

ORIGINAL RESEARCH PAPER

Effect of Foliar Application of Amino Acid on the Growth Traits and Phytochemical Composition of Periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) Medicinal Plant in Greenhouse Conditions

Kaviani^{1*}, M., Chaichi², M. and Sarikhani³, H.

1. Assistant professor, Department of Horticultural Science, Sayyed Jamaledin Asadabadi University, Asadabad, Iran
 2. Assistant professor, Department of Seed and Plant Improvement Research, Agriculture and Natural Resources Center, Agriculture Research, Education and Extension Organization, Hamedan, Iran.
 3. Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran
- *: Corresponding Author Email: kaviani@sjau.ac.ir

Received: 2025/11/21

Accepted: 2026/02/07

Background and Objectives

Periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) is a valuable medicinal plant from the Apocynaceae family, that contains a wide range of secondary metabolites with diverse applications in the pharmaceutical industry. The content of vincristine and vinblastine economically important metabolite is more important than the yield of the plant. Researchers have been paying close attention to these alkaloids because of their high price but low presence in the plant. Biostimulants enriched with amino acids have been widely applied to various vegetable crops, demonstrating significant enhancements in nutrient utilization, overall yield, and the quality of the produce.

Nitrogen is the most essential element needed by the plant, which is involved in all the vital processes of plants. Therefore, the use of nitrogen fertilizers for plant production with optimal yield and quantitative and qualitative characteristics is essential. Amino acids play a crucial role in enhancing plant nutrient availability and uptake, thereby improving physiological functions and contributing to overall crop quality and yield. Nitrogen availability plays a crucial role in the vegetative growth of plants and has a significant impact on the accumulation of alkaloids in their leaves and roots.

Higher contents of phenols and antioxidants activity in biostimulant amino acid-treated plants can be attributed partially to the indigenous positive effect of amino acids in plant processes. Amino acids are precursors of wide range metabolism secondary metabolites and is tightly link to protein, hormone, and carbohydrate synthesis.

Methodology

The study aimed at investigating the influence of amino acid on the growth traits and phytochemical composition of periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) medicinal plant in Greenhouse Conditions. It utilized a complete randomized design (CRD) with three replications during one consecutive growing season, 2024, in Medicinal herbs garden of Agriculture Research and Training Center, Hamadan. The experiment included five varying level of amino acid including 0, 2.5, 3, 3.5, 4 g^{-L} applied via foliar spraying.

The aerial parts and roots were collected during the blooming period (mid-September). Morphological traits, such as plant height (from the crown to the tip of the main stem) and root length, were measured using a ruler in each replication, and then averaged. The number of flowers and fully grown leaves on each plant was tallied until the end of the growth cycle. To ascertain the fresh and dry weight of the above-ground portions, the plants were severed from the soil surface and weighed using a digital scale. Subsequently, the plants underwent a 48-hour drying process in an oven set at 70 degrees Celsius. Once their weight had reached a stable point, they were weighed again. Also the investigated, physiological and phytochemical traits included leaf chlorophyll, flavonoid, total phenol, antioxidant activity and tryptophan amino acid in the leaves of this plant.

Results

The effect of amino acid on the number of flowers and leaves, root and stem length, fresh and dry weight, chlorophyll a, b and chlorophyll content, phenol, flavonoid, and leaf antioxidant activity (DPPH) was significant ($p < 0.01$). With increasing levels of amino acid, the amount of all traits increased. The findings demonstrated that the amino acid treatment (3.5 g^{-L}) yielded the highest average count of flowers and leaves, stem and root length, fresh and dry weight of the entire plant, chlorophyll a, antioxidant activity, leaf flavonoids and tryptophan amino acid. The largest quantity of chlorophyll b, total chlorophyll, leaf phenol were associated with the (4 g^{-L}) treatment. Conversely, the control treatment displayed the lowest results. The mean comparison of the treatments showed that the highest number of flowers (8.50) and leaves (63.80), stem length (18.97 cm) and root length (12.98 cm), fresh weight (16.91 g) and total dry weight of the plant (3.36 g), antioxidant activity (48.21% DPPH SC), total flavonoid content (0.561 mg DW⁻¹) and tryptophan amino acid (0.56 mg DW⁻¹) were observed at the level of 3.5 g^{-L} of amino acid.

Conclusion

Overall, applying (3.5 g^L) of amino acid showed the most significant effect on the growth traits and phytochemical composition of periwinkle medicinal plant in Greenhouse Conditions. Based on the results obtained, it can be concluded that the continuous application of amino acid as an organic fertilizer had a positive effect on the growth traits and phytochemical composition of periwinkle. This study's results suggest that applying amino acid biostimulants to leaves enhances periwinkle yields and holds significant promise for cultivating premium periwinkles with enhanced attributes, notably elevated levels of total phenolics, flavonoids, and antioxidant capacity.

Keywords: Antioxidant, Flavonoid, foliar application, Photosynthetic pigments.

Citations: Kaviani, M., Chaichi, M. and Sarikhani, H. (2026). Effect of Foliar Application of Amino Acid on the growth traits and phytochemical composition of periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) medicinal plant in Greenhouse Conditions. *Plant Production Technology*, 26(1), 1-13.

<https://doi.org/10.22084/ppt.2026.31948.2176>

© 2022 The Author(s). Bu- Ali Sina University Publication. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Online ISSN: 2476-5651

Print ISSN: 2476-6321

تأثیر محلول پاشی اسید آمینه بر صفات رشدی و ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) در شرایط گلخانه‌ای

Effect of Foliar Application of Amino Acid on the Growth Traits and Phytochemical Composition of Periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) Medicinal Plant in Greenhouse Conditions

مریم کاویانی^۱، مهرداد چائی‌چی^۲ و حسن ساریخانی^۳

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۸/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۱۸

(مقاله پژوهشی)

چکیده

پروانش با نام علمی (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) یکی از گیاهان دارویی ارزشمند از خانواده Apocynaceae است که حاوی متابولیت‌های ثانویه متنوع با کاربردهای گسترده در صنایع دارویی است. به منظور بررسی تأثیر محلول پاشی برگ بر صفات رشدی و ترکیبات فیتوشیمیایی این گیاه، آزمایش گلخانه‌ای در باغ گیاهان دارویی همدان در سال ۱۴۰۳ در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شد. تیمار اسید آمینه (Biozar Amino Acid 50%) در پنج سطح ۰، ۲/۵، ۳، ۴، ۳/۵ گرم در لیتر به صورت محلول پاشی برگ و در سه تکرار اعمال شد. اثر اسید آمینه بر تعداد گل و برگ، طول ریشه و ساقه، وزن تر و خشک کل گیاه، کلروفیل a، b و کلروفیل کل، فنل کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) برگ و اسید آمینه تریتوفان معنی‌دار بود ($p < 0.01$). با افزایش سطح آمینو اسید مقدار همه صفات افزایش یافت. مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین تعداد گل در گیاه (۸/۵۰) و برگ (۶۳/۸۰)، طول ساقه (۱۸/۹۷ سانتی‌متر) و ریشه (۱۲/۹۸ سانتی‌متر)، وزن تر (۱۶/۹۱ گرم) و خشک کل گیاه (۳/۳۶ گرم)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۴۸/۲۱٪)، فلاونوئید کل (۰/۵۶۱ میلی‌گرم در وزن خشک برگ) و اسید آمینه تریتوفان (۰/۵۶ میلی‌گرم در وزن خشک برگ) در سطح (۳/۵ گرم در لیتر) اسید آمینه بود. باتوجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت که کاربرد اسید آمینه به عنوان کود آلی تأثیر مثبت بر خصوصیات رشدی و ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه پروانش داشت.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، فلاونوئید، رنگیزه‌های فتوسنتزی، محلول پاشی.

