بررسی اثر محلول‌پاشی انواع اسیدهای آمینه بر پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی *Physalis alkekengi* L.

سیروس صارمی[1*]، منوچهر قلی پور[2]، حمید عباسدخت[2]، حسنعلی نقدی بادی[3]، علی مهرآفرین[4]، حمیدرضا اصغری[2]

[1]دانشجوی دکتری، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

[2]دانشیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران

[3]دانشیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران

[4]استادیار، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۹/٦ ؛ تاریخ پذیرش: ۰۰/۱/۲۱

چکیده

در این تحقیق به منظور مطالعه تاثیر محلول¬پاشی انواع اسیدهای آمینه بر پاسخ¬های بیوشیمیایی گیاه دارویی عروسک پشت‌پرده (*Physalis alkekengi* L.)، آزمایشی در قالب طرح بلوک¬های کامل تصادفی در ۳ تکرار در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج در سال زراعی ۹۸-۱۳۹۷ انجام شد. تیمارها در پنج سطح محلول¬پاشی اسیدهای آمینه شامل {شاهد (A0)، تریپتوفان (یک میلی‌گرم در لیتر) (A1)، گلایسین (یک میلی‌گرم در لیتر) (A2)، تیروزین (یک میلی‌گرم در لیتر) (A3) و آرژنین (یک میلی‌گرم در لیتر) (A4) اجرا شد. متغیرهای اندازه¬گیری شده شامل: میزان کاروتنوئید، آنتوسیانین، پرولین، فنل، بتاکاروتن، لیکوپن، اسید آسکوربیک و آلکالوئید بودند. ابعاد کرت¬ها ۳×۳ متر، فاصله بین هر کرت یک متر در نظر گرفته شد. عملیات کاشت در اردیبهشت۱۳۹٦ به¬صورت دستی انجام شد. عملیات محلول‌پاشی روی گیاهان قبل از شروع گلدهی آغاز شد. در زمان نمونه‌برداری از هر تیمار سه تکرار و از هر تکرار سه نمونه برداشت شد. نتایج نشان داد که محلول پاشی اسیدهای آمینه روی همه صفات مورد ارزیابی تاثیر معنی‌داری ($p \leq 0.01$) داشت و بیشترین مقادیر کاروتنوئید (۱۲/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ)، بتاکاروتن (۰/۰۳۵ میلی¬گرم بر گرم وزن تازه برگ) و لیکوپن (۰/۰۱۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) از محلول‌پاشی آرژنین، بیشترین میزان صفات اسید آسکوربیک (۲٤/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ) و آلکالوئید (٤۲/۲۵ درصد) از محلول‌پاشی تریپتوفان، بیشترین میزان پرولین (۱/٤ میلی¬گرم بر گرم وزن تازه برگ) از گلایسین و بیشترین میزان آنتوسیانین (۱۲/۲۵ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ) و فنل (۳۲/٤٤ میلی¬گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن تازه برگ) از تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی) به دست آمد. به طورکلی نتایج نشان داد که محلول‌پاشی اسیدهای آمینه به عنوان نوعی محرک زیستی بر بهبود ویژگی‌های کیفی گیاه عروسک پشت‌پرده تاثیر مثبتی داشته‌اند و سبب افزایش تولید ترکیبات بیوشیمیایی گیاه شده است.

واژه‌های کلیدی: اسیدآسکوربیک، اسید آمینه، آلکالوئید، عروسک پشت پرده، فنل، کارتنوئید.

*نویسنده مسئول: siroussaremi@yahoo.com

مقدمه

در سال‌های اخیر، توجه جهان به سوی کاهش آلودگی زیست محیطی و اثرات آن بر سلامت انسان از طریق کاهش مصرف کودهای سنتزی و مواد شیمیایی در تولید محصولات زراعی، به‌ویژه گیاهان دارویی معطوف شده است (Kahlel and Soltan, 2019). محرک‌های زیستی از منابع طبیعی و زیستی منشاء می‌گیرند و در مقادیر کم می‌توانند رشد و نمو گیاه را بهبود بخشند. این ترکیبات کارایی عناصر غذایی و یا ویژگی‌های ساختاری و عملکردی خاک را بهبود داده و بدین‌ترتیب رشد گیاه را افزایش می‌دهند. محرک‌های زیستی در هشت گروه دسته بندی شده‌اند که عبارتند از: مواد هیومیکی، ترکیبات آلی، عناصر شیمیایی مفید، نمک‌های غیر آلی مانند فسفیت، عصاره جلبک‌های دریایی، مشتقات کیتین و کیتوزان، ضدتعرق‌ها و اسیدهای آمینه یا ترکیبات نیتروژنه (Hakimi et al., 2019). اسیدهای آمینه یکی از محرک‌های زیستی معروف هستند که اثرات متعددی بر روی گیاهان دارند که برخی از مهمترین این اثرات عبارتند از: اثر مثبت بر رشد، افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاه ، کاهش قابل ملاحظه‌ی صدمات ناشی از تنش‌های غیرزیستی در گیاهان، (۳) تاثیر مستقیم یا غیرمستقیم بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاهان (Kahlel and Soltan, 2019)، انجام فعالیت‌های متابولیسمی، ساختاری و مبادلاتی در گیاهان (Aminifard et al., 2020)، پیش ساز هورمون‌های گیاهی و سایر ترکیبات محرک رشد، بهبود کارآیی سوخت و ساز گیاه و در نتیجه افزایش عملکرد کمی و کیفی محصولات زراعی و تحمل گیاه نسبت به تنش‌های غیرزیستی، تسهیل جذب مواد غذایی، انتقال و استفاده از و در نهایت بهبود ویژگی‌های کیفی محصول (Calvo et al., 2014) و همچنین کمک به بهبود و تقویت فرآیندهای تنفس، افزایش غلظت کلروفیل و در نتیجه تاثیر بر فتوسنتز، سنتز پروتئین و رشد گیاه (Sanikhani et al., 2020).

وضعیت نیتروژن گیاه و به خصوص مخزن‌های اسید آمینه ارتباط نزدیکی با فعالیت فتوسنتزی آن دارد. نقش ویژه‌ای توسط تریپتوفان ایفا می‌شود که پیش ماده اکسین‌ها است؛ هورمونی که مسئول میزان طویل شدن ساقه و ریشه، افزایش جوانه‌های برگ و فعالیت آنزیم‌ها می‌باشد در مقابل، گلایسین و گلوتامیک اسید پیش‌ماده اصلی برای تشکیل بافت و سنتز کلروفیل هستند. حضور این هورمون‌ها موجب تولید کلروفیل شده و در نتیجه میزان قندهای تولید شده در حین فتوسنتز را افزایش می‌دهد (Radkowski, 2018).

