

## اثر بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک بر غلظت عناصر و صفات مورفوفیزیولوژی گل انگشتانه ارغوانی (*Digitalis purpurea* L.) یک‌ساله و دوساله

افسون رضایی علولو<sup>۱</sup>، عزیز اله خیری<sup>۱\*</sup>، محسن ثانی‌خانی<sup>۱</sup> و ملیحه یعقوبی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

<sup>۲</sup> گروه مهندسی شیمی، دانشکده مهندسی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۰۸)

### چکیده

به‌منظور بررسی تأثیر محلول‌پاشی سطوح مختلف بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک بر غلظت عناصر و برخی خصوصیات فیزیولوژیک گل انگشتانه ارغوانی در گیاهان یک‌ساله و دوساله، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زنجان اجرا شد. تیمارهای مورد مطالعه شامل اثر سن گیاه (گیاهان یک‌ساله و گیاهان دوساله) به‌عنوان فاکتور اصلی، دو سطح بنزیل آدنین (۰/۵ و ۱ میلی‌مولار) و دو سطح اسید گلوتامیک (۱ و ۲ میلی‌مولار) به‌همراه تیمار شاهد (بدون محلول‌پاشی) به‌عنوان فاکتور فرعی به‌کار برده شدند. نتایج نشان داد که، بیشترین مقدار نیتروژن کل (۱/۷۰ درصد)، فسفر (۰/۰۸ درصد) و پرولین (۳/۸۶ میلی‌گرم بر گرم) در گیاهان یک‌ساله و بیشترین مقدار منیزیم برگ (۰/۶۴ میکروگرم بر کیلوگرم) و قند محلول (۶۳/۲۶ میلی‌گرم بر گرم) در گیاهان دوساله و تحت محلول‌پاشی بنزیل آدنین ۱ میلی‌مولار حاصل شد. حداکثر مقدار عناصر پتاسیم (۱/۹۰ درصد)، کلسیم (۲/۹۲ درصد) و آهن (۱۵۲/۲۱ میکروگرم بر کیلوگرم) در گیاهان دوساله و تحت تیمار بنزیل آدنین ۰/۵ میلی‌مولار به‌دست آمد. کمترین مقدار نشت یونی برگ‌ها (۱۶/۳۱ درصد) و بیشترین مقدار محتوای نسبی آب (۸۹/۶۱ درصد) با کاربرد برگی اسید گلوتامیک ۲ میلی‌مولار در گیاهان یک‌ساله، و بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (۴/۱۵ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و پراکسیداز (۱/۶۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) با کاربرد برگی اسید گلوتامیک ۱ میلی‌مولار در گیاهان دوساله حاصل شد. بیشترین مقدار وزن تر برگ (۱۲۳/۵۱ گرم) و وزن خشک برگ (۴۷/۹۳ گرم) در گیاهان یک‌ساله و با کاربرد برگی اسید گلوتامیک ۱ میلی‌مولار به‌دست آمد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، کاربرد سطوح مختلف بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک جهت بهبود جذب عناصر و نیز بهبود خصوصیات مورفوفیزیولوژیک گیاه گل انگشتانه ارغوانی پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: بنزیل آدنین، دیگوکسین، فسفر، نیتروژن، منیزیم

### مقدمه

خانواده شامل ۲۰-۱۲ گونه است و گونه‌های مختلف این جنس عموماً یک‌ساله، علفی و گاهی درختچه‌های چندساله هستند. برگ‌های گونه‌های مختلف این جنس، حاوی ترکیبات گلیکوزیدی قلبی هستند که تاکنون ۲۳ نوع مختلف آن در

گل انگشتانه (*Digitalis*, sp) که به‌دلیل شکل خاص گل‌هایش در زبان انگلیسی دستکش روباه نیز نامیده می‌شود، متعلق به خانواده Scrophulariaceae است. جنس *Digitalis* از این

\* نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: kheiry@znu.ac.ir

موجب افزایش طول عمر گل‌ها گردید، که این افزایش طول عمر گل با افزایش میزان کربوهیدرات و پروتئین گلبرگ مرتبط است (فرجی و همکاران، ۱۳۸۹).

اسیدهای آمینه از جمله محرک‌های زیستی هستند که تحت شرایط تنش زیستی و غیرزیستی در گیاهان تولید می‌شوند و با اثر بر افزایش مقاومت به تنش‌های محیطی، افزایش غلظت کلروفیل و در نتیجه اثر بر فتوسنتز بر رشد و عملکرد گیاهان مؤثر واقع می‌شوند. اسید گلوتامیک می‌تواند به‌عنوان عامل اسموتیک سیتوپلاسم در سلول‌های محافظ روزنه بر باز و بسته شدن روزنه‌ها اثرگذار باشد. مطالعات نشان داده‌اند که اسیدهای آمینه به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بر فعالیت‌های فیزیولوژیک، رشد و نمو گیاه مؤثر واقع می‌شوند. علاوه بر این اسیدهای آمینه در بهبود فلور خاک کمک کرده و در نتیجه جذب عناصر را تسهیل می‌کنند (Faten et al., 2010). اسیدهای آمینه در تحریک رشد سلول مهم هستند، آن‌ها در واقع به‌عنوان بافری هستند که در حذف آمونیاک از سلول و همچنین حفظ گیاهان از مسمومیت آمونیاک کمک می‌کند. اسیدهای آمینه به‌عنوان ترکیبات آلی نیتروژنه که واحد سازنده پروتئین‌ها هستند همچنین آن‌ها در بیوسنتز ترکیبات آلی دیگر مانند رنگیزه‌ها، ویتامین‌ها، آلکالوئیدها، آنزیم‌ها، کوآنزیم‌ها، ترپنوئیدها بازهای پورین و پیریمیدین نقش دارند (Taiz and Zaiger, 2006). حدود ۲۰ اسید آمینه مهم بر عملکرد فیزیولوژیکی گیاهان در دوره فعالیت‌های مهم از جمله جوانه‌زنی و گلدهی، توسعه ریشه، پیاز و گل نقش دارند (Calvo et al., 2014). اسیدهای آمینه با جذب سریع و مشارکت در سوخت‌وساز، کمبودها را کاهش می‌دهند (Davies et al., 2005). تیمار گیاه با بونه با فرآورده‌های تجاری شامل اسیدهای آمینه مختلف در غلظت‌های ۱۲۵، ۲۵۰ و ۳۷۰ میلی‌گرم در لیتر به‌طور قابل توجهی ارتفاع گیاه، تعداد شاخه‌ها، مقدار کلروفیل a، میزان پرولین، فنل، به مقدار ناچیز کلروفیل b و کاروتن را افزایش داده است. بالاترین میزان کاروتن، مقادیر a و b در تیمار ۳۷۰ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد (Omer et al., 2013). اسید گلوتامیک یک اسید آمینه

عصاره‌های حاصل از گونه *D. purpurea* شناسایی شده است (Luckner and Wicht, 2000). در میان ترکیبات گلیکوزیدی حاصل از این گیاهان، دیگوکسین و دیجیتوکسین به‌عنوان داروهایی مفید در درمان نارسایی‌های احتقانی قلب استفاده می‌شوند. علاوه بر این، نتایج جدیدترین مطالعات اپیدمیولوژیک، خواص ضدسرطانی این ترکیبات را نیز نشان داده‌اند (Lopez-Lazar, 2007). تولید شیمیایی گلیکوزیدهای قلبی به‌دلیل داشتن ساختار بزرگ و ناپایدار، مستلزم صرف هزینه و زمان زیادی است و لذا این روش تولید، مقرون به‌صرفه نیست و در نتیجه مهم‌ترین منبع تولید این ترکیبات، برگ گونه‌های مختلف جنس *Digitalis* است (Lopez-Lazar, 2007).

سایتوکینین‌ها یکی از مهم‌ترین هورمون‌های گیاهی در تنظیم فرآیندهای رشد و نمو گیاه به‌ویژه تقسیم سلولی، تمایزیابی، افزایش تعداد برگ و تحریک مواد غذایی در گیاهان زینتی هستند (Sakakibara et al., 2006). سایتوکینین‌ها ساخت پروتئین‌های فتوسنتزی را تسریع و باعث توسعه سلول در بعضی بافت‌ها و اندام‌ها می‌شوند. در واقع تسریع رشد توسط سایتوکینین شبیه به افزایش طول سلول ساقه به وسیله اکسین است. اما به‌نظر می‌رسد که سایتوکینین مانند اکسین قابلیت شکل‌پذیری را توسط اسیدی نمودن دیواره سلول افزایش نمی‌دهد. سایتوکینین‌ها همچنین از تخریب کلروفیل جلوگیری، جذب اسیدهای آمینه و نگه‌داری پروتئین‌ها را در گیاه تقویت و با تحریک تقسیم سلولی در گیاهان باعث جلوگیری از پیری می‌شوند (مجیدیان و همکاران، ۱۳۹۰). یافته‌های گزارش شده روی گیاه کروتون تأثیر مثبت این ماده بر افزایش وزن تر ساقه و ریشه و رنگیزه‌های فتوسنتزی را نشان می‌دهد (Soad et al., 2010). بنزیل‌آدنین نقش مهمی در تنظیم فرآیندهای مختلف رشد در گیاهان از جمله جذب مواد مغذی به ویژه پتاسیم، افزایش کارایی فتوسنتز، کنترل و تحریک تقسیم سلولی، کاهش حساسیت به اتیلن، جلوگیری از پیری زودرس برگ‌ها و سنتز پروتئین‌ها دارد (EL-Shazly, 2021). گزارش شده است که کاربرد برگی بنزیل‌آدنین در گل‌های شاخه بریده لیلیوم (*Lilium ledebourii*) رقم Fangio

غیر ضروری و چند منظوره است که نقش مهمی در سیگنالینگ انتقال دهنده عصبی دارد، همچنین پیش ساز سایر اسیدهای آمینه مانند پرولین و آرژینین است (Alharbi et al., 2019). اسید گلوتامیک در انتقال، ذخیره نیتروژن و اساساً در گرده افشانی، تشکیل میوه و در سنتز اکسین نقش دارد، همچنین پیش ساز مشترک برای کلروفیل و پرولین است (Yu et al., 2010). در بررسی که بر روی گیاه کرچک هندی (*Crataegus pinnatifida*) انجام گرفت، مشخص شد که تیمار ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر اسید گلوتامیک، تأثیر افزایشی در مقدار نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کربوهیدرات کل نشان داد (Mazher et al., 2011). همچنین در یک تحقیق روی گیاه گزنه (*Urtica pilulifera* L. محلول پاشی غلظت های (صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم بر لیتر) به طور معنی داری ارتفاع بوته، تعداد شاخه، وزن تر و خشک گیاه، عملکرد دانه و همچنین ترکیبات شیمیایی مانند کربوهیدرات کل و مشتقات اسید کافئیک را در گیاه و بذر آن افزایش داد (Wahba et al., 2015).