ارجاع به مقاله: کاویانی، م.، چائی‌چی، م.، ساریخانی، ح. (۱۴۰۵). تأثیر محلول پاشی اسید آمینه بر صفات رشدی و ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) در شرایط گلخانه‌ای، مجله فناوری تولیدات گیاهی، ۲۶(۱)، ۱-۱۳.

<https://doi.org/10.22084/ppt.2026.31948.2176/>

حق نشر متعلق به نویسنده (گان) است و نویسنده تحت مجوز Commons Creative License

(Attribution (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)) به مجله اجازه می‌دهد مقاله‌ی چاپ شده را در

سامانه به اشتراک بگذارد، منوط بر اینکه حقوق مؤلف اثر حفظ و به انتشار اولیه مقاله در این مجله اشاره شود.



شاپا چاپی: ۶۳۲۱-۲۴۷۶

شاپا الکترونیکی: ۵۶۵۱-۲۴۷۶

۱. استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی و فضای سبز، دانشگاه سیدجمال‌الدین اسدآبادی، اسدآباد، ایران.

۲. استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران.

۳. استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران.

* نویسنده مسئول Email: kaviani@sjau.ac.ir

۱. مقدمه

گیاهان دارویی و معطر به سبب دارا بودن طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها و آلکالوئیدها، و همچنین خواص درمانی برای انسان، ارزش اقتصادی و تجاری بالایی دارند (Sun and Shahrajabian, 2023). گیاه دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* (L.) G.) DON از خانواده Apocynaceae، به عنوان یکی از مهم‌ترین منابع تولید آلکالوئیدهای ایندولی-ترپنوئیدی نظیر وین‌بلاستین و وین‌کریستین شناخته می‌شود. این ترکیبات دارویی در درمان بیماری‌هایی چون برخی از انواع سرطان‌ها، دیابت، فشار خون و عوارض التهابی نقش مؤثر دارند (Almagro et al., 2015). بنابراین، توسعه راهکارهایی برای افزایش زیست‌توده و بهبود تولید ترکیبات ثانویه در این گیاه ضروری است.

پروانش برای رشد مطلوب و تولید انبوه آلکالوئیدها نیاز اساسی به نیتروژن دارد. نیتروژن از طریق افزایش سنتز کلروفیل و پروتئین، تنظیم مسیرهای بیوشیمیایی و فعال‌سازی آنزیم‌های مرتبط با ساخت آلکالوئیدها، نقش کلیدی در بهبود عملکرد و کیفیت متابولیسمی این گیاه ایفا می‌کند (Rani et al., 2023). با این حال، به دلیل نگرانی‌های زیست‌محیطی و سلامت مصرف‌کنندگان در ارتباط با مصرف بالای کودهای شیمیایی، توجه به استفاده از مکمل‌های طبیعی و زیست‌سازگار مانند اسیدهای آمینه افزایش یافته است. اسیدهای آمینه به عنوان واحدهای سازنده پروتئین، نقش محوری در تنظیم رشد، فتوسنتز، جذب و انتقال عناصر غذایی، سنتز رنگیزه‌ها و تحمل تنش‌های غیرزیستی دارند (Abdelkader et al., 2023). این ترکیبات همچنین پیش‌ساز برخی از هورمون‌های رشد بوده و از طریق تشکیل کمپلکس با عناصر معدنی، کارایی تغذیه‌ای گیاه را افزایش می‌دهند (Teixeira et al., 2018). اسیدهای آمینه پس از محلول‌پاشی برگ، عمدتاً از طریق نواحی آبدوست و دارای بار منفی کوتیکول جذب شده و سپس وارد پارانشیم برگ می‌شوند؛ در ادامه، این ترکیبات با مشارکت در مسیرهای متابولیسمی و فیزیولوژیکی مختلف، فرایندهای رشد و تولید متابولیت‌های گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Stiegler et al., 2013).

بررسی‌های متعدد نشان داده‌اند که محلول‌پاشی اسیدهای آمینه تربیتوفان، فنیل آلانین، آرژنین، گلوتامین و پرولین،

موجب افزایش کلروفیل، بهبود سنتز پروتئین، افزایش رشد رویشی، بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ارتقای عملکرد زیستی در گیاهان دارویی، زراعی و سبزیجات می‌شود (Abd El-Aziz, Ramzan et al., 2023; Haghparvar et al., et al., 2009; 2023). تأثیر سودمند اسیدهای آمینه در گیاهان مختلفی از جمله توت‌فرنگی (*Fragaria × ananassa* Duch.) (Bidaki et al., 2018)، کلم بروکلی (*Brassica oleracea* var. *italica*) (Shekari and Javanmardi, 2017)، سویا (*Glycine max* L.) (Teixeira et al., 2017)، ریحان (*Ocimum basilicum* L.) (Jahanbani et al., 2024) و عروسک پشت‌پرده (*Physalis alkekengi* L.) (Rabiei et al., 2024) گزارش شده است.

به‌ویژه، اسیدهای آمینه آروماتیک مانند فنیل‌آلانین و تیروزین در تحریک مسیر فنیل‌پروپانوئید، افزایش تولید فنل‌ها، فلاونوئیدها و ترکیبات معطر نقش مهمی دارند و اثرات برجسته‌ای بر افزایش کیفیت متابولیتی گیاهان دارویی نشان داده‌اند (Khalifa et al., 2020; Reham et al., 2016; Noviyanti et al., 2017). گزارش‌ها نشان می‌دهند که کاربرد اسیدهای آمینه در بسیاری از گیاهان موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ارتقای رنگیزه‌های فنوستتزی، و افزایش مقادیر ترکیبات دارویی ارزشمند شده است (Shafie et al., 2021; Zhou et al., 2022).

