Plant Prod., 2025, 48(3), 401- 418
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2024.47919.2204
Received: 05 September 2024
Accepted: 23 October 2024

Plant Productions

Research Article

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

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

1. PhD Student, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Iran
2. Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
3. Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Citation: Dalvand, S., Mumivand, H., Zahedi, B., Ehtesham Nia, A. (2025). Effect of foliar application of glutamic acid, aspartic acid, and nicotinic acid on growth, yield, and morpho-physiological and biochemical traits of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). *Plant Productions,* 48(3), 401- 418.

Abstract

Introduction

Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) is an important annual leguminous plant widely distributed across Asia and Southern Europe. Valued for its nutritional benefits, the leaves are commonly consumed as a leafy vegetable, owing to their rich composition of choline, proteins, essential minerals, and vitamins. Beyond its dietary use, fenugreek leaves and seeds have demonstrated potent therapeutic potential, notably in blood detoxification. Numerous studies have documented its diverse pharmacological properties, including antidiabetic, anticancer, antimicrobial, and lipid-lowering effects. Biostimulants, particularly amino acids and nitrogenous compounds, play a vital role in plant biochemical and physiological processes, acting as precursors for vital metabolites and regulators of cellular function. Their application can enhance plant growth, yield, and resilience to environmental stresses by optimizing nitrogen nutrition and amino acid management. Foliar application of these compounds is known to promote plant energy allocation toward growth and improved quality.

* **Corresponding Author:** Hasan Mumivand
E-mail: mumivand.h@lu.ac.ir

© 2025 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Materials and Methods

This study investigated the effects of amino acid and nitrogen-containing biostimulants on fenugreek grown at Lorestan University. A greenhouse experiment was conducted using a completely randomized design with 10 treatments and three replications. Treatments included a control (distilled water) and foliar applications of aspartic acid, glutamic acid, and nicotinic acid, each at 75, 150, and 300 mg l^{-1}. The first foliar application was at the 4-6 leaf stage, with three subsequent applications at 14- day intervals (for a total of 4 applications). At the flowering stage, a comprehensive set of morphological parameters was recorded, including plant height, lateral branch length and number, number of nodes, crown diameter, internode length, and leaf area. Additionally, fresh and dry weight of roots and shoots were quantified. Concurrently, key physiological and biochemical traits were assessed, encompassing chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll content, carotenoid levels, net photosynthetic rate, intracellular CO_2 concentration, stomatal conductance, transpiration rate, and total nitrogen content.

Results and Discussion

Foliar application of nicotinic acid and aspartic acid at 300 mg l^{-1} significantly increased plant height. All three biostimulants at 150 and 300 mg l^{-1} significantly enhanced leaf area and root fresh weight compared to the control. Nicotinic acid and aspartic acid also notably increased plant fresh weight, with nicotinic acid showing the greatest effect. Dry weight increased significantly with nicotinic acid at all concentrations and with glutamic and aspartic acid at 150 and 300 mg l^{-1}. Root dry weight increased with nicotinic acid and aspartic acid at 150 and 300 mg l^{-1} and with glutamic acid at 300 mg l^{-1}. Chlorophyll a, chlorophyll b, and total chlorophyll were significantly increased by all three compounds, with the most pronounced effects observed for aspartic acid. Carotenoid content rose significantly with nicotinic acid and aspartic acid treatments and with glutamic acid at the highest concentration. Additionally, photosynthesis rate, stomatal conductance, intercellular CO_2 concentration, and total nitrogen content were significantly improved across all biostimulant treatments.

Conclusion

Foliar application of biostimulants, particularly nicotinic acid and aspartic acid at 300 mg l^{-1} markedly improved growth, yield, and key morpho-physiological and biochemical attributes in fenugreek. These findings support the use of amino acid-based biostimulants for enhancing performance and stress resilience in fenugreek cultivation.

Keywords: Biostimulant, Chlorophyll content, Gas exchange, Photosynthesis rate

تولیدات گیاهی، ۱٤۰٤، ٤۸(۳)، ٤۰۱ -٤۱۸
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/ppd.2024.47919.2204
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/ ۰۶ /۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/ ۰۸/ ۰۲

تولیدات گیاهی
مقاله پژوهشی

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

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

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
۳- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران

چکیده

محرک‌های زیستی، مانند اسیدهای آمینه و ترکیبات نیتروژن‌دار، در فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاهان نقش حیاتی دارند. این مولکول‌ها به عنوان پیش‌سازها و مواد اولیه برای تولید سایر ترکیبات ضروری عمل می‌کنند و برای رشد و توسعهٔ بهینهٔ گیاهان ضروری هستند. مطالعهٔ حاضر در سال ۱٤۰۲، با هدف بررسی اثر محرک‌های زیستی حاوی نیتروژن بر رشد، عملکرد و ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی شنبلیله، در گلخانهٔ 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 مرحلهٔ چهار تا شش برگی و محلول‌پاشی‌های بعدی هر ۱٤ روز یکبار (در مجموع چهار مرتبه) 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 اثر مثبت بر مقدار کلروفیل مربوط به کاربرد آسپارتیک‌اسید بود. میزان کاروتنوئید نیز با کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد، در حالی‌که محلول‌پاشی گلوتامیک‌اسید تنها در

نویسنده مسئول: حسن مومیوند
رایانامه: mumivand.h@lu.ac.ir

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 یافت. در مجموع و بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، می‌توان نتیجه گرفت که کاربرد محرک‌های زیستی نیکوتینیک اسید و آسپارتیک اسید به‌ویژه در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، به ترتیب بیشترین تأثیر را در بهبود رشد، عملکرد و صفات مورفوفیزیولوژیک شنبلیله داشته و به عنوان راهکاری مؤثر برای افزایش کارایی تولید این گیاه توصیه می‌شود.

کلید واژه‌ها: تبادلات گازی، سرعت فتوسنتز، محتوای کلروفیل، محرک زیستی

مقدمه

شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) یک گیاه یکسالهٔ مهم از خانوادهٔ نخود، 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). برگ‌های ساقه‌های آن به علت داشتن کولین، پروتیین، مواد معدنی و ویتامین‌ها به صورت سبزی مصرف می‌شوند (Hajipour *et al.*, 2021). همچنین، برگ‌ها و بذرهای شنبلیله اثر مفیدی در پاکسازی خون داشته و اثرات درمانی آن شامل اثرات ضد دیابت، ضد سرطان، ضد میکروب و پایین آورندهٔ کلسترول خون است (Wani and Kumar, 2018).

استفاده از محرک‌های زیستی می‌تواند به دلیل تحریک و بهبود فرایندهای فیزیولوژیک و متابولیک گیاهان باعث افزایش قابل توجه عملکرد محصول شود (Mumivand *et al.*, 2021). به‌طور کلی محرک‌های زیستی در هشت دسته از ترکیبات شامل مواد هیومیک، مواد آلی پیچیده، عناصر شیمیایی مفید، نمک‌های معدنی (از جمله فسفیت)، عصارهٔ جلبک دریایی، مشتقات کیتین، ترکیبات ضد تعرق و اسیدهای آمینهٔ آزاد و سایر مواد حاوی نیتروژن تقسیم‌بندی شده‌اند (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 پیام‌رسانی اکتسابی نیتروژن در ریشه‌ها با تنظیم آنزیم‌های چرخهٔ تری‌کربوکسیلیک اسید است و برخی دارای فعالیت‌های هورمونی نیز هستند (Padmaja *et al.*, 2023). اگرچه اثر مثبت کاربرد اسیدآمینه به خوبی شناخته شده است، اما اطلاعات کمی در مورد نقش هر اسیدآمینه در فرآیندهای فیزیولوژیک و متابولیک وجود دارد. همچنین اطلاعات کافی در مورد استفادهٔ صحیح از آن‌ها وجود ندارد، زیرا اثرهای اسیدهای آمینه به ترکیبی از عوامل مانند نوع گیاه، مقدار مصرف، آب و هوا، نحوه و زمان استفاده بستگی دارد (Paradikovi *et al.*, 2019).

آسپارتیک‌اسید در گیاهان از طریق واکنش ترانس‌آمیناسیون بین گلوتامات و اگزالواستات تشکیل شده و سپس متابولیزه می‌شود. این اسیدآمینه در مجموعه‌ای از واکنش‌ها که به مسیر متابولیک آسپارتیک‌اسید شناخته می‌شوند، سایر اسیدهای آمینه مانند لیزین، ترئونین، متیونین و ایزولوسین را تولید می‌کند. آسپارتیک‌اسید یک اسید آمینهٔ پایه محسوب می‌شود و در تولید سایر اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها، اسیدهای آلی در چرخهٔ تری کربوکسیلیک اسید، قندها در گلیکولیز و هورمون‌ها نقش دارد که همگی برای رشد و نمو گیاه مهم هستند (Han *et al.*, 2021). از

آنجا که این اسیدآمینه نقش حیاتی در تولید متابولیت‌های مختلف دارد، مسیر متابولیکی مشتق‌شده از آن در تغذیهٔ گیاه بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Lei *et al.*, 2020).