شواهد قابل توجهی وجود دارند که کاربرد تعدادی از اسیدهای آمینه پروتئینی و غیر پروتئینی مانند گلوتامات، هیستیدین، پرولین و گلایسین بتائین می‌توانند در برابر تنش‌های محیطی از گیاهان محافظت کرده و یا علامت‌دهی متابولیت‌ها را فعال کنند. همچنین تعدادی از اسیدهای آمینه غیر پروتئینی در فعالیت دفاعی گیاه نقش دارند (Liang et al., 2013). اسیدهای آمینه نقش مهمی در تشکیل ساختار پروتئین دارند و حضور آنها برای عملکرد صحیح متابولیت‌ها و فرآیندهای بیولوژیکی ضروری است به‌عنوان مثال آسپارژین و گلوتامین با دو چرخه مهم متابولیکی گیاه (چرخه کربن و نیتروژن) در ارتباط هستند و بر محتوای پروتئین و قندها تاثیر گذار می‌باشند. گلایسین اسید آمینه‌ای است که مانع تنفس نوری در گیاهان سه کربنه می‌گردد. همچنین، اسیدهای آمینه نقش مهمی در بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه و فیتوهورمون‌ها دارند. متیونین پیش ماده اتیلن می‌باشد و تریپتوفان مسئول تنظیم تولید اکسین است. همچنین اسید گلوتامیک برای سنتز هورمون اکسین اهمیت دارد (Abaspour et al., 2019).

با توجه به اینکه عروسک پشت پرده از گیاهان دارویی معطر و اسانس‌دار با مصارف متعدد دارویی (داروهای تسهیل زایمان و دفع سنگ کلیه)، غذایی (میوه تازه)، بهداشتی و آرایشی (تولید صابون و کرم) به شمار می‌رود، ضرورت شناخت و بررسی عوامل مؤثر در تولید این گونه آشکار می‌گردد. عروسک پشت پرده با نام علمی *Physalis alkekengi* L. گیاهی از خانواده سولاناسه[1] است که به‌صورت خودرو در زمین‌های زراعی اروپا و آسیا از جمله ژاپن و چین و ایران دیده می‌شود. عروسک پشت‌پرده گیاهی خوراکی و دارویی در شرق آسیا به‌خصوص در چین است که به‌عنوان چای استفاده می‌شود. عروسک پشت پرده دارای ۱۲۰ گونه در دنیا و دوگونه در ایران است. این گیاه دارویی به‌صورت بوته‌های علفی یکساله یا چندساله و پایا به بلندی ٤٠ تا ٦٠ سانتی‌متر است. میوه آب‌دار آن به رنگ نارنجی یا قرمز و به شکل سته می‌باشد. زمان برداشت میوه از شهریور تا آبان است. قسمت مورد استفاده آن برای مصارف درمانی، میوه های گیاه است ولی از برگ های آن نیز استفاده به عمل می‌آورند. مهم‌ترین ترکیب دارویی این گیاه آلکالوئید فیزالین است که در میوه و برگ آن تجمع دارد. در عصاره این گیاه انواع متعددی استروئید وآلکالوئید و فلاونوئید شناسایی شده است. بررسی‌های فیتوشیمیایی انجام شده بر روی گیاه دارویی عروسک پشت‌پرده وجود ترکیبات آلی در این گیاه را اثبات نموده است (Kheiri and Arghavani, 2019).

تاجیک و دانایی (Tajik and Danaee, 2016) تاثیر محلول‌پاشی گلوتامین، آرژنین و فنیل آلانین بر ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی و آنزیمی و طول عمر گل‌های ژربرا را بررسی کردند. آن‌ها نشان دادند که تیمار با گلوتامین در غلظت ۱۰۰ ppm بیشترین تاثیر را بر بهبود وزن تر و خشک، محتوای آب، تعداد گل‌ها، قطر گل‌ها و طول سافه گلدهی، مساحت برگ و شاخص پایداری غشای سلولی، میزان آنتوسیانین، کلروفیل کل برگ‌ها، فعالیت پرولین، پروتئین و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز داشته است و طول عمر گل در گیاهان تیمار شده با ۱۰۰ ppm گلوتامین، ۲۰ روز در حالی که در گیاهان کنترل تنها ١٤ روز بوده است. وهبا و همکاران (Wahba et al., 2015) گزارش کردند که استفاده از اشکال مختلف اسید آمینه به‌طور قابل توجهی پارامترهای ارتفاع گیاه، تعداد شاخه‌ها، وزن خشک و تر گیاه و عملکرد دانه و همچنین ترکیبات شیمیایی (میزان کل، محتوای اسیدهای چرب و مشتقات کافئیک اسید) را در گیاه گزنه بهبود می‌بخشند. بیشترین اثربخشی با استفاده از غلظت ۱۰۰ppm تریپتوفان به دست آمد. در همین ارتباط، امین و همکاران (Amin et al., 2011) دریافتند که محلول‌پاشی گلوتامیک اسید به‌طور قابل توجهی رشد گیاه، عملکرد پیاز و کیفیت پیاز، همچنین قندهای محلول را با افزایش غلظت گلوتامیک اسید تا ۲۰۰ mg/l بهبود بخشیده است. ال- شاباسی و همکاران (El-Shabasi et al., 2005) مخلوطی از گلایسین، آلانین، سیستئین و آرژنین بر روی گیاه سیر اسپری کردند و دریافتند که محلول‌پاشی ۱۰۰ ppm سیستئین به تنهایی می‌تواند منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد شود. یوان و لین (Yuan and Lin, 2008) نشان دادند که محلول‌پاشی تیروزین با غلظت ۵۰ ppm روی ریحان منجر به دستیابی به حداکثر مقادیر ارتفاع، قطر شاخه، تعداد شاخه‌های گیاه، وزن‌های تر و خشک بوته، وزن تر و خشک برگ‌ها و همچنین گل‌ها می‌شود.

نظر به اهمیت نهاده‌های کشاورزی در توسعه پایدار و با توجه به اثرات مثبت کاربرد اسیدهای آمینه روی عملکرد کمی و کیفی گیاهان و همچنین اهمیت

1. Solanaceae

دارویی گیاه عروسک پشت پرده، نیازمند وجود دلایل علمی کافی است که نتایج مثبت پیش‌بینی شده در خصوص اثر اسیدهای آمینه محرک‌زیستی روی خصوصیات فیتوشیمیایی این گیاه دارویی را تایید کند. هدف از اجرای این مطالعه تاثیر محلول‌پاشی انواع اسیدهای آمینه بر پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی عروسک پشت‌پرده (*Physalis alkekengi* L.) بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۷ در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، واقع در کیلومتر ١٦ اتوبان کرج-قزوین انجام شد. داده‌های هواشناسی از سازمان هواشناسی کشور تهیه شد. با توجه به آمارهای اقلیمی، آب و هوای این منطقه از نوع مدیترانه‌ای گرم و خشک، متوسط دمای سالیانه منطقه حدود ١٤/٤ درجه سانتی‌گراد بوده و ارتفاع از سطح دریا ١٤٢٦ متر می‌باشد. خاک محل آزمایش دارای بافت لومی شنی بود.

