

Original article

Effects of foliar application of tryptophan on physiological and biochemical traits of Madagascar periwinkle (*Catharanthus roseus* L.) under different drought stress levels

Farshid Yousefi^{1*}, Alireza Abdali Mashhadhi², Amin Lotfi Jalalabadi³, Alireza Shafeinia⁴, Saeed Jalili⁵, Narges Soltani⁶

1. Ph.D. student of Crop Physiology, Department of Production Engineering and Genetic Modification, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. Professor of the Department of Production Engineering and Genetic Modification, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
3. Associate Professor, Department of Production Engineering and Genetic Modification, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
4. Assistant Professor, Department of Production Engineering and Genetic Modification, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
5. Resources Assistant Professor, Department of water engineering, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
6. Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Lorestan University, Khoramabad, Lorestan, Iran

Received 22 February 2025; Revised 25 April 2025; Accepted 3 May 2025

Extended abstract

Introduction

Medicinal plants are valuable sources of bioactive compounds with therapeutic properties and play an important role in the pharmaceutical and medical industries. *Catharanthus roseus* L., commonly known as periwinkle, is a well-known medicinal plant native to Madagascar and widely distributed in tropical regions. This species is particularly valued for producing important alkaloids such as vincristine and vinblastine, which are widely used in the treatment of cancers including leukemia and lymphoma. In addition, *C. roseus* contains phenolic and antioxidant compounds that contribute to its tolerance to environmental stresses. Drought stress is a major constraint in agriculture, particularly in arid and semi arid regions, and can lead to reduced growth and various physiological and biochemical changes in periwinkle plants. Under such conditions, the application of the amino acid tryptophan may enhance plant tolerance and mitigate the adverse effects of drought stress. Tryptophan acts as a precursor in the biosynthesis of plant hormones such as auxin and plays an important role in regulating plant growth and responses to environmental stresses. Considering the importance of *C. roseus* in the pharmaceutical industry and the negative effects of drought stress on its growth and performance, this study aimed to evaluate the effects of different levels of tryptophan and drought stress on selected physiological and biochemical traits of this plant. The findings of this study may provide useful strategies for improving the growth and performance of periwinkle under drought stress conditions.

Materials and methods

The experiment was conducted in 2023 at the University of Agricultural Sciences and Natural Resources of Khuzestan, Iran. The experiment was arranged as a factorial based on a completely randomized design with three replications. The experimental factors included different concentrations of tryptophan (0, 50,

* Corresponding author: Farshid Yousefi; E-Mail: Farshid.yousefi22@gmail.com



100, 150, 200, and 250 mg L⁻¹) and three levels of drought stress (control, mild, and severe). Tryptophan was applied at two growth stages: the eight-leaf stage and the beginning of flowering.

Results and discussion

Mean comparison showed that increasing tryptophan concentration up to 250 mg L⁻¹ significantly enhanced plant dry weight, relative leaf water content, membrane stability, and catalase and peroxidase activities under severe drought stress ($p \leq 0.01$). In addition, antioxidant capacity and total protein content significantly increased ($p \leq 0.05$). The results also showed that all measured traits, except membrane stability, improved at tryptophan concentrations of 200 and 250 mg L⁻¹. In contrast, severe drought stress significantly reduced plant dry weight, total protein content, membrane stability, and leaf relative water content compared with the control treatment.

Conclusion

The application of tryptophan at appropriate concentrations (200 and 250 mg L⁻¹) may alleviate the adverse effects of drought stress and enhance the growth and performance of the medicinal plant *C. roseus*. These findings highlight the potential of growth-promoting compounds such as tryptophan to improve plant performance under environmental stress conditions.

Keywords: Alkaloids, Antioxidants, Cell membrane stability, Vinblastine, Vincristine

تأثیر محلول پاشی تربیتوفان بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* L.) تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

فرشید یوسفی^{۱*}، علیرضا ابدالی مشهدی^۲، امین لطفی جلال آبادی^۳، علیرضا شافعی نیا^۴، سعید جلیلی^۵، نرگس سلطانی^۶

۱. دانشجوی دکترا فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه مهندسی تولید و اصلاح ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان ملائانی، خوزستان

۲. استاد گروه مهندسی تولید و اصلاح ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان ملائانی، خوزستان

۳. دانشیار گروه مهندسی تولید و اصلاح ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان ملائانی، خوزستان

۴. استادیار گروه مهندسی تولید و اصلاح ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان ملائانی، خوزستان

۵. استادیار گروه مهندسی علوم آب، دانشکده مهندسی زراعی و عمران روستایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، خوزستان

۶. گروه مهندسی تولید و زنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، لرستان

مشخصات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی:	گیاه دارویی پروانش با نام علمی (<i>Catharanthus roseus</i> L.) بومی ماداگاسکار و مناطق گرمسیری است که سرشار از ترکیبات فنولیک و آلکالوئیدهایی با ارزش تجاری-دارویی چون آجمالاسین، وین کریستین و ین بلاستین می‌باشد.
آلکالوئیدها	این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار طی سال ۱۴۰۲ در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان در شرایط گلخانه‌ای اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل محلول پاشی اسید آمینه تربیتوفان (شاهد، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر) و تنش خشکی (بدون تنش، متوسط و شدید) بود. محلول پاشی تربیتوفان دو بار (در مرحله هشت‌برگی و در ابتدای مرحله گل‌دهی) انجام شد. نتایج نشان داد که افزایش غلظت اسید آمینه تربیتوفان تا ۲۵۰ میلی گرم در لیتر و تنش خشکی در سطح تنش خشکی شدید، تأثیر مثبت و معنی‌داری روی صفات وزن خشک بوته، رطوبت نسبی برگ، پایداری غشای سلولی، و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، ظرفیت آنتی اکسیدانی و پروتئین کل داشت. بررسی داده‌ها نشان داد که تمامی صفات اندازه‌گیری شده، به جز پایداری غشای سلولی، تحت تأثیر غلظت‌های بالای اسید آمینه تربیتوفان (بیش از ۲۰۰ میلی گرم بر لیتر) بهبود یافتند. از سوی دیگر، تنش خشکی شدید منجر به کاهش معنی‌دار وزن خشک بوته، پروتئین کل، پایداری غشای سلولی و رطوبت نسبی برگ نسبت به شاهد شد. با این حال، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در شرایط تنش خشکی شدید افزایش یافت که نشان‌دهنده فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی گیاه در پاسخ به تنش خشکی است. در نهایت کاربرد تربیتوفان در غلظت‌های ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر باعث تعدیل اثرات منفی ناشی از تنش خشکی و افزایش عملکرد وزن خشک گیاه دارویی پروانش شد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۲/۰۴	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۲/۰۵	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۱۳	
تاریخ انتشار:	
پائیز ۱۴۰۵	
۴۹۴-۴۷۹: (۳) ۱۹	

مقدمه

گیاه پروانش با نام علمی (*Catharanthus roseus* L.) (al., 2021). این گیاه بیش از ۱۳۰ آلکالوئید دارد که وین-کریستین و وین بلاستین به‌خاطر خواص ضد سرطانی خود، به‌ویژه در درمان لنفوم هاجکین و لوسمی کودکان قابل توجه هستند (Ali et al., 2021; Paarakh et al., 2019). این گیاه به طور سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله فشارخون بالا، عفونت‌ها و دیابت استفاده می‌شود (Paarakh

گیاه پروانش با نام علمی (*Catharanthus roseus* L.) و اسم انگلیسی Madagascan periwinkle، یک گیاه دارویی بومی ماداگاسکار بوده و به طور گسترده در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری کشت می‌شود (Paarakh et al., 2019). این گیاه متعلق به خانواده Apocynaceae است و به خواص دارویی متنوع خود شناخته شده است (Ali et

