوانی برای آن گزارش شده است (Hajipour *et al.*, 2021). بذر و قسمت‌های هوایی آن قرن‌ها به عنوان منبع ارزشمندی از پروتئین در تغذیه انسان و دام مورد استفاده قرار گرفته است. امروزه نیز عصاره و پودر برگ و دانه‌های آن برای مصارف دارویی استفاده می‌شوند (Mandegary *et al.*, 2012). دانه‌های شنبلیله به صورت چاشنی به غذا افزوده می‌شوند و برگ‌های سبز و ساقه‌های ظریف آن به علت داشتن کولین، پروتیین، مواد معدنی و ویتامین‌ها به صورت سبزی مصرف می‌شوند (Hajipour *et al.*, 2021). برگ‌ها و بذرهای شنبلیله اثر مفیدی در پاکسازی خون داشته و به سم‌زدایی بدن کمک می‌کنند. همچنین به عنوان یک پاک کننده گلو و حلال مخاط عمل کرده و موجب رفع برونشیت، آسم و یبوست می‌شوند. سایر اثرات درمانی آن شامل اثرات ضد دیابت، ضد سرطان، ضد میکروب و پایین آورنده کلسترول خون است (Wani and Kumar, 2018).

استفاده از محرک‌های زیستی می‌تواند به دلیل تحریک و بهبود فرایندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاهان باعث افزایش قابل توجه عملکرد محصول شود (Mumivand *et al.*, 2021). بطور کلی محرک‌های زیستی در هشت دسته از ترکیبات تقسیم‌بندی شده‌اند: مواد هیومیک، مواد آلی پیچیده، عناصر شیمیایی مفید، نمک‌های معدنی (از جمله فسفیت)، عصاره جلبک دریایی، مشتقات کیتین، ترکیبات ضد تعرق و اسیدهای آمینه آزاد و سایر مواد حاوی نیتروژن (Du Jardin, 2015). در چند سال اخیر، مقادیر زیادی از آمینواسیدها به محصولات محرک زیستی اضافه شده است. اثرات مستقیم این ترکیبات روی گیاهان شامل افزایش جذب نیتروژن، با تنظیم آنزیم‌های دخیل در جذب نیتروژن و عمل بر روی مسیر سیگنالینگ اکتسابی نیتروژن در ریشه‌ها با تنظیم آنزیم‌های چرخه تری‌کربوکسیلیک اسید است و برخی دارای فعالیت‌های هورمونی نیز هستند (Padmaja *et al.*, 2023). اگرچه تأثیر مثبت کاربرد اسیدآمینه به خوبی شناخته شده است، اما اطلاعات کمی در مورد نقش هر اسیدآمینه در فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیکی وجود دارد. همچنین اطلاعات کافی در مورد استفاده صحیح از آن‌ها وجود ندارد، زیرا اثرات اسیدهای آمینه به ترکیبی از عوامل مانند نوع گیاه، مقدار مصرف، آب و هوا، نحوه و زمان استفاده و ... بستگی دارد (Paradikovi *et al.*, 2019).

آسپارتیک‌اسید از واکنش ترانس آمیناسیون بین گلوتامات و اگزالواستات در گیاهان به‌دست می‌آید و متابولیزه می‌شود. این اسیدآمینه در مجموعه‌ای از واکنش‌ها به نام مسیر متابولیک آسپارتیک‌اسید، دیگر اسیدآمینه‌هایی

نسخه پیش از انتشار

مانند لیزین، ترئونین، متیونین و ایزولوسین را تولید می‌کند. آسپارتیک‌اسید یک آمینواسید پایه است و در تولید سایر اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها، اسیدهای آلی در چرخه تری کربوکسیلیک اسید، قندها در گلیکولیز و هورمون‌ها استفاده می‌شود که همگی برای رشد و نمو گیاه مهم هستند (Han *et al*., 2021). از آنجا که این اسیدآمینه نقش حیاتی در تولید سایر متابولیت‌ها ایفا می‌کند، مسیر اسید آمینه‌های مشتق شده از آن در بحث تغذیه گیاه بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Lei *et al*., 2020).

گلوتامیک‌اسید آمینو اسید دیگری است که جایگاه مرکزی در متابولیسم اسیدهای آمینه در گیاهان عالی دارد. اسید گلوتامیک در متابولیسم نیتروژن بسیار مهم است، زیرا در احیای نیتروژن در گیاهان و در واکنش‌های آمینو ترانسفرازها دخالت می‌کند. این ترکیب جدای از ارزش ذاتی آن به عنوان یک اسید آمینه، پیش ساز سایر اسیدهای آمینه مانند اسید آسپارتیک، سرین، آلانین، لیزین، پرولین و غیره است (Souri, 2015; Kong *et al*., 2015; Qiu *et al*., 2020). گلوتامیک‌اسید در توسعه کلروفیل نقش دارد. همچنین موجب سنتز برخی هورمون‌ها و رهاسازی آن‌ها از منبع تولید برای جمع‌آوری و ایجاد عدم تعادل در محتوای مواد مغذی و در نهایت افزایش فعالیت متابولیکی می‌شود (Hamza and Duraid, 2020).

نیکوتینیک‌اسید یک ماده مغذی مهم گیاه و محلول در آب است که معمولاً در دو ساختار نیاسین و نیکوتین آمید وجود دارد. نیکوتینیک‌اسید را می‌توان از طریق منابع درون‌زاد و برون‌زاد به‌دست آورد. نیکوتینیک‌اسید پیش‌ساز آنزیم‌های نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD^+) و نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات ($NADP^+$) است که کوآنزیم‌های مهمی در زنجیره انتقال الکترون هستند (Farooq *et al*., 2022).

بسیاری از محققان تاثیر اسیدهای آمینه را بر عملکرد و ترکیب شیمیایی گیاهان مطالعه کرده‌اند (Helaly and Ibrahimi, 2019; El Shayeb *et al*., 2021). کاربرد سطوح مختلف اسیدهای آمینه اثرات مثبتی بر شاخص‌های رشد گیاه دارویی بومادران داشت (Shafie *et al*., 2021). در پژوهشی نشان داده شد که کاربرد اسیدآمینه آسپارتیک‌اسید به دو روش پرایمینگ بذر و محلولپاشی موجب افزایش عملکرد، وزن خشک برگ و ساقه در عدس گردید (Heidarzadeh and Modarres -Sanavy, 2021). کاربرد گلوتامیک‌اسید و بنزیل آدنین موجب افزایش عملکرد، محتوای کلروفیل و سطح برگ در دو هیبرید کلم بروکلی گردید (Olaa and Duraid, 2020). محلولپاشی اسیدهای آمینه آسپارتیک‌اسید، گلوتامیک‌اسید و آلانین باعث افزایش رشد گوجه فرنگی شد و بیش‌ترین افزایش رشد در تیمارهای آسپارتیک‌اسید و گلوتامیک‌اسید مشاهده شد (Alfosea-Simon *et al*., 2021). ارزیابی تاثیر محلولپاشی گلوتامیک‌اسید بر کاهو تحت تنش کم آبی نشان داد که کاربرد اسیدآمینه موجب کاهش اثرات تنش و افزایش عملکرد کل، عملکرد خشک و محتوای کلروفیل شد (Franzoni *et al*., 2021). اثر متقابل بین دو تیمار اولتراسوند و نیکوتینیک‌اسید موجب افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و شاخص‌های رشد شنبلیله گردید (Najafi *et al*., 2022).

با توجه به نقش مهم آسپارتیک‌اسید، گلوتامیک‌اسید و نیکوتینیک اسید در رشد، متابولیسم و فیزیولوژی گیاهان، در پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر کاربرد این سه ترکیب بر رشد، عملکرد و ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی شنبلیله انجام شد.