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. بذر مورد نیاز گیاه عروسک پشت پرده برای کشت از بانک بذر پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کرج با کد 212-MPISB تهیه شد. تیمار در پنج سطح محلول‌پاشی اسیدهای آمینه شامل {شاهد یا عدم محلول‌پاشی (A_0)، تریپتوفان (A_1)، گلایسین (A_2)، تیروزین (A_3) و آرژنین (A_4) (یک میلی‌گرم در لیتر)} اجرا شد. طول و عرض هر کرت سه متر و فواصل بین کرت‌ها یک متر بود، فواصل بین ردیف‌ها ٦٠ سانتی‌متر و فاصله ٢٥ بین بوته‌ها روی ردیف‌ها سانتی‌متر بود. آبیاری کرت‌ها تا زمان جوانه‌زنی و استقرار کامل گیاه در زمین به صورت منظم و به صورت قطره‌ای صبح زود هنگام طلوع آفتاب انجام شد. عملیات محلول‌پاشی روی گیاهان قبل از شروع گلدهی آغاز شد و در چهار مرحله با فاصله زمانی یک هفته (٧، ١٤، ٢١ و ٢٨ روز) انجام شد. محلول‌ها به غلظت یک میلی‌گرم در لیتر تهیه و صبح زود هنگام طلوع آفتاب محلول‌پاشی انجام شد. جهت ارزیابی و بررسی واکنش فیتوشیمیایی گیاهان، نمونه برداری و اندازه‌گیری صفات در مرحله رسیدگی فیزیولوژیکی میوه انجام شد. جهت نمونه‌برداری از مزرعه دو خط کناری کرت‌ها به عنوان حاشیه در نظر گرفته شد و از گیاهان موجود در خطوط میانی برای اندازه گیری صفات فیتوشیمیایی استفاده شد. در زمان نمونه‌برداری از هر تیمار سه تکرار و از هر تکرار سه نمونه برداشت شد.

میزان کلروفیل و کاروتنوئید: در آزمایشگاه کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید اندازه‌گیری شد. برای تعیین میزان محتوای کلروفیل a، b و کاروتنوئید پیش از پایان فصل رشد گیاه، از برگ‌های گیاه نمونه‌گیری انجام شد. برای این منظور از روش لیختن تالر[1] استفاده شد. ٠/٢ گرم برگ تر به همراه پنج میلی‌لیتر استون ٨٠ درصد به خوبی ساییده شد. محتوای هاون پس از عبور از صافی مجددا با ده میلی‌لیتر دیگر استون مخلوط گردید و به حجم ١٥ میلی‌لیتر رسانده شد. سه میلی‌لیتر از این محلول در کووت ریخته شد و جذب آن در طول موج‌های ٦٦٣، ٦٤٦ و ٤٧٠ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Ray leigh UV-2601; China) در برابر بلانک متانول قرائت شد (Lichtenthaler, 1987). میزان کاروتنوئید برای هر عصاره با استفاده از روابط زیر اندازه‌گیری گردید.

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A_{663} - 0.86 \times A_{646}) V/100W$$

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A_{646} - 3.6 \times A_{663}) V/100W$$

1. Lichtenthaler

$$Carotenoids = 100 (A_{470}) - 3.27 (mg\ chl\ a) – 104 (mg\ chl\ b)/227$$

میزان آنتوسیانین برگ: برای سنجش میزان آنتوسیانین برگ میزان ۰/۰۲ گرم از بافت برگ با چهار میلی‌لیتر محلول اسید کلریدریک یک درصد و متانول در یک هاون چینی ساییده شد و محلول حاصل به‌مدت ۲٤ ساعت در یخچال نگه‌داری شد. سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفیوژ گردید. محلول دو فازی حاصل شد که مواد ته‌نشین شده دور ریخته شد و جذب محلول‌ها در محلول باقی مانده در طول موج‌های ۵۳۰ (A530) و ٦٥٧ (A657) نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان آنتوسیانین (A) برای هر عصاره با استفاده از رابطه زیر اندازه‌گیری گردید (Mita et al., 1997).

$$A = A530 – (0.25 \times A657)$$

سنجش میزان پرولین: برای اندازه‌گیری پرولین آزاد برگ از روش (Bates et al., 1973) استفاده شد. میزان ۰/۰۵ گرم از بافت تازه برگ درون هاون قرار داده شد و چهار سی سی اسیدسولفوریک شش درصد به آن اضافه و کوبیده شد. سپس سانتریفیوژ گردید تا دو فاز ایجاد شود و فاز بالایی جدا و دو سی سی اسید گلاسیال استیک و دو سی سی از محلول ناین هیدرین مخلوط شد و محلول آماده شده درون حمام بن ماری به مدت نیم ساعت با دمای ۹۰ درجه قرار داده شد. پس از آن به لوله‌های سرد شده میزان چهار سی‌سی تولوئن اضافه شد و نمونه‌ها خوب تکان داده شد تا دو فاز ایجاد شود. فاز رویی برداشته و درون کووت اسپکتروفتومتر قرار داده شد، سپس نمونه‌ها درون دستگاه با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. ضمنا بلنک دستگاه نیز ماده تولوئن بود.

سنجش میزان فنل: برای عصاره‌گیری از نمونه میوه تازه گیاه استفاده شد. به این صورت که میزان سه گرم از پوست و پالپ میوه گیاه را در هاون کوبیده و به آن ۱۰ سی سی متانول ۸۰ درصد اضافه شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۵۰۰۰ سانتریفیوژ شده تا دوفازی گردد و فاز رویی جمع‌آوری شد.

جهت اندازه‌گیری محتوای فنل کل به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاه، دو میلی‌لیتر سدیم کربنات دو درصد، ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میلی‌لیتر معرف فولین سیکالچو (۵۰ درصد) اضافه گردید. روش فولین سیکالچو متداولترین روش اندازه‌گیری فنل است. در این روش احیا معرف فولین توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ اساس کار است. نمونه‌ها در مرحله بعد به‌مدت نیم ساعت در تاریکی نگه‌داری شدند و جذب آنها در طول موج ۷۲۰ نانومتر خوانده شد. گالیک اسید به‌عنوان استاندارد فنل برای رسم منحنی استاندارد به‌کار رفت. محتوای فنل کل براساس میلی گرم معادل گالیک اسید بر گرم وزن تر گیاه محاسبه شد (Meda at al., 2005)

سنجش میزان بتاکاروتن: این آزمایش براساس روش آمارویچز (Amarowicz et al., 2004) شد. برای انجام آزمایش ابتدا یک محلول پایه از بتاکاروتن-لینولئیک اسید بدین صورت تهیه گردید: پنج میلی‌گرم از بتاکاروتن در ۱۰ میلی‌لیتر کلروفرم حل شد، ٦۰۰ میکرولیتر از محلول تهیه شده به مخلوط ٤۰ میلی‌گرم لینولئیک اسید و ٤۰۰ میلی‌گرم توئین ٤۰ اضافه شد. سپس با روش تبخیر در خلا کلروفرم جدا گردید و ۱۰۰ میلی‌لیتر آب اکسیژنه به آن اضافه و شدیدا هم زده شد. پنج میلی لیتر از امولسیون تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل و ۲۰۰ میکرولیتر از هر عصاره (غلظت ppm ۱۰۰۰) به لوله آزمایش اضافه گردید. تمامی این مراحل در مورد TBHQ (غلظت ppm ۱۰۰) به‌عنوان آنتی اکسیدان استاندارد و شاهد (محلول بتاکاروتن تهیه شده به‌علاوه‌ی حلال‌های مربوطه) انجام شد. جذب نوری نمونه‌ها با اسپکتروفتومتر در ٤۷۰ نانومتر در زمان صفر و