کیفیت محصول را در گیاهان مختلف افزایش دهد. در هندوانه و خربزه، کاربرد خاکی ال-تریپتوفان وزن میوه و عملکرد کلی را افزایش داد (Frankenberger and Arshad, 1991). ال-تریپتوفان به عنوان پیش ساز مولکول‌های بیواکتیو مهم، از جمله سروتونین و ملاتونین عمل می‌کند و در پاسخ‌های تنش نقش دارد (Palego et al., 2016). کاربرد برگی ال-تریپتوفان نشان داد که با بهبود محتوای آب نسبی، پایداری غشای برگ و محتوای کلروفیل، می‌تواند تنش خشکی را در ذرت کاهش دهد (Rao S. R. et al., 2012). در سیب زمینی (*Solanum tuberosum*)، کاربرد برگی ال-تریپتوفان و مشتقات آن (اسید ایندول-۳-استیک و ملاتونین) رشد رویشی، محتوای عناصر معدنی و عملکرد و کیفیت غده را افزایش داد (Mahmoud et al., 2024). گیاهان در پاسخ به تنش خشکی با تولید دامنه وسیعی از متابولیت‌های ثانویه، از جمله ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، ترپنوئیدها، آلکالوئیدها و روغن‌های ضروری، واکنش نشان می‌دهند (Ghasemi et al., 2023; Rahman et al., 2023). این ترکیبات نقش‌های حیاتی در مکانیزم‌های دفاعی گیاه و سازگاری با تنش‌های محیطی ایفا می‌کنند (Isah, 2019; Rahman et al., 2023). تنش خشکی به طور معمول غلظت مواد فیتوشیمیایی فعال مانند آلکالوئیدها، تانن‌ها و ترپنوئیدها را افزایش می‌دهد، در حالی که فنول‌ها، فلاونوئیدها و ساپونین‌ها را کاهش می‌دهد (Shil and Dewanjee, 2022). با این حال، قاسمی و همکاران (Ghasemi et al., 2023) گزارش کردند که در گیاه زیره (*Cuminum cyminum*)، تنش خشکی منجر به افزایش نامتناسبی در سطح فلاونوئیدها شده است. تولید متابولیت‌های ثانویه تحت تأثیر افزایش بیان ژن‌های بیوسنتزی کلیدی، مانند PAL، DAHP، سنتاز و HMGR تنظیم می‌شود. گیاهان، گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) را به عنوان محصولات جانبی فرآیندهای متابولیک مانند فتوسنتز و تنفس تولید می‌کنند (Ahmad et al., 2010; Bettini et al., 2008). ROS نقش‌های سیگنالینگ مهمی ایفا می‌کنند، ولی تولید بیش از حد آن‌ها در هنگام تنش‌های محیطی می‌تواند باعث آسیب سلولی شود (Das and Roychoudhury, 2014). برای مقابله با آن، گیاهان مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای که شامل فرآیندهای آنزیمی و غیر آنزیمی هستند را تکامل داده‌اند (Ahmad et al., 2010; Das and Roychoudhury, 2014). آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل سوپراکسید

(et al., 2019). برگ‌ها، ریشه‌ها، ساقه‌ها و گل‌های این گیاه در درمان‌های گیاهی و به عنوان گیاهان زینتی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Parihar et al., 2022). تنش‌های محیطی، به ویژه خشکی، به طور قابل توجهی بر منابع آلکالوئیدی گیاهان دارویی تأثیر گذار بوده و پروفایل‌های بیوشیمیایی و تولید متابولیت‌های ثانویه آن‌ها را تغییر می‌دهند. این تنش‌ها می‌توانند منجر به کاهش و افزایش ترکیبات فعال زیستی شوند، که به گونه و متابولیت‌های خاص بستگی دارد (Kanso et al., 2022; Sharma, 2024). تحقیقات نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش فلاونوئیدها در اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) شد، در حالی که تنش شوری باعث افزایش آلوئین در آلوئه‌ورا گردید (Sharma, 2024). تنش خشکی بر فیزیولوژی گیاه، از جمله فتوسنتز، روابط آبی و تعادل مواد مغذی تأثیر می‌گذارد (Nazari et al., 2023). گیاهان از مکانیزم‌های حفاظتی مختلفی مانند انباشت اسمولیت‌ها و افزایش تولید آنتی‌اکسیدان‌ها برای مقابله با تنش‌ها استفاده می‌کنند (Nazari et al., 2023). تأثیر عوامل محیطی بر انباشت متابولیت‌های ثانویه پیچیده است و می‌تواند تا ۵۰ درصد تغییر یابد (Pant et al., 2021). اسیدهای آمینه نقش حیاتی در افزایش تحمل گیاه به تنش خشکی و بهبود عملکرد و کیفیت کلی محصولات کشاورزی ایفا می‌کنند. اسیدهای آمینه می‌توانند اثرات منفی تنش خشکی را با تحریک فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، شرکت در سنتز پروتئین و کربوهیدرات و توسعه تقسیم سلولی کاهش دهند (Baqir et al., 2019; Rezk and El-Nwehy, 2021). آن‌ها همچنین به تولید هورمون‌های رشد طبیعی کمک کرده و مقاومت به تنش‌های مختلف، از جمله خشکی، شوری و دمای بالا را افزایش می‌دهند (Baqir et al., 2019; Diego and Spíchal, 2020). محققین اعلام کردند کاربرد خارجی اسیدهای آمینه، مانند پرولین، متیونین و تیروزین، می‌تواند ویژگی‌های رشدی، جذب مواد مغذی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در گیاهان تحت تنش خشکی بهبود بخشد (Kausar et al., 2023). ال-تریپتوفان که با نام بتا-۳- ایندولیل آلانین (IAA) شناخته می‌شود، یک اسید آمینه منحصر به فرد است که دارای یک حلقه ایندول است. می‌توان آن را به عنوان محلول پاشی استفاده کرد (Mustafa et al., 2018). کاربرد برگی ال-تریپتوفان و مشتقات آن می‌تواند عملکرد و

دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیدازها (POX) هستند، در حالی که آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی شامل اسید آسکوربیک، گلوتاتیون و فلاونوئیدها هستند (Das and Roychoudhury, 2014). این سیستم ها با هم کار می کنند تا ROS را از بین ببرند و هموستازی سلولی را حفظ کنند (Bettini et al., 2008). با توجه به این که بیشتر مطالعات انجام شده روی گیاه پروانش بیشتر بر ترکیبات ضد سرطانی آن متمرکز بوده و اطلاعات کافی در مورد تأثیر عوامل محیطی بر رشد و عملکرد فیزیولوژیک این گیاه وجود ندارد، این تحقیق می تواند به عنوان یک پایه علمی برای درک بهتر تأثیرات محیطی بر رشد و عملکرد این گیاه عمل کند و راهکارهایی برای بهبود عملکرد این گیاه دارویی در شرایط تنش خشکی ارائه دهد.

مواد و روش ها

کشت و اعمال تیمار

این آزمایش در سال ۱۴۰۲ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تحت شرایط نور (آفتاب) و دمای 25 ± 3 درجه سانتی گراد انجام شد.

بذرهای هیبرید F_1 گیاه پروانش (*Catharanthus roseus* var. *Vinca*) از مؤسسه کشاورزی زعیم تهیه گردید. جهت ضد عفونی، بذرها به مدت یک دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد قرار داده شدند. سپس، بذرها

ضد عفونی شده در سینی های کشت حاوی بستر ترکیبی از کوکوپیت، پیت ماس و پرلیت کشت شدند. این ترکیب بستری به منظور فراهم آوری شرایط مناسب برای جوانه زنی و رشد اولیه گیاه مورد استفاده قرار گرفت. ظروف و بستر مورد استفاده در اتوکلاو به مدت ۱۵ دقیقه با دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد جهت ضد عفونی قرار گرفتند. پس از رسیدن به مرحله چهار برگی، نشاءها در گلدان هایی به ابعاد 30×15 ، که حاوی مخلوطی متوازی از خاک مزرعه (جدول ۱)، کود دامی پوسیده و ماسه به نسبت ۱:۱:۱ بودند، کشت شدند (Alaraidh, 2020; Ramandi et al., 2019; Tala et al., 2020). آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل محلول پاشی اسید آمینه تریپتوفان (شاهد (آب مقطر)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر) (Gendy and Nosir, 2016; Rao S. et al., 2012) و تنش خشکی در سه سطح (بدون تنش، متوسط و شدید) (Munsif et al., 2022) بودند. محلول پاشی تریپتوفان با استفاده از آب پاش دستی پمپی در دو نوبت در مرحله هشت برگی و در ابتدای مرحله گل دهی انجام شد (Nejat et al., 2015; Pan et al., 2010; Schmelzer and Gurib-Fakim, 2008). دو روز پس از اولین محلول پاشی، تیمار تنش خشکی اعمال و به مدت یک ماه تا قبل از گل دهی ادامه یافت. همچنین قبل از اعمال تیمار تنش خشکی آبیاری بر اساس نیاز گیاه انجام شد.