مواد و روش

محل اجرای طرح و نحوه تیماردهی

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان در سال ۱۴۰۲ اجرا شد. ابتدا بذور شنبلیله از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. در تاریخ ۷ مهر، تعداد هشت بذر در گلدان‌های ۵ لیتری پلاستیکی حاوی بستری با ترکیب خاک زراعی، کود دامی پوسیده و ماسه با نسبت وزنی ۱:۱:۲ کشت شد. ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در جدول ۱ ذکر گردیده است. بعد از جوانه‌زنی بذرها و استقرار گیاهچه‌ها، تعداد چهار بوته در

هر گلدان نگهداری شد. اولین آبیاری بلافاصله بعد از کاشت و آبیاری‌های بعدی تا زمان گلدهی گیاه هر دو روز یکبار به‌صورت دستی با آبپاش صورت گرفت. بیست روز بعد از کشت بذر، کود آبیاری با کود کامل ۲۰-۲۰-۲۰ با غلظت ۱ گرم در لیتر برای همه تیمارها به میزان یکسان انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل شاهد (محلول-پاشی با آب مقطر) و محلول‌پاشی آسپارتیک‌اسید، گلوتامیک‌اسید و نیکوتینیک‌اسید هرکدام در سه سطح (۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. آسپارتیک‌اسید، گلوتامیک‌اسید و نیکوتینیک‌اسید مورد استفاده در این آزمایش از فروشگاه آزمایشگاهی زیست پروژه دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. در هر واحد آزمایشی تعداد ۵ گلدان و در مجموع ۱۵۰ گلدان در نظر گرفته شد. اولین مرحله محلولپاشی گیاهان در مرحله ۴ تا ۶ برگی و محلولپاشی‌های بعدی هر ۱۴ روز یکبار (جمعا ۴ بار) صورت گرفت. مبارزه با علف‌های هرز و آفات و بیماری‌ها در زمان مورد نیاز صورت گرفت.

Table 1- Some characteristics of the soil used in the research.

Soil Texture	C %	K mg/kg	P mg/kg	N %	EC ds/m	pH
clay loam	۱.۰۲	۳۴۶	۷.۸	۰.۰۷	۰.۷۲	۷.۴۰

ارزیابی عملکرد و ویژگی‌های مورفولوژیکی

در انتهای آزمایش و در شروع مرحله گلدهی (اوایل اسفند ماه) تعداد سه گلدان از هر تکرار به‌صورت تصادفی انتخاب شد. صفات ارتفاع بوته و طول شاخه جانبی با استفاده از خط کش بر حسب سانتی‌متر (cm)، تعداد شاخه جانبی و تعداد گره با استفاده از شمارش شاخه‌ها و گره‌ها در هر بوته، قطر طوقه و فاصله میانگره به کمک دستگاه کولیس دیجیتال (Extra Strong model) و بر حسب میلی-متر (mm) و سطح برگ با استفاده از دستگاه سطح برگ-سنج (CI 202) و بر حسب سانتی‌مترمربع (cm^2) اندازه‌گیری شدند. سپس گیاهان مورد نظر برداشت و وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ (FX3000I model AND) و بر حسب گرم در بوته (gr/plant) گزارش شد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی

مقدار ۰/۱ گرم از برگ تازه در هاون چینی با استفاده از نیتروژن مایع پودر و به خوبی له شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر استون ۱۰۰ درصد به نمونه اضافه گردید و در دستگاه سانتریفیوژ مدل Sigma 3-16K (آلمان) با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. عصاره جدا شده فوقانی داخل فالکون در کووت اسپکتروفتومتر (UV-3200, MAPADA, Shanghai) ریخته شد و مقدار جذب توسط اسپکتروفتومتر قرائت گردید. در نهایت میزان کلروفیل a، b و کل و کاروتنوئیدها با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه (mg/gr FW) گزارش شد (Lichtentaler, 1987).

رابطه(۱) $Chl\ a = 11/24 \times A662 - 2/04 \times A645$

رابطه(۲) $Chl\ b = 20/13 \times A645 - 4/19 \times A662$

رابطه(۳) $Total\ Chl = 7/05 \times A662 + 18/9 \times A645$

رابطه(۴) $Carotenoid = 1000 \times (A470 - 1/90\ CA - 63/14\ CB) / 214$

تبادلات گازی

به منظور سنجش فتوسنتز خالص، CO_2 درون سلولی، هدایت روزنه‌ای و تعرق از دستگاه سنجش تبادلات گازی برگ (CI-340 Handheld photosynthesis system) استفاده شد. اساس کار این دستگاه بر میزان CO_2 مصرفی است و به منظور رعایت شرایط استاندارد در تمامی تیمارها از برگ‌های دوم و سوم (برگ‌های یک پنجم بالایی بوته) استفاده شد. بدین منظور هر برگ به مدت ۶۰ ثانیه درون اتاقک اندازه‌گیری تبادلات گازی برگ قرار گرفت. اندازه‌گیری در روز صاف و آفتابی بین ساعت ۱۱-۹

صورت گرفت. در طول اندازه‌گیری دمای اتاقک حدود ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد بود (Mumivand *et al.*, 2023).

محتوای نیتروژن کل برگ

برای تعیین مقدار نیتروژن در برگ شنبلیله از روش هضم کجلدال استفاده گردید. در این روش، اندازه‌گیری نیتروژن کل به سه مرحله کلی هضم، تقطیر و تیتراسیون تقسیم‌بندی می‌گردد و به‌منظور برآورد درصد ازت، ابتدا نمونه مورد نظر توسط اسید سولفوریک هضم و ازت موجود به صورت سولفات آمونیوم تبدیل می‌گردد (Nelson and Sommers, 1973). نمونه‌ها گیاهی را در لوله هضم کجلدال قرار داده و ۱/۱ گرم مخلوط نمک/کاتالیزور به آن اضافه شد. سپس ۳ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه و به آرامی تا ۲۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از فروکش کردن کف، دما تا ۳۷۵ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت (به مدت ۳۵ دقیقه حرارت داده شد). پس از خنک شدن، ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به آن اضافه شد و سپس ۲۰ میلی‌لیتر هیدروکسیدسدیم ۱۰ مولار به نمونه هضم شده اضافه گردید. در نهایت لوله سریعاً به دستگاه تقطیر کجلدال منتقل گردید و مرحله تقطیر انجام شد.

آنالیز آماری

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS Version 9.4 انجام شد و مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

ویژگی‌های مورفولوژیکی

ارتفاع بوته، قطر طوقه و سطح برگ

تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار محرک‌های زیستی بر ارتفاع بوته، قطر طوقه و سطح برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین ارتفاع بوته نشان داد که کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری سبب افزایش این ویژگی شد. بیش‌ترین میزان ارتفاع بوته با کاربرد ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر آسپارتیک‌اسید و نیکوتینیک‌اسید (به ترتیب با ۴۲/۰۷ و ۴۰/۳۲ سانتی‌متر) بدست آمد. بر خلاف این، کاربرد گلوتامیک‌اسید در تمام سطوح و کاربرد آسپارتیک‌اسید و نیکوتینیک‌اسید در غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به کاهش قطر طوقه شد. بیشترین میزان قطر طوقه در تیمارهای ۷۵ میلی-گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید، شاهد و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر آسپارتیک‌اسید (به ترتیب با ۲/۹۳، ۲/۹۰ و ۲/۸۷ میلی‌متر) مشاهده شد. کاربرد هر یک از محرک‌های زیستی در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر تاثیری بر سطح برگ شنبلیله نداشت. با این حال کاربرد هر سه ترکیب در مقادیر بیشتر منجر به افزایش معنی‌دار سطح برگ شد. بیشترین سطح برگ (۱۸/۸۷ سانتی‌متر مربع) با محلول‌پاشی ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید مشاهده گردید، اما اختلاف معنی‌داری با کاربرد آسپارتیک‌اسید در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و گلوتامیک‌اسید با غلظت ۳۰۰ میلی-گرم در لیتر نداشت (جدول ۳).

افزایش ارتفاع بوته و سطح برگ با کاربرد محرک‌های زیستی در پژوهش حاضر، با کاربرد آمینواسیدها در گیاه بومادران مطابقت دارد (Shafie *et al.*, 2021). مطالعات مختلف نشان داد که آمینواسیدها رشد گیاه را تحریک می‌کنند (Xu *et al.*, 2013, 2014, 2017; Zhang *et al.*, 2017). همچنین باتوجه به نیتروژن موجود در این محرک‌های زیستی، افزایش ارتفاع بوته در مطالعه حاضر قابل توجیه است. در تطابق با نتایج مطالعه حاضر، افزایش ارتفاع بوته گوجه فرنگی با کاربرد آمینواسید گزارش شده است (Alfosea-Simon *et al.*, 2021). تیمار برگی محرک‌های زیستی می‌تواند بر جذب درشت مغذی‌ها و ریز مغذی‌های مختلف تأثیر بگذارد که به نوبه خود بر عملکرد گیاه تأثیرگذار است (Gondek *et al.*, 2021). به گفته محققان اسیدهای آمینه باعث افزایش غلظت پروتئین در بافت‌های گیاه می‌شوند که به دلیل دخالت نیتروژن در سنتز ساختارهای پروتئینی و اسیدهای نوکلئیک است (Bafeel *et*

al., 2016). کاربرد ترکیبات آمینواسیدی به طور مستقیم نیتروژن قابل جذب را به گیاه می‌دهد که عموماً سریع‌تر از شکل معدنی نیتروژن توسط سلول‌های گیاهی جذب می‌شود (Rosa *et al*., 2023)، در اکثر گیاهان، آمینواسیدها و آمیدها فرم اصلی انتقال نیتروژن آلی هستند و می‌توانند متابولیزه شده باشند یا مستقیماً برای سنتز پروتئین و سایر ترکیبات ضروری استفاده شوند. به عنوان مثال گلوتامیک‌اسید در متابولیسم نیتروژن نقش مهمی دارد، زیرا در احیای نیتروژن در گیاهان دخالت دارد و جدای از ارزش ذاتی آن به عنوان یک آمینواسید، در واکنش‌های آمینوترانسفرازها نیز خود پیش‌ساز سایر آمینواسیدها است (Alfosea-Simon *et al*., 2021).