همچنین بعد از ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری در دمای اتاق قرائت شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره به عنوان درصد بازداری بیان می‌شود.

$$\%I = [1-(As\ (24) - As\ (0)) / (Ac\ (24) - Ac\ (0))] \times 100$$

As (24): جذب نمونه بعد از ۲٤ ساعت، As (0) : جذب نمونه در زمان شروع، Ac (24): جذب کنترل بعد از ۲٤ ساعت، Ac (0): جذب کنترل در زمان شروع، I%: درصد بازدارندگی

سنجش میزان لیکوپن: به منظور استخراج رنگدانه‌ی لیکوپن، یک گرم از پودر میوه عروسک پشت پرده وزن گردید و به آن هشت میلی‌لیتر ان- هگزان، چهار میلی‌لیتر اتانول و چهار میلی‌لیتر استون (حاوی پنج میلی‌لیتر بوتیل هیدروکسی تولوئن ۰/۰۵ درصد) اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه مخلوط شد. سپس نمونه‌ها وارد قیف تفکیک کننده شدند. رنگدانه استخراجی سه مرتبه با پنج میلی‌لیتر آب مقطر شسته شد. قیف تفکیک کننده به آرامی تکان داده شده و به مدت ۳۰ ثانیه در هر بار شستشو، برگردانده شد. در هر نوبت، فاز رویی برداشته شد و فاز پایینی دور ریخته شد. سپس در مرحله سوم شست و شو فاز رویی که حاوی لیکوپن بود برای خواندن در طول موج ٤۷۲ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفت. عدد خوانده شده توسط دستگاه در رابطه زیر قرار گرفت و میزان لیکوپن با استفاده از ضریب خاموشی ویژه لیکوپن در ان- هگزان محاسبه شد (Montesano et al., 2008).

$$C\ (mg/g) = 1000 \times A_{\lambda max} \times V/E_{\%1\times1} \times W$$

C = میزان لیکوپن به ملی گرم در گرم، $A_{\lambda max}$ = میزان جذب در حداکثر طول موج جذب، V = حجم نمونه (عصاره) ، $E_{\%1\times1}$ = ضریب خاموشی ویژه لیکوپن کل برای محلول ۱٪ در سلول یک سانتی‌متری و W = وزن نمونه.

سنجش میزان اسید آسکوربیک: جهت اندازه‌گیری اسید آسکوربیک از روش تیتراسیون استفاده شد (William, 1975). به این صورت‌که دو میلی‌لیتر از آب میوه صاف شده را با دو میلی‌لیتر از محلول پایدار کننده تری کلرواستیک اسید مخلوط کرده و سپس به وسیله‌ی معرف ایندوفنل و با استفاده از همزن مغناطیسی عمل تیتراسیون را تا زمان تغییر رنگ پایدار به رنگ صورتی ادامه یافت و بر اساس حجم ایندوفنل مصرفی در نمونه و استاندارد اسید آسکوربیک (تولید شرکت مرک)، میزان اسید آسکوربیک اندازه گیری شد و نتایج به صورت میلی گرم بر گرم وزن تر بیان گردید.

سنجش میزان آلکالوئید: میزان آلکالوئید کل از بافت‌های گیاهی خشک شده براساس ماده کلیدونین اندازه‌گیری شد (Iranian Herbal PharmacoPeia, 2002).

تجزیه آماری داده‌ها

برای تجزیه واریانس داده‌های آزمایش بر اساس طرح آزمایشی آن از نرم افزار SAS-V9.4 و همچنین برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

جدول ۱: اطلاعات هواشناسی نزدیک‌ترین ایستگاه هواشناسی به منطقه آزمایش

مکان	میانگین دمای سالانه (°C)	میانگین حداقل دمای سالانه (°C)	میانگین حداکثر دمای سالانه (°C)	میانگین رطوبت نسبی سالانه (٪)	میانگین حداقل رطوبت‌نسبی سالانه (٪)	میانگین حداکثر رطوبت‌نسبی سالانه (٪)	بارندگی کل سالانه (mm)	تبخیر سالانه (mm)	روزهای آفتابی
کرج	۱٤/٤	۸	۲۰/۸	٤۹/۹٥	۳۱	٦۸/۹	۳۷۲/۲	۲۱۸٤	۲۸۹۹

جدول ۲: مشخصات خاک محل اجرای آزمایش

بافت	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی (dS/M)	فسفر (mg/Kg)	پتاسیم (mg/Kg)	نیتروژن (٪)	ماده آلی (٪)
لوم –شنی	۸/۱۱	۲/٤۲	۸/٥٦	۲٥۷	۰/۰۷	۰/۰۷

جدول ۳: تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر محلول‌پاشی اسیدهای آمینه بر صفات فتوشیمیایی عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi* L.)

منابع تغییرات	درجه آزادی	کاروتنوئید	آنتوسیانین	پرولین	فنل	بتاکاروتن	لیکوپن	اسیدآسکوربیک	آلکالوئید
تکرار	۲	۳/۷۱	۰/۳۸	۰/٤	٦/۲۸	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۱	۰/٥۳
تیمار	٤	۱۰/۳٤***	۱/٥٥**	۰/۳۷***	۱۰۳/۳۸***	۰/۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۰۱**	۲/٦۱**	٦۹۲/۱۱**
خطا	۸	۰/٥۱	۰/۱۳	۰/۲	۰/٥۸	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۱	۱/۷٦	٦٤/۰٤
ضریب تغییرات		۷/۲٥	۳/۱۹	٤/٥۸	۳/۳۸	۷/۸۲	۷/٦۸	٦/٦۲	۱٤/٥۸

** و *** به ترتیب معنی‌دار در سطح ۰/۱ و ۰/۰۱

جدول ٤: مقایسه میانگین اثرات محلول‌پاشی اسیدهای آمینه بر صفات فیتوشیمیایی عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi* L.)