جدول ۱. برخی از ویژگی های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش (عمق صفر تا ۳۰ سانتی متری)

Table 1. Some physical and chemical properties of the soil at the test site (depth of 0-30 cm)

فسفر قابل جذب	پتاسیم قابل جذب	نیتروژن کل	کربن آلی	هدایت الکتریکی	اسیدیته خاک	بافت خاک	رطوبت	وزن مخصوص	رطوبت
P	K	Total nitrogen	Organic carbon	EC	pH	Soil texture	ظرفیت زراعی	ظاهری	پژمردگی دائم
mg.kg ⁻¹			%	dS.m ⁻¹			Fc	Bulk density	PWP
							%	gr.cm ⁻³	%
7.4	267	0.05	0.98	3.2	7.2	Clay-silt	19	1.09	8

اعمال تنش خشکی

رطوبت خاک جهت تعیین زمان آبیاری به روش وزنی اندازه گیری گردید. نیاز آبیاری بر اساس رطوبت و عمق ناحیه ریشه گیاه محاسبه شد. برای این کار مقدار رطوبت در نقطه ظرفیت زراعی (۱۹ درصد) و نقطه پژمردگی دائم مزرعه (۸ درصد) با استفاده از دستگاه صفحات فشاری اندازه گیری شد. همچنین رطوبت خاک قبل از آبیاری در تیمار بدون تنش

بصورت وزنی به مقدار ۱۳/۵ درصد محاسبه شد، نیاز خالص آبیاری در تیمار بدون تنش، تنش متوسط و تنش شدید به ترتیب ۳۱۸، ۲۲۲ و ۱۲۷ سی سی بود. از رابطه زیر محاسبه می شود (جدول ۱).

$$V = (\theta_{fc} - \theta_i) \times Z \times A \quad [1]$$

در این رابطه V حجم آب آبیاری (cm^3) در تیمار بدون تنش θ_{fc} رطوبت حجمی خاک ($\text{cm}^3.\text{cm}^{-3}$) در نقطه ظرفیت

ساعت قرار گرفتند و EC_1 آن‌ها با استفاده از دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی تعیین گردید. سپس نمونه‌ها درون آتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند و میزان EC_2 و میزان پایداری غشا نمونه‌های مختلف با استفاده از رابطه زیر تعیین شد (Lutts et al., 1996).

$$[3] \quad 100 \times [1 - (EC_1/EC_2)] = \text{شاخص پایداری غشا}$$

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره، از راه خاصیت خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH (۲-۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدازیل) با استفاده از روش طیف سنجی تعیین گردید (Brand-Williams et al., 1995). برای این منظور، به میزان ۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج گردیده و به نمونه‌ها، ۹۵۰ میکرولیتر محلول DPPH اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در شرایط تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شده است. سپس، مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر به دست آمد. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از رابطه ی زیر محاسبه گردید.

$$[4] \quad \text{DPPH (\%)} = (A_{\text{cont}} - A_{\text{samp}}) / A_{\text{cont}} \times 100$$

که در آن A_{cont} : عدد جذب شاهد، A_{samp} : عدد جذب نمونه هستند.

اندازه‌گیری آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پروتئین کل آماده‌سازی عصاره

ابتدا ۰/۲ گرم از نمونه گیاهی، ۰/۰۲ گرم PVP و ۲ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با $\text{pH} = 7$ را درون هاون چینی باهم مخلوط گردید. مخلوط حاصل، توسط دسته هاون خوب سائیده شد تا شیره آن خارج شود و یک عصاره همگن و یکنواخت حاصل شود. مخلوط یک دست شده به میکروتیوب منتقل و به مدت ۲۵ دقیقه در دمای 4°C با ۱۵۰۰۰ هزار دور، سانتریفیوژ گردید. فاز شفاف جدا و در فریزر 80°C - نگهداری شد (Ponce et al., 2004). کلیه مراحل اجرا بر روی یخ صورت گرفت.

برای اندازه‌گیری آنزیم پراکسیداز از طریق اضافه نمودن ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی به ۲ میلی‌لیتر محلول (بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با $\text{pH} = 7$ ، آب مقطر دو بار تقطیر، پراکسید هیدروژن ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات

زراعی و θ_i رطوبت خاک قبل از آبیاری ($\text{cm}^3.\text{cm}^{-3}$)، Z عمق ناحیه ریشه (cm) و A مساحت گلدان (cm^2) می‌باشد (Jalili, 2021).

اندازه‌گیری وزن خشک بوته

برای اندازه‌گیری وزن خشک بوته‌ها، نمونه‌ها در درون پاکت کاغذی در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و سپس وزن خشک نمونه‌ها با ترازوی حساس (مدل EWJ 300-3) با دقت ۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد (Rikabad et al., 2019).

اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)

برای نمونه‌برداری از برگ تیمارهای آزمایشی قبل از مرحله گل‌دهی با استفاده از قیچی برگ‌های میانی از بوته‌ها جدا و نمونه‌ها بلافاصله درون یخ قرار گرفتند. در آزمایشگاه، نمونه‌ها به قطعات ۲ سانتی‌متری تقسیم و وزن‌تر آن‌ها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد. تمامی نمونه‌ها در آب مقطر استریل به مدت ۴ ساعت قرار گرفتند. بعد از ۴ ساعت وزن‌تر (وزن آماس) برگ‌ها اندازه‌گیری شد. سپس برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفته و وزن خشک هر کدام اندازه‌گیری شد. با قراردادن اعداد حاصل از توزین (با دقت یک ده هزارم)، محتوای نسبی آب برگ با استفاده از رابطه زیر به دست آمد (Ritchie et al., 1990).

$$[2] \quad RWC = (Fw - Dw/Sw - Dw) \times 100$$

Fw : وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری، Dw : وزن خشک برگ بعد از قرار گرفتن در آون، Sw : وزن اشباع برگ بعد از قرار گرفتن در آب مقطر

اندازه‌گیری میزان پایداری غشای سلول

میزان پایداری غشا با استفاده از روش لاتس (Lutts, 1996) تعیین شد. براساس این روش، نمونه‌های تهیه شده از جوان‌ترین برگ توسعه یافته به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از پانچ از هر برگ در مرحله قبل از گل‌دهی، دیسک‌های دایره‌ای و با قطر نیم سانتی‌متر تهیه گردید، سپس این قطعات سه بار با آب مقطر شسته و در درون لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل قرار داده شدند. این نمونه‌ها در آزمایشگاه روی شیکر با ۱۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۲۴

وزن خشک بوته

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که افزایش غلظت تریپتوفان و رطوبت خاک تأثیر مثبت و معنی داری بر وزن خشک بوته دارد (جدول ۳). با افزایش غلظت تریپتوفان، وزن خشک بوته افزایش یافت است. بیشترین وزن خشک بوته در غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر تریپتوفان در شرایط بدون تنش خشکی بود که حدود ۸۶/۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. به طوریکه در تنش متوسط و شدید وزن خشک بوته در غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر تریپتوفان به ترتیب (۱۲/۹ و ۸/۴۸ گرم) به دست آمد که حدود ۱۹ درصد افزایش و ۲۲ درصد کاهش نسبت به شاهد شد. این نتیجه نشان می دهد که ترکیب بهینه تریپتوفان و رطوبت کافی می تواند به حداکثر رشد گیاه منجر شود. با کاهش رطوبت خاک در شرایط تنش خشکی شدید و عدم استفاده از تریپتوفان (غلظت صفر)، وزن خشک بوته به طور قابل توجهی ۶۸/۸ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت و به کم ترین مقدار (۳/۳۷ گرم) رسیده است.

رطوبت نسبی برگ

نتایج مقایسه میانگین نشان می دهد که افزایش غلظت تریپتوفان و رطوبت خاک تأثیر مثبت و معنی داری بر رطوبت نسبی برگ دارد. با افزایش غلظت تریپتوفان، رطوبت نسبی برگ حدود ۴/۱ درصد نسبت به شاهد افزایش یافته است. بیشترین رطوبت نسبی برگ (به میزان ۹۲/۰۲) در غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر تریپتوفان در شرایط بدون تنش مشاهده شده است. اما در تنش متوسط و شدید بیشترین رطوبت نسبی برگ در غلظت ۲۵۰ تریپتوفان به ترتیب (۸۲/۱۶ و ۷۴/۸۴) مشاهده شد که حدود ۷ و ۱۵ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. با تنش خشکی شدید و عدم استفاده از تریپتوفان (غلظت صفر)، رطوبت نسبی برگ به طور قابل توجهی (۳۱/۳۵ درصد) نسبت به شاهد کاهش یافته و به کم ترین مقدار (۶۰/۶۷) رسیده است (جدول ۳).