آلکالوئیدهای ایندولی ترپنوئیدی گروه مهمی از آلکالوئیدها می‌باشند که از اسید آمینه تربیتوفان مشتق شده‌اند (El-Sayed and Verpoorte, 2007). تربیتوفان یکی از آمینو اسیدهای ضروری در گیاهان است و پیش‌ساز آلکالوئیدهای ایندولی در پروانش به شمار می‌آید. این آمینو اسید توسط آنزیم تربیتوفان دکربوکسیلاز (TDC) به تربیتامین تبدیل می‌شود که فراهم‌کننده شاخه ایندولی در این آلکالوئیدها است (Oudin et al., 2007). تربیتوفان در گیاهان نه تنها از اجزای ضروری جهت سنتز پروتئین است، بلکه به عنوان پیش‌ساز بیوسنتزی برای تولید طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه گیاهان مهم می‌باشد (Galili and Tzin, 2010). به‌طور کلی کاربرد آمینو اسیدها به عنوان استفاده در تغذیه بسیار مهم است. از آن‌جایی که اسیدهای آمینه پیش‌ماده بسیاری از ترکیبات مهم دارویی هستند و سوی دیگر خشت سازمانی پروتئین‌ها و آنزیم‌ها محسوب می‌شوند، از این‌رو افزایش این ترکیب

تأثیر محلول پاشی برگ‌های اسیدهای آمینه بر صفات رشدی و ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه دارویی پروانش در شرایط گلخانه‌ای انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش در بهار سال ۱۴۰۳ در باغ گیاهان دارویی ابن سینا واقع در شهرستان همدان و همچنین در آزمایشگاه پارک علم و فناوری همدان، تحت شرایط کنترل شده گلخانه‌ای انجام شد. دمای محیط گلخانه در طول روز 28 ± 1 درجه سانتی‌گراد و در شب 18 ± 1 درجه سانتی‌گراد تنظیم و کنترل گردید. آزمایش به صورت گلخانه‌ای اجرا شد. بذرها را گیاه پروانش رقم صورتی F1، تهیه شده از شرکت (Ball Horticultural USA)، در اوایل فروردین ماه در سینی نشا حاوی بستر کشت پیت و کوکوپیت با نسبت ۱:۱ کشت شدند. نشاها در اواخر اردیبهشت و در مرحله چهار تا شش برگی به گلدان‌های سطلی شماره ۷ حاوی مخلوط خاک زراعی، پیت و ماسه با نسبت ۲:۱:۲ منتقل گردیدند. کود اسید آمینه مورد استفاده، به صورت پودری، از شرکت بیوزر (BIOZAR Co) تهیه شد و ترکیبات آن در جدول ۱ ارائه شده است.

می‌تواند نقش اساسی در فرایندهای فیزیولوژیک و بیولوژیک داشته باشد (Rezakhani and Hadi, 2017). برای مطالعه متابولیسم و تجمع آلکالوئیدها از استراژی‌های مختلفی استفاده می‌شود که یک روش کارآمد آن غلظت پیش‌سازها می‌باشد (Roy, 2017).

با وجود مطالعات گسترده پیرامون نقش نیتروژن و اسیدهای آمینه در رشد و تولید متابولیت‌های ثانویه بسیاری از گیاهان دارویی، اطلاعات موجود درباره تأثیر این ترکیبات بر گیاه پروانش محدود است. اغلب پژوهش‌ها بر گیاهان زراعی یا گونه‌های معطر تمرکز داشته‌اند و شواهد کمی درباره اثر دقیق محلول پاشی اسیدهای آمینه (Biozar Amino Acid 50%) بر شاخص‌های رشدی، رنگیزه‌های فتوسنتزی و ترکیبات فیتوشیمیایی پروانش در شرایط کنترل شده گلخانه‌ای وجود دارد.

با توجه به اهمیت اقتصادی و دارویی ترکیبات حاصل از گیاه پروانش و تقاضای روبه‌افزایش صنایع دارویی، توسعه روش‌های سالم، مؤثر و سازگار با محیط زیست برای بهبود عملکرد و کیفیت این گیاه ضروری است. از این رو، استفاده از اسیدهای آمینه می‌تواند رویکردی کارآمد در تقویت رشد، افزایش سنتز متابولیت‌های دارویی و بهبود کیفیت فیتوشیمیایی این گیاه باشد. بر همین اساس، پژوهش حاضر با هدف بررسی

Table 1: Amino acid fertilizer compounds (BIOZAR Co)

Total Amino Acid	50.39%
Water solubility	99.7%
Arsenic (as AS203)	complies
Serine	6.43%
Histidine	0.39%
Losson drying	0.56%
PH Value	5.3
Heavy Metals (aspb)	complies
Aspartic Acid	4.13%
Glutamic Acid	5.76%
Glycine	5.60%
Arginine	3.61%
Threonine	2.62%
Alanine.	2.88%
Proline	7.27%
Tyrosine	0.44%
Valine	3.82%
Methionine	0.18%
Cystine	0.45%
Isoleucine	1.72%
Leucine	1.72%
Phenylalanine	2.02%
Lysine	0.75%
Tryptophan ESS	0.04%
Nitrogen (NH3)	20.1%
Organic Matter	80.3%

شد. پیش از کشت گیاه از ترکیب خاک گلدان نمونه‌برداری انجام گرفت و برخی از ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی خاک به روش استاندارد (Estefan *et al.*, 2013) اندازه‌گیری شد (جدول ۲).

تیمار آزمایشی شامل آمینواسید در پنج سطح شامل ۰، ۳/۵، ۲/۵، ۰ گرم در لیتر به صورت محلول‌پاشی پس از ۳ روز از انتقال نشاء به گلدان در دو مرحله به فاصله ۱۰ روز، در سه تکرار (هر تکرار ۶ گلدان) و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا

Table 2: Physical and chemical characteristics of the soil used before culture

Texture	CCE	Clay	Silt	Sand	N (total)	Organic matter	K (available)	P (available)	EC	pH
-					g 100g ⁻¹		mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹	dS m ⁻¹	-
Loam	13.5	21.8	32.9	45.3	0.092	1.18	197	10.02	3.85	7.31

۱-۲. اندازه‌گیری ویژگی‌های مورفولوژیکی

ابتدا در مرحله گلدهی (اوایل شهریورماه)، اندام‌های هوایی و ریشه گیاه پروانش برداشت شدند. ارتفاع بوته (از محل طوقه تا انتهای ساقه اصلی) و طول ریشه برای هر تکرار با استفاده از خط‌کش و برحسب سانتی‌متر اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها محاسبه شد. در پایان دوره رشد، تعداد برگ و تعداد گل هر بوته شمارش گردید. برای تعیین وزن تر و خشک اندام هوایی، بوته‌ها از سطح خاک قطع و وزن تر آن‌ها با ترازوی دیجیتال ثبت شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده و پس از رسیدن به وزن ثابت، وزن خشک اندازه‌گیری شد (Rady, 2019). اندازه‌گیری درصد فراکسیون وزنی برگ گیاه از نسبت وزن خشک برگ بر وزن خشک گیاه به دست آمد (Lambers *et al.*, 2008).