با توجه به این که گل انگشتانه ارغوانی یک گیاه چندساله است و پژوهش و اطلاعات کافی درباره ویژگی های بیوشیمیایی آن، اهمیت و تأثیر تنظیم کننده های رشد و اسید آمینه ها در سال های مختلف عمر گیاه در دسترس نمی باشد، پژوهش حاضر جهت بررسی اثر سطوح مختلف تیمارهای بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک بر جذب عناصر و برخی خصوصیات موفوفیزیولوژیک گیاه گل انگشتانه ارغوانی یک ساله و دوساله طراحی و اجرا شد.

## مواد و روش ها

این پژوهش در سال های ۱۳۹۸ و ۱۴۰۰ به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه زنجان انجام شد. هر تکرار شامل سه گلدان حاوی دو بوته برای هر تیمار به همراه شاهد در نظر گرفته شد. تیمارهای آزمایش شامل اثر سن گیاه (گیاهان یک ساله و گیاهان دوساله) به عنوان فاکتور اصلی و دو سطح بنزیل آدنین (۰/۵ و ۱ میلی مولار) و دو سطح اسید گلوتامیک (۱ و ۲

میلی مولار) به همراه شاهد (بدون محلول پاشی) به عنوان فاکتور فرعی به کار برده شدند. بذرها ی گل انگشتانه ارغوانی (*Digitalis purpurea* L.) (شرکت پاکان بذر) قبل از کشت با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت پنج دقیقه ضد عفونی و سپس چندین مرحله با آب مقطر شستشو داده شدند. بذرها ابتدا در سینی نشا حاوی کوکوپیت و پیت ماس در اوایل آبان ماه کشت شدند. سپس در اوایل بهمن ماه و در مرحله چهار برگی ۳ عدد نشا به گلدان های از جنس پلاستیک به قطر دهانه ۲۵ سانتی متر و ارتفاع ۳۲ سانتی متر منتقل شدند. بستر کشت شامل ترکیبی از خاک مزرعه، کوکوپیت و پرلیت (به نسبت ۳:۱:۱) بود (جدول ۱). میانگین دمای روز و شب گلخانه در طول دوره آزمایش به ترتیب ۲۵ و ۱۸ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۸۰ درصد تنظیم شد. در طول آزمایش گیاهچه ها هفته ای یک بار با ۱۰۰ میلی لیتر محلول هوگلند کامل تغذیه شدند (Hoagland and Arnon, 1950). به غیر از محلول دهی هر سه روز یکبار گیاهچه ها با آب شهری و به مقدار ۵۰۰ میلی لیتر آبیاری شدند. pH محلول توسط اسید سولفوریک غلیظ در حد ۵/۶ با کمک pH متر مدل ۷۴۴ (Metrohm) تنظیم شد. بعد از انتقال نشاها به گلدان ها و استقرار کامل آن ها محلول پاشی با تیمارهای مورد نظر شروع و چهار مرتبه به صورت ۱۰ روز یکبار انجام و ۱۰ روز بعد از آخرین محلول پاشی، از برگ ها نمونه گیری و جهت انجام آزمایشات به آزمایشگاه منتقل شد. تیمارهای ذکر شده بر روی گیاهان دوساله نیز اعمال شد.

**فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان:** مقدار ۰/۵ گرم از بافت تازه گیاه با ۵ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH= ۷) که حاوی پلی وینیل پیرولیدین (PVP) یک درصد و EDTA یک میلی مولار ساییده شد. تمام مراحل استخراج بر روی یخ انجام گرفت. سپس عصاره ها در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم ها استفاده شد (Dhindsa et al., 1981).

**سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز:** برای اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز ۳ میلی لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با ۱۵

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک گلدان‌ها

| بافت خاک | ماده آلی (درصد) | پتاسیم (گرم بر کیلوگرم) | سدیم (گرم بر کیلوگرم) | کلسیم (گرم بر کیلوگرم) | نیتروژن (درصد) | EC (دسی‌زیمنس بر متر) | pH |
|----------|-----------------|-------------------------|-----------------------|------------------------|----------------|-----------------------|----|
|          |                 |                         |                       |                        |                |                       |    |

میکرولیتر پراکسید هیدروژن مخلوط و دستگاه اسپکتوفتومتر با این مخلوط صفر گردید. طول موج اسپکتوفتومتر بر روی طول موج ۲۴۰ نانومتر و مدت زمان یک دقیقه و با فاصله زمانی ۵ ثانیه تنظیم شد. سپس ۲۰ میکرولیتر عصاره به مخلوط اضافه شده و بلافاصله تغییرات جذب نور آن با فاصله زمانی ۵ ثانیه و به مدت یک دقیقه خوانده شد. در نهایت میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب جذب آب اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر و بر حسب میکرومول پراکسید هیدروژن بر تغییرات جذب به میکروگرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد ( Dhindsa et al., 1981).

**سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز:** مقدار ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با ۷ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۶ میکرولیتر گایاکول مخلوط شده و دستگاه اسپکتوفتومتر با استفاده از این مخلوط صفر گردید. دستگاه اسپکتوفتومتری روی طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه با فاصله زمانی ۲۰ ثانیه تنظیم شد. سپس ۱۵ میکرو لیتر عصاره به مخلوط اضافه و بلافاصله تغییرات جذب نور خوانده شد. میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به صورت تغییرات جذب به میکروگرم پروتئین در دقیقه بیان شد (Dhindsa et al., 1981).

**سنجش پرولین:** برای اندازه‌گیری پرولین ابتدا ۰/۵ گرم از برگ توزین شده در هاون چینی در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ به خوبی ساییده شده، مخلوط هموزنیزه شده در دستگاه سانتریفوژ به مدت ۵ دقیقه با دور ۶۰۰۰ سانتریفوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر از محلول شناور را به فالكون منتقل نموده و سپس ۲ میلی‌لیتر معرف ناین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بلافاصله پس از خارج کردن از حمام آب به مدت چند دقیقه در

حمام یخ قرار گرفتند. سپس به هر لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه شده و نمونه‌ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه تکان داده شدند تا کاملاً یکنواخت شوند. سپس لوله‌ها برای مدتی در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند. در این مدت در داخل لوله آزمایش دو فاز رویی و زیرین کاملاً از هم قابل تشخیص شده و فاز رویی را که به رنگ صورتی و حاوی پرولین محلول در تولوئن بود برداشته و جذب آن در دستگاه اسپکتوفتومتر با طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. غلظت پرولین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تازه برگ با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه شد (Bates et al., 1973).

رابطه (۱)

پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر) = [(میلی‌گرم پرولین بر میلی‌لیتر) × (۱۱۵/۱۳)] + (۰/۵ گرم نمونه)

**سنجش قند محلول:** سنجش قند محلول برگ به روش Kochert (۱۹۸۷) انجام شد. بدین صورت که ۰/۱ گرم از نمونه‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درصد به مدت یک هفته قرار داده شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته و به آن ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ اضافه شد و پس از نیم ساعت جذب آن‌ها در طول موج ۴۸۵ نانومتر به وسیله اسپکتوفتومتر خوانده شد. رسم منحنی استاندارد با استفاده از گلوکز و تعیین میزان قند بر حسب میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک نمونه‌ها محاسبه شد.

**محتوای نسبی آب:** برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، برگ کاملاً توسعه یافته به چند قسمت تقسیم شد و پس از توزین تکه‌های برگ به کمک ترازوی دیجیتالی وزن تر آن‌ها محاسبه شد. سپس آن‌ها به پتری‌دیش‌های درب‌دار حاوی آب مقطر منتقل شدند و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای اتاق قرار داده شدند. پس از خارج کردن برگ‌ها از آب مقطر رطوبت

حرارت دستگاه روی ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. در مرحله سرد شدن نمونه‌ها و رسیدن درجه حرارت آن‌ها به درجه حرارت محیط آزمایشگاه، ارلن داخل دستگاه تقطیر قرار گرفت و پس از ۱۵ دقیقه محلول تقطیر شده داخل ارلن جمع شده و آماده تیتراسیون شد و تیتراسیون با اسید کلریدریک ۰/۵ نرمال آرام و قطره قطره انجام گرفت. اضافه کردن اسید کلریدریک به محلول تا جایی ادامه پیدا کرد که رنگ محلول ثابت شد و نمونه به رنگ بنفش در آمد. در نهایت میزان نیتروژن با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید.

رابطه (۴)

$$100 \times ((0.0014 \times V) / P) = \text{درصد نیتروژن}$$

P: وزن نمونه بر حسب گرم، V: حجم اسید کلریدریک مصرفی در مرحله تیتراسیون بر حسب میلی‌لیتر

برای تعیین مقدار فسفر برگ، از روش کالریمتری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و غلظت پتاسیم برگ از روش شعله‌سنجی با استفاده از دستگاه فیلم فوتومتری انجام شد (Page, 1982).

آهن برگ‌ها با استفاده از دستگاه جذب اتمی، کلسیم و منیزیم برگ با روش کمپلکسومتری EDTA اندازه‌گیری شدند (Page, 1982).

**وزن تر و خشک:** جهت ثبت وزن خشک اندام هوایی، پس از اندازه‌گیری وزن تر، نمونه‌ها درون پاکت‌های کاغذی و در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد، سپس به کمک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم، وزن خشک اندازه‌گیری شد.

آنالیز داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS V9 و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح احتمال ۱ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

## نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده تیمار سن گیاه بر محتوای عناصر نیتروژن، فسفر، آهن و منیزیم برگ‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تیمار سن گیاه بر غلظت

اضافی سطح آن‌ها توسط دستمال کاغذی خشک شده و سپس برای به‌دست آوردن وزن آماس آن‌ها دوباره وزن شدند. پس از تعیین وزن آماس، قطعات برگ‌گی به آون (۷۰ درجه سانتی‌گراد) منتقل شدند و پس از ۴۸ ساعت وزن خشک آن‌ها تعیین شد. در نهایت محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه زیر به صورت درصد محاسبه شد (Galmes et al., 2007).