آمینواسیدها در متابولیسم اولیه و ثانویه گیاهان در طیف گسترده‌ای از واکنش‌های آنزیمی به عنوان اجزای تشکیل دهنده آنزیم‌های مختلف مانند آمینوترانسفرازها، دهیدروژنازها، لیازها و دکربوکسیلازها نقش دارند. بنابراین می‌توانند بر انواع فرآیندهای فیزیولوژیکی و فنولوژیکی مانند رشد رویشی گیاهان، جوانه‌زنی بذر، بلوغ میوه، سیگنال‌دهی و فعال‌سازی سیستم‌های دفاعی در برابر تنش‌های غیرزیستی و زیستی، تنظیم اسمزی و غیرفعال‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن تأثیر بگذارند (Teixeira *et al*., 2017). با محلولپاشی اسیدهای آمینه، ترکیبات نیتروژن‌دار به راحتی در اختیار گیاه قرار می‌گیرند و تامین نیتروژن کافی نقش مهمی در افزایش نوکلئیک اسیدها، آمیدها و آمینواسیدها و در نتیجه تکثیر سلولی خواهد داشت که می‌تواند در افزایش سطح برگ نقش داشته باشد (Ghazi Manas *et al*., 2013).

تعداد و طول شاخه جانبی، تعداد گره و طول میانگره

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر محلول‌پاشی محرک‌های زیستی بر تعداد گره در سطح پنج درصد و طول شاخه جانبی در سطح یک درصد معنی‌دار شد. بر خلاف این، کاربرد محرک‌های زیستی تاثیر معنی‌داری بر تعداد شاخه جانبی و طول میانگره نداشت (جدول ۲). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید در هر سه غلظت منجر به افزایش طول شاخه جانبی شد. کاربرد گلوتامیک‌اسید نیز در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش معنی‌دار طول شاخه جانبی را به همراه داشت. محلول‌پاشی نیکوتینیک‌اسید در غلظت‌های ۷۵ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر در مقایسه با کاربرد آسپارتیک‌اسید و گلوتامیک‌اسید تعداد گره بیشتری را نشان داد، با این حال اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (جدول ۳). این نتایج مطابق با گزارشات ارائه شده در مورد کلم کیمچی (Lee *et al*., 2017)، کلم بروکلی (Hamza and AL-Taey, 2020) و توت فرنگی (Talukder *et al*., 2018) بود. این ترکیب‌ها در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و هورمون‌ها نقش مهمی داشته و با افزایش فتوسنتز، بر رشد و عملکرد گیاهان مؤثر واقع می‌شوند. گیاهان می‌توانند اسیدهای آمینه را تولید کنند، اما این بیوسنتز بسیار انرژی‌خواه است. لذا استفاده برون‌زاد اسیدهای آمینه و سایر ترکیبات آلی نیتروژن‌دار سنتز شده، به گیاه اجازه می‌دهد که در انرژی صرفه‌جویی کرده و سرعت رشد و توسعه خود را به ویژه در زمان‌های بحرانی افزایش دهد (Popko *et al*., 2014; Akbarzadeh *et al*., 2023).

وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه

با توجه به جدول تجزیه واریانس، تاثیر محلول‌پاشی محرک‌های زیستی بر وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه شنبلیله در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید منجر به افزایش معنی‌دار وزن تر بوته شد. با این حال اثر مثبت نیکوتینیک‌اسید بر وزن تر بوته بیشتر از آسپارتیک‌اسید بود، به نحوی‌که محلول‌پاشی ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید منجر به افزایش دو برابری وزن تر در مقایسه با شاهد شد. بر خلاف این، محلول‌پاشی گلوتامیک‌اسید تاثیر معنی‌داری بر وزن تر شنبلیله نداشت. کاربرد نیکوتینیک‌اسید در هر سه سطح موجب افزایش وزن خشک گیاه شد و با افزایش غلظت میزان وزن خشک بوته افزایش بیشتری نشان داد. محلول‌پاشی گلوتامیک‌اسید و

آسپارتیک‌اسید نیز در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به افزایش وزن خشک بوته گردید. در مجموع کاربرد ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید افزایش ۲/۷۲ برابری وزن خشک بوته را نسبت به شاهد به همراه داشت (جدول ۳).

محلول‌پاشی هر سه ترکیب در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر تاثیر معنی‌داری بر وزن تر ریشه شنبلیله نداشت. اما کاربرد غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید، گلوتامیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید منجر به افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه گردید. تیمار نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر و گلوتامیک‌اسید در غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر تاثیر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه نداشت. اما کاربرد غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید و کاربرد گلوتامیک‌اسید به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به افزایش معنی‌دار وزن خشک ریشه شد. در مجموع بالاترین وزن تر و خشک ریشه مربوط به تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید بود که به ترتیب افزایش ۴/۴۲ و ۱۲/۶ برابری را نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۳).

در تطابق با نتایج مطالعه حاضر، وزن خشک کل عدس تحت محلولپاشی آمینواسیدهای تجاری و آسپارتیک‌اسید افزایش یافت (Heidarzadeh and Modaress- Sanavy, 2021). محتوای ماده خشک در برگ آندیو (Gajc-Wolska *et al*., 2012) و موسیر (Mikulewicz *et al*., 2019) در پاسخ به کاربرد آمینواسید افزایش یافت که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. آمینواسیدها از نظر بیولوژیکی ترکیبات آلی مهمی هستند که از گروه‌های عاملی آمین و کربوکسیلیک اسید تشکیل شده‌اند. آمینواسیدها در گیاهان عملکردهای مختلفی دارند، به طوری که برای سنتز پروتئین‌ها حیاتی هستند یا برای پیش-ساز متابولیت‌های مختلف با عملکردهای متفاوت در رشد و نمو گیاه مانند هورمون‌ها، اجزای دیواره سلولی و گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه استفاده می‌شوند. اسیدهای آمینه در سنتز پروتئین‌های حیاتی و ساختمانی گیاه نقش دارند می‌توانند رشد و نمو و وزن تر و خشک اندام‌های هوایی گیاه را افزایش دهند (Rennenberg and Herschbach, 2014). اسیدهای آمینه به دلیل نقش مهمی که در متابولیسم گیاهی و تجمع پروتئین دارند موجب افزایش وزن تر و خشک گیاه می‌شوند. بررسی‌ها نشان داده که کاربرد آمینواسیدها موجب افزایش رشد و وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه در کرفس (Shehata *et al*., 2016)، فلفل (Haghighi and Barzegar, 2017) و ریحان (Mohammed et al., 2022) گردید. کاربرد نیکوتینیک اسید نیز باعث افزایش وزن تر و خشک ریشه در جو (Salih *et al*., 2024; Farooq *et al*., 2022)، شمعدانی (Khudair *et al.*, 2019) و کرفس (Al-Jboory and Al-Sharea, 2022) شد. به نظر می‌رسد که محلول پاشی اسید نیکوتینیک از طریق افزایش سطح هورمون‌های IAA، GA3 و سیتوکینین‌ها و کاهش محتوای ABA موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Salih *et al*., 2024). علاوه بر این، نیکوتینیک‌اسید برای سنتز آمینواسیدها مورد نیاز گیاهان است و به متابولیسم کربوهیدرات کمک می‌کند و از این طریق به افزایش رشد و زیست‌توده گیاه کمک می-کند (Tomar *et al*., 2019).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس نشان دهنده معنی‌دار بودن تاثیر کاربرد محرک‌های زیستی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل آ، ب و کل و کاروتنوئید) در سطح احتمال یک درصد بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که محلول‌پاشی هر سه ترکیب گلوتامیک‌اسید، نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید منجر به افزایش معنی‌دار میزان کلروفیل آ، کلروفیل ب و کلروفیل کل گردید. با این حال، بیشترین تاثیر مثبت بر کلروفیل مربوط به کاربرد آسپارتیک‌اسید بود. بیشترین میزان کلروفیل آ در تیمارهای محلول‌پاشی آسپارتیک‌اسید ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نیکوتینیک‌اسید ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. بالاترین میزان کلروفیل ب مربوط به هر سه غلظت آسپارتیک‌اسید و

غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید بود. میزان کلروفیل کل نیز در هر سه غلظت آسپارتیک‌اسید و غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید حداکثر بود. میزان کاروتنویید نیز با کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد، اما بین سطوح مختلف این ترکیبات اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. با این حال، محلول‌پاشی گلوتامیک‌اسید تنها در بالاترین غلظت (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) منجر به افزایش کاروتنویید شد (جدول ۵).

