

آماده انتشار

Effect of potassium humate on growth traits and biochemical composition of periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) medicinal plant

Maryam Kaviani¹ | Davood Bakhshi² | Mohammad Bagher Farhangi³ |
Mehrdad Chaichi⁴

1. Ph.D. Student, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University campus 2, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail: kavianimaryam170@yahoo.com. 0009-0008-0223-7286.
2. *Corresponding Author, Associate professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.. E-mail: bakhshi-d@guilan.ac.ir. 0000-0001-8351-2156.
3. Assistant professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail: m.farhangi@guilan.ac.ir. 0000-0002-8282-549X.
4. Assistant professor, Department of Seed and Plant Improvement Research, Agriculture and Natural Resources Center, Agriculture Research, Education and Extension Organization, Hamedan, Iran. E-mail: m.chaichi@areeo.ac.ir. 0000-0002-7757-8762.

تأثیر پتاسیم هیومات بر صفات رشدی و ترکیبات بیوشیمایی گیاه دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON)

مریم کاویانی^۱ | داود بخشی^۲ | محمدباقر فرهنگی^۳ | مهرداد چائیچی^۴

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی باغبانی، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: kavianimaryam170@yahoo.com
۲. نویسنده مسئول، دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: bakhshi_d@guilan.ac.ir
۳. استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: m.farhangi@guilan.ac.ir
۴. استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران. رایانامه: m.chaichi@areeo.ac.ir

تأثیر پتاسیم هیومات بر صفات رشدی و ترکیبات بیوشیمیایی گیاه دارویی پروانش

(*Catharanthus roseus* (L.) G. DON)

چکیده

سابقه و هدف: گیاه پروانش با نام علمی *Catharanthus roseus* (L.) G. DON متعلق به خانواده Apocynaceae است. بیش از ۴۰۰ آلکالوئید از نوع ترپنوئید اندول آلکالوئید (TIA) از این گیاه استخراج شده است که از جمله مهم‌ترین مواد مؤثره آن می‌توان به ترکیب‌های وین کریستین، وین بلاستین و آجملاستین اشاره کرد، مقدار محدود آلکالوئید وین بلاستین و وین کریستین در گیاه پروانش و نیاز جوامع و بیماران مبتلا به سرطان از مهم‌ترین دلایل توجه پژوهشگران به کشت و تولید این گیاه است. از آنجا که تأثیر کودهای آلی بر کشت این گیاه کمتر مطالعه شده است، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر کود پتاسیم هیومات بر خصوصیات رشدی و بیوشیمیایی گیاه پروانش انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش مزرعه‌ای در باغ گیاهان دارویی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی شهرستان همدان در دو سال زراعی ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ در سه تکرار اجرا شد. تیمار پتاسیم هیومات در پنج سطح ۰، ۲/۵، ۳، ۳/۵ و ۴ گرم در متر مربع به صورت کود آبیاری اعمال شد. اندام‌های هوایی و ریشه پروانش در زمان گلدهی (پایان مرداد و نیمه شهریور) جمع‌آوری و صفات رشدی شامل وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه اندازه‌گیری شدند. صفات بیوشیمیایی شامل فعالیت آنزیم‌های اکسیداز و کاتالاز در برگ، ساقه و ریشه و آلکالوئید کل در برگ گیاه نیز اندازه‌گیری شد. داده‌ها به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا و با نرم‌افزار SAS آنالیز شدند.

یافته‌ها: اثر پتاسیم هیومات بر وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه، فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز برگ، ساقه و ریشه و آلکالوئید کل در برگ گیاه معنی‌دار شد ($p < 0/05$). همچنین اثر سال بر همه این فاکتورها به جز وزن تر ریشه، فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه معنی‌دار شد ($p < 0/05$). اثر متقابل تیمار $\times$ سال بر وزن تر و خشک برگ و ریشه، وزن تر ساقه و فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه معنی‌دار شد ($p < 0/05$). یافته‌ها نشان داد که تیمار پتاسیم هیومات (۴ گرم در متر مربع) بیشترین وزن تر و خشک گیاه و فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز و تیمار پتاسیم هیومات ۳/۵ گرم در متر مربع بیشترین تأثیر را بر آلکالوئید کل در برگ داشت و تیمار شاهد کمترین نتایج را نشان داد. در سال دوم، اعمال تیمارها به طور قابل توجهی باعث بهبود ویژگی‌های گیاه پروانش شد. با توجه به نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها تیمار $\times$ سال، بیشترین میزان وزن تر برگ (۲۰۳/۷۹ گرم در متر مربع)، وزن خشک برگ (۳۳/۴۷ گرم در متر مربع) و وزن تر ساقه (۸۸/۳۸ گرم در متر مربع)، وزن خشک ریشه (۵/۲۳ گرم در متر مربع) مربوط به تیمار ۴ گرم در متر مربع پتاسیم هیومات در سال دوم بود. همچنین بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۹۲ جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین) در سال دوم و وزن تر ریشه (۲۷/۷۷ گرم در متر مربع) مربوط به تیمار ۳/۵ گرم در متر مربع پتاسیم هیومات در سال اول بود.