رابطه (۲)

$$RWC = [(وزن خشک - وزن تر) / (وزن خشک - وزن$$

$$تورژانس)] \times 100$$

**شاخص پایداری غشا:** به‌منظور اندازه‌گیری شاخص

پایداری غشای سلول، ۱ گرم برگ با آب مقطر شسته شده و در لوله‌های حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر قرار داده شدند. لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و هدایت الکتریکی آن‌ها پس از سرد شدن با دستگاه هدایت‌سنج خوانده شد ( $EC_1$ ) سپس لوله‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و هدایت الکتریکی آن‌ها پس از سرد شدن خوانده شد ( $EC_2$ ). شاخص پایداری غشای سلولی با استفاده از رابطه زیر به صورت درصد محاسبه شد (Sairam et al., 2002).

رابطه (۳)

$$EL = (EC_1 / EC_2) \times 100$$

$EC_1$  = هدایت الکتریکی پس از قرار گرفتن در معرض دمای

۴۰ درجه سانتی‌گراد

$EC_2$  = هدایت الکتریکی پس از قرار گرفتن در معرض دمای

۱۰۰ درجه سانتی‌گراد

**تعیین مقدار عناصر برگ:** برای اندازه‌گیری نیتروژن از

روش Page (۱۹۸۲) استفاده شد. این آزمایش در چهار مرحله آماده‌کردن نمونه، هضم نمونه، تقطیر و مرحله تیتراکردن انجام شد. در مرحله اول مقدار ۰/۵ گرم از هر نمونه وزن و در داخل کاغذ مخصوص پیچیده و سپس به درون ارلن منتقل شدند. در مرحله هضم میزان ۸ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ (۹۶ درصد) و ۳ گرم کاتالیزور سلینیوم سولفات (۹۶۰ گرم سولفات پتاسم، ۱۰ گرم دی‌اکسید سلینیوم، ۴۰ گرم سولفات مس) به نمونه‌ها اضافه شد و زمان دستگاه روی ۱۵۰ دقیقه و درجه

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر سن گیاه و سطوح مختلف محلول پاشی بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک بر مقدار عناصر برگ‌های گل انگشتانه ارغوانی یک‌ساله و دوساله

| میانگین مربعات                 |                             |                      |                      |             |                | درجه آزادی | منابع تغییرات    |
|--------------------------------|-----------------------------|----------------------|----------------------|-------------|----------------|------------|------------------|
| منیزیم<br>( $\mu\text{g/kg}$ ) | آهن<br>( $\mu\text{g/kg}$ ) | کلسیم<br>(%)         | پتاسیم<br>(%)        | فسفر<br>(%) | نیتروژن<br>(%) |            |                  |
| ۰/۰۳۷۵**                       | ۱۸۷۹/۹۲۱۶**                 | ۰/۰۷۵۴ <sup>ns</sup> | ۰/۰۰۰۶ <sup>ns</sup> | ۰/۰۰۱۷**    | ۰/۱۸۴۹**       | ۱          | سن گیاه          |
| ۰/۰۲۱۸**                       | ۱۹۳۲/۹۷۴۴**                 | ۰/۴۹۰۹**             | ۰/۵۷۹۸**             | ۰/۰۰۰۳**    | ۰/۱۸۳۹**       | ۴          | تیمار            |
| ۰/۰۰۰۲                         | ۲۶/۲۱۰۵                     | ۰/۰۳۶۱               | ۰/۰۲۷۵               | ۰/۰۰۰۳      | ۰/۰۰۰۳         | ۴          | خطای سن گیاه     |
| ۰/۰۰۹۰**                       | ۱۳۳۰/۱۰۴۹**                 | ۰/۱۰۲۷*              | ۰/۰۹۷۹*              | ۰/۰۰۰۳**    | ۰/۰۱۱۲**       | ۴          | سن گیاه × تیمار  |
| ۰/۰۰۰۵                         | ۲۲/۳۹۶۷                     | ۰/۰۳۴۵               | ۰/۰۲۳۴               | ۰/۰۰۰۱      | ۰/۰۰۰۳         | ۱۶         | خطای کل          |
| ۴/۳۵۶۸                         | ۴/۲۴۰۳                      | ۸/۱۵۳۷               | ۲/۶۳۵۲               | ۵/۲۴۷۲      | ۳/۳۰۱۳         |            | ضریب تغییرات (%) |

\*\*، \* و ns به ترتیب معناداری در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم معناداری

پتاسیم (۱/۹۰ درصد) در گیاهان دوساله و تحت تیمار بنزیل آدنین ۰/۵ میلی مولار مشاهده شد (شکل ۳).

**کلسیم:** نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که برگ‌های گیاهان دوساله نسبت به گیاهان یک‌ساله دارای کلسیم بیشتری بودند که افزایش مشاهده شده اختلاف معنی داری را نشان نداد. حداکثر مقدار کلسیم برگ (۲/۹۲ درصد) در گیاهان دوساله و تحت تیمار بنزیل آدنین ۰/۵ میلی مولار مشاهده شد (شکل ۴).

**آهن:** بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، حداکثر مقدار آهن برگ‌ها (۱۵۲/۲۱ میکروگرم بر کیلوگرم) در گیاهان دوساله و تحت محلول پاشی بنزیل آدنین ۰/۵ میلی مولار به دست آمد که نسبت به کمترین مقدار آن (۶۰/۱۵ میکروگرم بر کیلوگرم) که در تیمار شاهد (بدون محلول پاشی) گیاهان دوساله مشاهده شده بود در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (شکل ۵).

**منیزیم:** مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که برهم کنش بین تیمارهای سن گیاه و محلول پاشی بر غلظت عنصر منیزیم برگ‌های گل انگشتانه ارغوانی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. بیشترین مقدار این عنصر (۰/۶۴ میکروگرم بر کیلوگرم) در گیاهان دوساله و تحت تیمار بنزیل آدنین یک میلی مولار حاصل شد (شکل ۶).

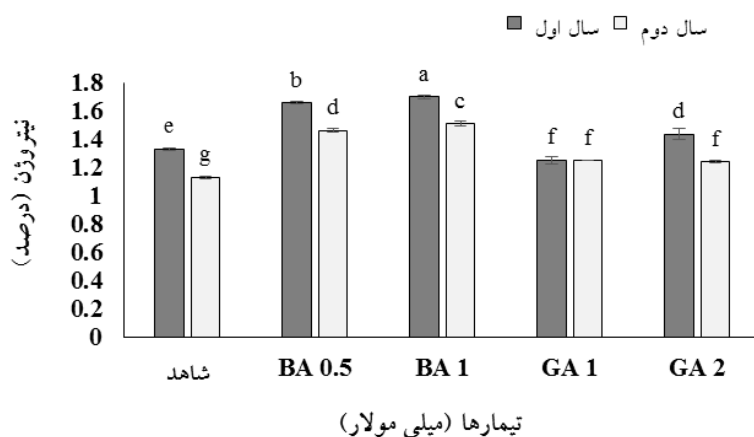
سیتوکینین‌ها یکی از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های رشد و نمو

عنصر پتاسیم و کلسیم اثر معنی دار نشان نداد محلول پاشی بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک و نیز برهم کنش تیمار سن گیاه و محلول پاشی بر مقدار عناصر ذکر شده معنی دار بود (جدول ۲).

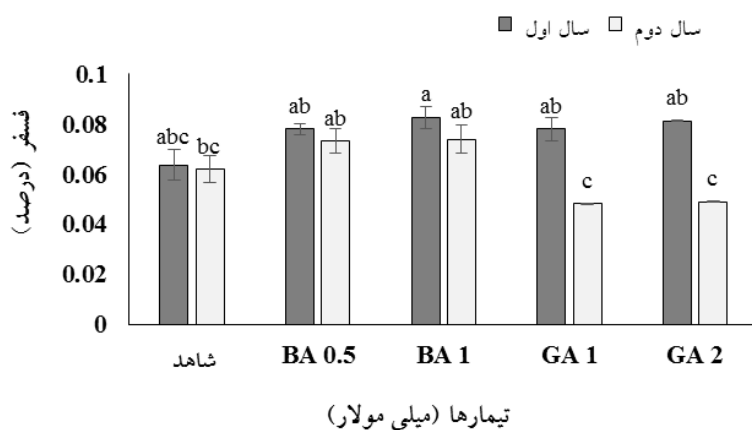
**نیتروژن کل:** طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها گیاهان دوساله نسبت به گیاهان یک‌ساله دارای غلظت نیتروژن کمتری بودند که این کاهش مشاهده شده در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود. در برهم کنش اثر سن گیاه با محلول پاشی بیشترین مقدار نیتروژن کل برگ‌ها (۱/۷۰ درصد) در گیاهان یک‌ساله و تحت تیمار بنزیل آدنین یک میلی مولار حاصل شد و نسبت کمترین مقدار آن (۱/۱۳ درصد) که در شاهد (بدون محلول پاشی) گیاهان دوساله مشاهده شد در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (شکل ۱).

**فسفر کل:** طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها برگ‌های گیاهان یک‌ساله نسبت به گیاهان دوساله دارای مقدار فسفر بالاتری بودند. اثر متقابل سن گیاه و تیمارهای آزمایشی باعث افزایش مقدار فسفر کل برگ‌ها شد که حداکثر مقدار این عنصر (۰/۰۸ درصد) تحت تیمار بنزیل آدنین یک میلی مولار و در گیاهان یک‌ساله به دست آمد (شکل ۲).