تیمار	کاروتنوئید (mg/gfw)	آنتوسیانین (mg/gfw)	پرولین (mg/gfw)	فنل (mg galic acid/gfw)	بتاکاروتن (mg/gfw)	لیکوپن (mg/gfw)
تریپتوفان	۱۰/٤۱^{b}	۱۰/۸٥^{dc}	۰/٦۱^{c}	۱۹/٦٤^{c}	۰/۰۳۱^{ab}	۰/۰۱٦^{ab}
گلایسین	۸/۸۱^{c}	۱۰/۳٥^{d}	۱/٤^{a}	۱۸/٤۷^{c}	۰/۰۲۷^{bc}	۰/۰۱٥^{b}
تیروزین	۸/۳۳^{c}	۱۱/۲^{bc}	۰/٥۳^{c}	۱۸/۸٤^{c}	۰/۰۲٥^{c}	۰/۰۱۲^{c}
آرژنین	۱۲/۸۳^{a}	۱۱/٥٥^{b}	۱^{b}	۲۳/٦٤^{b}	۰/۰۳٥^{a}	۰/۰۱۷^{a}
شاهد	۸/۷٥^{c}	۱۲/۲٥^{a}	۱/۰۲^{b}	۳۲/٤٤^{a}	۰/۰۲۷^{bc}	۰/۰۱٤^{bc}

نتایج

کاروتنوئید: نتایج نشان داد که محلول‌پاشی اسیدهای آمینه بر میزان کارتنوئید تاثیر معنی‌داری ($p\leq 0.01$) داشته است (جدول ۳) و بیشترین میزان کارتنوئید مربوط به تیمار آرژنین با ۱۲/۸۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ است و کمترین میزان کاروتنوئید از تیمار تیروزین به میزان ۸/۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ حاصل شد. (جدول ٤).

آنتوسیانین: محلول پاشی اسیدهای آمینه روی میزان آنتوسیانین تاثیر معنی‌داری داشت ($p\leq 0.01$). بیشترین میزان آنتوسیانین مربوط به تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی) به میزان ۱۲/۲٥ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ و کمترین میزان آن مربوط به تیمار گلایسین به میزان ۱۰/۳٥ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک برگ بود (جدول ٤).

پرولین: تجزیه واریانس داده‌های مربوطه نشان داد که پرولین به‌طور معنی‌داری ($p\leq0.01$). تحت تاثیر محلول‌پاشی قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین صفات نشان داد که، بیشترین میزان پرولین از تیمار گلایسین (۱/٤ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) به‌دست آمد و کمترین میزان پرولین مربوط به تیمار تیروزین (۰/۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) بود. نتایج نشان داد که مصرف گلایسین منجر به افزایش ٦۲/۱٤ درصدی پرولین نسبت به تیمار تیروزین شد (جدول ٤).

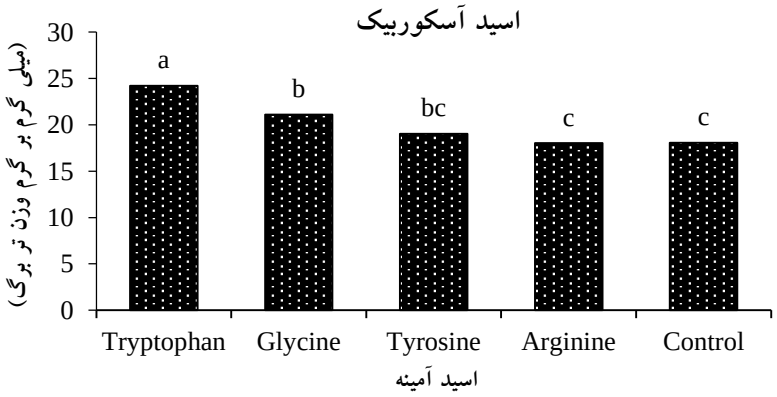
فنل: همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود میزان فنل به‌طوری معنی‌داری ($p\leq 0.01$) تحت تاثیر محلول‌پاشی قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیشترین میزان فنل در تیمار شاهد (عدم محلول پاشی) به میزان ۳۲/٤٤ (میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) و کمترین میزان فنل در تیمار گلایسین به میزان ۱۸/٤۷ (میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک) حاصل شد (جدول ٤).

بتاکاروتن: نتایج نشان داد که بتاکاروتن به‌طور معنی‌داری ($p\leq 0.01$) تحت تاثیر محلوپاشی قرار گرفت (جدول ۳). مقایسات میانگین نشان داد که بیشترین میانگین بتاکاروتن با ۰/۰۳۵ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) متعلق به محلول‌پاشی آرژنین بود و کمترین میانگین با ۰/۰۲۵ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) مربوط به تیروزین بود (جدول ٤).

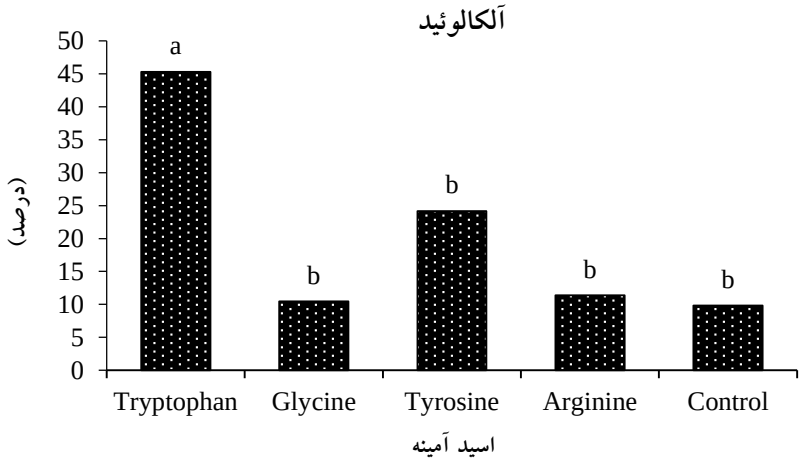
لیکوپن: اثر محلول پاشی بر میزان لیکوپن در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۳). بیشترین میزان لیکوپن در تیمار آرژنین به میزان ۰/۰۱۷ (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و کمترین میزان لیکوپن مربوط به تیمار تیروزین با ۰/۰۱۲ (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) حاصل شد (جدول ٤).

اسید آسکوربیک: همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود میزان اسید آسکوربیک به‌طوری معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) تحت تاثیر محلول‌پاشی قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها (شکل ۱) نشان داد که در تیمار محلول‌پاشی بیشترین میزان اسید آسکوربیک از تریپتوفان (۲٤/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و کمترین میزان از تیمار آرژنین (۱۸/۰۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) حاصل شد.

آلکالوئید: تجزیه واریانس داده‌های مربوطه نشان داد که میزان آلکالوئید به‌طور معنی‌داری ($p \leq 0.01$) تحت تاثیر محلول‌پاشی اسیدهای آمینه قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین صفات نشان داد که، از محلول‌پاشی اسید آمینه تریپتوفان (٤۲/۲۵ درصد) بیشترین میزان آلکالوئید و از شاهد (عدم محلول‌پاشی) کمترین میزان آلکالوئید (۹/۸۵ درصد) حاصل شد، که اختلاف ۷٦/۷ درصدی بین بیشترین و کمتری سطح آماری مشاهده گردید (جدول ۲).