پایداری غشا

افزایش نشت یونی در سلول های در معرض تنش خشکی اعمال شده همراه با تریپتوفان معنی دار بود. بیشترین میزان نشت یونی از تیمار تنش خشکی شدید و بدون محلول پاشی تریپتوفان به مقدار (۵۸/۲۳ درصد) به دست آمد که میزان نشت یونی حدود ۲۰ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. اما در شرایط تنش متوسط بیشترین میزان نشت یونی در غلظت

پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار و گوئی کول ۱۰ میلی مولار در آب مقطر دو بار تقطیر) افزوده شد، در ادامه فعالیت آنزیم پراکسیداز در مدت زمان ۱۲۰ ثانیه و طول موج ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی گردید (Chance and Maehly, 1955). روند صحیح منحنی آنزیم پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر به صورت سیر صعودی است. برای اندازه گیری آنزیم کاتالاز، میزان ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم (با غلظت ۲۵ میلی مولار و $\text{pH}=6/8$)، ۰/۵ میلی لیتر H_2O_2 (با غلظت ۱۰ میلی مولار) و ۱۰۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی با یکدیگر ترکیب و پس از همگن شدن محلول، خوانش در طول موج ۲۴۰ نانومتر صورت گرفت (Cakmak and Horst, 1991). تجزیه H_2O_2 در اثر فعالیت آنزیم کاتالاز، با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر مواجه و عدد آن به ازای هر میکرو گرم پروتئین در عصاره آنزیمی بیان شد. برای اندازه گیری میزان پروتئین، ۵ میلی لیتر از محلول برادفورد و ۲۹۰ میکرو لیتر از بافر استخراج را با همدیگر مخلوط کرده و در ادامه ۱۰ میکرو لیتر از عصاره های تهیه شده به آن ها اضافه شد. محلول حاصل توسط ورتکس به میزان مناسب هم زده شد و سپس جهت تعیین میزان جذب با طول موج ۵۹۰ نانومتر قرار داده شد (Bradford, 1976). از میزان پروتئین برای سنجش فعالیت آنزیم در میزان پروتئین استفاده شد. برای تهیه محلول بردفورد میزان ۰/۱ گرم کوماسی بریلیانت بلوجی ۲۵۰ به ۵۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد اضافه گردید و به وسیله هم زن مغناطیسی مخلوط شدند. سپس با آب مقطر دوبار استریل شده به حجم ۸۰۰ میلی لیتر رسانده شد و ۱۰۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد به آن اضافه و در نهایت با آب مقطر دوبار استریل به حجم ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده شد. محلول حاصل نیز با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید (Bradford, 1976).

تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۴)، رسم نمودار با بهره گیری از نرم افزار Excel و مقایسه میانگین با آزمون دانکن در سطح احتمال خطای ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج آنالیز واریانس (جدول ۲) نشان داد اثر متقابل و اثر ساده فاکتورهای آزمایش برای صفات مورد بررسی معنی دار گردید.

صفر تریپتوفان (۵۱/۱۹ درصد) مشاهده شد که حدود ۵/۴ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. حضور تریپتوفان سبب ثبات و پایداری غشای سلولی گیاه می‌شود، به‌طوری که غلظت ۲۵۰ تریپتوفان در شرایط بدون تنش میزان نشت یونی به مقدار (۳۶/۴۴ درصد) به دست آمد که باعث کاهش ۲۴/۵ درصد نسبت به شاهد شد (جدول ۳).

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمار تنش خشکی و اسید آمینه تریپتوفان بر شاخص‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاه پروانش.

Table 2. Results of the analysis of variance on the effects of drought stress treatment and the amino acid tryptophan on the physiological and morphological indices of the plant *C. roseus*

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن خشک بوته	ظرفیت آنتی‌اکسیدان	رطوبت نسبی برگ	پایداری غشا	پراکسیداز	کاتالاز	پروتئین کل
		df	Dry weight	Antioxidant capacity	RWC	Membrane stability	Peroxidase	Catalase	Total protein
Drought	خشکی	2	374**	925**	2203**	373**	0.05**	0.037**	276**
Tryptophan	تریپتوفان	5	59.4**	718**	77.3**	109**	0.003**	0.004**	74.2**
D×T	خشکی×تریپتوفان	10	9.74**	9.74**	21.28*	27.3**	3.27**	0.0012**	16.1*
Error	خطا	36	1.96	8.35	2.14	0.71	0.0001	0.0001	5.01
CV %	ضریب تغییرات		13.09	6.23	1.85	1.87	14.23	15.42	9.28

به شاهد شد. به‌طوریکه بیشترین میزان پروتئین کل در تنش متوسط در غلظت ۲۰۰ تریپتوفان و تنش شدید در غلظت ۲۵۰ تریپتوفان به‌ترتیب (۲۴/۶۵ و ۲۴/۲۴ گرم) به‌دست آمد که حدود ۱۳ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. کم‌ترین میزان پروتئین (۱۶/۳۳ میلی‌گرم بر گرم) در شرایط تنش خشکی شدید و بدون استفاده از تریپتوفان (غلظت صفر) ثبت شده است که حدود ۲۵/۳ درصد نسبت به شاهد کاهش یافته است. این نتایج نشان می‌دهد که تنش خشکی به‌طور قابل توجهی میزان پروتئین برگ را کاهش می‌دهد، اما تریپتوفان می‌تواند این اثر منفی ناشی از تنش خشکی شدید را در گیاه پروانش جبران کند (جدول ۳).

با افزایش غلظت تریپتوفان، فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش‌یافته است. بیشترین فعالیت این آنزیم (۰/۱۵) واحد استاندارد در میلی‌گرم پروتئین) در غلظت‌های ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تریپتوفان و تحت تنش خشکی شدید مشاهده شده است که باعث افزایش ۶/۵ برابر نسبت به شاهد شد؛ اما بیشترین میزان پراکسیداز در شرایط بدون تنش و تنش متوسط در غلظت ۲۵۰ تریپتوفان به‌ترتیب (۰/۰۵ و ۰/۱۳ واحد استاندارد در میلی‌گرم پروتئین) به‌دست آمد که حدود ۲ و ۵/۵ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت کم‌ترین فعالیت پراکسیداز (۰/۰۲) واحد استاندارد در میلی‌گرم پروتئین) از تیمار شاهد در شرایط بدون تنش خشکی و بدون

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که برهمکنش تنش خشکی و اسید آمینه تریپتوفان از نظر آماری معنی‌دار است. بررسی روند این برهمکنش نشان داد که تأثیر تریپتوفان بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌ها به سطح تنش خشکی بستگی دارد، به‌طوری که بیشترین درصد ظرفیت آنتی‌اکسیدان از تیمار ۲۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر لیتر تریپتوفان در شرایط تنش خشکی شدید به‌ترتیب با میانگین (۶۳/۳۴ و ۶۰/۷۲ درصد) به دست آمد که باعث افزایش ۱۱۳ درصد نسبت به شاهد شد. به‌طوریکه در تنش متوسط بیشترین ظرفیت آنتی‌اکسیدان در غلظت ۲۵۰ تریپتوفان به‌مقدار (۵۹/۱۳ درصد) به‌دست آمد که حدود ۹۹ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت. و کم‌ترین آن مربوط به تیمار صفر و ۵۰ تریپتوفان و در شرایط بدون تنش خشکی با میانگین (۲۹/۷۲ و ۳۰/۵۳ درصد) به دست آمد (جدول ۳).

فعالیت آنزیم پراکسیداز، کاتالاز و پروتئین کل

نتایج مقایسه میانگین نشان داد (جدول ۳) که تریپتوفان میزان پروتئین کل برگ را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. بیشترین میزان پروتئین کل (۳۶/۳۲ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر تریپتوفان و در شرایط بدون تنش خشکی مشاهده شده است که باعث افزایش ۶۶ درصد نسبت

استفاده از تریپتوفان (غلظت صفر) ثبت شده است. به طوری که در شرایط تنش خشکی شدید، اختلاف معنی داری بین سطوح مختلف تریپتوفان در فعالیت پراکسیداز مشاهده نشده است. این موضوع نشان می دهد که تنش خشکی به خودی خود می تواند فعالیت این آنزیم را افزایش دهد، اما تریپتوفان نقش مکمل در این فرآیند دارد (جدول ۳).

جدول ۳. اثر متقابل تنش خشکی × اسید آمینه تریپتوفان بر برخی از صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه پروانش.