۲-۲. اندازه‌گیری کلروفیل برگ

برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل، مقدار ۰/۵ گرم از نمونه تازه برگ در هاون چینی همراه با نیتروژن مایع آسیاب شد. سپس ۱ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به نمونه افزوده و مخلوط به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. فاز شفاف حاوی کلروفیل جدا و با استون ۸۰٪ به میزان ۱۰ برابر رقیق گردید. جذب محلول با اسپکتروفتومتر Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis در طول‌موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت شد. محتوای کلروفیل براساس فرمول‌های Lichtenthaler and Buschmann (2001) محاسبه شد (رابطه‌های ۱ تا ۳):

(رابطه ۱) کلروفیل a = $12.7 \times 663 - 2.69 \times 645$ (جذب نانومتر) - [میلی‌لیتر استن/میلی‌گرم بافت برگ]

(رابطه ۲) کلروفیل b = $22.9 \times 645 - 4.68 \times 663$ (جذب نانومتر) - [میلی‌لیتر استن/میلی‌گرم بافت برگ]

(رابطه ۳) کلروفیل کل = کلروفیل a + کلروفیل b

۲-۳-۱. تهیه عصاره

برای استخراج عصاره، ۰/۵ گرم از بافت خشک برگ به صورت پودر درآمده و همراه با نیتروژن مایع و ۵ میلی‌لیتر متانول اسیدی ۸۵٪ آسیاب شد. نمونه به مدت سه ساعت در تاریکی قرار گرفت و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰,۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. فاز فوقانی جمع‌آوری و تا زمان انجام سنجش‌های فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نگهداری گردید.

۲-۳. اندازه‌گیری مقدار فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت

آنتی‌اکسیدانی

مقدار فلاونوئید با استفاده از روش کلریدآلومینیوم بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک (Chang *et al.*, 2002) اندازه‌گیری شد. مقدار فنل کل با استفاده از روش (Singleton *et al.*, 1999) محاسبه شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از روش DPPH^۱ (Hatano *et al.*, 1988) اندازه‌گیری شد.

۲-۳-۲- سنجش فنل کل

برای تعیین فنل کل، ۷۰ میکرولیتر از عصاره با ۱۳۰ میکرولیتر آب مقطر و ۱ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتیو ۱۰٪ مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. سپس ۸۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۷.۵٪ به نمونه افزوده شد. نمونه‌ها در صورت نیاز با متانول اسیدی رقیق شدند. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis قرائت شد. محتوای فنل کل بر اساس منحنی استاندارد اسید گالیک ($Y = 0.0186x - 0.0331$) محاسبه شد.

۲-۳-۳- سنجش فلاونوئید کل

برای تعیین مقدار فلاونوئید کل، ۵۰ میکرولیتر از عصاره با ۱۸۰۰ میکرولیتر اتانول ۳۰٪، ۷۵ میکرولیتر سدیم نیتريت ۰/۵ نرمال و ۷۵ میکرولیتر آلومینیوم کلراید ۰/۳ نرمال مخلوط شد. پس از ۵ دقیقه در دمای اتاق، ۵۰۰ میکرولیتر سدیم هیدروکسید ۱ نرمال به نمونه افزوده شد. جذب نمونه‌ها پس از ۱۵ دقیقه در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. مقدار فلاونوئید با استفاده از منحنی استاندارد کوثرستین ($Y = 0.0006x + 0.3407$) محاسبه گردید.

۲-۳-۴- سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH

برای سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی، ۱ میلی لیتر محلول DPPH به عصاره اضافه شد. جذب نمونه‌ها پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در تاریکی و دمای اتاق، در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH از رابطه زیر محاسبه شد (*Hatano et al., 1988*):

(رابطه ۴) فعالیت آنتی اکسیدانی = (جذب کنترل - جذب نمونه) / (جذب کنترل) × ۱۰۰

۲-۴- اندازه‌گیری غلظت اسیدآمینه تریتوفان

غلظت اسیدآمینه تریتوفان در برگ گیاه پروانش با استفاده از روش رنگ سنجی مبتنی بر واکنش اکسیداسیون و دستگاه اسپکتروفتومتر Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis با روش (*Hosokawa et al., 2023*) اندازه‌گیری شد. برای این منظور

ابتدا ۰/۵ گرم از پودر شده برگ خشک شده گیاه در ۱۰ میلی لیتر هیدروکلریک ۰/۱ نرمال جهت استخراج تریتوفان حل شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و از محلول شفاف به عنوان عصاره استفاده شد. جهت انجام واکنش رنگ سنجی، مقدار ۱ میلی لیتر از عصاره نمونه را با ۱ میلی لیتر منوسدیم گلوتامات و ۰/۵ میلی لیتر سدیم هیپوکلریت پنتاهیدرات مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد تا کمپلکس قرمز-بنفش تشکیل شود. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۲۵ نانومتر قرائت شد. غلظت تریتوفان با استفاده از منحنی استاندارد تهیه شد و نتایج به صورت میلی گرم تریتوفان در گرم وزن خشک برگ گزارش شد. غلظت اسیدآمینه تریتوفان با استفاده از منحنی استاندارد تریتوفان ($Y = 0.0098x + 0.0021$) محاسبه گردید.

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۴) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای توکی در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

۳. نتایج

ویژگی‌های رشدی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمار اسیدآمینه تأثیر معنی داری در سطح یک درصد بر تمامی صفات مورفولوژیک شامل وزن تر گیاه، وزن خشک گیاه، وزن تر برگ، وزن خشک برگ، طول ساقه، طول ریشه، تعداد برگ و تعداد گل داشت ولی بر فراکسیون برگ تأثیر معنی دار نداشت (جدول ۳). مطابق نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۴)، افزایش غلظت اسیدآمینه باعث بهبود معنی دار بسیاری از شاخص‌های رشد شد. بالاترین مقدار وزن تر (۱۶/۹۱ گرم)، وزن خشک (۳/۳۶ گرم)، طول ساقه (۱۸/۹۷ سانتی متر)، طول ریشه (۱۲/۹۸ سانتی متر)، تعداد برگ (۶۳/۸۰ عدد) و تعداد گل (۸/۵۰ عدد) گیاه در تیمار ۳/۵ گرم در لیتر اسیدآمینه مشاهده شد. این تیمار به طور معنی داری از شاهد و غلظت‌های پایین تر برتر بود. اگرچه تیمار ۴ گرم در لیتر نیز مقادیر نسبتاً بالایی را نشان داد، اما در اکثر صفات تفاوت معنی داری با تیمار ۳/۵ گرم نداشت

و در برخی موارد کمی کمتر بود. در مقابل، شاهد (بدون اسید آمینه) کمترین مقادیر تمام صفات رشد را نشان داد.