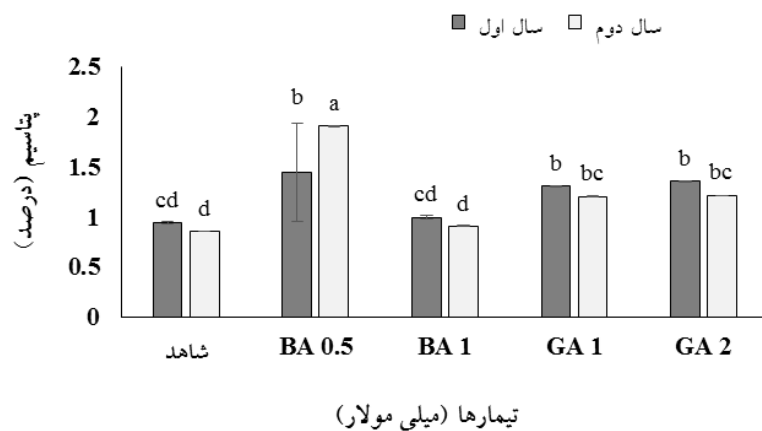
**پتاسیم:** با توجه به نتایج به دست آمده گیاهان دوساله گل انگشتانه ارغوانی نسبت به گیاهان یک‌ساله دارای مقدار پتاسیم بالاتری بودند که این اختلاف معنی دار نبود. حداکثر مقدار



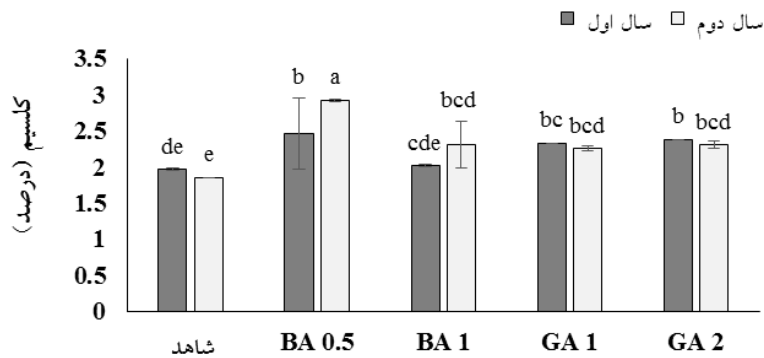
شکل ۱- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر محتوای نیتروژن کل. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۲- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر محتوای فسفر کل. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

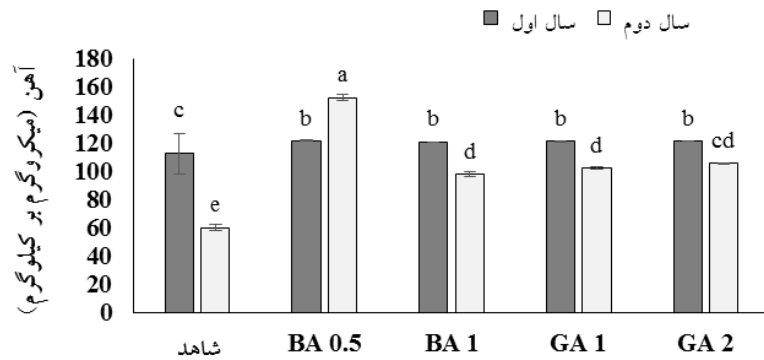


شکل ۳- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر محتوای پتاسیم. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



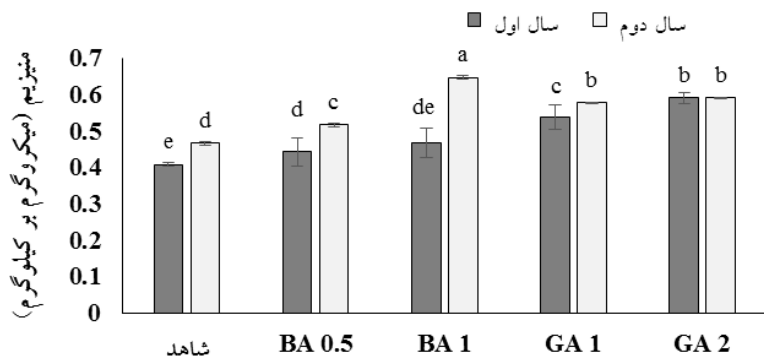
تیمارها (میلی مولار)

شکل ۴- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر محتوای کلسیم. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



تیمارها (میلی مولار)

شکل ۵- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر محتوای آهن. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



تیمارها (میلی مولار)

شکل ۶- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر محتوای منیزیم. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



گیاهان بوده و در فرآیندهای مختلف گیاه مانند تقسیم سلولی، رشد رویشی، پیری و ریزش برگ، متابولیسم نیتروژن و فسفر، رابطه منبع و مخزن، کاهش پراکسیداسیون چربی‌های غشا سلولی و ساخت کلروفیل نقش دارد (Kang et al., 2012). در مطالعه حاضر محلول‌پاشی بنزیل آدنین موجب افزایش مقدار عناصر موجود در برگ‌های گل انگشتانه ارغوانی گردید. این احتمال وجود دارد که سیتوکینین و اکسین در تنظیم پروتئین‌های غشایی که در جذب عناصر نقش دارند تغییراتی را ایجاد نمایند (Argueso et al., 2009). سیتوکینین‌ها با تحریک فعالیت آمینوژنی گلوتامات دهیدروژناز وابسته به NADH (NADH-GDH)، جذب نیتروژن را افزایش می‌دهند که در نهایت منجر به افزایش نیتروژن، سطح پروتئین و ترشح آن و همچنین تجمع پلی‌پتیدها می‌شود (Piotrowska and Czerpak, 2009). سیتوکینین‌ها نقش مهمی در جذب عناصر غذایی به‌ویژه جذب و تجمع پتاسیم در سلول‌ها دارند که به نظر می‌رسد این عمل را از طریق بازشدن روزنه‌ها انجام می‌دهند (EL-Shazly, 2021). افزایش مقدار عناصر نیتروژن و فسفر کل تحت محلول‌پاشی بنزیل آدنین بر روی گیاه لوپن (*Lupinus termis* L.) گزارش شده است (Hasnaa et al., 2011).

استفاده از اسید آمینه‌ها به صورت محلول‌پاشی برگ‌ها باعث افزایش ترشح اسیدهای آلی توسط ریشه گیاهان به خاک می‌شود و به سبب آن حلالیت مواد مغذی افزایش می‌یابد و باعث رهاسازی مواد مغذی در محیط ریزوسفر می‌شود که در نتیجه آن مقدار عناصر قابل استفاده برای گیاهان افزایش می‌یابد، اسیدهای آمینه موادی هستند که باعث تحریک سوخت‌وساز (متابولیسم) و فرآیندهای متابولیکی در جهت افزایش کارایی گیاهان می‌شوند (Faten et al., 2010). از آن جایی که اسیدهای آمینه به‌عنوان منبع تأمین نیتروژن در گیاه عمل می‌کنند در نتیجه افزایش محتوای نیتروژن برگ‌ها و نیز افزایش رشد و عملکرد گیاه با محلول‌پاشی اسیدهای آمینه قابل انتظار است (Ghazi Manas et al., 2013). افزایش میزان پتاسیم و فسفر تحت محلول‌پاشی اسید گلوتامیک در گیاه

کروتون گزارش شده است (Azza et al., 2011). کاربرد اسید آمینه‌های گلیسین و گلوتامیک در کلم چینی و کاهو باعث افزایش نیتروژن کل گیاه شد (Chen and Gao, 2002) که کاربرد اسید گلوتامیک در گیاه گل انگشتانه ارغوانی نیز اثر مثبت بر محتوای عناصر برگ‌ها نشان داد که با تحقیقات انجام شده قبلی، همسو است.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده تیمار سن گیاه بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، پرولین، قندهای محلول، محتوای نسبی آب، نشت یونی، وزن تر و وزن خشک برگ‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. کاربرد برگی سطوح مختلف بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک و نیز برهم‌کنش تیمار سن گیاه و محلول‌پاشی بر همه صفات مورد بررسی معنی‌دار بود (جدول ۳).

**فعالیت آنزیم کاتالاز:** کاربرد برگی سطوح مختلف بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز شد که حداکثر مقدار فعالیت این آنزیم (۴/۱۵ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) در گیاهان دوساله و تحت محلول‌پاشی گلوتامیک یک میلی‌مولار حاصل شد و نسبت به کمترین میزان آن (۲/۱۴ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) که در شاهد (بدون محلول‌پاشی) گیاهان یک‌ساله حاصل شد، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (شکل ۷).

**فعالیت آنزیم پراکسیداز:** طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، با کاربرد برگی بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک در گیاهان یک‌ساله و دوساله میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد نشان داد. به طوری که حداکثر مقدار فعالیت آنزیم مذکور (۱/۶۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در گیاهان دوساله و تحت تیمار اسید گلوتامیک یک میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۸).

تیمار برگی بنزیل آدنین در گیاه گل انگشتانه ارغوانی افزایش معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (آنزیم کاتالاز و پراکسیداز) برگ‌ها موجب شد. طبق پژوهشی که بر روی گیاه بومادران *Achillea millefolium* L. صورت گرفته است کاربرد بنزیل آدنین موجب افزایش تولید گروه‌های

کروتون گزارش شده است (Azza et al., 2011). کاربرد اسید آمینه‌های گلیسین و گلوتامیک در کلم چینی و کاهو باعث افزایش نیتروژن کل گیاه شد (Chen and Gao, 2002) که کاربرد اسید گلوتامیک در گیاه گل انگشتانه ارغوانی نیز اثر مثبت بر محتوای عناصر برگ‌ها نشان داد که با تحقیقات انجام شده قبلی، همسو است.

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده تیمار سن گیاه بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، پرولین، قندهای محلول، محتوای نسبی آب، نشت یونی، وزن تر و وزن خشک برگ‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. کاربرد برگی سطوح مختلف بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک و نیز برهم‌کنش تیمار سن گیاه و محلول‌پاشی بر همه صفات مورد بررسی معنی‌دار بود (جدول ۳).

**فعالیت آنزیم کاتالاز:** کاربرد برگی سطوح مختلف بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز شد که حداکثر مقدار فعالیت این آنزیم (۴/۱۵ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه) در گیاهان دوساله و تحت محلول‌پاشی گلوتامیک یک میلی‌مولار حاصل شد و نسبت به کمترین میزان آن (۲/۱۴ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) که در شاهد (بدون محلول‌پاشی) گیاهان یک‌ساله حاصل شد، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (شکل ۷).

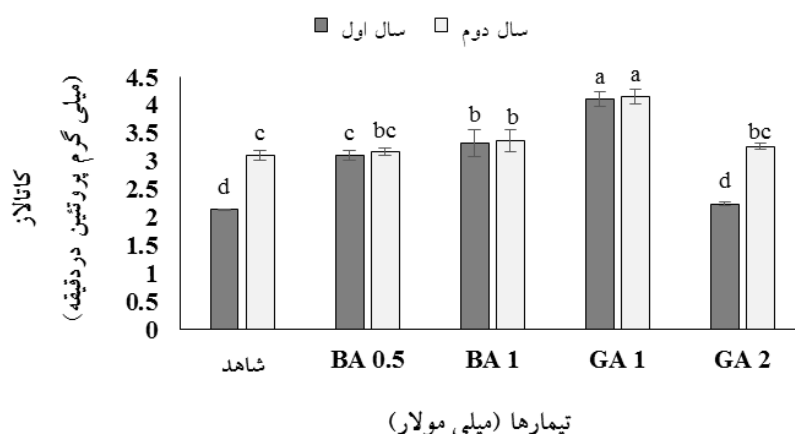
**فعالیت آنزیم پراکسیداز:** طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، با کاربرد برگی بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک در گیاهان یک‌ساله و دوساله میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری را در سطح احتمال یک درصد نشان داد. به طوری که حداکثر مقدار فعالیت آنزیم مذکور (۱/۶۱ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در گیاهان دوساله و تحت تیمار اسید گلوتامیک یک میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۸).