نتایج ما در این زمینه با یافته‌های سایر محققان مطابقت داشت (La *et al*., 2020; Franzoni et al., 2021). کاربرد اسیدهای آمینه در آویشن (Miri *et al.,* 2015)، پریوش (Abaspour Esfaden *et al.*, 2019) و عروسک پشت پرده (Saremi *et al.,* 2020) نیز موجب افزایش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید برگ گردید. محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی یکی از پارامترهای مهمی است که به طور مستقیم با رشد گیاه و زیست توده همبستگی دارد (Acosta-Motos *et al*., 2017). آمینواسیدها با سنتز کلروفیل و فعالیت فتوسنتزی مرتبط هستند (Sanchez-Pale *et al.,* 2017). همچنین به عنوان منبع نیتروژن، نقش مهمی در تامین نیازهای تغذیه‌ای گیاه و افزایش سطح برگ به عهده داشته و در تولید پروتئین‌های گیاهی، کلروفیل، کاروتنوئید و در نتیجه فتوسنتز گیاه مؤثرند. این ترکیبات از سنتز آنزیم‌های ضروری برای تولید اتیلن ممانعت کرده و به این ترتیب، نقش اساسی در ساخت رنگدانه‌های فتوسنتزی کلروفیل و کاروتنوئید ایفا می‌کنند (Rosa *et al*., 2023; Radkowski and Radkowska, 2018). پژوهش‌های دیگری نیز افزایش میزان رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید را با کاربرد نیکوتینیک‌اسید در نعناع فلفلی (Ali and Al-Bayaty, 2023) و باقلا (Mohamed *et al*., 2020) گزارش کرده‌اند. مشخص شده که نیکوتینیک اسید در تشکیل کوآنزیم‌های NADH و NADPH که به ترتیب حامل‌های الکترون فعال واکنش‌های بیوسنتزی اکسایشی و کاهشی هستند نقش دارد (Zhu *et al*., 2015; Taiz *et al*., 2018). هر دو کوآنزیم برای حفظ حالت ردوکس و فرآیندهای بیولوژیکی ردوکس سلول‌ها ضروری هستند، در نتیجه موجب نگهداری رنگدانه‌های برگی در سطح بالاتر می‌شود (Garcia *et al*., 2024).

تبادلات گازی

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمار محرک‌های زیستی بر میزان فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای و غلظت کربن دی اکسید زیر روزنه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اما کاربرد محرک‌های زیستی اثر معنی‌داری بر میزان تعرق نداشت (جدول ۴). طبق نتایج مقایسه میانگین، میزان فتوسنتز و غلظت دی اکسید کربن زیر اتاقک روزنه با محلول‌پاشی هر سه ترکیب گلوتامیک‌اسید، نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید به صورت معنی‌داری افزایش یافت، اما کاربرد گلوتامیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید با غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر تغییر معنی‌داری در این دو صفت ایجاد نکرد. بیشترین میزان فتوسنتز (۳۰/۴۷ میلی‌مول کربن دی اکسید بر مترمربع بر ثانیه) در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیکوتینیک‌اسید به دست آمد. بالاترین غلظت دی اکسید کربن زیر اتاقک روزنه نیز مربوط به تیمارهای محلول‌پاشی نیکوتینیک‌اسید با غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر (به ترتیب با ۳۶۶ و ۴۰۰/۷۵ میکرومول بر مول) بود. محلول‌پاشی هر سه ترکیب گلوتامیک‌اسید، نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید منجر به افزایش معنی‌دار هدایت روزنه‌ای شد. با این حال، بیشترین میزان هدایت روزنه‌ای در تیمارهای محلول‌پاشی نیکوتینیک‌اسید با غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر (به ترتیب با ۰/۳۶ و ۰/۳۵ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) به دست آمد (جدول ۵).

در آزمایش‌هایی روی برنج (Rezvan *et al.,* 2017)، گوجه‌فرنگی (Alfosea-Simon *et al*., 2021) و ژربرا (Geshnizjani and Khosh-Khui, 2016) مشخص شد که محلول‌پاشی آسپارتیک‌اسید و گلوتامیک اسید، تبادلات گازی را بهبود بخشید. مطالعات متعدد نشان داده است که نیکوتینیک‌اسید می‌تواند باعث افزایش نرخ فتوسنتز در

محصولات مختلف شود. این ترکیب می‌تواند با افزایش غلظت کلروفیل، تغییر در ساختار برگ و افزایش فعالیت ریبولوز بیس فسفات کربوکسیلاز منجر به افزایش فتوسنتز شود (Shemi *et al.,* 2021). نیکوتینیک‌اسید ممکن است مسئول افزایش تجمع ماده خشک در گیاهان باشد. تحقیقات قبلی نشان داده است که نیکوتینیک‌اسید با تعدیل نقش محوری فعالیت آنزیمی و تأثیر مستقیم بر فرآیندهای بیوشیمیایی در این زمینه نقش ایفا می‌کند. به عنوان مثال، افزودن نیکوتینیک‌اسید به محیط رشد ریشه گندم به طور قابل توجهی کارایی فتوسنتز و تثبیت کربن را بهبود بخشید و منجر به افزایش جذب CO_2 در چندین رقم گندم شد (Khurshid *et al.,* 2023). علاوه براین، حضور اسید نیکوتینیک انباشته شده در بافت‌های اپیدرمی باعث ایجاد تغییراتی در هدایت روزنه‌ای در گیاهان می‌شود. یکی از دلایلی که اسید نیکوتینیک هدایت روزنه‌ای را بهبود می‌بخشد افزایش محتوای آب در نزدیکی سلول‌های نگهبان است. در واقع نیکوتینیک‌اسید از نظر فیزیکی ته نشین شده و تعرق کوتیکولی را مسدود می‌کند. این امر نشان می‌دهد که آمینواسیدها ممکن است جذب آب و رساندن آن به ساقه و برگ را تسهیل کنند (Khalid *et al.,* 2022). در رابطه با افزایش تبادلات گازی با کاربرد آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید مشخص شده است که این دو آمینواسید باعث کاهش غلظت سیترات و افزایش غلظت فومارات می‌شوند. این امر می‌تواند تنظیم غلظت کربن دی اکسید و تبادلات گازی را به همراه داشته باشد (Alfosea-Simon *et al.*, 2021). همچنین افزایش نرخ فتوسنتز و تبادلات گازی با کاربرد آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید را به محتوای کلروفیل بالاتر برگ نسبت داده‌اند که ارتباط نزدیکی با محتوای نیتروژن دارد و در میزان فتوسنتز به صورت ویژه دخیل است (Wang *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2023).

نیتروژن کل

براساس نتایج تجزیه واریانس، تیمار محلوپاشی محرک‌های زیستی اثر معنی‌داری بر میزان نیتروژن کل برگ شنبلیله در سطح یک درصد داشت (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که کاربرد هر سه ترکیب گلوتامیک‌اسید، نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید موجب افزایش معنی‌دار میزان نیتروژن در شنبلیله شد. اما کاربرد نیکوتینیک‌اسید و گلوتامیک‌اسید با غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر تغییر معنی‌داری در میزان نیتروژن در مقایسه با شاهد ایجاد نکرد. در مجموع بیشترین میران نیتروژن برگ مربوط به تیمارهای محلول‌پاشی نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر (به ترتیب با ۶/۱۷ و ۵/۵۶ درصد) بود (جدول ۵).