Table 3: Analysis of variance for effect of amino acid treatment on morphological traits of periwinkle (*Catharanthus roseus*)

Source of variation	Degrees of freedom	Mean of squares								
		Plant fresh weight	Plant dry weight	Leaf fresh weight	Leaf dry weight	Leaf mass fraction	Stem length	Root length	Leaf number	Flower number
Amino acid	4	10.85**	0.53**	3.86**	0.23**	0.23 ^{ns}	9.76**	6.72**	85.73**	5.64**
Error	10	0.18	0.007	0.11	0.005	1.75	0.09	0.13	8.16	0.408
Coefficient of variation (%)	-	2.91	3.03	3.59	3.76	1.98	1.76	3.18	4.98	9.70

ns, * and ** represent non-significant differences, significance at the 5% level, and significance at the 1% level, respectively

Table 4: Mean comparison for effect of amino acid treatment on morphological traits of periwinkle (*Catharanthus roseus*).

Amino acid	Plant fresh weight (g)	Plant dry weight (g)	Leaf fresh weight	Leaf dry weight	Leaf mass fraction	Stem length (cm)	Root length (cm)	Leaf number (per plant)	Flower number (per plant)
0	12.12 ^d	2.30 ^d	7.94 ^c	1.54 ^c	67.059 ^a	14.33 ^c	9.30 ^d	49.64 ^c	4.96 ^c
2.5	13.70 ^c	2.73 ^c	8.85 ^{bc}	1.82 ^b	66.565 ^a	16.96 ^b	10.46 ^c	55.10 ^{bc}	5.65 ^{bc}
3	15.34 ^b	3.10 ^b	9.99 ^{ab}	2.08 ^{ab}	67.075 ^a	17.55 ^b	11.44 ^b	57.94 ^{ab}	6.58 ^{bc}
3.5	16.91 ^a	3.36 ^a	10.72 ^a	2.23 ^a	66.470 ^a	18.97 ^a	12.98 ^a	63.80 ^a	8.50 ^a
4	15.96 ^{ab}	3.20 ^{ab}	10.27 ^a	2.14 ^a	66.886 ^a	18.42 ^a	12.49 ^a	60.167 ^{ab}	7.20 ^{ab}

Numbers followed by the same letter are not significantly different ($P \leq 0.05$)

ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

آنتی‌اکسیدانی و اسید آمینه تربیتوفان در تیمار ۳/۵ گرم در لیتر مشاهده شد. محتوای کل فنل نیز با افزایش غلظت اسید آمینه روند افزایشی نشان داد؛ به‌طوری‌که بیشترین مقدار آن در تیمار ۴ گرم در لیتر ثبت شد، که اختلاف معنی‌داری با تیمار ۳/۵ گرم نداشت. شاهد در تمامی پارامترهای فیزیولوژیک، به‌ویژه کلروفیل کل و فلاونوئید، کمترین مقادیر را نشان داد و اختلاف معنی‌دار آن با سایر تیمارها کاملاً مشهود بود.

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵)، کاربرد اسید آمینه تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بر محتوای کل فنل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل و اسید آمینه تربیتوفان شد. همچنین ضرایب تغییرات پایین (کمتر از ۶ درصد) نشان می‌دهد که اندازه‌گیری‌ها از صحت و تکرارپذیری بالایی برخوردار بوده‌اند. بالاترین مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، مقدار فلاونوئید کل، ظرفیت

Table 5: Analysis of variance for effect of amino acid treatment on physiological and biochemical traits of Periwinkle *Catharanthus roseus*

Source of variation	Degrees of freedom	Mean of squares						
		Total Chlorophyll	Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total phenol	Flavonoid	Antioxidant	Tryptophan
Amino acid	4	2039.35**	505.45**	909.82**	0.008**	712.20**	149.36**	0.34**
Error	10	22.20	11.41	27.68	0.0001	32.66	4.50	0.0009
Coefficient of variation (%)	-	2.56	3.61	5.81	0.88	15.18	5.43	7.16

ns, * and ** represent non-significant differences, significance at the 5% level, and significance at the 1% level, respectively

Table 6: Mean comparison for effect of amino acid treatment on physiological and biochemical traits of periwinkle (*Catharanthus roseus*)

Amino acid	Total chlorophyll (mg g ⁻¹ FW)	Chlorophyll a (mg g ⁻¹ FW)	Chlorophyll b (mg g ⁻¹ FW)	Total phenol (mg g ⁻¹ DW)	Flavonoid (mg g ⁻¹ DW)	Antioxidant (% DPPH SC)	Tryptophan (mg g ⁻¹ DW)
0	1.498 ^d	0.713 ^c	0.785 ^c	0.365 ^c	0.198 ^d	31.94 ^b	0.28 ^d
2.5	1.728 ^c	0.930 ^b	0.798 ^c	0.368 ^{bc}	0.266 ^{cd}	33.77 ^b	0.35 ^{cd}
3	1.806 ^c	1.003 ^{ab}	0.883 ^c	0.371 ^{abc}	0.356 ^{bc}	36.63 ^b	0.45 ^{bc}
3.5	1.980 ^b	1.034 ^a	0.946 ^b	0.375 ^{ab}	0.561 ^a	48.21 ^a	0.56 ^a
4	2.189 ^a	0.995 ^{ab}	1.194 ^a	0.379 ^a	0.502 ^{ab}	44.62 ^a	0.47 ^{ab}

Numbers followed by the same letter are not significantly different ($P \leq 0.05$)

۴. بحث

محللول پاشی اسیدهای آمینه، سرعت فتوسنتز را بهبود بخشیده و در نهایت موجب افزایش عملکرد گیاه می‌شود. در خصوص مکانیسم‌های فیزیولوژیک، افزایش رشد گیاه ممکن است ناشی از فراهم‌بودن پیش‌سازهای سنتز پروتئین، کاهش نیاز گیاه به مصرف انرژی برای تولید اسیدهای آمینه درون‌زاد و همچنین تحریک تقسیم و توسعه سلولی باشد. این موضوع با نتایج *Wassel* و همکاران (۲۰۱۵) که افزایش تعداد گل و عملکرد میوه در انار پس از کاربرد اسیدآمینه را گزارش کردند، همسو است.