شکل ۱: اثر محلول‌پاشی اسید آمینه روی محتوای اسید آسکوربیک



شکل ۲: اثر محلول‌پاشی اسید آمینه روی محتوای آلکالوئید

بحث

اسیدهای آمینه در گیاهان با ممانعت از ساخت آنزیم‌های ضروری برای تولید اتیلن در کمک به ساخت رنگیزه‌های گیاهی نقش اساسی ایفا می‌کنند. همچنین، علت جلوگیری از تخریب رنگیزه‌های گیاهی توسط اسیدهای آمینه ممکن است به دلیل مهار فعالیت آنزیم پراکسیداز باشد که اثر خود را از طریق کاهش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک، بر غشای تیلاکوئید کلروپلاست می‌گذارند و از تخریب رنگیزه‌های گیاهی به وسیله گونه‌های فعال اکسیژن ممانعت می‌کنند (Sokouh et al., 2018). اسید آمینه آرژنین دارای بیشترین نسبت C/N است که این ویژگی موجب تمایز این آمینواسید به‌عنوان مخزن نیتروژن آلی شده است. هم‌چنین آرژنین از اسیدهای آمینه اساسی در فرآیند به‌وجود آمدن رنگیزه‌های گیاهی می‌باشد. به همین علت این اسید آمینه سبب افزایش معنی‌دار کارتنوئید و بتاکاروتن در این پژوهش شده است (Abaspour et al., 2019). میری و همکاران (۲۰۱۵) تاثیر محرک‌های زیستی را بر گیاه آویشن بررسی کردند نتایج نشان داد که کاربرد این محرک‌ها موجب افزایش وزن تر و خشک بوته، عملکرد اسانس، میزان کلروفیل a و کاروتنوئید شد (Miri et al., 2015).

به نظر می‌رسد که نقش اسیدهای آمینه در افزایش عملکرد کمی و کیفی گیاهان به علت اثر آنتی‌اکسیدانی، کمک به تعادل یونی و افزایش دسترسی به نیتروژن بوده است (Siahmansour et al., 2020). شئوکند و همکاران (Sheokand et al., 2008) در پژوهشی که روی نخود داشتند بیان کردند که تاثیر آرژنین و پرولین روی محصولات متابولیسمی فتوسنتز می‌تواند موجب اثر معنی‌دار روی رنگیزه‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه شود.

علت افزایش تولید پرولین با استفاده از گلایسین در این پژوهش احتمالا به این علت است که، سنتز پرولین در گیاه به وسیله گلوکز شروع می‌شود، اسید آمینه گلایسین نیز در ابتدای مسیر چرخه گلوکز می‌باشد، در صورتی که پرولین در انتهای چرخه تولید اسیدهای آمینه می‌باشد. بنابراین با محلول‌پاشی گلایسین، مسیر تولید اسیدهای آمینه به جای گلایسین به سمت تولید اسیدهای آمینه دیگری نظیر پرولین تغییر می‌کند (Rezaie Alulu et al., 2019).

پورسلطان و همکاران (Poursoltan et al., 2017) گزارش کردند که مصرف اسیدهای آمینه سبب افزایش میزان پرولین در گیاه گوجه فرنگی شد. همچنین کایا و همکاران (Kaya et al., 2007) در پژوهشی روی خربزه گزارش کردند با محلول‌پاشی اسید آمینه پرولین، میزان پرولین در برگ گیاه نیز به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد.

مشخص شده است کاربرد اسیدهای آمینه روی متابولیسم ترکیبات فنلی گیاه تاثیر گذار است. ترکیب های فنلی انتشار وسیعی در گیاهان دارند و فعالیت بیولوژیک متنوع این ترکیب‌ها از جمله اثر آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضدالتهابی آنها گزارش شده است (Porto et al., 2015). امین و همکاران (Amin et al., 2011) گزارش کردند در پژوهشی که روی گیاه پیاز داشتند محلول‌پاشی اسیدهای آمینه پوتریسین و گلوتامین و ترکیب آنها موجب افزایش محتوای کل قند، اسیدهای آمینه آزاد، ترکیبات فنلی و گوگردی در پیازهای خشک پیاز شد. همچنین عبدالواحد و همکاران (Abd El-Wahed et al., 2005) بیان داشتند مصرف اسیدهای آمینه به طور قابل توجهی محتوای قند کل و ترکیبات فنلی را در بابونه افزایش داد اما موجب کاهش اسیدهای آمینه آزاد کل شد.

اسیدهای آمینه ترکیب‌های نیتروژن‌دار هستند که در ساخت پروتئین‌ها مشارکت دارند که در رشد سلول‌ها دخیل هستند. همچنین، آن‌ها در حفظ اسیدیته مطلوب سلول‌های گیاهی نقش اساسی ایفا می‌کنند، زیرا هم دارای گروه‌های اسیدی و هم گروه‌های قلیایی هستند (Gendy and Nosir, 2016). در ضمن اسیدهای آمینه، نقش تغذیه‌ای مهم و سریعی در برطرف کردن نیازهای گیاهان ایفا می‌کنند به همین علت موجب افزایش سطح برگ، محتوای کلروفیل و رنگدانه‌های گیاهی می‌شوند و زمینه بهبود کمی و کیفی محصولات گیاهی را فراهم می‌آورند (Radkowski, 2018). گراسیا و همکاران (Garcia et al., 2011) نشان دادند که اسیدهای آمینه بر مواد معدنی برگ و رنگیزه‌های گیاه گوجه فرنگی موثر بود. اسیدهای آمینه در ساختار گیاهی با جلوگیری از تولید آنزیم‌های ضروری برای سنتز اتیلن در بهبود فرآیندهای ساخت رنگیزه‌ها نقش دارند (Tang and Newton, 2005). یوآن و لین (Yuan and Lin, 2008) گزارش کردند که پیش‌تیمار گیاه برنج با پرولین و آرژنین موجب افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی و مقابله با اثرات مخرب تنش شوری شده است.

اسیدهای آمینه نقش مهمی در سنتز سایر ترکیبات آلی مانند پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، پورین‌ها، آمین‌ها، پیریمیدین‌ها، آلکالوئیدها و ویتامین‌ها دارند (Tajik and Danaee, 2016). اسید آسکوربیک (ویتامین سی) یکی از آنتی‌اکسیدان‌های مهم در گیاهان است. اسید آسکوربیک در غشاء داخلی میتوکندری ساخته می‌شود و موجب محافظت از بافت‌های گیاه در مقابل گونه‌های آزاد اکسیژن می‌شود (Abdossi and Danaee, 2019).

مصرف اسیدهای آمینه به شکل محلول‌پاشی برگی موجب کاهش تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود، که سبب کاهش تخریب بافت‌های گیاهی به‌وسیله رادیکال‌های آزاد می‌شود. احتمالا علت افزایش اسید آسکوربیک که یک آنتی اکسیدان مهم در گونه‌های گیاهی است؛ در این پژوهش نیز همین امر می‌باشد. محلول‌پاشی برگی اسیدهای آمینه با کاهش فعالیت رادیکال‌های آزاد، موجب افزایش تولید اسید آسکوربیک شده است (Danaee and Abdossi, 2019).