کاربرد آمینواسیدها در چمن (*Poa pratensis*) و لوبیا نیز موجب افزایش میزان نیتروژن برگ گردید که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد (Radkowski *et al.*, 2021; Moreira and Moraes, 2017). نیتروژن علاوه بر اینکه جزء آمینو اسیدهای آزاد و پروتئینی است، در سایر ترکیبات نیتروژن‌دار مهم، مانند بازهای نیتروژن‌دار (پورین‌ها و پیریمیدین‌ها) و اسیدهای نوکلئیک (DNA و RNA) وجود

Table 2- Variance analysis of morphological traits and yield of *T. foenum-graecum* in response to biostimulants.

S.O.V.	Df.	Mean squares									
		Plant height	Crown diameter	Number of Lateral branches	Length of Lateral branches	Internode length	Number of nodes	Leaf area	Shoot fresh weight	Shoot dry weight	Root fresh weight	Root dry weight
Treatments	9	35.25**	۰.۱۲۸**	0.60^{ns}	21.31**	0.40^{ns}	7.49*	38.07**	151.22**	12.47**	20.114**	2.87**
Error	۳۰	11.51	0.030	0.71	5.32	0.23	3.25	8.34	15.63	0.594	0.928	0.135
CV.		9.58	6.62	12.58	7.39	17.61	9.93	9.76	15.86	14.59	2.32	3.72

*, **, and ns: Significant at 5% and 1% levels of probability and non-significant, respectively.

Table 3. Mean comparison of the effects of foliar application of biostimulants on morphological traits and yield of *T. foenum-graecum*.

Biostimulants treatment (gr/L)	Plant height (cm)	Crown diameter (mm)	Number of Lateral branches	Length of lateral branches (cm)	Number of nodes (per plant)	Leaf area (cm^2)	Shoot fresh weight (gr/plant)	Shoot dry weight (gr/plant)	Root fresh weight (gr/plant)	Root dry weight (gr/plant)
Control (0)	35.00^{bc}	2.90^{a}	25.25^{c}	18.50^{ab}	12.60^{c}	18.45^{f}	2.96^{g}	1.76^{e}	0.23^{d}
Nicotinic acid 75	38.50^{abc}	2.93^{a}	32.62^{a}	20.37^{a}	13.55^{c}	27.76^{bc}	6.12^{bcd}	3.03^{de}	0.31^{cd}
Nicotinic acid 150	39.00^{ab}	2.53^{c}	30.87^{ab}	18.12^{b}	16.47^{b}	32.29^{ab}	7.10^{ab}	7.86^{a}	1.46^{b}
Nicotinic acid 300	40.32^{a}	2.46^{c}	32.87^{a}	20.37^{a}	18.87^{a}	36.90^{a}	8.08^{a}	7.79^{a}	2.90^{a}
Aspartic acid 75	34.12^{bc}	2.87^{ab}	29.75^{ab}	17.00^{b}	13.93^{c}	24.95^{ce}	3.59^{fg}	2.27^{de}	0.31^{cd}
Aspartic acid 150	37.25^{abc}	2.56^{c}	30.62^{ab}	17.62^{b}	17.05^{ab}	27.45^{bcd}	5.90^{cd}	5.58^{b}	1.35^{b}
Aspartic acid 300	42.07^{a}	2.60^{c}	29.00^{b}	18.50^{ab}	17.72^{ab}	31.19^{ab}	6.57^{bc}	4.44^{bc}	1.57^{b}
Glutamic acid 75	34.77^{bc}	2.64^{bc}	27.75^{bc}	16.12^{b}	13.22^{c}	19.90^{ef}	3.02^{g}	2.27^{de}	0.33^{cd}
Glutamic acid 150	34.37^{bc}	2.47^{c}	29.25^{b}	17.50^{b}	16.25^{b}	19.89^{ef}	4.42^{ef}	3.23^{cd}	0.60^{cd}
Glutamic acid 300	33.50^{c}	2.57^{c}	28.00^{bc}	17.37^{b}	17.22^{ab}	21.87^{def}	5.04^{de}	3.02^{de}	0.79^{c}

*Means with the same letter in each column are not significantly different at 5% of probability level.

Table 4- Variance analysis of photosynthetic pigments, gas exchange, and nitrogen content of *T. foenum-graecum* in response to biostimulants.

		Mean squares								
S.O.V.	**Df.**	**Chlorophyll a**	**Chlorophyll b**	**Total Chlorophyll**	**Carotenoid**	**Photosynthesis rate**	**Transpiration**	**Stomatal conductance**	**Internal CO_2**	**Nitrogen**
Treatments	9	18.66^{**}	6.095^{**}	42.76^{**}	3.258^{**}	99.93^{**}	4.67^{ns}	0.01^{**}	16584.88^{**}	2.43^{**}
Error	30	1.53	0.626	3.38	0.408	10.23	2.67	0.001	1620.18	0.29
CV.	-	8.61	11.69	8.69	12.80	15.62	7.13	0.03	13.91	11.60

**, **, and ns: Significant at 5% and 1% levels of probability and non-significant, respectively.*

Table 5. Mean comparison of the effects of foliar application of biostimulants on photosynthetic pigments, gas exchange, and nitrogen content of *T. foenum-graecum*

	Traits							
Biostimulants treatments (mgr/L)	**Chlorophyll a (mg g^{-1} F.W.)**	**Chlorophyll b (mg g^{-1} F.W.)**	**Total Chlorophyll (mg g^{-1} F.W.)**	**Carotenoid (mg g^{-1} F.W.)**	**Photosynthesis rate (mmol $CO_2/m^2/s$)**	**Stomatal conductance (mmol/m^2/s)**	**Internal CO_2 (µmol/mol)**	**Nitrogen (%)**
Control	9.59^{e}	4.62^{d}	14.22^{f}	3.68^{cd}	13.05^{e}	0.13^{e}	195.25^{f}	3.53^{f}
Nicotinic acid 75	13.32^{cd}	6.99^{bc}	20.32^{d}	5.68^{a}	18.82^{cd}	0.26^{bcd}	273.25^{cde}	4.15^{def}
Nicotinic acid 150	14.91^{bc}	7.16^{abc}	22.08^{bcd}	5.28^{ab}	23.23^{bc}	0.36^{a}	366.00^{ab}	4.90^{bcd}
Nicotinic acid 300	16.08^{ab}	8.20^{a}	24.29^{ab}	5.89^{a}	30.47^{a}	0.35^{a}	400.75^{ab}	6.17^{a}
Aspartic acid 75	15.00^{bc}	7.53^{abc}	22.54^{abcd}	5.49^{a}	16.30^{de}	0.22^{d}	225.25^{ef}	4.32^{cde}
Aspartic acid 150	16.12^{ab}	7.43^{ac}	23.56^{abc}	4.98^{ab}	21.40^{bc}	0.27^{bc}	318.00^{bc}	4.50^{cde}
Aspartic acid 300	17.39^{a}	7.72^{ab}	25.11^{a}	5.79^{a}	24.50^{b}	0.28^{bc}	330.5^{bc}	5.56^{ab}
Glutamic acid 75	12.96^{d}	4.56^{d}	17.53^{e}	3.29^{d}	15.92^{de}	0.24^{cd}	245.00^{def}	3.92^{ef}
Glutamic acid 150	14.44^{bcd}	6.55^{c}	20.99^{cd}	4.43^{bc}	19.27^{cd}	0.25^{bcd}	284.75^{cd}	4.76^{cd}
Glutamic acid 300	13.88^{cd}	6.85^{bc}	20.73^{d}	5.37^{a}	22.07^{bc}	0.30^{b}	253.50^{de}	5.00^{bc}

*Means with the same letter in each column are not significantly different at 5% of probability level.