Table 3. Interaction effect of drought stress × amino acid tryptophan on some physiological and biochemical traits of *C. roseus* plant

خشکی	تریپتوفان	وزن خشک	ظرفیت	رطوبت	پایداری غشا	پراکسیداز	کاتالاز	پروتئین کل
Drought	Tryptophan	Plant dry weight	Antioxidant capacity	نسبی برگ	Membrane stability	Peroxidase	Catalase	Total protein
	ppm	g		%				
شاهد Control	0	10.86 ^c	29.72 ^c	88.38 ^b	48.56 ^a	0.020 ^b	0.018 ^b	21.84 ^d
	50	10.66 ^c	30.53 ^c	89.36 ^b	44.63 ^b	0.043 ^a	0.026 ^b	24.76 ^{cd}
	100	11.50 ^c	33.04 ^c	90.42 ^{ab}	44.90 ^b	0.041 ^{ab}	0.027 ^b	29.26 ^b
	150	17.84 ^b	46.00 ^b	90.18 ^{ab}	44.32 ^b	0.046 ^a	0.048 ^a	27.70 ^{bc}
	200	19.36 ^{ab}	49.57 ^{ab}	90.23 ^{ab}	40.71 ^c	0.047 ^a	0.052 ^a	31.03 ^b
	250	20.33 ^a	51.06 ^a	92.02 ^a	36.44 ^d	0.055 ^a	0.056 ^a	36.32 ^a
تنش متوسط Medium stress	0	9.10 ^c	33.32 ^c	71.98 ^d	51.19 ^a	0.038 ^c	0.033 ^c	20.69 ^b
	50	9.97 ^{bc}	37.05 ^c	73.02 ^{cd}	47.04 ^c	0.051 ^{bc}	0.036 ^c	23.52 ^{ab}
	100	10.36 ^{bc}	46.09 ^b	75.04 ^{bc}	48.73 ^b	0.0422 ^c	0.050 ^b	23.52 ^{ab}
	150	11.68 ^{ab}	46.98 ^b	76.70 ^b	46.51 ^c	0.0673 ^b	0.066 ^b	20.96 ^b
	200	11.95 ^{ab}	54.82 ^a	80.20 ^a	44.18 ^d	0.124 ^a	0.068 ^b	24.65 ^a
	250	12.90 ^a	59.13 ^a	82.16 ^a	42.82 ^d	0.133 ^a	0.119 ^a	24.24 ^{ab}
تنش شدید Intense stress	0	3.37 ^d	47.86 ^{cd}	60.67 ^d	58.23 ^a	0.132 ^b	0.086 ^c	16.33 ^c
	50	5.09 ^{cd}	45.06 ^d	66.20 ^c	53.29 ^b	0.148 ^{ab}	0.138 ^b	22.21 ^{ab}
	100	5.13 ^{cd}	50.34 ^c	67.50 ^c	52.98 ^b	0.149 ^{ab}	0.137 ^b	22.56 ^{ab}
	150	6.09 ^{bc}	58.29 ^b	70.51 ^b	50.91 ^c	0.151 ^{ab}	0.100 ^c	20.29 ^b
	200	7.77 ^{ab}	60.72 ^{ab}	73.73 ^a	50.31 ^c	0.157 ^a	0.125 ^b	19.94 ^{bc}
	250	8.48 ^a	63.44 ^a	74.84 ^a	48.06 ^d	0.148 ^a	0.175 ^a	24.24 ^a

ستون های دارای حروف مشابه از نظر آماری در سطح معنی دار ۵ درصد برای آزمون دانکن تفاوت معنی داری ندارند.

Columns with similar letters are not statistically significantly different at the 5 percent level according to Duncan's test.

داد که تریپتوفان به طور قابل توجهی می تواند سیستم دفاع آنتی اکسیدانی گیاه پروانش را تقویت کند.

نتایج رگرسیون

نتایج رگرسیون بین فاکتورهای آزمایشی در شاخص های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک گیاه پروانش در سطوح مختلف تنش خشکی نشان داد، که رگرسیون برآورد شده در صفات رطوبت نسبی برگ، کاتالاز و پراکسیداز در شرایط بدون تنش غیر معنی دار بود. اما در صفات وزن خشک بوته، ظرفیت آنتی اکسیدانی، پایداری غشا و پروتئین کل رابطه رگرسیونی برآورد شده در شرایط بدون تنش معنی دار بود. بالاترین ضریب تبیین مربوط به پایداری غشا و ظرفیت آنتی اکسیدان بود که توانست ۹۷ درصد تغییرات را پیش بینی کنند.

تریپتوفان به طور معنی داری فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش داده است. بیشترین فعالیت کاتالاز (۰/۱۷) واحد استاندارد در میلی گرم پروتئین) در غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر تریپتوفان و تحت تنش خشکی شدید مشاهده شده است. در مقایسه با شاهد ۸/۴ برابر افزایش یافته است. اما بیشترین میزان فعالیت کاتالاز در شرایط بدون تنش خشکی و تنش متوسط در غلظت ۲۵۰ تریپتوفان به ترتیب (۰/۰۵ و ۰/۱۱ واحد استاندارد در میلی گرم پروتئین) به دست آمد که حدود ۲ و ۵/۶ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت کمترین فعالیت کاتالاز از تیمار شاهد در شرایط بدون تنش خشکی و بدون تریپتوفان، به مقدار (۰/۰۱۸) واحد استاندارد در میلی گرم پروتئین) به دست آمد (جدول ۳). این نتایج نشان

همچنین مشخص شد که تمام صفات در تنش متوسط و شدید معنادار بود به جز پروتئین کل در تنش متوسط و آنزیم کاتالاز در تنش شدید غیر معنی‌دار بود. به طوریکه بالاترین ضریب تبیین در تنش متوسط و شدید مربوط به رطوبت نسبی برگ و پروتئین کل بود که توانستند ۹۸ و ۹۹ درصد تغییرات را پیش‌بینی کنند (جدول ۴).

جدول ۴. نتایج رگرسیون چند پارامتره خطی تنش خشکی × تریپتوفان بر صفات مورد ارزیابی گیاه پروانش

Table 4. Results of multiparameter linear regression of drought stress × tryptophan on the evaluated traits of *C. roseus* plant.

خشکی Drought	صفات Traits	معادله Equation	CV	F	R ²	RMSE
شاهد Control	وزن خشک بوته Dry weight (g)	$Y = 10.9 - 0.06X + 0.0011X^2 - 0.0000028X^3$	8.6	19.4*	0.96	1.31
	ظرفیت آنتی‌اکسیدان Antioxidant capacity	$Y = 29.9 - 0.11X + 0.0022X^2 - 0.0000058X^3$	6.2	25.8*	0.97	2.5
	رطوبت نسبی برگ RWC	$Y = 88.2 + 0.04X - 0.00036X^2 + 0.0000009X^3$	0.44	14.3 ^{ns}	0.95	0.40
	پایداری غشا Membrane stability	$Y = 48.3 - 0.089X + 0.00073X^2 - 0.0000022X^3$	2.3	28.6*	0.97	0.99
	پراکسیداز Peroxidase	$Y = 0.02 + 0.0005X - 0.0000039X^2 + 0.000000009X^3$	10	11.9 ^{ns}	0.94	0.004
	کاتالاز Catalase	$Y = 0.02 - 0.00003X + 0.000002X^2 - 0.000000006X^3$	14	13.2 ^{ns}	0.95	0.005
	پروتئین کل Total protein	$Y = 21.5 + 0.12X - 0.0009X^2 + 0.0000025X^3$	5.5	16.39*	0.96	1.57
	وزن خشک بوته Dry weight (g)	$Y = 9.12 + 0.015X$	2.06	190**	0.98	0.22
	ظرفیت آنتی‌اکسیدان Antioxidant capacity	$Y = 33.03 + 0.1X - 0.000013X^2$	4.3	60.2**	0.97	1.99
	رطوبت نسبی برگ RWC	$Y = 71.85 + 0.023X + 0.000075X^2$	0.62	173**	0.99	0.47
تنش متوسط Medium stress	پایداری غشا Membrane stability	$Y = 50.5 - 0.03X$	2.6	25.5**	0.86	1.24
	پراکسیداز Peroxidase	$Y = 0.03 - 0.00002X + 0.0000017X^2$	20.7	16.3*	0.91	0.015
	کاتالاز Catalase	$Y = 0.03 - 0.00003X + 0.0000013X^2$	16.6	21.25*	0.93	0.01
	پروتئین کل Total protein	$Y = 20.9 + 0.06X - 0.0005X^2 + 0.0000014X^3$	8.2	0.68 ^{ns}	0.50	1.88
	وزن خشک بوته Dry weight (g)	$Y = 3.52 + 0.24X - 0.00007X^2 + 0.0000002X^3$	9.6	17.2*	0.96	0.57
	ظرفیت آنتی‌اکسیدان Antioxidant capacity	$Y = 47.5 - 0.11X + 0.0018X^2 - 0.0000047X^3$	3.08	32.9*	0.98	1.67
	رطوبت نسبی برگ RWC	$Y = 60.9 + 0.09X - 0.0002X^2 + 0.0000004X^3$	1.65	34.6*	0.98	1.14
تنش شدید Intense stress	پایداری غشا Membrane stability	$Y = 58.05 - 0.11X + 0.00068X^2 - 0.0000016X^3$	1.6	27.9*	0.97	0.83
	پراکسیداز Peroxidase	$Y = 0.13 + 0.0002X - 0.00000038X^2$	2.4	15.9*	0.914	0.0036
	کاتالاز Catalase	$Y = 0.87 + 0.017X - 0.000018X^2 + 0.00000005X^3$	9.4	10.5 ^{ns}	0.94	0.012
	پروتئین کل Total protein	$Y = 16.3 + 0.2X - 0.0018X^2 + 0.000004X^3$	0.72	541.3**	0.998	0.152

میلی گرم بر لیتر) بهترین شرایط را برای حفظ رطوبت نسبی برگ فراهم کرد. تنش خشکی به‌طور قابل توجهی رطوبت نسبی برگ را کاهش داد. همچنین تریپتوفان با کاهش آسیب‌های اکسیداتیو و بهبود ساختار غشای سلولی، از نشت یونی جلوگیری می‌کند. احتمال دارد تریپتوفان با افزایش سنتر ترکیبات حفاظتی (مانند پرولین و گلوکاتینون) و بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (مانند کاتالاز و پراکسیداز)، از غشای سلولی در برابر آسیب‌های ناشی از تنش خشکی محافظت می‌کند. همچنین، تریپتوفان ممکن است با بهبود جذب آب و مواد مغذی، فشار اسمزی داخل سلول‌ها را تنظیم کرده و از آسیب غشای سلولی جلوگیری کند.