وهبا و همکاران (Wahba et al., 2015) گزارش کردند که استفاده از اشکال مختلف اسید آمینه به‌طور

قابل توجهی پارامترهای ارتفاع گیاه، تعداد شاخه‌ها، وزن خشک و تر گیاه و عملکرد دانه و همچنین ترکیبات شیمیایی (میزان کل، محتوای اسیدهای چرب و مشتقات کافئیک اسید) را در گیاه گزنه بهبود می‌بخشند. بیشترین اثربخشی با استفاده از غلظت ۱۰۰ppm تریپتوفان به‌دست آمد.

تریپتوفان به‌عنوان پیش ماده‌ی طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه نظیر آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و تعداد زیادی از مواد موثره دیگر در سلول‌های گیاهی مورد استفاده است. احتمالا علت افزایش آلکالوئیدها در این پژوهش را می‌توان به این موضوع نسبت داد (Sanikhani et al., 2020).

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طورکلی نتایج نشان داد که بیشترین میزان کاروتنوئید، بتاکاروتن و لیکوپن از محلول‌پاشی اسید آمینه آرژنین، بیشترین میزان صفات اسید آسکوربیک و آلکالوئید از محلول‌پاشی تریپتوفان، بیشترین میزان پرولین از محلولپاشی تیروزین و بیشترین میزان فنل از تیمار شاهد (عدم محلول‌پاشی) به‌دست آمد. در مجموع نتایج حاصل از این آزمایش بیان‌گر بهبود شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه عروسک پشت پرده بطور معنی‌داری تحت تاثیر محلول‌پاشی اسیدهای آمینه قرار گرفته‌است و با کاربرد اسیدهای آمینه می‌توان در راستای افزایش عملکرد کیفی گیاه گام برداشت.

سپاسگزاری

از تمامی همکاران دانشگاه صنعتی شاهرود و پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی که در اجرای این تحقیق همکاری نموده‌اند، تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Abd El-Wahed, M., Karima, M. and Gamal-El-Din, M. 2005. Effect of putrescine and atonik on growth and some biochemical constituents as well as essential oil composition of chamomile plant (*Chamomilla recutita* L., Rausch.). Journal of Agriculture Science Mansoura University, 30(2): 869-882.
2. Abaspour Esfaden, M., Kallaterjari, S. and Fatehi, F. 2019. The effect of salicylic acid and L-arginine on morpho-physiological properties and leaf nutrients of *Catharanthus roseus* under Drought Stress. Journal of Horticultural Science, 33(3): 417-432.
3. Abdossi, V. and Danaee, E. 2019. Effects of some amino acids and organic acids on enzymatic activity and longevity of *Dianthus caryophyllus* cv. tessino at pre-harvest stage. Journal of Ornamental Plants, 9(2): 93-104.
4. Amarowicz, R., Pegg, R., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. and Weil, J. 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food chemistry, 84(4): 551-562.
5. Amin, A., Gharib, F.A., El-Awadi M. and Rashad, E.S.M. 2011. Physiological response of onion plants to foliar application of putrescine and glutamine. Scientia horticulturae, 129(3): 353-360.
6. Aminifard, M., Gholami, M., Bayat, H. and Moradinezhad, F. 2020. Effect of fulvic acid and amino acid application on physiological characteristics, growth and yield of coriander (*Coriandrum sativum* L.) as a medicinalplant. Journal of Agroecology, 12(3): 373-388.
7. Bates, L.S., Waldren R.P. and Teare, I. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 39(1): 205-207.
8. Calvo, P., Nelson, L. and Kloepper, J.W. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. Plant and soil, 383(1-2): 3-41.
9. Horwitz, W., Chichilo, P. and Reynolds,

H. 1970. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists Washington, DC.
10. Danaee, E. and Abdossi, V. 2019. Phytochemical and morphophysiological responses in basil (*Ocimum basilicum* L.) plant to application of polyamines. Journal of Medicinal Plants, 18 (69):125-133.
11. Davies, P.J. 2010. The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. Plant hormones, Springer: 1-15.
12. El-Shabasi, M., Mohamed S. and Mahfouz, S. 2005. Effect of foliar spray with amino acids on growth, yield and chemical composition of garlic plants. The sixth Arabian Conference for Horticulture, Ismailia, Egypt.
13. Garcia, A., Madrid, R. Gimeno, V., Ortega, W.R., Nicolás, N. and Sánchez, F.G. 2011. The effects of amino acids fertilization incorporated to the nutrient solution on mineral composition and growth in tomato seedlings. Spanish Journal of Agricultural Research, (3): 852-861.
14. Gendy, A.S. and Nosir, W.S. 2016. Improving productivity and chemical constituents of Roselle plant (*Hibiscus sabdariffa* L.) as affected by phenylalanine, L-tryptophan and peptone acids foliar application. Middle East Journal of Agriculture, 5(4): 701-708.
15. Hakimi, L., Naiebzadeh, M. and Khaligi, A. 2019. Investigating the effect of glycine betaine and humi-forthi on morpho-physiological and biochemical properties *Pelargonium graveolens* under water stress. Journal of Plant Production Research, 26(3): 37-56.
16. Hojagan, M.P., Arooie, H., Tabatabaei S.J. and Neamati, S.H. 2017. Effect of amino acids foliar spraying on growth and physiological indices of tomato under salt stress conditions. Agroecology Journal, 13(3): 41-50.
17. Kahlel, A.-M.S. and Sultan, F.I. 2019. Response of four potato cultivars to soil application with organic and amino acid compounds." Research on Crops, 20(1): 101-108.
18. Kaya, C., Tuna, A.L., Ashraf, M. and Altunlu, H. 2007. Improved salt tolerance of melon (*Cucumis melo* L.) by the addition of proline and potassium nitrate. Environmental and Experimental Botany, 60(3): 397-403.
19. Kheiri, A. and Arghavani, M. 2019. Biofertilizers effects on quality and quantity characteristics of winter cherry (*Physalis alkekengi* L.) medicinal plant, 8(29): 273-286.
20. Liang, Z., Ma, Y., Xu, T., Cui, B., Liu, Y., Guo, Z., and Yang, D. 2013. Effects of abscisic acid, gibberellin, ethylene and their interactions on production of phenolic acids in *Salvia miltiorrhiza* Bunge hairy roots. PloS one, 8(9): e72806.
21. Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in enzymology, Elsevier, 148: 350-382.
22. Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in burkina fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food chemistry, 91(3): 571-577.
23. Miri, S.M., Ahmadi, S., and Moradi, P. 2015. Influence of salicylic acid and citric acid on the growth, biochemical characteristics and essential oil content of thyme (*Thymus vulgaris* L.). Journal of medicinal plants and by products. 4(2):141-146.
24. Mita, S., Murano, N., Akaike, M. and Nakamura, K. 1997. Mutants of arabidopsis thaliana with pleiotropic effects on the expression of the gene for β-amylase and on the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars. The Plant Journal, 11(4): 841-851.
25. Montesano, D., Fallarino, F., Cossignani, L., Bosi, A., Simonetti, M.S., Puccetti, P. and Damiani, P. 2008. Innovative extraction procedure for obtaining high pure lycopene from tomato. European Food Research and Technology, 226(3): 327.
26. Nahed, G.A.A., Lobna, S.T., and Soad, M.I. 2009. Some studies on the effect of putrescine, ascorbic acid and thiamine on growth, flowering and some chemical