نتیجه‌گیری: تغذیه گیاه با کود پتاسیم هیومات در سطح ۴ گرم در متر مربع، بیشترین تأثیر را بر بهبود مولفه‌های رشدی شامل وزن تر و خشک برگ و ساقه و ریشه گیاه پروانش داشت. همچنین استفاده از این کود در سطح ۴ گرم در متر مربع بیشترین تأثیر را بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز داشت. استفاده از این کود در سطح ۳/۵ گرم در متر مربع بیشترین تأثیر را بر مقدار آلکالوئید کل در برگ داشت.

کلمات کلیدی: آلکالوئید کل، آنزیم کاتالاز، آنزیم پراکسیداز شاخص‌های رشد، کود ارگانیک.

مقدمه

با توجه به روند رو به رشد مصرف گیاهان دارویی در جهان، به ویژه در کشورهای پیشرفته، اهمیت پرورش و تولید این گیاهان در اقتصاد و سلامت جامعه آشکار است. یکی از این گیاهان دارویی مهم پروانش است (۱، ۲). پروانش یا پریش با نام علمی (*Catharanthus roseus* L. (G. Don)) یکی از مهمترین و پرمصرفترین گیاه دارویی و زینتی از خانواده خرزهره (Apocynaceae) با پراکندگی گسترده در ماداگاسکار و مناطق گرمسیر مانند (جنوب هند، اندونزی) و آفریقا است که در مناطق گرمسیر به صورت چندساله و در مناطق سرد به صورت یکساله کشت می‌شود (۳). استفاده از این گیاهان دارویی در درمان سرطان به دلیل عوارض جانبی کمتر و از طرفی سازگاری بیشتر با بدن، اهمیت فوق‌العاده‌ای یافته است. در برزیل از دم کرده برگ این گیاه جهت بهبود زخم‌های مزمن، شستشودهنده دهان و دندان و کمبود ویتامین C استفاده می‌شود و در بریتانیا برای درمان زخم معده و دیابت به کار می‌رود (۴).

پروانش بیش از ۴۰۰ نوع آلکالوئید از نوع ترپنوئید ایندول آلکالوئید^۱ (TIA) را تولید می‌نماید. از جمله مهم‌ترین مواد مؤثره پیکره رویشی آن می‌توان به ترکیب‌های وین‌کریستین^۲ و وین‌بلاستین^۳ اشاره کرد (۵). تمام قسمت‌های گیاه پروانش حاوی ترکیبات گیاهی فعال زیستی است که شامل طیف گسترده‌ای از ترکیبات مانند فنل‌ها، فلاونوئیدها، آلدئیدها، اسیدهای چرب، کتون‌ها و آلکالوئیدها می‌شود. ارزش اقتصادی وین‌بلاستین یک میلیون دلار و تولید سالانه آن ۱۲ کیلوگرم و قیمت هر کیلوگرم وین‌کریستین سه و نیم میلیون دلار و تولید سالانه آن یک کیلوگرم می‌باشد (۶). افزایش تقاضا و قیمت بالای این داروها، و از طرفی هزینه‌بر بودن سنتز این آلکالوئیدها به صورت مصنوعی پژوهشگران را بر آن داشته تا راهکارهای نوینی برای افزایش تولید و کاهش هزینه‌ها بیابند (۷، ۸).

در تولید گیاهان دارویی علاوه بر شرایط آب و هوایی، فاکتورهای خاکی نیز از اهمیت خاصی برخوردار هستند. عناصر غذایی در خاک که به راحتی قابل دستکاری هستند، می‌توانند کمیت و کیفیت این گیاهان را تحت تأثیر قرار دهند. مدیریت عناصر خاک

¹ Terpenoid indole alkaloids

² Vincristine

³ Vinblastine

نه تنها بر کمیت محصول بلکه بر کیفیت آن نیز موثرند و این امر به ویژه در گیاهان دارویی که نیازمند استانداردهای دقیق برای استفاده در پزشکی هستند، دارای اهمیت بسیار است. پروانش تقریباً در هر نوع خاکی به خوبی رشد می‌کند ولی خاک‌های شنی حاوی مقادیر فروان ترکیبات هوموسی، از خاک‌های دیگر بهترند (۹). گیاه پروانش به pH خاک حساس بوده و در pH های بالاتر از ۶/۳ کمبود شدید ریزمغذی‌هایی مانند آهن را نشان می‌دهد (۱۰).