تیمار برگی بنزیل آدنین در گیاه گل انگشتانه ارغوانی افزایش معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (آنزیم کاتالاز و پراکسیداز) برگ‌ها موجب شد. طبق پژوهشی که بر روی گیاه بومادران *Achillea millefolium* L. صورت گرفته است کاربرد بنزیل آدنین موجب افزایش تولید گروه‌های

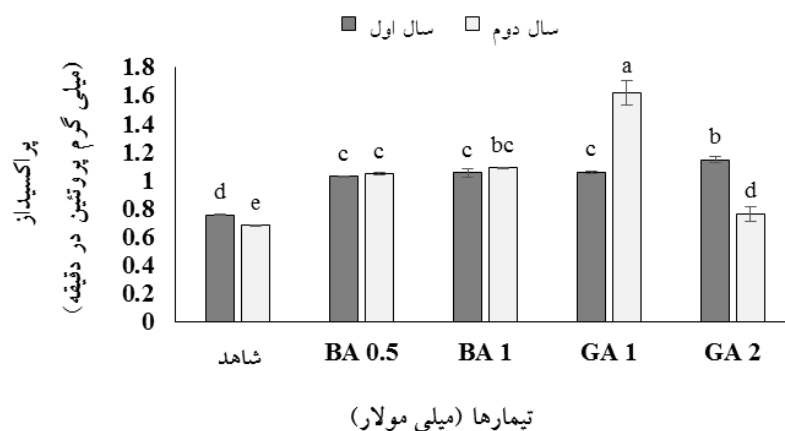
جدول ۳- تجزیه واریانس اثر سن گیاه و سطوح مختلف محلول پاشی بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک بر خصوصیات مورفوفیزیولوژی گل انگشته‌انه ارغوانی یک‌ساله و دو‌ساله

| میانگین مربعات |            |           |            |                   |                   |                | درجه آزادی | منابع تغییرات     |
|----------------|------------|-----------|------------|-------------------|-------------------|----------------|------------|-------------------|
| وزن خشک        | وزن تر     | نشت یونی  | RWC        | قند               | پروترین           | کاتالاز        |            |                   |
| (g)            | (g)        | (%)       | (%)        | (میلی‌گرم بر گرم) | (میلی‌گرم بر گرم) | (mg/g protein) |            |                   |
| ۱۱/۰۶۵۰**      | ۲۱۲/۶۳۴۷** | ۸/۴۸۸۰**  | ۳۷۱/۲۹۶۰** | ۲۲/۶۰۰۶**         | ۴/۸۵۴۹**          | ۱/۳۰۸۹**       | ۰/۰۰۷۶**   | ۱ سن گیاه         |
| ۱۶۳/۶۳۱۲**     | ۱۶۰/۹۲۳۰** | ۱۲/۰۱۶۵** | ۴۳۱/۱۱۵۹** | ۲۴۶/۵۳۲۶**        | ۱/۵۷۳۱**          | ۲/۰۵۳۶**       | ۰/۳۰۱۷**   | ۴ تیمار           |
| ۰/۰۵۸۲         | ۰/۱۰۶۹     | ۰/۰۶۶۶    | ۰/۱۹۱۰     | ۰/۶۴۷۴            | ۰/۰۰۳۷            | ۰/۰۲۸۲         | ۰/۰۰۰۱     | ۴ خطای سن گیاه    |
| ۵۶/۵۳۶۱**      | ۴۹/۱۶۵۶**  | ۳/۳۸۸۶**  | ۵۸/۱۲۶۰**  | ۷۹/۰۳۰۳**         | ۰/۱۳۰۱**          | ۰/۴۱۴۶**       | ۰/۱۷۳۹**   | ۴ سن گیاه × تیمار |
| ۰/۱۱۳۷         | ۰/۱۶۶۲     | ۰/۰۴۵۸    | ۰/۵۲۶۵     | ۰/۴۶۰۱            | ۰/۰۰۲۹            | ۰/۰۱۲۸         | ۰/۰۰۱۴     | ۱۶ خطای کل        |
| ۴/۷۹۵۵         | ۳/۳۵۲۶     | ۵/۱۴۵۰    | ۳/۹۱۹۷     | ۴/۲۰۷۶            | ۴/۸۹۴۶            | ۳/۵۵۸۴         | ۳/۶۹۴۷     | ضریب تغییرات (%)  |

\*\*، \* و ns به ترتیب معناداری در سطح احتمال یک درصد، پنج درصد و عدم معناداری



شکل ۷- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۸- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

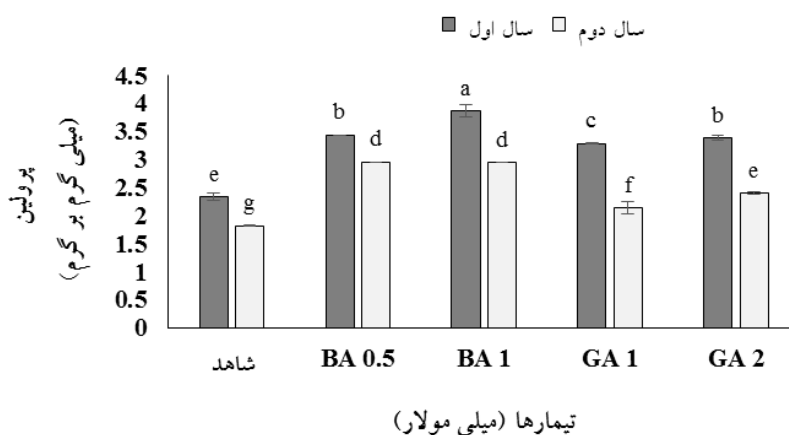
پرولین در شرایط غیرتنش نیز می‌تواند در اندام‌ها و بافت‌های تولید مثلی گیاهان تجمع یابد، پرولین می‌تواند به افزایش طول ساقه کمک کند (Nanjo et al., 1999). همچنین ورود به فاز زایشی و گلدهی را نیز تحت اثر قرار دهد (Jacqmard et al., 2003). سنتز پرولین در کلروفیل و سیتوپلاسم اساساً از اسید آمینه گلوتامیک صورت می‌گیرد بنابراین افزایش گلوتامیک در سلول سبب افزایش تولید پرولین می‌شود، پرولین در میتوکندری تخریب شده و به اسید آمینه آرژنین تبدیل می‌شود، تجمع پرولین در شرایط تنش به منظور حفاظت سلول در مقابل رادیکال‌های آزاد صورت می‌گیرد ولی در شرایط غیرتنش پرولین علاوه بر شرکت در تنظیم اسمزی، نقش‌های مهمی مانند حفاظت از سیستم‌های غشایی سلول، سمیت‌زدایی و تنظیم اسیدیته سیتوزول را نیز بر عهده دارد (Yordanov et al., 2000). در تحقیقی که بر روی گیاه شاه اسپرم (*Tanacetum balsamita* L.) انجام شد، گزارش کردند که کاربرد اسیدهای آمینه موجب افزایش میزان پرولین شد، از آنجایی که در چرخه سنتز پرولین چندین اسید آمینه و نیز نیتروژن نقش دارد لذا تأمین نیتروژن می‌تواند توجیه‌کننده افزایش سنتز پرولین در تیمار اسید گلوتامیک باشد (اشرفی، ۱۳۹۲).

**قند کل:** مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که برهم‌کنش تیمار سن گیاه و محلول پاشی بر مقدار قند کل برگ‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بیشترین مقدار قند کل (۶۳/۲۶ میلی‌گرم بر گرم) با تیمار بنزیل آدنین یک میلی‌مولار و در گیاهان دوساله حاصل شد (شکل ۱۰).

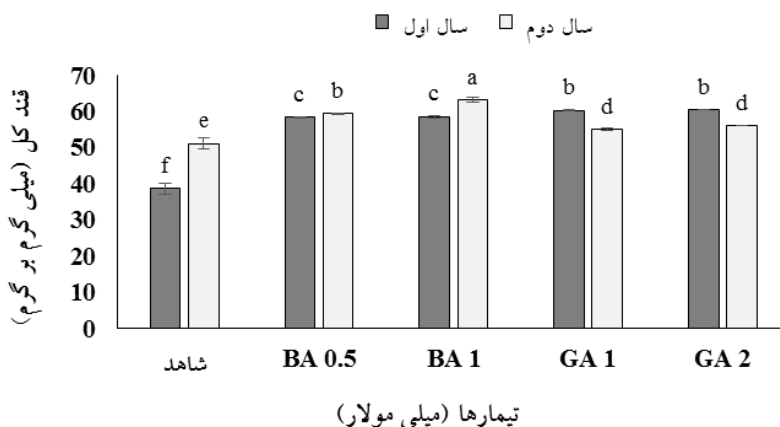
مقدار قندهای محلول در برگ‌های گل انگشانه ارغوانی با محلول پاشی بنزیل آدنین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طور کلی افزایش رشد توسط بنزیل آدنین با افزایش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و نرخ فتوسنتز خالص تحریک می‌شود. از آنجاکه رشد گیاهانی که به‌صورت توده خشک بیان می‌شوند تا حد زیادی به سنتز اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و قندها بستگی دارد بنابراین بهبود توانایی فتوسنتز متعاقباً می‌تواند سنتز کربوهیدرات‌ها را افزایش دهد (Hussein et al., 2006).

مختلف متابولیت‌های ثانویه مانند آنتی‌اکسیدان‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گردیده است (Gorni and Pacheco, 2016) که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. همچنین نتایج پژوهش Ramtin و همکاران (۲۰۱۶) بر روی گیاه میخک *Dianthus caryophyllus* L. نشان داد که کاربرد بنزیل آدنین در غلظت‌های مختلف باعث افزایش برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدانت از جمله انواع آنزیم‌ها گردید. همچنین طبق گزارشی محلول پاشی ۲۰ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین می‌تواند به‌طور مؤثری فرآیند پیری برگ را از طریق ترویج فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی بهبود بخشد (Wang et al., 2015). طبق تحقیقی بر روی *Bambusa vulgaris*، اثر بنزیل آدنین، به ویژه در غلظت‌های پایین‌تر، بر تولید ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مثبت بود (Garcia-Ramirez et al., 2014). در مطالعه حاضر کاربرد برگی اسید گلوتامیک موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گردید، کاربرد خارجی اسیدهای آمینه با کمک به جذب نیتروژن، تعدیل تقسیم و طول‌شدن سلول‌ها و نیز افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی مفید باشد (Celik et al., 2017) اسیدهای آمینه اجزای مهم سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان هستند عمل این مولکول‌ها شامل کاهش رادیکال‌های آزاد و محافظت از اسمز است (Rennenberg and Herschbach., 2014). افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاه بابونه (*Matricaria chamomile* L.) با کاربرد برگی اسید گلوتامیک گزارش شده است (درویزه و همکاران، ۱۳۹۶).