تنش خشکی تأثیر قابل توجهی بر رشد و عملکرد گیاهان، از جمله گیاهان دارویی و معطر دارد. این تنش، میزان آب نسبی، پایداری غشای برگ، میزان کلروفیل و عملکرد کلی را کاهش می‌دهد (Moinuddin et al., 2012; Rao et al., 2012). کاربرد خارجی تریپتوفان و سایر مواد افزایش‌دهنده رشد گیاه می‌تواند اثرات تنش خشکی را کاهش دهد. استفاده از ال-تریپتوفان با غلظت ۱۵ پی‌پی‌ام به‌صورت محلول‌پاشی بر روی برگ‌ها، محتوای آب نسبی، پایداری غشای برگ و محتوای کلروفیل در ذرت تحت تنش خشکی را بهبود بخشید (Rao et al., 2012). همچنین ال-تریپتوفان تولید اسید آبسزیک توسط ریزوبیولوژی‌های افزایش‌دهنده رشد گیاه را افزایش داد، که به نوبه خود با بهبود محتوای آب نسبی، پتانسیل اسمزی، محتوای پروتئین و تحمل خشکی در ذرت را بالا برد (Yasmin et al., 2017). تریپتوفان تولید هورمون‌های گیاهی مانند اسید آبسزیک را افزایش می‌دهد که به گیاهان در مقابله با کمبود آب کمک می‌کند (Yasmin et al., 2017). در گیاه گل همیشه بهار، استفاده از تریپتوفان همراه با آبیاری بهینه، پارامترهای رشد و تحمل به تنش را بهبود بخشید (Fouad et al., 2022). نتایج این تحقیق نشان داد که تأثیر تریپتوفان بر میزان آنتی‌اکسیدانت به شدت تنش خشکی بستگی دارد. در شرایط تنش خشکی شدید، گیاهان به تریپتوفان پاسخ بهتری می‌دهند و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی خود را تقویت می‌کنند. احتمال دارد تریپتوفان در نقش یک محافظت‌کننده بیوشیمیایی در شرایط تنش عمل کند. اثر تریپتوفان بر سطح آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش خشکی، پتانسیل آن را به‌عنوان یک محافظ بیوشیمیایی برای گیاهان نشان می‌دهد. تحقیقات نشان می‌دهد که تریپتوفان سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه تحت

بررسی روابط رگرسیونی برآورد شده در اکثر صفات نشان‌دهنده رابطه درجه سوم است، بر همین اساس می‌توان بیان نمود که در سطوح ۲۰۰-۵۰ میلی گرم در لیتر، با تغییر میزان تریپتوفان به کار برده شده میزان صفات مورد بررسی به شدت تغییر می‌کند. اما در سطح تنش متوسط در صفت وزن خشک بوته رابطه خطی درجه یک بین متغیر وابسته و مستقل برآورد شده است و نشان‌دهنده تغییر شدید وزن خشک با کاربرد اسیدآمینه تریپتوفان در کلیه سطوح کاربردی است (جدول ۴).

بحث

نتایج نشان داد که تنش خشکی تأثیر منفی بر رشد گیاه دارد و عدم وجود تریپتوفان این اثر منفی را تشدید می‌کند. بنابراین تریپتوفان می‌تواند تا حدی اثرات منفی تنش خشکی را جبران کند. با این حال، در شرایط تنش خشکی شدید، حتی وجود تریپتوفان نیز نتوانسته به طور کامل از کاهش وزن خشک بوته جلوگیری کند. تحقیقات نشان می‌دهد که استفاده خارجی از تریپتوفان بر رشد گیاهان و تحمل به تنش تأثیر مثبتی دارد. تریپتوفان تجمع بیومس در ذرت (Gondek and Mierzwa-Hersztek, 2021) و سویا (Sanada and Agehara, 2023) به‌ویژه رشد ریشه را افزایش داد. در گیاه گل همیشه بهار (*Calendula officinalis*)، استفاده از تریپتوفان همراه با آبیاری بهینه، پارامترهای رشد را بهبود بخشید (Fouad et al., 2022). به‌طور مشابه، تریپتوفان اثرات تنش خشکی در لوبیا سفید را کاهش داد و باعث افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی، اسید ایندول استیک و عملکرد شد (Sadak and Ramadan, 2021a). اثرات مثبت تریپتوفان هم در روش‌های کاربردی در خاک (Sanada and Agehara, 2023; Fouad et al., 2022; Sadak and Ramadan, 2021a) مشاهده شد. مطالعات نشان می‌دهند که نقش تریپتوفان به عنوان پیش‌ساز اکسین به اثرات رشد آن کمک می‌کند (Sanada and Agehara, 2023). علاوه بر این، تریپتوفان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان را افزایش می‌دهد و تحمل به تنش را بیشتر بهبود می‌بخشد (Sadak and Ramadan, 2021a). تریپتوفان با بهبود جذب آب و مواد مغذی، رطوبت نسبی برگ را افزایش می‌دهد. در شرایط بدون تنش خشکی همراه با غلظت مناسب تریپتوفان (۲۵۰

مطالعات دیگر نشان داده‌اند که ایستورها می‌توانند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، از جمله کاتالاز و پراکسیداز را در گیاهان دارویی تحت تنش خشکی افزایش دهند (Najafi et al., 2021). تنش خشکی تأثیر قابل توجهی بر فیزیولوژی گیاه دارد و منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به عنوان یک مکانیسم دفاعی می‌شود. مطالعات متعدد نشان داده‌اند که فعالیت کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) در پاسخ به تنش خشکی در گونه‌های مختلف گیاهی، از جمله نخود فرنگی (*Pisum sativum*) (Mafakheri et al., 2011)، کنجد (*Sesamum indicum* L.) (Kadkhodaie et al., 2013)، برنج دیم (Lum et al., 2014)، و سویا (Kanase et al., 2019) افزایش می‌یابد. این آنزیم‌ها نقش حیاتی در محافظت از گیاهان در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد القا شده توسط خشکی ایفا می‌کنند. استفاده از کودهای زیستی و ایستورها، می‌تواند این فعالیت‌های آنزیمی را بیشتر افزایش داده و تحمل تنش خشکی در گیاهان دارویی را بهبود بخشد (Najafi et al., 2021).

نتیجه‌گیری نهایی

استفاده از محلول‌پاشی اسیدآمین ه تریتوفان در غلظت‌های مناسب (مانند ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر) در گیاه دارویی - تجاری پروانش توانست به طور مؤثری اثرات منفی ناشی از تنش خشکی را تعدیل کند. این مطالعه نشان داد که تریتوفان با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (مانند کاتالاز و پراکسیداز)، افزایش میزان پروتئین، بهبود وزن خشک، افزایش رطوبت نسبی برگ و حفظ پایداری غشای سلولی، مقاومت گیاه به تنش خشکی را به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد. این تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی نشان می‌دهند که تریتوفان به عنوان یک ایستور مؤثر عمل کرده و گیاه را قادر می‌سازد تا در شرایط تنش خشکی شدید بهتر عمل کند.