مطابق با نتایج فیزیولوژیک این پژوهش، میانگین کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در تیمارهای اسیدآمینه به‌طور میانگین ۱/۵ برابر افزایش یافت (جدول ۶). این نتایج با نتایج *Haghparvar* و همکاران (۲۰۲۳) در گل جعفری آفریقایی مطابقت دارد؛ آن‌ها افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی، وزن تر و ماده خشک گل، و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را گزارش کردند. همچنین افزایش طول ریشه و ساقه (حدود ۱/۳ برابر)، تعداد برگ (۱/۲ برابر) و تعداد گل (۱/۷ برابر) در این پژوهش، مطابق با یافته‌های *Rabiei* و همکاران (۲۰۲۴) در گیاه عروسک پشت پرده است. عراقی اردبیلی و همکاران (*Oraghi Ardebili et al., 2011*) نیز نشان دادند که کاربرد برگی اسیدآمینه سبب افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا‌لیاز در جعفری می‌شود که تأییدکننده نقش اسیدهای آمینه در تحریک مسیرهای بیوسنتزی و متابولیکی است.

از سوی دیگر، نتایج این پژوهش نشان داد که محللول پاشی اسیدآمینه موجب افزایش معنی‌دار ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه پروانش شد. مقدار فلاونوئید، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل به‌ترتیب ۲/۸۵، ۱/۵ و ۱/۰۳ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت (جدول ۶). این افزایش را می‌توان به تحریک مسیر

کاربرد ترکیبات حاوی اسیدهای آمینه به‌صورت محللول پاشی یا افزودن به بستر رشد، در سال‌های اخیر به‌عنوان یکی از مؤثرترین رویکردهای بهبود رشد گیاهان معرفی شده است. این ترکیبات از طریق افزایش کارایی جذب نیتروژن، بهبود سنتز پروتئین و تنظیم فرایندهای متابولیکی، سبب ارتقای رشد گیاه، افزایش عملکرد، بهبود کیفیت محصول و تقویت مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌شوند. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که اسیدهای آمینه و ترکیبات فنلی موجود در محرک‌های زیستی، علاوه‌بر تنظیم واکنش‌های اکسیداسیون - کاهش و افزایش ظرفیت فتوسنتزی برگ، می‌توانند اثرات سوء عناصر سمی را کاهش داده و فعالیت‌های ضدقارچی را نیز تقویت کنند (*Sun et al., 2024*). این ویژگی‌ها نقش مهمی در توسعه کشاورزی پایدار و کاهش وابستگی به نهاده‌های شیمیایی سنگین دارند (*Henderson et al., 2025*).

نتایج این پژوهش نیز تأییدکننده نقش مثبت اسیدهای آمینه بر رشد و عملکرد گیاه دارویی پروانش است. نتایج صفات مورفولوژیکی نشان داد که محللول پاشی اسیدآمینه در سطح ۳/۵ گرم در لیتر، بیشترین اثر را بر وزن تر و خشک، طول ساقه، طول ریشه، تعداد برگ و تعداد گل داشت؛ به‌طوری‌که مقدار این صفات نسبت به شاهد، بین ۱/۳ تا ۱/۷ برابر افزایش یافت (جدول ۵). افزایش ۱/۴ برابری وزن تر و خشک گیاه در تیمار ۳/۵ گرم در لیتر نشان‌دهنده بهبود رشد رویشی و کارایی متابولیکی تحت تأثیر دریافت اسیدآمینه است. این نتایج با یافته‌های پیروش و همکاران (*Pirvash et al., 2021*) در گیاه سرخارگل هم‌راستا است. همچنین خان و همکاران (*Khan et al., 2012*) گزارش کردند که افزایش کلروفیل ناشی از

فیتوشیمیایی، کیفیت فیزیولوژیکی و دارویی گیاه پروانش را نیز ارتقا می دهند. به نظر می رسد تیمار ۳/۵ گرم در لیتر اسید آمینه، غلظت بهینه برای دستیابی به بیشترین بازده رشد و کیفیت در شرایط این آزمایش باشد.

۵. نتیجه گیری کلی

نتایج این پژوهش نشان داد که محلول پاشی برگ‌های اسیدهای آمینه تأثیر قابل توجهی بر بهبود رشد و افزایش محتوای ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه دارویی پروانش دارد. در میان تیمارهای مورد بررسی، غلظت ۳/۵ گرم در لیتر بیشترین اثر را بر شاخص‌های رشد رویشی شامل طول ساقه و ریشه، تعداد برگ، وزن تر و خشک بوته و همچنین بیشترین افزایش را در سطوح کلروفیل، فنل کل، فلاونوئید، ظرفیت آنتی اکسیدانی و اسید آمینه ترپتوفان بر جای گذاشت. افزایش معنی دار این صفات بیانگر آن است که اسیدهای آمینه می توانند از طریق بهبود راندمان فتوسنتزی، تحریک سنتز پروتئین ها و افزایش فعالیت آنزیمی، شرایط متابولیکی مطلوب تری را برای رشد و تولید متابولیت های ثانویه در گیاه فراهم کنند. به طور کلی، یافته های این مطالعه تأیید می کند که اسیدهای آمینه به عنوان یک منبع تغذیه ای آلی، قادرند ضمن افزایش توان فیزیولوژیک گیاه، موجب ارتقای عملکرد کمی و کیفی پروانش شوند. افزون بر این، استفاده از چنین نهاده هایی به دلیل ماهیت زیست سازگار، می تواند در کاهش مصرف کودهای شیمیایی، کاهش آلودگی های محیط زیستی و تقویت پایداری اکوسیستم های کشاورزی نقش مؤثری ایفا کند. بر این اساس، محلول پاشی اسیدهای آمینه به ویژه در غلظت ۳/۵ گرم در لیتر، به عنوان یک راهبرد تغذیه ای مؤثر، اقتصادی و سازگار با محیط زیست برای افزایش تولید زیست توده و بهبود محتوای ترکیبات دارویی با ارزش در گیاه پروانش توصیه می شود. با این وجود، پیشنهاد می شود در پژوهش های آینده، اثر دفعات محلول پاشی، مراحل دقیق فنولوژیک، و ماهیت انواع مختلف اسیدهای آمینه نیز مورد بررسی قرار گیرد تا توصیه های کاربردی دقیق تر ارائه شود.

فنیل پروپانوئید و افزایش فعالیت آنزیم های کلیدی در سنتز ترکیبات فنلی نسبت داد. نتایج حاضر با یافته های (Jalili, Moghadam et al., 2019) در انار که افزایش فنل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی اکسیدانی را پس از محلول پاشی اسید آمینه گزارش کرده اند، مطابقت کامل دارد. همچنین یافته های (Al-Karaki, Khazaei and Othman, 2023) در کاهوی آیسبرگ و (Sayari, 2015) در فلفل شیرین نیز نشان می دهد که اسیدهای آمینه نقش مهمی در تحریک تولید ترکیبات زیست فعال و متابولیت های ثانویه دارند.