**پرولین:** بر اساس نتایج به‌دست آمده برگ‌های گیاهان یک ساله نسبت به گیاهان دوساله دارای مقدار پرولین بالاتری بودند. برهم‌کنش تیمار سن گیاه و محلول پاشی برگی تیمارهای بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک موجب افزایش محتوای پرولین برگ‌ها نسبت به شاهد شد. به‌طوری‌که بیشترین مقدار پرولین برگ‌ها (۳/۸۶ میلی‌گرم بر گرم) در گیاهان یک‌ساله و تحت تیمار بنزیل آدنین یک میلی‌مولار حاصل شد (شکل ۹).



شکل ۹- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر میزان پرولین. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

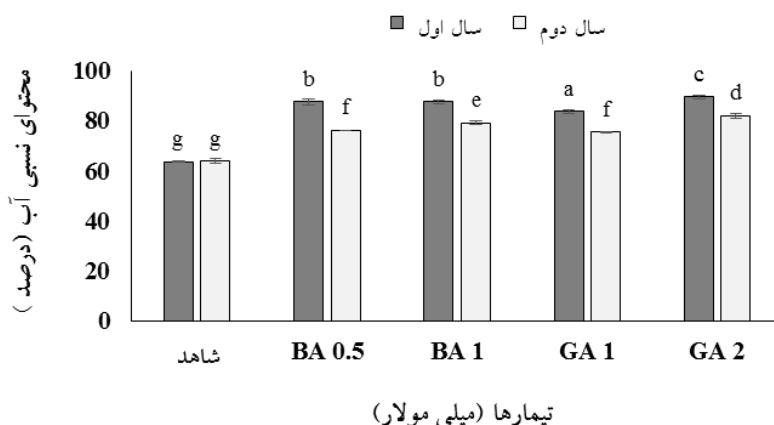


شکل ۱۰- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر قند کل. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

کربوهیدرات‌ها منبع اصلی ذخیره انرژی فتوسنتزی است. اثر مثبت کاربرد اسیدهای آمینه در گیاهان مختلف توسط پژوهشگرانی مانند تاجیک و دانایی (۱۳۹۳) در گل‌های ژربرا (*Gerbera jamesonii*)، (Wahb et al., 2015) در گیاه گزنه (*Urtica pilulifera* L.) گزارش شده است.

**محتوای نسبی آب:** طبق نتایج گیاهان یک‌ساله در مقایسه با گیاهان دوساله دارای محتوای نسبی آب بالاتری بودند که این اختلاف در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. حداکثر مقدار محتوای نسبی آب برگ‌ها (۸۹/۶۱ درصد) در گیاهان یک‌ساله و تحت کاربرد برگی اسید گلوتامیک یک میلی‌مولار

افزایش محتوای کربوهیدرات‌های محلول تحت تیمار بنزیل آدنین توسط حسن‌پوراصیل و همکاران (۱۳۸۷) گزارش شده است که نتایج تحقیق حاضر نیز با نتیجه گزارش شده مطابقت دارد. اثر مثبت اسیدهای آمینه بر قندهای محلول کل می‌تواند ناشی از نقش مهم آن‌ها در بیوسنتز مولکول‌های کلروفیل باشد در این مورد Devlin (۱۹۶۹) اظهار داشته است که در چرخه کربس، اسید آمینه گلایسین سبب القای بیوسنتز کلروفیل می‌شود. اسیدهای آمینه به واسطه افزایش کلروفیل، فتوسنتز را افزایش می‌دهند و هر فاکتوری که باعث افزایش فتوسنتز شود باعث افزایش محتوای کربوهیدرات‌ها می‌گردد و این



شکل ۱۱- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر محتوای نسبی آب. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

محلول پاشی اسید گلوتامیک ۲ میلی مولار و در گیاهان یک‌ساله حاصل شد که نسبت به بیشترین مقدار آن (۲۱/۵۲ درصد) که در تیمار شاهد گیاهان یک‌ساله مشاهده شده بود در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (شکل ۱۲).

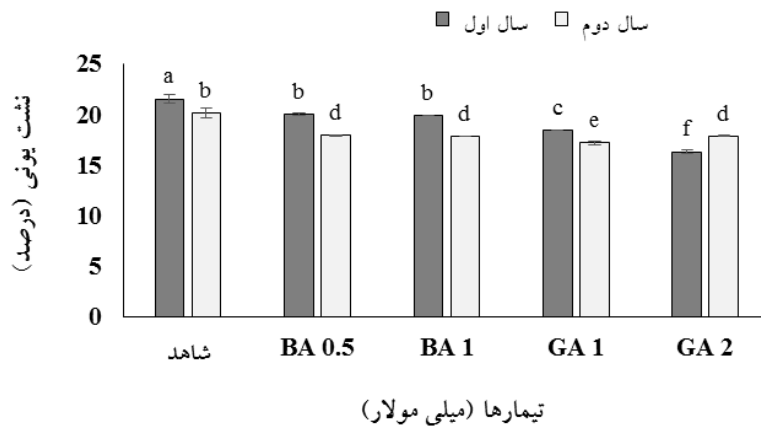
کاربرد برگی سطوح مختلف بنزیل آدنین در گیاه گل انگشتانه ارغوانی باعث کاهش معنی‌دار میزان نشت یونی در برگ‌های گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد (بدون محلول پاشی) شد. بنزیل آدنین می‌تواند با بهبود دوام غشاء سلولی موجب تأخیر در پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی و کاهش نشت یونی شود. از طرف، دیگر بنزیل آدنین سبب توقف تولید اتیلن که عامل اصلی در تأخیر پیری است، می‌گردد (Guo, 2003). همچنین (Mittler, 2002) در گل آلسترومریا نیز گزارش کرده‌اند که سیتوکینین‌ها با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و از بین بردن ROSها، سبب افزایش پایداری غشا سلولی می‌گردند.

از آنجایی که اسیدهای آمینه برای پیش‌سازهای متابولیت‌های مختلف با عملکردهای متعدد در رشد و نمو گیاه مانند هورمون‌ها، گروه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه و اجزای دیواره سلولی استفاده می‌شوند (Patterson et al., 2009) به احتمال زیاد از طریق تقویت دیواره‌های سلولی باعث افزایش پایداری غشایی سلولی و کاهش نشت یونی می‌گردند. کاربرد برگی اسید آمینه پرولین در گل‌های شاخه بریده گل‌مریم

به دست آمد (شکل ۱۱).

محتوای نسبی آب برگ شاخص مهمی از وضعیت آبی گیاهان بوده و در تعیین تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی کاربرد دارد (Lugojan and Ciulca, 2011). کاربرد بنزیل آدنین در گیاه گل انگشتانه ارغوانی باعث افزایش محتوای نسبی آب برگ‌ها شد، سیتوکینین‌ها با افزایش رشد ریشه و تحریک تولید ریشه‌های موئین در تبادل آب نقش ویژه‌ای در گیاه داشته و به نظر می‌رسد با بهبود جذب آب، سبب افزایش محتوای نسبی آب برگ‌ها می‌گردد (Davies et al., 2005). اثر افزایشی سیتوکینین‌ها بر روی محتوای نسبی آب برگ توسط پژوهشگران (Hussein et al., 2015) گزارش شده است که نتایج تحقیق حاضر نیز با نتایج تحقیقات پژوهشگران همسو می‌باشد. افزایش مشاهده شده در محتوای نسبی آب برگ‌ها تحت محلول پاشی اسید گلوتامیک را می‌توان به نقش این اسید آمینه در حفظ و ترمیم یکپارچگی غشای سلول‌ها از طریق جلوگیری از اتصال آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره از جمله پکتین‌متیل‌استراز و پلی‌گالاکتوروناز نسبت داد (Jia et al., 2017).

نشت یونی (پایداری غشا): در این مطالعه کاربرد برگی تیمارهای بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک در گیاهان یک‌ساله و دوساله گل انگشتانه ارغوانی موجب کاهش مقدار نشت یونی برگ‌ها گردید. کمترین مقدار نشت یونی (۱۶/۳۱ درصد) با



شکل ۱۲- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر نشت یونی. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

همکاران (۲۰۱۵) در مورد گیاهان پروانش (*Catharanthus roseus*) اعلام کردند که محلول‌پاشی با بنزیل آدنین به‌طور قابل توجهی باعث افزایش ارتفاع بوته، وزن تر و خشک گیاهان شد.

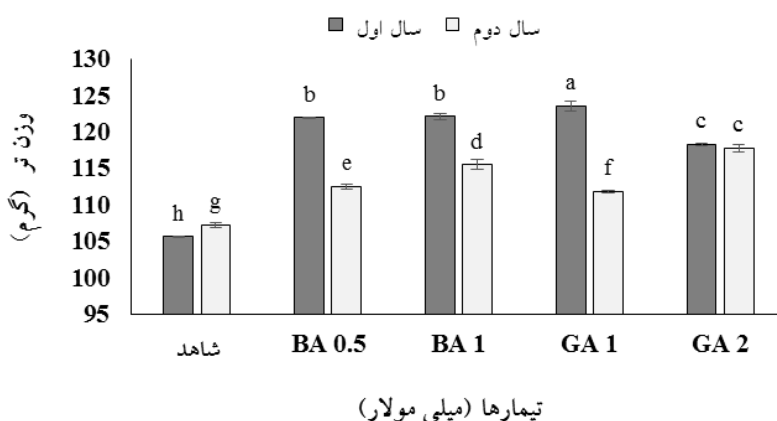
در تحقیق حاضر نتایج نشان داد که کاربرد برگی اسید گلوتامیک باعث افزایش وزن تر و خشک برگ‌ها نسبت به تیمار شاهد گردید. این اثر افزایشی را می‌توان به اثر تحریک‌کنندگی آن بر رشد سلول‌های گیاه و فراهم‌شدن منبع کربن و انرژی لازم برای تولید کربوهیدرات در گیاه نسبت داد. اسید گلوتامیک می‌تواند به اسیدآمین‌ها که پیش‌ساز یا فعال‌کننده فیتوهورمون‌ها و مواد رشدی تبدیل شود. تمامی اسیدآمین‌ها ممکن است نقش مهمی در متابولیسم گیاهی و تجمع پروتئین داشته باشند و باعث افزایش وزن تر و خشک گیاه شوند (Shehata et al., 2011). افزایش شاخص‌های رشدی در گیاه کروتون (*Codiaeum variegatum* L.) تحت محلول‌پاشی اسید گلوتامیک گزارش شده است (Azza et al., 2011). همچنین محلول‌پاشی اسید گلوتامیک در گیاه شاهسپریم (*Tanacetum balsamita* L.) باعث افزایش صفات رشدی از جمله وزن تر و خشک بوته‌ها گردید (اشرفی، ۱۳۹۲). ولی با افزایش غلظت اسید گلوتامیک به ۲ میلی‌مولار میزان وزن تر و خشک برگ‌ها روند کاهشی نشان داد، چنین تأثیری در مورد کاربرد اسیدآمین تریپتوفان نیز گزارش شده است، به‌طوری‌که

(*Polianthes tuberosa* L.) باعث کاهش اتلاف آب و نیز کاهش میزان نشت یونی شد (علی‌پور و همکاران، ۱۳۹۴).