constituents of gladiolus plants at Nubaria. Ozean Journal of Applied Science, 2(2): 169-179.
27. Pharmacopeia, I.H. 2002. Isfand 1381, Project.
28. Portu, J., López-Alfaro, I., Gómez-Alonso, S., López, R. and Garde-Cerdán, T. 2015. Changes on grape phenolic composition induced by grapevine foliar applications of phenylalanine and urea. Food chemistry, 180: 171-180.
29. Poursoltan Hojagan, M., Arouiee, H., Tabatabaei, S.J. and Nemati, S.H. 2017. Priming impacts on seed quality of tomato (*Lycopersicon esculentum*) under salinity condition. International Journal of Agronomy and Agricultural Research, 11(3): 104-109.
30. Radkowski, A. 2018. Influence of foliar fertilization with amino acid preparations on morphological traits and seed yield of timothy." Plant, Soil and Environment, 64(5): 209-213.
31. Refaat, A. and Naguib, N. 1998. Peppermint yield and oil quality as affected by application of some amino acids. Bulletin-Faculty of Agriculture University of Cario, 49: 89-98.
32. Rezaie Alulu, A., Kheiry, A., Sanikhani, M., and Arghavani, M. 2019. Effect of salicylic acid and glycine betaine foliar application on morpho-physiological characteristics of carla (*Momordica charantia* L.) under water deficit stress. Journal of Agricultural Science and Sustainable Production, 29(1): 223-235.
33. Sanikhani, M., Akbari, A., and Kheiry, A. 2020. Effect of phenylalanine and tryptophan on morphological and physiological characteristics in colocynth (*Citrullus colocynthis* L.). Journal of Plant Process and Function, 9 (35): 317-328.
34. Shehata, S., Abdel-Azem, H.S., Abou El-Yazied, A., and El-Gizawy, A. 2011. Effect of foliar spraying with amino acids and seaweed extract on growth chemical constitutes, yield and its quality of celeriac plant. European Journal of Scientific Research, 58(2): 257-265.
35. Sheokand, S., Kumari, A., and Sawhney, V. 2008. Effect of nitric oxide and putrescine on antioxidative responses under NaCl stress in chickpea plants. Physiology and Molecular Biology of Plants, 14(4): 355-362.
36. Shokouh, A.R., Mehrafarin, A., Abdossi, V. and Naghdi Badi, H. 2018. Morpho-physiological and biochemical responses of bladder cherry (*Physalis alkekengi* L.) induced by multienzymatic biostimulant, IBA, and citric acid. Folia Horticulturae, 30(1): 79-92.
37. Siahmansour, S., Ehtesham-Nia, A., and Rezaeinejad, A. 2020. Effect of salicylic acid foliar application on Morpho-physiological and biochemical traits of Goldenberry (*Physalis peruviana* L.) under salinity stress condition. Journal of Plant Production Research, 27(1): pp.165-178.
38. Taiz, L., and Zeiger, E. 1991. Plant physiology. Benjamin/Cummings series in the life sciences (USA).
39. Tajik, N., and Danaee, E. 2016. Study the effect of spraying pre-harvest glotamin, arginine and phenylalanine on some physicochemical and enzymatic traits and longevity gerbera jamesonii flower cv. Sorbet Cellular and Molecular Plant Biology Journal, 8(3): 4.
40. Tang, W., and Newton, R.J. 2005. Polyamines reduce salt-induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in virginia pine. Plant Growth Regulation, 46(1): 31-43.
41. Wahba, H., Motawe, H., and Ibrahim, A. 2015. Growth and chemical composition of *Urtica pilulifera* L. plant as influenced by foliar application of some amino acids. Journal of Materials and Environment Science, 6(2): 499-506.
42. Yuan, S. and Lin, H.H. 2008. Minireview: role of salicylic acid in plant abiotic stress. Zeitschrift für Naturforschung C, 63(5-6): 313-320.

Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants, 9th Year, Volume Two, Summer 2021

Evaluation of Effect of Foliar Application of Various Amino acids on the Bochemical Responses of *Physalis alkekengi* L.

Saremi, S.[1*], Gholipoor, M.[2], Abbasdokht, H.[2], Naghdi Badi, H.[3], Mehrafarin, A.[4], Asghari, H.R.[2]

[1]phD student, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
[2]Associate professor, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood, Iran
[3]Associate professor, Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran
[4]Assistant professor, Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran

Received: 26-11-2020 Accepted: 10-4-2021

Abstract

Biostimulants originate from natural and biological sources and in addition to improving plant growth and soil yield, they can protect plants from environmental stresses and stimulate the synthesis of secondary metabolites involved in plant defense mechanism. In this study, to study the effect of foliar application of various amino acids on the biochemical responses of *Physalis alkekengi* L. an experiment in the form of randomized complete block design with 3 replications in the farm of research Institute of Medicinal Plants of jahad University in Karaj was conducted in the cropping year of 2018-19.Treatments at five levels of amino acid foliar application including {control (A0), tryptophan (1 mg/L) (A_1), glycine (1 mg/L) (A_2), tyrosine (1 mg/L) (A_3) and arginine (1 mg/L) (A_4) were administered. Measured variables included: carotenoids, anthocyanins, proline, phenol, beta-carotene, lycopene, ascorbic acid, and alkaloids. The dimensions of the plots were 3×3 m, the distance between each plot was considered to be one meter. Planting operations were done manually in May 2017. The distance between the plants on the culture lines was 25 cm and the distance between the culture lines was 60 cm. Foliar spraying on plants began before flowering. At the time of sampling, three replicates were taken from each treatment and three samples were taken from each replication. Chlorophyll and carotenoids by Lichtenthaler method, anthocyanin by Mita method, proline by Bates method, phenol by Meda method, beta-carotene by Amarowicz method, lycopene by Montesano method, ascorbic acid by titration method, and alkaloid by Iranian Herbal Pharmacopeia method, were measured. The results showed that foliar application of amino acids had a significant effect ($p \leq 0.01$) on all evaluated traits and the highest amounts of carotenoids (12.83 mg/gfw), beta-carotene (0.035 mg/gfw), and lycopene (0.017 mg/gfw) from arginine foliar application, highest ascorbic acid (24.2 mg/gfw) and alkaloids (42.25%) from tryptophan foliar application, highest proline (1.4 mg/gfw) Glycine and the highest levels of anthocyanin (12.25 mg/gdw) and phenol (32.44 mg/gfw) were obtained from the control treatment (no foliar application). In general, the results showed that foliar application of amino acids as a biological stimulant had a positive effect on improving the quality characteristics of the *Physalis alkekengi* L and increased the production of biochemical compounds of the plant.

Keywords: Alkaloid, Amino acid, Ascorbic acid, Carotenoid, Phenol, *physalis alkekengi* L.

*Corresponding author; siroussaremi@yahoo.com