همچنین نتایج این پژوهش نیز تأیید کننده نقش مثبت اسیدهای آمینه بر مقدار اسید آمینه ترپتوفان گیاه دارویی پروانش است. نتایج نشان داد که محلول پاشی اسید آمینه در سطح ۳/۵ گرم در لیتر، بیشترین اثر را بر مقدار اسید آمینه ترپتوفان داشت؛ به طوری که مقدار این صفت نسبت به شاهد، ۲ برابر افزایش یافت (جدول ۶). طاه و همکاران (Taha et al., 2009) از ترپتوفان به صورت افشانه برگی در غلظت های در گیاه پروانش استفاده نمودند. در مطالعه ای که توسط (Withmer et al., 2002) صورت گرفت که افزودن ترپتوفان، محتوای ترپتامین را افزایش می دهد که در نهایت موجب افزایش در محتوای آلکالوئیدهای ایندولی می شود. آلکالوئیدهای ایندول، آلکالوئیدهایی هستند که از ترکیبات ترپتوفان ساخته می شوند (Roy, 2017) و محصولات حاوی نیتروژن هستند که از یک بخش ایندولی مشتق شده از اسید آمینه ترپتوفان، و یک بخش ترپنوئید مشتق شده از سکولوگانیین ساخته شده است که منبع اصلی این ترکیبات گیاه پروانش است (Moore et al., 1967). ارزیابی ترکیبات نیتروژن دار که از آن جهت مهم است که چندین متابولیت ثانویه مانند آلکالوئیدها را تولید می کنند که از مواد حیاتی موجود در گیاه پروانش هستند. در این راستا چندین آمینو اسید مانند ترپتوفان، فنیل آلانین، تیروزین و لیزین به بیوسنتز آلکالوئیدها کمک می کنند (Hu et al., 2017). به طور کلی، نتایج پژوهش حاضر تأکید می کند که اسیدهای آمینه نه تنها موجب بهبود رشد رویشی و فتوسنتز می شوند، بلکه از طریق القای سنتز ترکیبات آنتی اکسیدانی و

References

- Abd El-Aziz, N. G., Mahgoub, M. H. and Mazher, A. A. (2009). Physiological effect of phenylalanine and tryptophan on the growth and chemical constituents of *Antirrhinum majus* plants. *Ozean Journal of Applied Science*, 2(4): 399-407.
- Abdelkader, M., Voronina, L., Baratova, L., Shelepova, O., Zargar, M., Puchkov, M. and Arinov, B. (2023). Biostimulants-based amino acids augment physio-biochemical responses and promote salinity tolerance of lettuce plants (*Lactuca sativa* L.). *Horticulturae*, 9(7): 807. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9070807>
- Al-Karaki, G. N. and Othman, Y. (2023). Effect of foliar application of amino acid biostimulants on growth, macronutrient, total phenol contents and antioxidant activity of soilless grown lettuce cultivars. *South African Journal of Botany*, 154, 225-231. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.01.034>
- Almagro, L., Fernández-Pérez, F. and Pedreño, M. A. (2015). Indole alkaloids from *Catharanthus roseus*: bioproduction and their effect on human health. *Molecules*, 20(2): 2973-3000. <https://doi.org/10.3390/molecules20022973>
- Bidaki, S. and Tehranifar, A. (2018). Post-harvest shelf-life extension of fruits of two strawberry (*Fragaria* × *ananassa Duch.*) cultivars with amino acids application in soilless culture system. *Journal of Soil and Plant Interactions-Isfahan University of Technology*, 9(2): 1-10. <https://doi.org/10.29252/ejgscst.9.2.1>
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(3). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748>
- El-Sayed, M. and Verpoorte, R. (2007). *Catharanthus* terpenoid indole alkaloids: *biosynthesis and regulation*. Reviews; 6: 277-305.
- Estefan, G., Sommer, R., and Ryan, J., (2013). Methods of soil, plant, and water analysis. *A manual for the West Asia and North Africa region*. 3(2). <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0067-0>
- Haghpavar, F. R., Hashemabadi, D. and Kaviani, B. (2023). The effect of foliar application of amino acids on some nutritional properties, antioxidant capacity and some other physiologic parameters of African marigold (*Tagetes erecta* L.), Taishan 'Yellow' and 'Orange'. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 22(1): 107-124. <https://doi.org/10.24326/asphc.2023.4580>
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T. and Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 36(6): 2090-2097. <https://doi.org/10.1248/cpb.36.2090>
- Henderson, B. C., Sanderson, J. M. and Fowles, A. (2025). A review of the foliar application of individual amino acids as biostimulants in plants. *Discover Agriculture*, 3(1): 69. <https://doi.org/10.1007/s44279-025-00222-7>.
- Hosokawa, S., Morinishi, T., Ohara, K., Yamaguchi, K., Tada, S. and Tokuhara, Y. (2023). A spectrophotometric method for the determination of tryptophan following oxidation by the addition of sodium hypochlorite pentahydrate PLoS ONE, 18(1), e0279547. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0279547>
- Hu, W., Coomer, TD., Loka, DA., Oosterhuis, DM. and Zhou, Z. (2017). Potassium deficiency affects the carbon-nitrogen balance in cotton leaves. *Plant physiological chemistry*; 115:408-417.
- Jahanbani, S., Mumivand, H., Zahedi, B. and Argento, S. (2024). Foliar Application of Urea and Amino Acids Regulates Growth, Photosynthesis, Pigments, Antioxidant Activity, and the Essential Oil Content and Composition of Basil (*Ocimum basilicum* L.). *Agronomy*, 14(12): 2950. <https://doi.org/10.3390/agronomy14122950>
- Jalili Moghadam, Z. J., Kalantari, S., Estahbanati, A. H. and Garrido, D. V. (2019). Effect of Amino acids and Pepton foliar applications on quality and storage life of *pomegranate* fruit cv. Malas-e-Save. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 50(3), 527-537. <https://doi.org/10.22059/ijhs.2018.261060.1465>
- Khalifa, Y. A., El-Naem, A., Gamal, F. and Mahmoud, M. A. (2020). Effect of tryptophan and ascorbic acid on yield and some chemical constituents of lupine (*Lupines termis* L.) plants. *Egyptian Journal of Agronomy*, 42(1), 47-61.
- Khan, A. S., Ahmad, B., Jaskani, M. J., Ahmad, R. and Malik, A. U. (2012). Foliar application of mixture of amino acids and seaweed (*Ascophylum nodosum*) extract improve growth and physicochemical properties of grapes. *International Journal of Agriculture and Biology*, 14(3): 383-388.
- Khazaei, Z., and Sayari, M. (2015). Effect of 5 Aminololic acid leaf application on growth and some physiologic factors and sweet pepper (*Capsicum annum* L.) function in drought stress conditions. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 28 (5): 952-961. <https://doi.org/10.22077/jsr.2021.4762.1172>
- Lambers, H., Chapin III, F. S. and Pons, T. L. (2008). *Plant physiological ecology*. Springer Science and Business Media.
- Lichtenthaler, H. K. and Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 1(1): F4-3. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01>
- Moore, MR., Williams, and DJ., Chia J. (1967). Factor affecting concentrations of dimethylated indole alkylamines in *phalaris tuberosa* L. *Journal Biologist Science.*; 20:1131-40.
- Noviyanti, R., Sari, R. L. K., Kristanti, A. N., Yachya, A. and Manuhara, Y. S. W. (2017). Biomass and flavonoid production of *Gynura procumbens* adventitious roots induced by sucrose, phenylalanine and tyrosine. *Bioscience Research*, 14(4): 934-941. <https://www.researchgate.net/publication/322558300>