گلوتامیک‌اسید، اسید آمینهٔ 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 (Qiu *et al.*, 2020). گلوتامیک‌اسید در توسعهٔ 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 مادهٔ 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 زنجیرهٔ انتقال الکترون هستند (Farooq *et al.*, 2022).

بسیاری از محققان اثر اسیدهای آمینه را بر عملکرد و ترکیب شیمیایی گیاهان مطالعه کرده‌اند.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 (Hamza and Duraid, 2020). محلول‌پاشی اسیدهای آمینه آسپارتیک‌اسید، گلوتامیک اسید 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 اثر محلول‌پاشی گلوتامیک‌اسید بر کاهو تحت تنش کم آبی نشان داد که کاربرد اسیدآمینه موجب کاهش اثرات تنش و افزایش عملکرد کل و محتوای کلروفیل شد (Franzoni *et al.*, 2021). برهم‌کنش 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، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر کاربرد این سه ترکیب بر رشد، عملکرد و ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی شنبلیله انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانهٔ تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان در سال ۱۴۰۲ اجرا شد. بذور شنبلیله از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شد. در تاریخ ۷ مهر، تعداد هشت بذر در گلدان‌های پنج 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 ارائه شده است. پس از جوانه‌زنی بذرها و استقرار گیاهچه‌ها، تعداد چهار بوته در هر گلدان نگهداری شد. اولین آبیاری بلافاصله پس از کاشت و آبیاری‌های بعدی تا زمان گلدهی گیاه هر دو روز یکبار به‌صورت دستی با آبپاش صورت گرفت. بیست روز پس از کشت بذر،

کود آبیاری با کود کامل ۲۰-۲۰-۲۰ با غلظت یک گرم در لیتر برای تمامی تیمارها به میزان یکسان انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و سه تکرار انجام شد. تیمارها شامل شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر) و محلول‌پاشی آسپارتیک اسید، گلوتامیک اسید و نیکوتینیک اسید (مرک آلمان) هرکدام در سه سطح (۷۵، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) بود. در هر واحد آزمایشی تعداد پنج گلدان و در مجموع ۱۵۰ گلدان در نظر گرفته شد. اولین مرحلهٔ محلول‌پاشی گیاهان در مرحله چهار تا شش برگی و محلولپاشی‌های بعدی هر ۱۴ روز یکبار (در مجموع چهار مرتبه) صورت گرفت. مبارزه با علف‌های هرز و آفات و بیماری‌ها در زمان مورد نیاز صورت گرفت.

در انتهای آزمایش و در شروع مرحلهٔ گلدهی (اوایل اسفند ماه) تعداد سه گلدان از هر تکرار به‌صورت تصادفی انتخاب شد. صفات ارتفاع بوته و طول شاخهٔ جانبی با استفاده از خط کش، تعداد شاخه جانبی و تعداد گره با استفاده از شمارش شاخه‌ها و گره‌ها در هر بوته، قطر طوقه و فاصلهٔ میانگره به کمک دستگاه کولیس دیجیتال (Extra Strong model) و سطح برگ با استفاده از دستگاه سطح برگ‌سنج (CI 202 CID model-American company) اندازه‌گیری شدند. سپس گیاهان مورد نظر برداشت و وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشهٔ با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۱ (FX3000I model AND) اندازه‌گیری شد.

به منظور اندازه‌گیری غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، مقدار ۰/۱ گرم از برگ تازه در هاون چینی با استفاده از نیتروژن مایع پودر و به خوبی همگن شد. سپس ۱۰ میلی-لیتر استون ۱۰۰ درصد به نمونه اضافه گردید و در دستگاه سانتریفیوژ (مدل Sigma 3-16K -آلمان) با سرعت۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد.

جدول ۱- برخی خصوصیات خاک

Table 1. Some characteristics of the soil

Soil texture	C (%)	K $mgkg^{-1}$	P $mg.kg^{-1}$	N (%)	EC dsm^{-1}	pH
Clay loam	1.02	346	7.8	0.07	0.72	7.40

عصاره جدا شده فوقانی داخل فالکون در کووت اسپکتروفتومتر (UV-3200, MAPADA, Shanghai) ریخته شد و مقدار جذب توسط اسپکتروفتومتر قرائت گردید. در نهایت غلظت کلروفیل آ، کلروفیل ب، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با استفاده از رابطه‌های زیر محاسبه و گزارش شد (Lichtentaler, 1987).