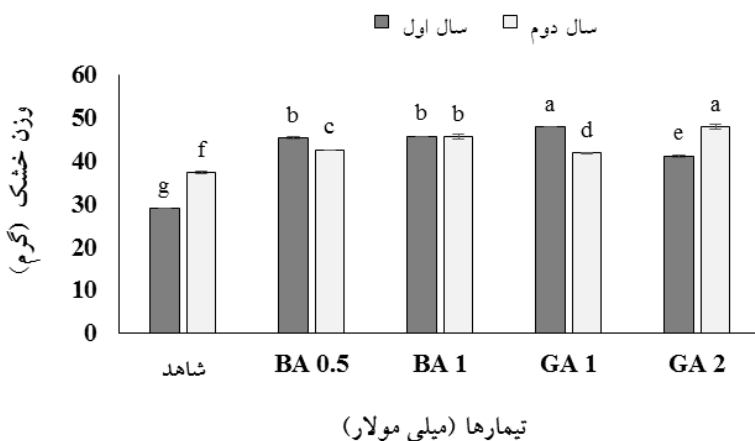
وزن تر: بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها اثر متقابل سن گیاه و محلول‌پاشی تیمارها بر وزن تر برگ‌های گل انگشتانه ارغوانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. بیشترین وزن تر برگ‌ها (۱۲۳/۵۱ گرم) تحت کاربرد برگی اسید گلوتامیک یک میلی‌مولار و در گیاهان یک‌ساله مشاهده شد (شکل ۱۳).

وزن خشک: اثر متقابل محلول‌پاشی و سن گیاه بر میزان وزن خشک برگ‌ها اثر افزایشی نشان داد که این اثر در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بالاترین وزن خشک برگ‌ها (۴۷/۹۳ گرم) در گیاهان یک‌ساله و تحت تیمار اسید گلوتامیک یک میلی‌مولار حاصل شد (شکل ۱۴).

محلول‌پاشی برگی بنزیل آدنین در پژوهش حاضر در گیاهان یک‌ساله و دوساله اثر افزایشی بر وزن تر و خشک برگ‌های گل انگشتانه ارغوانی نشان داد، این اثر افزایشی را می‌توان به نقش بسیار مهم سیتوکینین‌ها در تحریک تقسیم و رشد سلول‌ها نسبت داد (EL-Shazly, 2021). نتایج تحقیقی نشان داد که کاربرد خارجی بنزیل آدنین بر روی گیاهان لوپین (*Lupinus termis* L.) به‌طور قابل توجهی بر رشد رویشی و ترکیبات بیوشیمیایی (درصد روغن، فنل کل، نیتروژن کل) تأثیر مثبت داشت (Hasnaa et al., 2011) به‌طور مشابه، Hussein و



شکل ۱۳- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر وزن تر برگ. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.



شکل ۱۴- اثر متقابل سن گیاه و بنزیل آدنین (BA) و اسید گلوتامیک (GA) بر وزن خشک برگ. علامت بارهای روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای استاندارد (ES) است. ستون‌های دارای حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد.

میزان عناصر موجود در برگ‌ها را به‌طور معنی‌داری افزایش داد که این افزایش مشاهده شده در مورد محلول‌پاشی سطوح مختلف بنزیل آدنین بیشتر مشاهده شد. این احتمال وجود دارد که سیتوکینین‌ها از طریق تنظیم پروتئین‌های غشایی که در جذب عناصر نقش دارند تغییراتی را در جذب و میزان عناصر ایجاد نمایند. در حالت کلی کاربرد تیمارهای آزمایشی سبب بهبود میزان عناصر برگ‌ها، تقویت فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی و نیز افزایش وزن تر و خشک برگ‌ها در گل‌انگستانه ارغوانی یک‌ساله و دوساله شد. با توجه به نتایج به‌دست آمده به‌نظر می‌رسد استفاده از اسید آمینه‌ها و

کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر از اسید آمینه تریپتوفان موجب ایجاد تنش‌های در گیاه شده که احتمالاً مربوط به زیادی اکسین و تأثیرات بازدارندگی آن در مرحله رویشی هست، نتیجه این اختلال می‌تواند افزایش جذب عناصر و هدر رفت کربن به شکل دی‌اکسید کربن و کاهش ماده خشک باشد (Paciorek *et al.*, 2005).

#### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد برگی بنزیل آدنین و اسید گلوتامیک در گیاهان یک‌ساله و دوساله گل‌انگستانه ارغوانی

تنظیم‌کننده‌های رشد می‌تواند در جهت بهبود ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه مفید واقع شود.

### منابع

- اشرفی، سجاد (۱۳۹۲). تأثیر محلول‌پاشی برگ‌ی اوره و برخی آمینواسیدها بر خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیکی گیاه شاهسپریم *Tanacetum balsamita* L. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه ارومیه. ارومیه، ایران.
- تاجیک، نجمه، و دانایی، الهام (۱۳۹۳). محلول‌پاشی پیش از برداشت برخی از اسیدهای آمینه بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، آنزیمی و دوام عمر گل ژربرا (*Gerbera jamesonii*) رقم sorbet روی بوته. فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران، ۹(۳)، ۱۰۳-۱۰۹.
- حسن‌پور اصیل، معظم، محاتم زاده، عبدالله، گندابی، منظر، چمنی، اسماعیل، و ربیعی، بابک (۱۳۸۷). تأثیر بنزیل‌آدنین و تیوسولفات نقره بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی گل‌های شاخه بریده سوسن. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۲(۴۵)، ۶۰۳-۶۱۲.
- حکیمه، درویشه، محسن، زواره، و محمود، قاسم‌نژاد (۱۳۹۶). تأثیر محلول‌پاشی پرولین بر ویژگی‌های بیوشیمیایی بابونه آلمانی (*Matricaria chamomilla* L.) در شرایط تنش آبی. تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژی گیاهی، ۴(۱)، ۶۰-۳۵.
- علی‌پور، سجاد، فرهمند، همایون، و نصیبی، فاطمه (۱۳۹۴). تأثیر تیمار پرولین بر برخی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و افزایش عمر پس از برداشت گل شاخه‌بریده مریم (*Polianthes tuberosa* L.). انجمن فیزیولوژی گیاهی ایران، ۴(۱۴)، ۱۱۴-۱۰۵.
- مجیدیان، نسرین، نادری، روح‌انگیز، مجیدیان، مجید، و خلیقی، احمد (۱۳۹۰). تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد جیبرلین و بنزیل‌آدنین بر تولید گیاه گلدانی شیپوری رقم چایلدسیانا. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۵(۴)، ۳۶۱-۳۶۸.
- الهام، فرجی، سپیده، کلاته جاری، یونس، مستوفی، و فواد، مرادی (۱۳۸۹). اثر بنزیل‌آدنین و جیبرلیک اسید و انبارداری سرد و خشک بر ماندگاری گل بریده لیلیوم رقم Fangio. بوم‌شناسی گیاهان زراعی، ۶(۴)، ۸۴-۷۵.
- Alharbi, N. S., Kadaikunnan, S., Khaled, J. M., Almanaa, T. N., Innasimuthu, G. M., Rajoo, B., & Rajaram, S. K. (2019). Optimization of glutamic acid production by *Corynebacterium glutamicum* using response surface methodology. *Journal of King Saud University-Science*, 32(2), 1403-1408. DOI:10.1016/j.jksus.2019.11.034
- Argueso, C. T., Ferreira, F. J., & Kieber, J. J. (2009). Environmental perception avenues: The interaction of cytokinin and environmental response pathways. *Plant, Cell and Environment*, 32(9), 1147-1160. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01940.x>
- Azza, A. M., Zaghoul, S. M., Mahmoud, S. A., & Hanan, S. (2011). Stimulatory effect of kinetin, ascorbic acid and glutamic acid on growth and chemical constituents of *Codiaeum variegatum* L. plants. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 10(3), 318-323.
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(8), 205-207.
- Calvo, P., Nelson, L., & Kloepper, J. W. (2014). Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant and Soil*, 383(12), 3-41. DOI:10.1007/s11104-014-2131-8
- Celik, O., Ayan, A., & Atak, C. (2017). Enzymatic and non-enzymatic comparison of two different industrial tomato (*Solanum lycopersicum*) varieties against drought stress. *Botanical Studies*, 58(32), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s40529-017-0186-6>
- Chen, G. & Gao, X. (2002). Effect of partial replacement of nitrate by amino acid and urea on nitrate content of nonheading Chinese cabbage and lettuce in hydroponics (Chinese). *Scientia Agricultura Sinica*, 35(3), 187-191.
- Davies, W. J., Kudoyarova, G., & Hartung, W. (2005). Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plants response to drought. *Journal of Plant Growth Regulation*, 24(1), 285-295.
- Devlin, R. M. (1969). *Plant Physiology*. 2<sup>nd</sup> Ed. Muthiah at Tamil and Printers and Traders Pvt. Ltd., Madra, India.
- Dhindsa, S., plumb-dhindsa, P., & Thorpe, T. A. (1981). Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(1), 93-101. doi.org/10.1093/jxb/32.1.93
- EL-Shazly, M., W. M. (2021). Physiological effect of benzyl adenine on growth, boll setting and productivity of cotton plant. *Journal of Plant Production*, 12(9), 1021-1030. DOI: 10.21608/jpp.2021.202844
- Faten, S. A., Shaheen, A. M., Ahmed, A. A., & Mahmoud, A. R. (2010). Effect of foliar application of amino acids as antioxidants on growth, yield and characteristics of Squash. *Agriculture and Biological Science*, 5(6), 583-588.