سپاسگزاری

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، به جهت فراهم نمودن امکان اجرای این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

تنش خشکی شدید را تقویت می‌کند. استفاده از تریتوفان به طور قابل توجهی اثرات نامطلوب تنش خشکی را کاهش می‌دهد، به طوری که در گیاهانی مانند لوپین سفید (*Lupinus polyphyllus*) و گوجه فرنگی گیلانی^۱ با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش آسیب اکسیداتیو مشاهده شده است (Gil-Ortiz et al., 2023). در شرایط خشکی شدید، گیاهان تیمار شده با تریتوفان سطوح بالاتری از ترکیبات فنولی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را نشان دادند که برای کاهش تنش اکسیداتیو حیاتی هستند (Sadak and Ramadan, 2021b). ترکیبات مشتق از تریتوفان می‌توانند با گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر (ROS) واکنش نشان دهند و به شبکه پیچیده‌ای کمک می‌کنند که تحمل گیاهان به تنش را افزایش می‌دهد (Peyrot and Ducrocq, 2008). نشان داده شده است که کاربرد تریتوفان پارامترهای فیزیولوژیک مانند کارایی فتوسنتز و رشد ریشه را بهبود می‌بخشد که برای مقاومت در برابر خشکی حیاتی است (Sistu et al., 2024).

تریتوفان با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (کاتالاز و پراکسیداز) و افزایش میزان پروتئین برگ، به گیاه کمک می‌کند تا با تنش خشکی مقابله کند. این آنزیم‌ها با تجزیه گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) که در شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابند، از آسیب‌های اکسیداتیو به سلول‌های گیاهی جلوگیری می‌کنند. افزایش میزان پروتئین برگ نیز ممکن است ناشی از افزایش سنتز پروتئین‌های مرتبط با مقاومت به تنش و بهبود متابولیسم گیاه باشد. در این تحقیق نشان داده شد که کاربرد غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر تریتوفان باعث افزایش سنتز آنزیم‌های مقاوم در برابر تنش و بهبود متابولیسم گیاه می‌شود. مطالعات نشان می‌دهد که کاربرد تریتوفان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کلیدی مانند کاتالاز و پراکسیداز را افزایش می‌دهد که برای سم زدایی ROS بسیار مهم است (Sadak and Ramadan, 2021b). مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی تقویت شده به کاهش تنش اکسیداتیو کمک می‌کند و در نتیجه سلامت گیاه و رشد را در شرایط تنش خشکی ارتقاء می‌بخشد (Rajput et al., 2021). نشان داده شده است که کاربرد تریتوفان باعث بهبود کارایی فتوسنتزی و افزایش زیست توده در گیاهان تحت تنش آبی می‌شود (Shabir et al., 2020).

¹- Cherry tomato

منابع

- Ahmad, P., Jaleel, C.A., Salem, M.V.A., Nabi, G., Sharma, S., 2010. Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical Reviews in Biotechnology*. 30, 161-175. <https://doi.org/10.3109/07388550903524243>
- Alaraidh, I.A., 2020. Exogenous application of salicylic acid, indoleacetic acid and tryptophan protects growth, chlorophyll synthesis and antioxidant activities and gene expression in *Catharanthus roseus*. *Pakistan Journal of Botany*. 52, 893-900. [https://doi.org/10.30848/PJB2020-3\(15\)](https://doi.org/10.30848/PJB2020-3(15))
- Ali, S., Farooqui, N. A., Ahmad, S., Salman, M., Mandal, S., 2021. *Catharanthus roseus* (Sadabahar): A brief study on a medicinal plant with various pharmacological activities. *Plant Archives*. 21(2), 556-559. <https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2021.v21.no2.085>
- Baqir, H. A. A.-R., Zeboon, N. H., Al-Behadili, A., 2019. The role and importance of amino acids within plants: A review. *Plant Archives*, 19, 1402-1410.
- Bettini, P.P., Cosi, E., Bindi, D., Buiatti, M., 2008. Reactive oxygen species metabolism in plants: production, detoxification and signaling in the stress response. *Plant Stress*. 2(1), 28-39. [https://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOOnline/images/0806/PS_2\(1\)/PS_2\(1\)28-39o.pdf](https://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOOnline/images/0806/PS_2(1)/PS_2(1)28-39o.pdf)
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72, 248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.-E., Berset, C., 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*. 28, 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cakmak, I., Horst, W.J., 1991. Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum*. 83, 463-468. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1991.tb00121.x>
- Chance, B., Maehly, A., 1955. Assay of catalases and peroxidases. *American Journal of Plant Sciences*. 5(22), 764-775. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8)
- Das, K., Roychoudhury, A., 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*. 2, id.53. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>
- Diego, N. D., Spíchal, L., 2020. Use of plant metabolites to mitigate stress effects in crops. In: Geelen, D., Xu, L. (eds.), *The Chemical Biology of Plant Biostimulants*. John Wiley & Sons. pp. 261-300. <https://doi.org/10.1002/9781119357254.ch11>
- Fouad, H., Elsayed, S.I.M., Fouad, R., Hendawy, S.F., Omer, E.A., 2022. Influence of exogenous tryptophan application on production and carotenoids of *Calendula officinalis* under drip irrigation treatments. *International Journal of Health Sciences*. <https://doi.org/10.53730/ijhs.v6nS6.12936>
- Frankenberger, W. T., Arshad, M., 1991. Yield response of watermelon and muskmelon to L-tryptophan applied to soil. *Horticultural Science*. 26(1), 35-37. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.26.1.35>
- Gendy, A.S., 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. <https://www.curreweb.com/mejar/mejar/2016/701-708.pdf>
- Ghasemi, S., Kumleh, H.H., Kordrostami, M., Rezadoost, M.H., 2023. Drought stress-mediated alterations in secondary metabolites and biosynthetic gene expression in cumin plants: Insights from gene-specific and metabolite-level analyses. *Plant Stress*. 10, id.100241. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100241>
- Gil-Ortiz, R., Naranjo, M. Á., Atares, S., Vicente, O., 2023. Antioxidant responses of water-stressed cherry tomato plants to natural biostimulants. *Agronomy*. 13(9), 2314. <https://doi.org/10.3390/agronomy13092314>

- Gondek, K., Mierzwa-Hersztek, M., 2021. Effect of soil-applied L-tryptophan on the amount of biomass and nitrogen and sulfur utilization by maize. *Agronomy*, 11(12), 2582. <https://doi.org/10.3390/agronomy11122582>
- Isah, T., 2019. Stress and defense responses in plant secondary metabolites production. *Biological Research*, 52(39), 1-25. <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0246-3>
- Jalili, S., 2021. Applied Soil physical properties, drainage and irrigation strategies. Khuzestan Agricultural Sciences and Natural Resources University Press. [In persian].
- Kadkhodaie, A., Razmjoo, J., Zahedi, M., 2013. Peroxidase, ascorbate peroxidase and catalase activities in drought sensitive, intermediate and resistance sesame (*Sesamum indicum* L.) genotypes. *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(11), 3012-3021. <https://doi.org/10.5555/20133395492>
- Kanase, T., Guhey, A., Gawas, D., 2019. Activity of antioxidant enzymes in soybean genotypes under drought stress. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(9): 2323-2330. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.809.267>
- Kanso, M., Hijazi, M. A., Aboul Ela, M., El-Lakany, A., 2022. Medicinal plants' stress factors: Effects on metabolites and novel perspectives for tolerance. *BAU Journal - Health and Well-Being*, 5(1), 1-13. <https://doi.org/10.54729/XWWG9154>
- Kausar, A., Zahra, N., Tahir, H., Hafeez, M. B., Abbas, W., Raza, A., 2023. Modulation of growth and biochemical responses in spinach (*Spinacia oleracea* L.) through foliar application of some amino acids under drought conditions. *South African Journal of Botany*, 158, 243-253. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.05.018>
- Lum, M. S., Hanafi, M.M., Rafii, Y.M., Akmar, A.S.N., 2014. The effect of drought stress on growth, proline and antioxidant enzyme activity of rainfed rice *Journal of Animal and Plant Sciences*, 24(5), 1487-1493. <http://www.thejaps.org.pk/docs/v-24-5/28.pdf>
- Lutts, S., Kinet, J., Bouharmont, J., 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. *Annals of Botany*, 78, 389-398. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0159>
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P. C., Sohrabi, Y., 2011. Effect of drought stress and subsequent recovery on protein, carbohydrate contents, catalase and peroxidase activities in three chickpea (*Cicer arietinum*) cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, 5(10), 1255-1260. http://www.croplj.com/siosemardeh_5_10_2011_1255_1260.pdf
- Mahmoud, F.E., Ragab, M., Mousa Youssef, S., Metwally, A., 2024. Growth, yield, and tuber quality of potato with foliar application of tryptophan and its derivatives. *Egyptian Journal of Horticulture*, 51(2), 161-173. <https://doi.org/10.21608/ejoh.2023.241425.1263>
- Moinuddin, Khan, M. M. A., Naeem, M., 2012. drought stress effects on medicinal and aromatic plants and the stress amelioration by mineral nutrition. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology*, 6 (Special Issue 1), 69-83. [http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOonline/images/2012/MAPS6_6\(SI1\)/MAPSB_6\(SI1\)69-83o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOonline/images/2012/MAPS6_6(SI1)/MAPSB_6(SI1)69-83o.pdf)
- Munsif, F., Shah, T., Arif, M., Jehangir, M., Afridi, M.Z., Ahmad, Latiefjan, B., Alansi, S., 2022. Combined effect of salicylic acid and potassium mitigates drought stress through the modulation of physio-biochemical attributes and key antioxidants in wheat. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29, 103294. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.11.067>
- Mustafa, A., Imran, M., Ashraf, M., Mahmood, K., 2018. Perspectives of using l-tryptophan for improving productivity of agricultural crops: A review. *Pedosphere*, 28(1), 16-34. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(17\)60447-9](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(17)60447-9)
- Najafi, S., Nazari Nasi, H., Tuncurk, R., Tuncurk, M., Sayyed, R.Z., Mirnia, R., 2021. Biofertilizer application enhances drought stress tolerance and alters the antioxidant enzymes in medicinal pumpkin (*Cucurbita pepo* convar. pepo var. Styriaca). *Horticulturae*, 7(12), 588. <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120588>
- Nazari, M., Ghasemi-Soloklui, A.A., Kordrostami, M., Abdel Latif, A.A.H., 2023. Deciphering the response of medicinal plants to abiotic stressors: A focus on drought and salinity. *Plant Stress*, 10, 100255. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100255>
- Nejat, N., Valdiani, A., Cahill, D., Tan, Y.-H., Maziah, M., Abiri, R., 2015. Ornamental