رابطهٔ (۱)

$$Chl\ a = 11/24 \times \mathrm{A662} - 2/04 \times \mathrm{A645}$$

رابطهٔ (۲)

$$Chl\ b = 20/13 \times \mathrm{A645} - 4/19 \times \mathrm{A662}$$

رابطهٔ (۳)

$$Total\ Chl = 7/05 \times \mathrm{A662} + 18/9 \times \mathrm{A645}$$

رابطهٔ (۴)

$$Carotenoid = 1000 \times (\mathrm{A470} - 1/90\ \mathrm{CA} - 63/14\ \mathrm{CB}) / 214$$

به منظور سنجش فتوسنتز خالص، غلظت دی اکسید کربن 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 دی اکسید کربن 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 ۹ تا ۱۱ صبح صورت گرفت. در طول اندازه‌گیری دمای اتاقک حدود ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد بود (Mumivand *et al.*, 2023).

برای تعیین مقدار نیتروژن در برگ شنبلیله از روش هضم کجلدال استفاده شد. در این روش، اندازه‌گیری نیتروژن کل به سه مرحلهٔ کلی هضم، تقطیر و تیتراسیون تقسیم‌بندی می‌گردد و به‌منظور برآورد درصد نیتروژن، ابتدا نمونهٔ مورد نظر توسط اسید سولفوریک هضم و ازت موجود به صورت سولفات آمونیوم تبدیل می‌گردد (Nelson and Sommers, 1973). نمونه‌های گیاهی در لوله‌های هضم کجلدال قرار داده شدند و مقدار ۱/۱ گرم مخلوط نمک/کاتالیزور به هر نمونه اضافه شد. سپس سه میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به لوله‌ها اضافه شد و مخلوط به‌آرامی تا دمای ۲۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از فروکش کردن کف، دما تا ۳۷۵ درجهٔ سانتی‌گراد افزایش یافت و به‌مدت ۳۵ دقیقه حرارت داده شد. پس از خنک شدن، ۲۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه به هر لوله اضافه شد و سپس ۲۰ میلی‌لیتر محلول هیدروکسید سدیم ۱۰ مولار به نمونهٔ هضم‌شده افزوده شد. در نهایت لوله‌ها بلافاصله به دستگاه تقطیر کجلدال منتقل و مرحلهٔ تقطیر انجام شد.

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 انجام شد.

نتایج و بحث

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 آسپارتیک-اسید و نیکوتینیک‌اسید (به ترتیب با ۴۲/۰۷ و ۴۰/۳۲ سانتی‌متر) به دست 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 میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید، شاهد و ۷۵ میلی‌گرم در لیتر آسپارتیک‌اسید (به‌ترتیب با ۲/۹۳، ۲/۹۰ و ۲/۸۷ میلی‌متر) مشاهده شد. کاربرد هر یک از محرک‌های زیستی در غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر اثری 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 تفاوت معنی‌داری با کاربرد آسپارتیک‌اسید در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی-گرم در لیتر و گلوتامیک‌اسید با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم 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 داشت (Shafie *et al.*, 2021). مطالعات مختلف نشان داد که آمینواسیدها رشد گیاه را تحریک می‌کنند (Xu *et al.*, 2013, 2017;). همچنین باتوجه به نیتروژن موجود در این محرک‌های زیستی، افزایش ارتفاع بوته در مطالعهٔ حاضر قابل توجیه است. در تطابق با نتایج مطالعهٔ حاضر، افزایش ارتفاع بوتهٔ 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 اثر بگذارد که به نوبهٔ خود بر عملکرد گیاه تأثیرگذار است (Gondek *et al.*, 2021). به گفتهٔ 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 به طور مستقیم 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 به‌عنوان یک آمینواسید، در واکنش-های 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 دهندهٔ آنزیم‌های مختلف مانند آمینوترانسفرازها، دهیدروژنازها، لیازها و دکربوکسیلازها نقش دارند. بنابراین می‌توانند بر انواع فرآیندهای فیزیولوژیک و فنولوژیک مانند رشد رویشی گیاهان، جوانه‌زنی بذر، بلوغ میوه، پیام‌دهی و فعال‌سازی سیستم‌های دفاعی در برابر تنش‌های غیرزیستی و زیستی، تنظیم اسمزی و غیرفعال‌سازی گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر تأثیر بگذارند (Teixeira *et al.*, 2017). با محلول‌پاشی اسیدهای آمینه، ترکیبات نیتروژن‌دار به راحتی در اختیار گیاه قرار می‌گیرند و تأمین 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.

تعداد و طول شاخه جانبی، تعداد گره و طول میانگره

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 اثر معنی‌داری بر تعداد شاخهٔ جانبی و طول میانگره نداشت (جدول ۲). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید در هر سه غلظت منجر به افزایش طول شاخهٔ جانبی شد. کاربرد گلوتامیک‌اسید نیز در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر افزایش معنی‌دار طول شاخهٔ 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 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 توسعهٔ خود را به‌ویژه در زمان‌های بحرانی افزایش دهد (Akbarzadeh *et al.*, 2023).

وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه

اثر 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 اثر 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 میلی-گرم 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 اثر معنی‌داری بر وزن تر ریشه شنبلیله نداشت. اما کاربرد غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک اسید، گلوتامیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید منجر به افزایش معنی‌دار وزن تر ریشه گردید. تیمار نیکوتینیک اسید و آسپارتیک‌اسید در غلظت ۷۵ میلی-گرم در لیتر و گلوتامیک‌اسید در غلظت‌های ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اثر معنی‌داری بر وزن خشک ریشه نداشت. اما کاربرد غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید و کاربرد گلوتامیک‌اسید به میزان۳۰۰ 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 واکنش به کاربرد آمینواسید افزایش یافت که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت. 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 پیش‌ساز متابولیت-های مختلف با عملکردهای متفاوت در رشد و نمو گیاه مانند هورمون‌ها، اجزای دیوارهٔ 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 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) و شمعدانی (Khudair *et al*., 2019) شد. به نظر می‌رسد که محلول‌پاشی 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 می‌کند (Tomar *et al*., 2018).

غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس نشان دهندهٔ معنی‌دار بودن اثر 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 a، کلروفیل b و کلروفیل کل گردید. با این حال، بیشترین اثر مثبت بر غلظت کلروفیل مربوط به کاربرد آسپارتیک‌اسید بود. بیشترین میزان کلروفیل a در تیمارهای محلول‌پاشی آسپارتیک‌اسید ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر و نیکوتینیک‌اسید ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. بالاترین میزان کلروفیل b

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 آسپارتیک اسید افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد، اما بین سطوح مختلف این ترکیبات تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. با این حال، محلول‌پاشی گلوتامیک‌اسید تنها در بالاترین غلظت (۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) منجر به افزایش غلظت کاروتنویید شد (جدول ۵).

کاربرد اسیدهای آمینه در آویشن (Miri *et al.*, 2015)، توت فرنگی (Shabani *et al.*, 2024) 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 تأمین 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). 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 (Xiao *et al.*, 2018). هر دو کوآنزیم برای حفظ حالت اکسیداسیون و احیا و فرآیندهای بیولوژیکی اکسیداسیون و احیا 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 دی اکسید کربن 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 گلوتامیک اسید، نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، اما کاربرد گلوتامیک اسید و آسپارتیک‌اسید با غلظت ۷۵ میلی‌گرم در لیتر تغییر معنی‌داری در این دو صفت ایجاد نکرد. بیشترین میزان فتوسنتز (۳۰/۴۷ میلی‌مول دی اکسید کربن 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 نیکوتینیک اسید با غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر (به ترتیب با ۰/۳۶ و ۰/۳۵ میلی‌مول بر مترمربع بر ثانیه) مشاهده شد (جدول ۵).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی محرک‌های زیستی بر صفات موفولوژیک و عملکرد شنبلیله

Table 2. Variance analysis of morphological traits and yield fenugreek in response to biostimulants

		Means of squares										
S.O.V.	Df.	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**	0.128**	0.60^{ns}	21.31**	0.40^{ns}	7.49*	18.97**	151.22**	12.47**	20.114**	2.87**
Error	30	12.51	0.030	0.71	5.32	0.23	3.25	2.34	15.63	0.594	0.928	0.135
CV (%)	-	9.58	6.62	12.58	7.79	17.61	9.93	9.75	15.16	14.59	2.32	3.72

^{ns} عدم وجود اختلاف معنی‌دار، ** و * به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

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

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی برگی محرک‌های زیستی بر ویژگی‌های موفولوژیک و عملکرد شنبلیله

Table 3. Mean comparison for the effects of foliar application of biostimulants on morphological traits and yield of fenugreek

Biostimulants treatments	Plant height	Crown diameter	Length of lateral branches	Number of nodes	Leaf area	Shoot fresh weight	Shoot dry weight	Root fresh weight	Root dry weight
	cm	mm	cm	per plant	cm^2	g. $plant^{-1}$	g. $plant^{-1}$	g. $plant^{-1}$	g. $plant^{-1}$
Control	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 mg l^{-1}	38.50^{ab}	2.93^{a}	32.62^{a}	20.37^{a}	13.55^{c}	27.76^{bc}	6.12^{bcd}	3.03^{de}	0.31^{cd}
150 mg l^{-1}	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}
300 mg l^{-1}	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 mg l^{-1}	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}
150 mg l^{-1}	37.25^{ab}	2.56^{c}	30.62^{ab}	17.62^{b}	17.05^{ab}	27.45^{bcd}	5.90^{cd}	5.58^{b}	1.35^{b}
300 mg l^{-1}	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 mg l^{-1}	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}
150 mg l^{-1}	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}
300 mg l^{-1}	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}

*میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD می‌باشند.