- Galmes, J., Flexas, J., Save, R., & Medrano, H. (2007). Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: Responses to water stress and recovery. *Plant and Soil*, 290(8), 139-155.
- Garcia-Ramirez, M. G., Gonzales, E. Q., Mendoza, M. F., Seijo, M. L., Cardenas, L. J., Moreno-Bermudez., & Ribalta O. H. (2014). Effect of BA treatments on morphology and physiology of proliferated shoots of *Bambusa vulgaris* Schrad. Ex Wendl in temporary immersion. *Am. Journal of Plant Sciences*, 5(2), 205-211.
- Ghazi Manas, M., Banj Shafiee, S., Haj Seyed Hadi, M. R., & Darzi, M. T. (2013). Effects of vermicompost and nitrogen on quantitative and qualitative yeild of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 29(2), 269-280.
- Gorni, P. H. & Pacheco, A. C. (2016). Growth promotion and elicitor activity of salicylic acid in *Achillea millefolium* L. *African Journal of Biotechnology*, 15(16), 657-665.
- Guo, W., Zheng, L., Zheng, Z., & Zheng, W. (2003). Phytohormones regulate senescence of cut Chrysanthemum. *Acta Horticulturae*, 624(48), 349-355. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.624.48>
- Hasnaa, S., Ayad, M., Karima, M., & EL-Din, G. (2011). Effect of atonik and benzyladenine on growth and some biochemical constituents of lupine plant (*Lupinus termis* L.). *American-Eurasian Journal of Agriculture and Environmental Science*, 10(4), 519-524.
- Hoagland, D. R. & Arnon, D. J. (1950). The water culture method for growing plants without soil. 2<sup>nd</sup> Ed. California Agricultural Experimental Station, Berkeley.
- Hussein, Y., Amin, G., Azab, A., & Gahin, H. (2015). Induction of drought stress resistance in sesame (*Sesamum indicum* L.) plant by salicylic acid and kinetin. *Journal of Plant Sciences*, 10(4), 128-141, DOI: 10.3923/jps.2015.128.141
- Hussein, Z., Mandal, A. K., Datta, S. K., & Biswas, A. M. (2006). Decline in ascorbate peroxidase activity a prerequisite factor for tepalsenescence in gladiolus. *Journal of Plant Physiology*. 163(2), 186-194, DOI: 10.1016/j.jplph.2005.03.004
- Jacqumard, A., Gadisseur, I., & Bernier, G. (2003). Cell division and morhological changes in the shoot apex of *Arabidopsis thaliana* during floral transition. *Annals of Botany*, 91(5), 571-577, DOI: 10.1093/aob/mcg053
- Jia, Y., Zou, D., Wang, J., Sha, H., Liu, H., Inayat, M. A., & Zhao, H. (2017). Effects of  $\gamma$ aminobutyric acid, glutamic acid, and calcium chloride on rice (*Oryza sativa* L.) under cold stress during the early vegetative stage. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(1), 240-253.
- Kang, N. Y., Cho, C., Kim, N. Y., & Kim, J. (2012). Cytokinin receptor-dependent and receptor- independent pathways in the dehydration response of *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Physiology*, 169(14), 1382-139. DOI: 10.1016/j.jplph.2012.05.007
- Kochert, G. (1987). Carbohydrate determination by the phenol-sulfuric acid method. Handbook of phycological methods. *Phycological and Biochemical Methods*. 2(5), 95-9. CorpusID: 99274484
- Lopez-Lazaro, M. (2007). Digitoxin as an anticancer agent with selectivity for cancer cells: Possible mechanisms involved. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 11(8), 1043-1053, DOI: 10.1517/14728222.11.8.1043
- Luckner, M. & Wicht, M. (2000). Digitalis. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, (In German).
- Lugojan, C. & Ciulca, S. (2011). Evaluation of relative water content in winter wheat. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*, 15(2), 173-177. CorpusID:83378835
- Mazher, A. A., Zaghoul, S. M., Mahmoud, S. A., & Siam, H. S. (2011). Stimulatory effect of kinetin, ascorbic acid and glutamic acid on growth and chemical constituents of *Codiaeum variegatum* L. plants. *Armerican-Eurasian Jurnal Agriculture and Environ. Science*, 10(3), 318-323. ISSN 1818-6769
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410, DOI: 10.1016/s1360-1385(02)02312-9
- Nanjo, T., Kobayashi, M., Yoshiba, Y., Sanada, Y., Wada, K., & Tukaya, H. (1999). Biological functions of proline in morphogenesis and osmotolerance revealed in antisense transgenic Arabidopsis. *Plant Journal*, 18(2), 185-93. DOI: 10.1046/j.1365-313x.1999.00438.x
- Omer, E. A., Said-Al Ahl, H. A. H., El Gendy, A. G., Shaban, Kh. A., & Hussein, M. S. (2013). Effect of amino acids application on production, volatile oil and chemical composition of chamomile cultivated in saline soil at sinai. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(4), 3006-3021.
- Paciorek, T., Zazimalova, E., Ruthardt, N., Petrasek, J., Stierhof, Y. D., Kleine-Vehn, J., Morris, D. A., Emans, N., Jurgens, G., & Geldner, N. (2005). Auxin inhibits endocytosis and promotes its own efflux from cells. *Nature*, 435(7046), 1251-1256. DOI: 10.1038/nature03633
- Page, A. L. (1982). Methods of soil analysis. Part 2: Chemical and microbiological properties. 2<sup>nd</sup> Ed. Soil Science Society of America, Book Series 5, Madison, WI.
- Patterson, J. H., Newbiggin, E., Tester, M., Bacic, A., & Roessner, U. (2009). Metabolic responses to salt stress of barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars, Sahara and Clipper, which differ in salinity tolerance. *Journal of Experimental Botany*, 60(14), 4089-4103, doi: 10.1093/jxb/erp243

- Piotrowska, A. & Czerpak, R. (2009). Cellular response of light/dark-grown green alga *Chlorella vulgaris* Beijerinck (Chlorophyceae) to exogenous adenine-and phenylurea-type cytokinins. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(3), 573-585. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11738-008-0267-y>
- Ramtin, A., Kalatejari, S., Naderi, R., & Matiniazadeh, M. (2016). Effect of benzyl adenine and salicylic acid on biochemical traits of two cultivars of carnation. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 4(4), 427-434. DOI: [http://dx.doi.org/10.18006/2016.4\(4\).427.434](http://dx.doi.org/10.18006/2016.4(4).427.434)
- 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>
- Sairam, R. K., Rao, K. V., & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163(5), 1037-1046. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(02\)00278-9](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(02)00278-9)
- Sakakibara, H., Takei, K., & Hirose, N. (2006). Interactions between nitrogen and cytokinin in the regulation of metabolism and development. *Trends in Plant Science*, 11(9), 440-448. DOI: 10.1016/j.tplants.2006.07.004
- Shehata, S. M., Azem, S., & El-Yazied, A. (2011). Effect of foliar spraying with amino acids and seaweed extract on growth chemical constituents, yield and its quality of celeriac plant. *European Journal of Scientific Research*, 58(2), 257-265.
- Soad, M. M., Taha, I. L. S., & Farahat, M. M. (2010). Vegetative growth and chemical constituents of Croton plants as affected by foliar application of benzyl adenine and gibberellic acid. *Journal of American Science*, 6(7), 15-19. <http://www.americanscience.org>
- Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology*. 4<sup>th</sup> Ed. Sinauer Associates Inc. Publishers, Massachusetts, US.
- Wahba, H., Motawe, H., & 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. ISSN: 2028-2508.
- Wang, S., Wang, H. B., Wang, X. D., Shi, X. B., Wang, B. L., Zheng, X. C., & Liu, F. Z. (2015). Effects of selenium and 6-BA on leaf senescence and active oxygen metabolism in grape. *Journal of Fruit Science*, 32(11), 206-214. <https://doi.org/10.6048/j.issn.1001-4330.2022.04.011>
- Yordanov, I., Velikova, V., & Tsonev, T. (2000). Plant responses to drought and stress tolerance. Bulgharestan. *Journal of Plant Physiology*, 38(1), 171-186. DOI: 10.1023/A: 1007201411474
- Yu, C., Lv, D. G., Qin, S. J., Yang, L., Ma, H. Y., & Liu, G. C. (2010). Changes in photosynthesis, fluorescence, and nitrogen metabolism of hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) in response to exogenous glutamic acid. *Photosynthetica*, 48(3), 339-347. <https://doi.org/10.1007/s11099-010-0044-1>

## Effect of benzyl-adenine and glutamic acid on concentration of elements and morpho-physiological characteristics of one-year and two-year-old *Digitalis purpurea* L.

Afsoon Rezaie Allolo<sup>1</sup>, Azizollah Kheiry<sup>1\*</sup>, Mohsen Sanikhani<sup>1</sup>, and Maliheh Yaghoobi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Horticultural Science Department, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

<sup>2</sup> Department of Engineering, Faculty of Chemical Engineering, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Received: 2024/04/30, Accepted: 2024/05/28)

### Abstract

In order to investigate the effect of foliar application of different levels of benzyl-adenine and glutamic acid on the concentration of elements and some physiological characteristics of *Digitalis purpurea* L. in one-year and two-year-old plants, a factorial experiment in the form of a completely randomized design with three replications was conducted at the University of Zanjan research greenhouse. The treatments consisted of the effect of plant age (one-year plants and two-year old plants) as the main factor and two levels of benzyl-adenine (0.5 and 1 mM) and two levels of glutamic acid (1 and 2 mM) with the control as a subfactor. The results showed that the highest amount of total nitrogen (1.70%), phosphorus (0.08%), and proline (3.86 mg/g) in the one-year-old plants and the highest amount of leaf magnesium (0.64 µg/Kg) and Soluble sugar (63.26 mg/g) were obtained in the two-year-old plants under foliar application of 1 mM benzyl-adenine. The maximum amount of elements potassium (1.90%), calcium (2.92%), and iron (152.21 µg/Kg) was obtained in two-year-old plants treated with 0.5 mM benzyl adenine. The lowest amount of ion leakage index of leaves (16.31%) and the highest amount of relative water content (89.61%) were recorded with foliar application of 2 mM glutamic acid in one-year-old plants, and the highest amount of catalase enzyme activity (154.4 mg/g protein) and peroxidase (1.61 mg/g protein) were obtained by foliar application of 1 mM glutamic acid in the two-year-old plants. The highest leaf fresh weight (123.51 g) and leaf dry weight (47.93 g) were obtained in the one-year-old plants with foliar application of 1 mM glutamic acid. According to the results, the application of different levels of benzyl-adenine and glutamic acid is recommended to improve the absorption of elements and also to improve the morpho-physiological characteristics of the *Digitalis purpurea* L.

**Keywords:** Benzyl-adenine, Digoxin, Phosphorus, Nitrogen, Magnesium

Corresponding author, Email: kheiry@znu.ac.ir