- exterior versus therapeutic interior of Madagascar periwinkle (*Catharanthus roseus*): the two faces of a versatile herb. The Scientific World Journal. 2015(1), 982412. <https://doi.org/10.1155/2015/982412>
- Paarakh, M. P., Swathi, S., Taj, T., Tejashwini, V., Tejashwini, B., 2019. *Catharanthus Roseus* Linn—A review. Acta Scientific Pharmaceutical Sciences. 3(10), 19-24. <https://doi.org/10.31080/ASPS.2019.03.0393>
- Palego, L., Betti, L., Rossi, A., Giannaccini, G., 2016. Tryptophan biochemistry: structural, nutritional, metabolic, and medical aspects in humans. Journal of Amino Acids. 2016(2), 1-13. <https://doi.org/10.1155/2016/8952520>
- Pan, Q., Chen, Y., Wang, Q., Yuan, F., Xing, S., Tian, Y., Zhao, J., Sun, X., Tang, K., 2010. Effect of plant growth regulators on the biosynthesis of vinblastine, vindoline and catharanthine in *Catharanthus roseus*. Plant Growth Regulation. 60, 133-141. <https://doi.org/10.1007/s10725-009-9426-4>
- Pant, P., Pandey, S., Dall'acqua, S., 2021. The influence of environmental conditions on secondary metabolites in medicinal plants: A literature review. Chemistry and Biodiversity, 18(11), e2100345. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202100345>
- Parihar, S., Sharma, D., Chirania, A., Telrandhe, U. B., 2022. To review on the pharmacology of the leaf extract of *Catharanthus Roseus*. Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development. 10(1), 32-37. <https://doi.org/10.22270/ajprd.v10i1.1075>
- Peyrot, F., Ducrocq, C., 2008. Potential role of tryptophan derivatives in stress responses characterized by the generation of reactive oxygen and nitrogen species. Journal of Pineal Research. 45, 235-246. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2008.00569.x>
- Ponce, A., Del Valle, C., Roura, S., 2004. Natural essential oils as reducing agents of peroxidase activity in leafy vegetables. LWT-Food Science and Technology. 37, 199-204. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2003.07.001>
- Rahman, A., Albadrani, G. M., Waraich, E. A., Awan, T.H., 2023. Plant secondary metabolites and abiotic stress tolerance: Overview and implications. In: Hussain, S., Awan, T.H., Waraich, E.A., Awan, M.I. (eds.), Plant Abiotic Stress Responses and Tolerance Mechanisms, IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.111696>
- Rajput, V. D., Harish, Singh, R. K., Verma, K. K., Sharma, L., Quiroz-Figueroa, F., Meena, M., Singh Gour, V., Minkina, T., Sushkova, S., Mandzhieva, S., 2021. Recent developments in enzymatic antioxidant defence mechanism in plants with special reference to abiotic stress. Biology. 10(4), 267. <https://doi.org/10.3390/biology10040267>
- Ramandi, A., Javan, I. Y., Tazehabadi, F. M., Asl, G. I., Khosravanian, R., Ebrahimzadeh, M. H., 2019. Improvement in seed surface sterilization and in vitro seed germination of ornamental and medicinal plant (*Catharanthus roseus* L.). Chiang Mai Journal of Science. 46(6), 1107-1112. <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/CMJS/10990724.pdf>
- Rao, S., Qayyum, A., Razzaq, A., Ahmad, M., Mahmood, I., Sher, A., 2012. Role of foliar application of salicylic acid and L-tryptophan in drought tolerance of maize. The Journal of Animal and Plant Sciences. 22(3), 768-772. <https://scispace.com/pdf/role-of-foliar-application-of-salicylic-acid-and-l-1mdndlb623.pdf>
- Rezk, A. I., El-Nwehy, S. S., 2021. Amino Acids and its Role in Plant Nutrition and Crop Production. A review. Middle East Journal of Applied Sciences. 11(2), 400-413. <https://doi.org/10.36632/mejas/2021.11.2.32>
- Rikabad, M. M., Pourakbar, L., Moghaddam, S. S., Popović-Djordjević, J., 2019. Agrobiological, chemical and antioxidant properties of saffron (*Crocus sativus* L.) exposed to TiO₂ nanoparticles and ultraviolet-B stress. Industrial Crops and Products. 137(4), 137-143. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.023>
- Ritchie, S.W., Nguyen, H.T., Holaday, A.S., 1990. Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science. 30(1), 105-111. <https://doi.org/10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x>
- Sadak, M.S., Ramadan, A.A.E.-M., 2021b. Impact of melatonin and tryptophan on water stress tolerance in white lupine (*Lupinus termis* L.). Physiology and Molecular Biology of Plants. 27(3), 469-481. <https://doi.org/10.1007/s12298-021-00977-0>

- Sanada, A., Agehara, S., 2023. Characterizing root morphological responses to exogenous tryptophan in soybean (*Glycine max*) seedlings using a scanner-based rhizotron system. *Plants*. 12(1), 186.
<https://doi.org/10.3390/plants12010186>
- Schmelzer, G.H., Gurib-Fakim, A., Arroo, R., Bosch, C.H., de Ruijter, A., Simmonds, M.S.J., Lemmens, R.H.M.J., Oyen, L.P.A., 2008. *Plant Resources of Tropical Africa*. 11 (1). Medicinal Plants 1. 790p. PROTA Foundation, Wageningen, Netherland.
<https://edepot.wur.nl/417238>
- Shabir, A., Saqib, M., Ahmad, M., Latif, M., Bukharia, S.A.H., Ahmad, M.Q., Dawood, M., Rashid, M., 2020. Enhancing drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) through foliar application of proline and L-tryptophan: proline and L-tryptophan induced drought tolerance in wheat. *Biological Sciences-PJSIR*, 63(3), 199-206.
<https://doi.org/10.52763/PJSIR.BIOL.SCI.63.3.2020.199.206>
- Sharma, M. K., 2024. Exploring the biochemical profiles of medicinal plants cultivated under stressful environmental conditions. *Current Agriculture Research Journal*. 12(1), 81-103.
<https://doi.org/10.12944/CARJ.12.1.07>
- Shil, S., Dewanjee, S., 2022. Impact of drought stress signals on growth and secondary metabolites (SMs) in medicinal plants. *The Journal of Phytopharmacology*. 11(5), 371-376.
<https://doi.org/10.31254/phyto.2022.11511>
- Sistu, R., Tiwari, S., Tripathi, M., Singh, S., Gupta, N., Asati, R., Yadav Kumar, R., 2024. Effect of different biochemical parameters and antioxidant enzymes activities on drought Indices in Chickpea (*Cicer arietinum* L.). *legume research: An International Journal*, 47(10), 1698-1704.
<https://doi.org/10.18805/LR-5204>
- Tala, S., Al-Ajlouni, M.G., Ayad, J.Y., Othman, Y.A., Hilaire, R.S., 2020. Performance of six different soilless green roof substrates for the Mediterranean region. *Science of the Total Environment*. 730, 139182.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139182>
- Yasmin, H., Nosheen, A., Naz, R., Bano, A., Keyani, R., 2017. l-tryptophan-assisted PGPR-mediated induction of drought tolerance in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Plant Interactions*. 12(1), 567-578.
<https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1348445>