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

جدول ٤- تجزیه واریانس اثر محلول‌پاشی محرک‌های زیستی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، تبادلات گازی و نیتروژن کل شنبلیله

Table 4. Variance analysis for photosynthetic pigments, gas exchange, and nitrogen content of fenugreek in response to biostimulants

		Means of squares								
S.O.V.	Df.	Chlorophyll a content	Chlorophyll b content	Total Chlorophyll content	Carotenoid content	Photosynthesis rate	Transpiration	Stomatal conductance	Internal CO_2	Nitrogen percentage
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

^{ns} عدم وجود اختلاف معنی‌دار، ** و * به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

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

جدول ٥- مقایسه میانگین اثر محلول‌پاشی برگی محرک‌های زیستی بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، تبادلات گازی و نیتروژن کل شنبلیله

Table 5. Mean comparison for the effects of foliar application of biostimulants on photosynthetic pigments, gas exchange, and nitrogen percentage of fenugreek

Biostimulants treatments	Chlorophyll a	Chlorophyll b content	Total chlorophyll content	Carotenoid content	Photosynthesis rate	Stomatal conductance	Internal CO_2	Nitrogen
	mg g^{-1} F.W	mg g^{-1} F.W	mg g^{-1} F.W	mg g^{-1} F.W	mmol m^{-2}. s^{-1}	mmol m^{-2}. s^{-1}	mmol m^{-2}. s^{-1}	(%)
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 mg l^{-1}	13.32^{cd}	6.99^{bc}	20.32^{d}	5.68^{a}	18.82^{cd}	0.26^{bc}	273.25^{cd}	4.15^{de}
150 mg l^{-1}	14.91^{bc}	7.16^{ab}	22.08^{bc}	5.28^{ab}	23.23^{bc}	0.36^{a}	366.00^{ab}	4.90^{bc}
300 mg l^{-1}	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 mg l^{-1}	15.00^{bc}	7.53^{ab}	22.54^{ab}	5.49^{a}	16.30^{de}	0.22^{d}	225.25^{ef}	4.32^{cd}
150 mg l^{-1}	16.12^{ab}	7.43^{ac}	23.56^{ab}	4.98^{ab}	21.40^{bc}	0.27^{bc}	318.00^{bc}	4.50^{cd}
300 mg l^{-1}	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 mg l^{-1}	12.96^{d}	4.56^{d}	17.53^{e}	3.29^{d}	15.92^{de}	0.24^{cd}	245.00^{de}	3.92^{ef}
150 mg l^{-1}	14.44^{bc}	6.55^{c}	20.99^{cd}	4.43^{bc}	19.27^{cd}	0.25^{bc}	284.75^{cd}	4.76^{cd}
300 mg l^{-1}	13.88^{cd}	6.85^{bc}	20.73^{d}	5.37^{a}	22.07^{bc}	0.30^{b}	253.50^{de}	5.00^{bc}

*میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون LSD می‌باشند.

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

در آزمایش‌هایی روی برنج (Rezwan *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 سرعت 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. گزارشات پیشین 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 دی اکسید کربن 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 موجب بهبود هدایت روزنه‌ای می‌شود، افزایش محتوای آب در نواحی اطراف سلول‌های محافظ روزنه است. در واقع، نیکوتینیک‌اسید به‌صورت فیزیکی رسوب می‌کند و تعرق کوتیکولی را کاهش می‌دهد. این امر نشان می‌دهد که آمینواسیدها ممکن است فرآیند جذب آب و انتقال 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 سرعت فتوسنتز و تبادلات گازی در اثر کاربرد آسپارتیک‌اسید و گلوتامیک‌اسید به محتوای بالاتر کلروفیل برگ نسبت داده شده است که ارتباط نزدیکی با محتوای نیتروژن دارد و در میزان فتوسنتز به صورت ویژه دخیل است (Liu *et al.*, 2023).