دارد که تقریباً ۱۰ درصد از کل نیتروژن گیاه را شامل می‌شوند (Fageria, 2014; Mumivand et al., 2010). مطالعات انجام شده، نقش آمینواسیدها در افزایش نیتروژن گیاهان را به افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در جذب نیتروژن نسبت داده‌اند که در گیاهان برنج، گوجه فرنگی و ذرت گزارش شده است (Wang *et al.*, 2018; Deng *et al.*, 2019; Ji *et al.*, 2021). همچنین تأثیر مثبت اسیدهای آمینه روی عملکرد و اجزای عملکرد به اهمیت این ترکیبات در بیوسنتز گستره وسیعی از مواد نیتروژن‌دار مانند رنگدانه‌ها، ویتامین‌ها، کانسامین‌ها، پورین و پیریمیدین نسبت داده می‌شود (El-Said and Mahdy, 2016). افزایش محتوای نیتروژن با کاربرد نیکوتینیک‌اسید ممکن است به دلیل افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در طول فتوسنتز باشد، که منجر به افزایش سنتز آنزیم نیترات ردوکتاز و در نتیجه افزایش و تجمع نیتروژن در برگ می‌شود (Khudair *et al.*, 2019).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کاربرد محرک‌های زیستی نیکوتینیک‌اسید، آسپارتیک‌اسید و گلوتامیک‌اسید در اغلب موارد موجب افزایش ویژگی‌های مورد مطالعه شد. کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور معنی‌داری سبب افزایش ارتفاع بوته شد. تیمار هر سه محرک زیستی در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به افزایش معنی‌دار سطح برگ و وزن تر ریشه گردید. کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید نیز افزایش معنی‌دار وزن تر بوته را به همراه داشت. با این حال اثر مثبت نیکوتینیک‌اسید بر وزن تر بوته بیشتر از آسپارتیک‌اسید بود. تیمار نیکوتینیک‌اسید در هر سه سطح موجب افزایش وزن خشک گیاه شد. محلول‌پاشی گلوتامیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید نیز در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر منجر به افزایش وزن خشک بوته گردید. اما وزن خشک ریشه تنها در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید و غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر گلوتامیک‌اسید افزایش یافت.

محلول‌پاشی هر سه ترکیب گلوتامیک‌اسید، نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید افزایش معنی‌دار کلروفیل آ، کلروفیل ب و کلروفیل کل را به همراه داشت. با این حال، بیشترین تاثیر مثبت بر کلروفیل مربوط به کاربرد آسپارتیک‌اسید بود. میزان کاروتنویید نیز با کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد، در حالی‌که محلول‌پاشی گلوتامیک‌اسید تنها در بالاترین غلظت منجر به افزایش کاروتنویید شد. میزان فتوسنتز، هدایت روزنه‌ای، غلظت دی اکسید کربن زیر اتاقک روزنه و نیتروژن کل نیز با محلول‌پاشی هر سه ترکیب گلوتامیک‌اسید، نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد.

در مجموع و بر اساس نتایج می‌توان گفت که به ترتیب کاربرد محرک‌های زیستی نیکوتینیک اسید و آسپارتیک اسید بیشترین تاثیر مثبت را بر رشد، عملکرد و صفات مورفوفیزیولوژیکی شنبلیله داشتند. غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز به عنوان غلظت بهینه محلول‌پاشی هر سه محرک زیستی نیکوتینیک اسید، آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید شناخته شد.

سپاسگزاری

نویسندگان از آزمایشگاه مرکزی دانشگاه لرستان و گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان واحد خرم‌آباد، جهت همکاری در انجام پژوهش حاضر، کمال تشکر و سپاس‌گزاری را دارند.

منابع

Abaspour Esfaden, M., Kallaterjari, S., and Fatehi, F. (2019). The Effect of Salicylic Acid and L-arginine on Morpho-physiological Properties and Leaf Nutrients of *Catharanthus roseus* under Drought Stress. *Journal of horticulture science, 33*(3), 417-432. (in Persian)

Acosta-Motos, J.R., Ortuno, M.F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M.J. and Hernandez, J.A. (2017). Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. *Agronomy, 7*, 18. [CrossRef]

Akbarzadeh, S., Morshedloo, M. R., Behtash, F., Mumivand, H., and Maggi, F. (2023). Exogenous β-aminobutyric acid (BABA) improves the growth, essential oil content, and composition of grapefruit mint (Mentha suaveolens× piperita) under water deficit stress conditions. *Horticulturae, 9(3),* 354.

Alfosea-Simon, M., Simon-Grao, S., Zavala-Gonzalez, E.A., Camara-Zapata, J.M., Simon, I., Martínez-Nicolas, J.J., Lidon, V. and García-Sanchez, F. (2021). Physiological, Nutritional and Metabolomic Responses of Tomato Plants After the Foliar Application of Amino Acids Aspartic Acid, Glutamic Acid and Alanine. *Front Plant Science, 11*, 581234. doi: 10.3389/fpls.2020.581234

Alfosea-Simón, M., Simón-Grao, S., Zavala-Gonzalez, E.A., Cámara-Zapata, J.M., Simón, I., Martínez-Nicolás, J. J., and García-Sánchez, F. (2021). Physiological, nutritional and metabolomic responses of tomato plants after the foliar application of amino acids aspartic acid, glutamic acid and alanine. *Frontiers in plant science*, *11*, 581234.

Alfosea-Simon, M., Simon-Grao, S., Zavala-Gonzalez, EA., Camara-Zapata, J.M., Simon, I., Martínez-Nicolas, J.J., Lidon, V. and García-Sanchez, F. (2021). Physiological, Nutritional and Metabolomic Responses of Tomato Plants After the Foliar Application of Amino Acids Aspartic Acid, Glutamic Acid and Alanine. *Frontiers in plant science*, *11*, 581234. doi: 10.3389/fpls.2020.581234.

Ali, W.S., and Al-Bayaty, A.J.A.R. (2023). Enhancing nutrient elements and phenolic compounds in *Mentha Piperita* L. through the application of nano iron oxide and Vitamin B3 (Niacin) spraying treatments. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, *10*(3S), 5307-5317.

Al-Jboory, W.S.H., and Al-Sharea, A.O.E. (2022). Study the effect of spraying of Vitamin B3 and the amino acid Glycine and their overlap on some growth indicators of *Apium graveolens* L. *Bulletin of National Institute of Health Sciences, 140*(1), 1185-1199.

Bafeel, S.O., Al-Erwy, A.S., Al-Toukhy, A. (2016). Effect of chemical, organic, and biological fertilizers on protein concentration and protein electrophoretic profiles of wheat plants irrigated with seawater. *Global Journal Agriculture Research, 4*, 29–46.

Deng, F., Wang, L., Mei, X.F., Li, S.X., Pu, S.L., Li, Q.P. and Ren, W.J. (2019). Polyaspartic acid urea and optimised nitrogen management increase the grain nitrogen concentration of rice. *Scientific Reports, 9* (1), 313. https://doi.org/10.1038/s41598-018- 36371-7.

Du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia horticulturae*, *196*, 3-14.

El Shayeb, N.S., Hassan, R.H. and Mohaseb, M.I. (2021). Impact of nano-chitosan rate and glutamine acid concentration on coriander plants' growth, yield, and volatile oil production. *Journal of Bio -agriculture, 1*, 15 -24.

El-Said, M.A.A., and Mahdy, A.Y. (2016). Response of two wheat cultivars to foliar application with amino acids under low levels of nitrogen fertilization. *Middle East Journal of Agriculture Research, 5*, 462-472.

Fageria, N.K. (2014). Nitrogen management in crop production. *Boca Raton, Florida/New York, USA: CRC Press.*

Fardus, J., Hossain, M.S. and Fujita, M. (2021). Modulation of the Antioxidant Defense System by Exogenous L-Glutamic Acid Application Enhances Salt Tolerance in Lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Biomolecules, 11*, 587. https:// doi.org/10.3390/biom11040587

Farhadi, H., Azizi, M. and Nemati, S.H. (2017). Effect of water deficit stress on morphological characteristics and yield components of eight native stands of fenugreek. *Agricultural Science Research Journal in Dry Areas. 1* (1), 132-120. (In Persian)

Farooq, T.H., Bukhari, M.A., Irfan, M.S., Rafay, M., Shakoor, A., Rashid, M.H.U., Lin, Y., Saqib, M., Malik, Z. and Khurshid, N. (2022). Effect of Exogenous Application of Nicotinic Acid on Morpho-Physiological Characteristics of *Hordeum vulgare* L. under Water Stress. *Plants, 11*, 2443. https://doi.org/10.3390/ plants11182443

Farooq, T.H., Bukhari, M.A., Irfan, M.S., Rafay, M., Shakoor, A., Rashid, M.H.U., Lin, Y., Saqib, M., Malik, Z., and Khurshid, N. (2022). Effect of Exogenous Application of Nicotinic Acid on Morpho-Physiological Characteristics of *Hordeum vulgare* L. under Water Stress. *Plants*, *11*(18), 2443.

Franzoni, G., Cocetta, G. and Ferrante, A. (2021). Effect of glutamic acid foliar applications on lettuce under water stress. *Physiology Mol Biology Plants*, *27*(5),1059–1072.

Franzoni, G., Cocetta, G., Trivellini, A., Garabello, C., Contartese, V. and Ferrante, A. (2023). Effect of salt stress and glutamic acid exogenous application on lettuce (*Lactuca sativa* L.).