- Oraghi Ardebili, Z., Laden Moghadam, A.S. R. and Moradi, M. (2011). Effect of Leaf Seedling on Selenium and Amino Acid on Parsley. Garmsar Azad University. Garmsar master's Thesis.
- Oudin, A., Courtois, M., Rideau, M. and Clastre M.(2007). The pathway in *Catharanthus roseus* alkaloid biosynthesis. *Phytochemistry Reviews*; 6 (2): 259-76.
- Pirvash, A., Sheikh-Mohseni, M. and Nejadhabibvash, F. (2021). Morphological characteristics and total phenol concentration in hydroalcoholic extract of *Echinacea purpurea* L. influenced by different nitrogen sources. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 37(3): 457-474. [https://doi: 10.22092/ijmapr.2021.353236.2936](https://doi.org/10.22092/ijmapr.2021.353236.2936)
- Rabiei, V., Akbari, A. and Barzegar, T. (2024). The effect of low temperature on fruit yield, quality and antioxidant properties of *physalis* under foliar spray of amino acids and selenium. *Journal of Plant Production Research*, 31(3): 43-65. [https://doi: 10.22069/jopp.2023.21517.3060](https://doi.org/10.22069/jopp.2023.21517.3060)
- Rady, M. R. (2019). Plant biotechnology and milk thistle. In Plant Biotechnology and Medicinal Plants: Periwinkle, Milk Thistle and Foxglove Cham: *Springer International Publishing*. 97-147.
- Ramzan, T., Shahbaz, M., Maqsood, M. F., Zulfiqar, U., Saman, R. U., Lili, N. and Haider, F. U. (2023). Phenylalanine supply alleviates the drought stress in mustard (*Brassica campestris*) by modulating plant growth, photosynthesis, and antioxidant defense system. *Plant Physiology and Biochemistry*, 201, 107828:<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107828>
- Rani, V., Kumar, V., Meena, R., Jain, S. K. and Birla, D. (2023). Impact of Nitrogen Levels on the Growth and Medicinal Properties of Periwinkle (*Catharanthus roseus*) in an Inceptisol of Varanasi, India. *International Journal of Plant and Soil Science*. 35(19): 954-962. <https://doi.org/10.9734/IJPSS/2023/v35i193630>
- Reham, M. S., Khattab, M. E., Ahmed, S. S. and Kandil, M. A. M. (2016). Influence of foliar spray with phenylalanine and nickel on growth, yield quality and chemical composition of genoveser basil plant. *African Journal of Agricultural Research*, 11(16): 1398-1410. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10699>
- Rezakhani, A. and Hadi, M. R. H. S. (2017). Effect of manure and foliar application of amino acids on growth characteristics, seed yield and essential oil of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Iranian Journal of Field Crop Science*, 48(3): 777-786.
- Roy, A. A review on the alkaloids an important therapeutic compound from plants.(2017). *International Journal of Plant and biotechnology*.; 3:1-9.
- 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(9): 964-975. <https://doi.org/10.1080/00103624.2021.1872596>
- Shekari, G. and Javanmardi, J. (2017). Application of cysteine, methionine and amino acid containing fertilizers to replace urea: The effects on yield and quality of Broccoli. *Advances in Crop Science and Technology*, 5(3): 1-4. <https://doi.org/10.4172/2329-8863.1000283>
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152-178. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Stiegler, J. C., Richardson, M. D., Karcher, D. E., Roberts, T. L. and Norman, R. J. (2013). Foliar absorption of various inorganic and organic nitrogen sources by creeping bentgrass. *Crop Science*, 53(3): 1148-1152. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.08.0511>
- Sun, W. and Shahrajabian, M. H. (2023). Therapeutic potential of phenolic compounds in medicinal plants—Natural health products for human health. *Molecules*, 28(4): 1845. <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>
- Sun, W., Shahrajabian, M. H., Kuang, Y., and Wang, N. (2024). Amino Acids Biostimulants and Protein Hydrolysates in Agricultural Sciences. *Plants*, 13(2):210. <https://doi.org/10.3390/plants13020210>
- Taha, H.S., El- Bahr, M.K. and Seif El Nasr, M. M. (2009). In vitro studies on egyptian *Catharanthus roseus* (L.) G.Don. IV: manipulation of some amino acids as precursors for enhanced of indole alkaloids production in suspension cultures. *Aust. Journal Basic Application of Science*, 3: 3137-44.
- Tarasevičienė, Ž., Velička, A. and Paulauskienė, A. (2021). Impact of foliar application of amino acids on total phenols, phenolic acids content of different mints varieties under the field condition. *Plants*, 10(3): 599. <https://doi.org/10.3390/plants10030599>
- Teixeira, W. F., Fagan, E. B., Soares, L. H., Soares, J. N., Reichardt, K. and Neto, D. D. (2018). Seed and foliar application of amino acids improve variables of nitrogen metabolism and productivity in soybean crop. *Frontiers in Plant Science*, 9, 396. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00396>
- 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. *Frontiers in plant science*, 8, 327. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00327>
- Tzin, V. and Galili, G. (2010). The biosynthetic pathways for shikimate and aromatic amino acids in Arabidopsis thaliana. The Arabidopsis book/*American Society of Plant Biologists*, 8p.
- Wassel, A. H. M., Gobara, A. A., Ibrahim, H. I. M. and Shaaban-Mai, M. (2015). Response of wonderful pomegranate trees to foliar application of amino acids, vitamins B and silicon. *World Rural Observations*, 7(3): 91-95.

- Whitmer, S., Van Der Heijden, R. and Verpoorte, R. (2002). Effect of precursor feeding on alkaloid accumulation by a tryptophan decarboxylase over-expressing transgenic cell line T22 of *Catharanthus roseus*. *Journal of Plant and biotechnology*; 96: 193-203.
- Zhou, W., Zheng, W., Lv, H., Wang, Q., Liang, B. and Li, J. (2022). Foliar application of pig blood-derived protein hydrolysates improves antioxidant activities in lettuce by regulating phenolic biosynthesis without compromising yield production. *Scientia Horticulturae*, 291:110602. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110602>