محتوای نیتروژن کل

تیمار محلول‌پاشی 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 نیکوتینیک اسید 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 داشت (Radkowski *et al.*, 2021;). نیتروژن علاوه بر این که 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 دارد که تقریباً ۱۰ درصد از کل نیتروژن گیاه را شامل می‌شوند (Fageria, 2014). مطالعات انجام شده، نقش آمینواسیدها در افزایش نیتروژن گیاهان را به افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در جذب نیتروژن نسبت داده‌اند که در گیاهان برنج و گوجه فرنگی گزارش شده است (Deng *et al.*, 2019; Ji *et al.*,

2021). همچنین تأثیر مثبت اسیدهای آمینه روی عملکرد و اجزای عملکرد به اهمیت این ترکیبات در بیوسنتز گسترهٔ 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

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کاربرد محرک‌های زیستی نیکوتینیک‌اسید، آسپارتیک‌اسید و گلوتامیک‌اسید در اغلب موارد موجب افزایش ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و فیزیولوژیک 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. همچنین، کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید موجب افزایش معنی‌دار وزن تر بوته شد. با این حال اثر نیکوتینیک‌اسید بر وزن تر بوته بیشتر از آسپارتیک‌اسید بود. تیمار با نیکوتینیک‌اسید در هر سه سطح غلظت موجب افزایش وزن خشک گیاه شد، در حالی که محلول‌پاشی گلوتامیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر نیز وزن خشک بوته را افزایش داد. وزن خشک ریشه تنها در اثر کاربرد نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید در غلظت‌های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر و همچنین گلوتامیک‌اسید در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر لیتر افزایش یافت. محلول‌پاشی هر سه ترکیب گلوتامیک‌اسید، نیکوتینیک‌اسید و آسپارتیک‌اسید افزایش معنی‌دار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل را به همراه داشت. با این حال، بیشترین اثر 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 آسپارتیک‌ا سید به صورت معنی‌داری افزایش یافت.

به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که به ترتیب، کاربرد نیکوتینیک اسید و آسپارتیک اسید بیشترین تأثیر مثبت را بر رشد، عملکرد و صفات مورفوفیزیولوژیک 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.

سپاس گزاری

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.

References

Acosta-Motos, J.R., Ortuno, M.F., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M.J., & Hernandez, J.A. (2017). Plant responses to salt stress: Adaptive mechanisms. *Agronomy*, 7, 18. https://doi.org/10.3390/agronomy7010018

Akbarzadeh, S., Morshedloo, M. R., Behtash, F., Mumivand, H., & 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. https://doi.org/10.3390/horticulturae9030354

Alfosea-Simon, M., Simon-Grao, S., Zavala-Gonzalez, E.A., Camara-Zapata, J.M., Simon, I., Martínez-Nicolas, J.J., Lidon, V., & 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. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.581234

Ali, W.S., & 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. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1252/1/012166

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. https:// eajournals.org/ 04.2946.2016.

Deng, F., Wang, L., Mei, X.F., Li, S.X., Pu, S.L., Li, Q.P., & 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. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021

El-Said, M.A.A., & 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.*

Farooq, T.H., Bukhari, M.A., Irfan, M.S., Rafay, M., Shakoor, A., Rashid, M.H.U., Lin, Y., Saqib, M., Malik, Z., & 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. https://doi.org/10.3390/plants11182443

Franzoni, G., Cocetta, G., & Ferrante, A. (2021). Effect of glutamic acid foliar applications on lettuce under water stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27(5),1059–1072. https://doi.org/10.1007/s12298-021-00984-6

Gajc-Wolska, J., Kowalczyk, K., Nowecka, M., Mazur, K., & Metera, A. (2012). Effect of organic-mineral fertilizers on the yield and quality of endive (*Cichorium Endivia* L.). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 11, 189–200.

Garcia, A.A., Vendruscolo, E.P., de Lima, S.F., Costa, E., Martins, M.B., de Castro Seron, C., & 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. https://doi.org/10.55905/oelv22n8-067

Geshnizjani, N., & 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. https://doi.org/10.22059/IJHST.2016.62915

Gondek, K., & 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.

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 Persian]. https:// doi. org/10.5555/20183015837

Hajipour, Z., Mumiwand, H., Shayganfar, A., & 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. https://doi.org/ 10.22069/JOPP.2021.18867.2785

Hamza, O.M., & 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

Han, M., Zhang, C., Suglo, P., Sun, S., Wang, M., & Su, T. (2021). L-aspartate: an essential metabolite for plant growth and stress acclimation. *Molecules*, 26(7), 1887. https://doi.rg/10.3390/molecules26071887.

Heidarzadeh, A., & 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 Persian]. https://doi.org/10.22055/ppd.2020.31327.1834

Ji, P.T., Li, X.L., Peng, Y.J., Zhang, Y.C., & 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., & 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., & 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. https://faculty.uobasrah.edu.iq/uploads/publications/1628187601

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., & 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. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115350

Lei, S., Rossi, S., & 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. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1

Liu, C., Duan, N., Chen, X., Li, X., Zhao, N., Cao, W., Li, H., Liu, B., Tan, F., Zhao, X., & 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.