Gajc-Wolska, J., Kowalczyk, K., Nowecka, M., Mazur, K. and Metera, A. (2012). Effect of Organic-Mineral Fertilizers on the Yield and Quality of Endive (*Cichorium endivia* L.). *Acta Science Pol. Hortorum Cultus, 11*, 189–200.

Garcia, A.A., Vendruscolo, E.P., de Lima, S.F., Costa, E., Martins, M.B., de Castro Seron, C., and de Araújo, T.A.D.N. (2024). Do vitamins change the morphophysiological characteristics of sweet pepper grown under irrigation with saline water?. *OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA*, *22*(8), e6206-e6206.

Geshnizjani, N., and Khosh-Khui, M. (2016). Promoted growth and improved quality of Gerbera jamesonni L. flowers using exogenous application of amino acids. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, *3*(2), 155-166.

Gondek, K. and Mierzwa-Hersztek, M. (2021). Effect of Soil-Applied L-tryptophan on the Amount of Biomass and Nitrogen and Sulfur Utilization by Maize. *Agronomy*, *11*, 2582. [CrossRef]

Hafez, E.M., Aboukhadrah, S.H., Sorour, S.G.R. and Yousef, A.R. (2012). Comparison of Agronomical and Physiological Nitrogen Use Efficiency in Three Cultivars of Wheat as Affected by Different Levels of N-Sources. *In Proceedings of the 13th International Conference of Agronomy, Faculty of Agriculture, Benha University, Benha, Egypt, 9*(10), 130–145.

Haghighi, M. and 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]

Hajipour, Z., Mumiwand, H., Shayganfar, A., and Ebrahimi, A. (2021). The effect of ultraviolet radiation (UV-A and UV-B) and melatonin and ascorbic acid on some morphophysiological and phytochemical factors of fenugreek. Master thesis, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Iran.

Hamza, O.M. and Duraid K.A.A. (2020). A study on the effect of Glutamic acid and Benzyl adenine application upon Growth and Yield parameters and active components of two Broccoli hybrids. *International Journal of Agricultural and Statistical Sciences*, DocID: https://connectjournals.com/03899.2020.16.1163

Hamza, O.M., and AL-Taey D.K.A. (2020). A study on the effect of glutamic acid and benzyl adenine application upon growth and yield parameters and active components of two broccoli hybrids. *International Journal of Agricultural Stat. Science, 16*(1), 1163- 1167.

Han, M., Zhang, C., Suglo, P., Sun, S., Wang, M. and Su, T. (2021). L-aspartate: An essential metabolite for plant growth and stress acclimation. *Molecules*, *26*(7), 1887.

Heidarzadeh, A. and Modarres -Sanavy, S.A.M. (2021). Effect of made of application and type of amino acids on the activity of antioxidant enzymes, proline content, and seed yield of lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture), 44*, 381 -394. (In Perian).

Helaly, A.A.E. and Ibrahim, F.R. (2019). Influence of iron, zinc and tyrosine acid on growth, yield components and chemical constituents of *Hibiscus sabdariffa* L. plant. *Chemical Analysis, 44*, 21 -30.

Ji, P.T., Li, X.L., Peng, Y.J., Zhang, Y.C. and Tao, P.J. (2021). Effect of polyaspartic acid and different dosages of controlled-release fertilizers on nitrogen uptake, utilization, and yield of maize cultivars. *Bioengineered, 12* (1), 527–539. https://doi.org/10.1080/ 21655979.2020.1865608.

Khalid, U., Sher, F., Noreen, S., Lima, E.C., Rasheed, T., Sehar, S. and Amami, R. (2022). Comparative effects of conventional and nano-enabled fertilizers on morphological and physiological attributes of Caesalpinia bonducella plants. *Journal of Saudi Soc Agricultural Science, 21,* 61–72. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2021.06.011.

Khudair, T.Y., Albbas, F.A.A., and Kreem, K.A.A. (2019). Effect of Niacin (Nicotinamide) and Humic Acid on Growth and Chemical Traits of *Pelargonium hortorum* L. *Indian Journal of Ecology, 46*, 173-178.

Khurshid, N., Adnan Bukhari, M., Ahmad, T., Ahmad, Z., Nasim Jatoi, W., Abbas, S.M., Latif, A., Raza, A., Aurangzaib, M., Hashem, A., Avila-Quezada, G.D. and Abd_Allah, E.F. (2023). Exogenously applied nicotinic acid alleviates drought stress by enhancing wheat's morpho-physiological traits and antioxidant defense mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *263*, 115350

Kong, D., Ju, C., Parihar, A., Kim, S., Cho, D., and Kwak, J.M. (2015). Arabidopsis Glutamate Receptor Homolog3.5 Modulates Cytosolic Ca2+ Level to Counteract Effect of Abscisic Acid in Seed Germination. *Plant Physiology, 167*, 1630–1642. [CrossRef] [PubMed]

Kumar, K., Kumar, S., Datta, A. and Bandyopadhyay, A. (2015). Effect of fenugreek seeds on glycemia and dyslipidemia in patients with type 2 diabetes mellitusg. *International Journal of Medical Science and Public Health*, *4* (7), 997-1000.

La, V.H., Lee, B.R., Islam, M., Mamun, M., Park, S.H., Bae, D.W. and Kim, T.H. (2020). Characterization of Glutamate-Mediated Hormonal Regulatory Pathway of the Drought Responses about Proline Metabolism in *Brassica napus* L. *Plants, 9*, 512. [CrossRef]

Lee, H.J., Kim, J.S., and Lee, S.G. (2017). Glutamic acid foliar application enhances antioxidant enzyme activities in kimchi cabbages treated with low air temperature. *Korean Journal of Horticultural Science, 35*(6), 700-706.

Lei, S., Rossi, S. and Huang, B. (2022). Metabolic and Physiological Regulation of Aspartic Acid-Mediated Enhancement of Heat Stress Tolerance in Perennial Ryegrass. *Plants, 11*, 199. https://doi.org/10.3390/ plants11020199.

Lei, S., Rossi, S., and Huang, B. (2022). Metabolic and Physiological Regulation of Aspartic Acid-Mediated Enhancement of Heat Stress Tolerance in Perennial Ryegrass. *Plants, 11*, 199. https://doi.org/10.3390/ plants11020199

Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *In Methods in enzymology, 148*, 350-382. Academic Press.

Liu, C., Duan, N., Chen, X., Li, X., Zhao, N., Cao, W., Li, H., Liu, B., Tan, F., Zhao, X., and Li, Q. (2023). Transcriptome profiling and chlorophyll metabolic pathway analysis reveal the response of Nitraria tangutorum to increased nitrogen. *Plants, 12* (4). https://doi.org/10.3390/plants12040895.

Mandegary, A., Pournamdari, M., Sharififar, F., Pour Nour Mohammadi, S., Fardiar, R. and Shooli, S. (2012). Alkaloid and flavonoid-rich fractions of fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum* L.) with antinociceptive and anti-inflammatory effects. *Journal of Food Chemistry Toxicology, 50*, 2503–2507.

Mikulewicz, E., Majkowska-Gadomska, J., Jadwisie ´nczak, K. and Francke, A. (2019). Effect of Selected Biostimulants on the Yield and Quality of the Common Onion (*Allium cepa* L.). *Acta Agroph, 26*, 57–65. [CrossRef]

Miri, S.M., Ahmadi, S., and Moradi, P. (2015). Influence of Salicylic Acid and Citric Acid on the Growth, Biochemical Characteristics and Essential Oil Content of Thyme (*Thymus vulgaris* L.). *Journal of Medicinal Plants and By-products, 2*, 141-146.

Mohamed, M.H., Badr, E.A., Sadak, M.S., and Khedr, H.H. (2020). Effect of garlic extract, ascorbic acid and nicotinamide on growth, some biochemical aspects, yield and its components of three faba bean (*Vicia faba* L.) cultivars under sandy soil conditions. *Bulletin of the National Research Centre, 44*, 1-8.

Mohammed, H.F., and Rashwan, B.R. (2022). Impact of glutamic acid foliar application on sweet basil plants under different irrigation levels in reclaimed land. *Scientific Journal of Agricultural Sciences, 4*(3), 19-39.

Moreira, A. and Moraes, L.A.C. (2017). Yield, nutritional status, and soil fertility cultivated with the common bean in response to amino-acids foliar application. *Journal of Plant Nutrition, 40(3),* 344-351, DOI: 10.1080/01904167.2016.1240194

Mumivand, H., Babalar, M., Hadian, J., and Tabatabaei, S. M. F. (2010). Influence of nitrogen and calcium carbonate application rates on the minerals content of summer savory (Satureja hortensis L.) leaves. *Horticulture environment and biotechnology, 51(3),* 173-177.