Mikulewicz, E., Majkowska-Gadomska, J., Jadwisie ´nczak, K., & Francke, A. (2019). Effect of selected biostimulants on the yield and quality of the common onion (*Allium Cepa* L.). *Acta Agrophysica*, 26, 57–65. https://doi.org/ 10.31545/aagr/109050.

Miri, S.M., Ahmadi, S., & 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. https://doi.org/ 1049020150202.

Mohamed, M.H., Badr, E.A., Sadak, M.S., & 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. https://doi.org /10.1186/s42269-020-00359-z.

Mohammed, H.F., & 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. https://doi.org/10.21608/sjas.2022.172939.1257.

Mumivand, H., Shayganfar, A., Tsaniklidis, G., Emami Bistgani, Z., Fanourakis, D., & 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. DOI:10.3390/horticulturae8010031

Mumivand, H., Izadi, Z., Amirizadeh, F., Maggi, F., & 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. . https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130674

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

Najafi, R., Rezaei, A., & 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 and Products*, 182, 114815. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.114815

Nelson, D.W., & Sommers, L.E. (1973). Determination of total nitrogen in plant material. *Agronomy Journal*, 65(1), 109-112. https://doi.org/10.2134/agronj1973.00021962006500010033x

Padmaja, V.V., Pavani, K., Srilatha, P., Lalitha, K., Sarad, G., Raja Naik, M., Deepti Kiran, Y., & Gopal, K. (2023). Role of biostimulants in horticulture. *International Journal of Environment and Climate Change,* 13 (8), 1146-1157. https://doi.org/10.9734/IJECC/2023/v13i82054

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

Qiu, X.M., Sun, Y.Y., Ye, X.Y., & Li, Z.G. (2020). Signaling role of glutamate in plants. *Frontiers in Plant Science*, 10, a1743. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01743

Radkowski, A., Radkowska, I., Bocianowski, J., Wolski, K., & 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

Rennenberg, H., & Herschbach, C. (2014). A detailed view on sulphur metabolism at the cellular and whole-plant level illustrates challenges in metabolite flux analyses. *Journal of Experimental Botany*, 65(20), 5711-5724. https://doi.org/10.1093/jxb/eru315.

Rizwan, M., Ali, S., Akbar, M.Z., Shakoor, M.B., Mahmood, A., & 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. https://doi.org/10.1007/s11356-017- 9860-1

Rosa, R., Hajko, L., Franczuk, J., Zaniewicz-Bajkowska, A., Andrejiova, A., & 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., & 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. https://doi.org/10.37375/sjfssu.v4il.2680.

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., & 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. https://doi.org/10.22070/HPN.2020.5377.1091.

Shabani, E., Zivdar, S., Rahnama Ghahfarokhi, A., Danaeifar, A., & Davoudi Arshad, M. (2025). Combined effects of silicon aminochelate and phosphorus on photosynthetic indices and the quantitative and qualitative characteristics of strawberry (*Fragaria ananassa* cv. Paros) in greenhouse soil culture. *Plant Productions,* 48(2), 227-245. https://doi.org/10.22055/ppd.2025.48281.2225

Shafie, F., Bayat, H., Aminifard, M.H., & 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. https://doi.org/10.1080/00103624.2021.1872596.

Shemi, R., Wang, R., Gheith, E.S.M.S., Hussain, H.A., Hussain, S., Irfan, M., Cholidah, L., Zhang, K., Zhang, S., & Wang, L. (2021). Effects of salicylic acid, zinc, and glycine betaine on morpho-physiological growth and yield of maize under drought stress. *Scientific Reports*, 11(1), 3195. https://doi.org/10.1038/s41598-021-82264-7.

Talukder, M.R., Asaduzzaman, M., Tanaka, H., & 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. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.033

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

Tomar, R.S., Khamba, S., Kaushik, S., & 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. https://doi.org/10.22214/ijraset.2018.3068.

Wani, S.A., & 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. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.01.007.

Xiao, W., Wang, R. S., Handy, D. E., & Loscalzo, J. (2018). NAD (H) and NADP (H) redox couples and cellular energy metabolism. *Antioxidants and redox signaling*, 28(3), 251-272. https://doi.org/10.1089/ars.2017.7216.

Xu, Z., Wan, C., & 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. https://doi.org/10.4067/S0718-95162013005000059.

Xu, Z., Lei, P., & 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.