Mumivand, H., Izadi, Z., Amirizadeh, F., Maggi, F., and Morshedloo, M. R. (2023). Biochar amendment improves growth and the essential oil quality and quantity of peppermint (Mentha× piperita L.) grown under waste water and reduces environmental contamination from waste water disposal. *Journal of Hazardous Materials, 446*, 130674.

Mumivand, H., Shayganfar, A., Tsaniklidis, G., Emami Bistgani, Z., Fanourakis, D., and Nicola, S. (2021). Pheno-morphological and essential oil composition responses to UVA radiation and protectants: A case study in three Thymus species. *Horticulturae, 8(1)*, 31.

Naghdi Badi, H., Mehrafarin, A., Mustafavi, S.H. and Labbaf, M. (2018). Exogenous arginine improved fenugreek sprouts growth and trigonelline production under salinity condition. *Industrial Crops & Products, 122,* 609-616. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.042.

Najafi, R., Rezaei, A. and Talei, D. (2022). The potential of ultrasound and nicotinic acid to improve physiological responses and trigonelline biosynthesis in fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Industrial Crops & Products, 182*, 114815.

Nelson, D.W. and Sommers, L.E. (1973). Determination of total nitrogen in plant material 1. *Agronomy Journal*, *65*(1), 109-112.

Padmaja, V.V., Pavani, K., Srilatha, P., Lalitha, K., Sarad, G., Raja Naik, M., Deepti Kiran, Y. and Gopal, K. (2023). Role of Biostimulants in Horticulture. *International Journal of Environment and Climate Change Volume, 13* (8), 1146-1157. Article no. IJECC.99861 ISSN: 2581-8627.

Paradikovic, N., Teklic, T., Zeljkovic, S., Lisjak, M. and Spoljarevic, M. (2019). Biostimulants research in some horticultural plant species-A review. *Food and Energy Security, 2*,1-17. doi:10.1002/fes3.162.

Popko, M., Wilk, R., and Gorecki, H. (2014). New amino acid biostimulators based on protein hydrolysate of keratin. *Molecules, 93*, 1012– 1015.

Qiu, X.M., Sun, Y.Y., Ye, X.Y., and Li, Z.G. (2020). Signaling Role of Glutamate in Plants. *Front Plant Science, 10*, a1743. [CrossRef]

Radkowski, A., Radkowska, I., Bocianowski, J., Wolski, K. and Bujak, H. (2021). Effect of Amino Acid and Titanium Foliar Application on Smooth-Stalked Meadow Grass (*Poa pratensis* L.) Macronutrient Content. *Applied Science, 11*, 11421. https://doi.org/ 10.3390/app112311421

Rizwan, M., Ali, S., Akbar, M.Z., Shakoor, M.B., Mahmood, A. and Ishaque, W. (2017). Foliar application of aspartic acid lowers cadmium uptake and Cd-induced oxidative stress in rice under Cd stress. *Environmental Science Pollut. Research International, 24*, 21938–21947. doi: 10.1007/s11356-017- 9860-1

Rosa, R., Hajko, L., Franczuk, J., Zaniewicz-Bajkowska, A., Andrejiova, A. and Mezeyova, I. (2023). Effect of L-Tryptophan and L-Glutamic Acid on Carrot Yield and Its Quality. *Agronomy, 13*, 562. https://doi.org/10.3390/ agronomy13020562

Rosa, R., Hajko, L., Franczuk, J., Zaniewicz-Bajkowska, A., Andrejiova, A. and Mezeyova, I. (2023). Effect of L-Tryptophan and L-Glutamic Acid on Carrot Yield and Its Quality. *Agronomy, 13*, 562. https://doi.org/10.3390/ agronomy13020562

Salih, S.M., and Abdulrraziq, A.A. (2024). Effect of Exogenous Application of Nicotinic Acid on Genotypes of durum wheat (*Triticum aestivum* L.) under salt stress. *Scientific Journal for Faculty of Science-Sirte University*, *4*(1), 109-116.

Sanchez-Pale, J.R. (2017). Evaluación del Efecto de Humics — 95 y Amynofol, en el Desarrollo y Crecimiento de Impatiens Walleraina Hook. F. var. Lillicop. Ph.D. Thesis, Universidad Autónoma del Estado de Mexico, Toluca, Mexico, p. 14. (In Spanish).

Saremi, S., Gholipoor, M., Abbasdokht, H., Naghdi Badi, H., Mehrafrin, A., and Asghari, H. (2020). The morphophysiological responses of *Physalis alkekengi* to foliar applications of amino acids under drought stress conditions. Horticultural Plants Nutrition, 3 (2), 71-86. DOI: 10.22070/hpn.2020.5377.1091

Shafie, F., Bayat, H., Aminifard, M.H. and Daghighi, S. (2021). Biostimulant effects of seaweed extract and amino acids on growth, antioxidants, and nutrient content of yarrow (*Achillea millefolium* L.) in the field and greenhouse conditions. *Communications in Soil Science and Plant Analysis, 52*, 964 -975.

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

Shemi, R., Wang, R., Gheith, E.S.M.S., Hussain, H.A., Hussain, S., Irfan, M., Cholidah, L., Zhang, K., Zhang, S. and Wang, L. (2021). Effects of salicylic acid, zinc, and glycine betaine on morpho-physiological growth and yield of maize under drought stress. *Science Rep, 11*. https://doi.org/10.1038/s41598-021-82264-7.

Souri, M.K. (2015). Aminochelate Fertilizers: The New Approach to the Old Problem; A Review. *Open Agriculture, 1*, 118–123. [CrossRef]

Talukder, M.R., Asaduzzaman, M., Tanaka, H., and Asao, T. (2018). Light-emitting diodes and exogenous amino acids application improve growth and yield of strawberry plants cultivated in recycled hydroponics. *Science horticulture, 239*, 93-103.

Teixeira, W.F., Fagan, E.B., Soares, L.H., Umburanas, R.C., Reichardt, K. and Neto, D.D. (2017). Foliar and seed application of amino acids affects the antioxidant metabolism of the soybean crop. *Front. Plant Science, 8*, 327. doi: 10.3389/fpls.2017.00327

Tomar, R.S., Khamba, S., Kaushik, S., and Mishra, R.K. (2018). Role of Vitamins in Plant Growth and their Impact on Regeneration of Plants under Invitro Condition. *International Journal for Research in Applied Science and Engineering Technology*, *6*(3), 423-426.

Wang, Q., Tang, H., Li, G., Dong, H., Dong, X., Xu, Y. and Dong, Z. (2018). Polyaspartic acid improves maize (*Zea mays* L.) seedling nitrogen assimilation mainly activity. *Agronomy, 8* (9), 188. https://www.mdpi.com/2073-4395/8/9/188.

Wang, S., Guan, K., Wang, Z., Ainsworth, E.A., Zheng, T., Townsend, P.A., Li, K., Moller, C., Wu, G., and Jiang, C. (2020). Unique contributions of chlorophyll and nitrogen to predict crop photosynthetic capacity from leaf spectroscopy. *Journal of Exp. Botany, 72* (2), 341–354. https://doi.org/10.1093/jxb/eraa432.

Wani, S.A. and Kumar, P. (2018). Fenugreek: A review on its nutraceutical properties and utilization in various food products. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 17,* 97-106. http://dx.doi.org/10.1016/j.jssas.2016.01.007.

Xu, Z., Lei, P. and Feng, X. (2014). Calcium involved in the poly (c - glutamic acid) -mediated promotion of Chinese cabbage nitrogen metabolism. *Plant Physiological and Biochemical, 80*, 144–152. https://doi.org/ 10.1016/j.plaphy.2014.03.036

Xu, Z., Lei, P. and Pang, X. (2017). Exogenous application of poly- c - glutamic acid enhances stress defense in Brassica napus L. seedlings by inducing cross-talks between Ca 2? H 2 O 2, brassinolide, and jasmonic acid in leaves. *Plant Physiological and Biochemical, 118*, 460–470. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.07.015

Xu, Z., Wan, C. and Xu, X. (2013). Effect of poly c-glutamic acid on wheat productivity Nitrogen use efficiency and soil microbes. *Journal of Soil Science Plant Nutrition, 13*, 744

Zhang, L., Yang, X., and Gao, D. (2017). Effects of poly- c -glutamic acid (c -PGA) on plant growth and its distribution in a controlled plant-soil system. *Science Rep*, https://doi.org/10.1038/s41598-017- 06248-2