پتاسیم هیومات نمک هیومیک اسید است که از زغال سنگ قهوه‌ای مشتق شده و سرشار از گروه‌های عاملی کربوکسیلیک و فنولیک است (۱۱). این ماده هم حاوی پتاسیم است که برای رشد گیاهان ضروری است، و هم حاوی هیومیک اسید است که به بهبود کیفیت خاک و افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی کمک می‌کند. مواد هیومیک ترکیبات سازگار با محیط زیست می‌باشند. این ترکیبات آلی به عنوان بهترین کلات کننده طبیعی هستند و در انحلال و آزادسازی عناصر کم مصرف و پرمصرف، افزایش ریشه‌زایی و در دسترس قرار دادن فسفات نامحلول نقش مهمی دارند، در نتیجه نیاز به کودهای شیمیایی را کاهش می‌دهند. همچنین ترکیبات هیومیک بخاطر pH اسیدی در اصلاح خاک‌های قلیایی موثرند (۱۲، ۱۳). پژوهش‌های چن و همکاران (۲۰۲۴) نشان داد که غلظت مناسب پتاسیم هیومات تأثیر قابل توجهی بر بهبود عملکرد گیاه دم‌روباهی (*Foxtail millet*) دارد. پتاسیم هیومات باعث افزایش طول خوشه، وزن خوشه و تعداد آن، وزن دانه‌های هر خوشه و به طور کلی افزایش عملکرد این گیاه شد (۱۴). نتایج تحقیقات عزیزی و صفایی (۲۰۱۷) در گیاه رازیانه نشان داد که محلول‌پاشی با اسید هیومیک با غلظت ۶ میلی گرم در لیتر باعث افزایش وزن خشک، ارتفاع، عملکرد دانه، وزن دانه در بوته، و میزان و عملکرد اسانس شد (۱۵). سپهری و همکاران (۲۰۲۴) دریافتند که استفاده از غلظت ۶۰۰ میلی گرم هیومیک اسید بیشترین تأثیر را بر ارتفاع بوته، طول ریشه، تعداد و سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی گیاه دارویی کشتوک و کاسنی در سیستم هواکشت داشت و کمترین میزان این صفات نیز مربوط به تیمار بدون هیومیک اسید بود (۱۶).

هیومیک اسید سبب افزایش سنتز آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز، دی‌فنل اکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و اینورتاز و محتوی پروتئین برگ می‌شود (۱۷). آنتی اکسیدان‌ها مجموعه وسیعی از ترکیبات هستند که رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کنند و از آسیب به یاخته‌ها جلوگیری می‌کنند. ترکیبات آنتی اکسیداتیو موجود در منابع طبیعی نقش مهمی در پیش‌گیری از تنش اکسیداتیو و همچنین

در محدود کردن تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن^۴ (ROS) ایفا می‌کنند (۱۱۸). کاربرد اسیدهیومیک در گیاه به صورت کاربرد برگ‌ی (محللول‌پاشی)، سبب افزایش تنفس، سنتز نوکلئیک اسیدها، جذب یون‌ها و افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود. همچنین با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو، سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می‌شود (۱۹). استفاده از هیومیک‌اسید در محیط کشت بافت گیاه آزاله در غلظت‌های یک و دو میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز شد (۲۰). استفاده از هیومیک‌اسید از طریق افزایش ظرفیت فتوسنتزی، بهبود جذب عناصر غذایی، افزایش کارایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل باعث بهبود افزایش عملکرد، صفات مورفولوژیک (ارتفاع گیاه، قطر ساقه، روز تا گلدهی) و بیوشیمیایی (فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز) گیاه پروانش شد (۲۱). با این حال پژوهش‌های کمی در مورد تاثیر پتاسیم‌هیومات در شرایط مزرعه بر روی گیاهان از جمله پروانش انجام شده است.

با توجه به اهمیت گیاه پروانش به‌عنوان گیاه دارویی-زینتی و افزایش چشم‌گیر تقاضا و قیمت بالای داروهایی که از این گیاه استحصال می‌شوند، و از سویی هزینه‌بر بودن سنتز آزمایشگاهی این آلکالوئیدها، کشت گیاه در اولویت قرار گرفته است. ضمن اینکه استفاده از کودهای آلی و زیستی در سلامت و کیفیت فرآورده‌های به‌دست آمده از این گیاه می‌تواند نقش داشته باشد. بنابراین، این پژوهش با هدف بررسی تاثیر کود پتاسیم‌هیومات بر رشد و ترکیبات بیوشیمیایی گیاه دارویی پروانش در شرایط مزرعه انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در باغ گیاهان دارویی استان همدان واقع در شهرستان همدان (۵۱° طول شمالی و ۸۰° عرض شرقی)، با ارتفاع ۱۸۷۰ متر از سطح دریا و اقلیم سرد و نیمه‌خشک و در دو سال زراعی ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ انجام شد. بذر گیاه پروانش رقم صورتی F1 از شرکت Ballhort آمریکایی خریداری شد و در نیمه‌فروردین در بستر پیت و کوکوپیت (به نسبت ۱:۱) کشت و در خردادماه در مرحله چهار تا شش برگگی به زمین اصلی منتقل شد. کود پتاسیم‌هیومات از شرکت آرویج گستر سما به صورت پودری خریداری شد که حاوی ۴۰ درصد هیومیک‌اسید و بیست درصد پتاسیم‌اکساید بود.

⁴ Reactive Oxygen Species

آزمایش مزرعه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب بلوک کامل تصادفی اجرا شد. تیمار آزمایشی شامل پتاسیم هیومات در پنج سطح صفر، ۲/۵، ۳، ۳/۵ و ۴ گرم در متر مربع بود که در دو سال متوالی کشت و در سه تکرار به کرت‌ها اعمال شد. تیمارها به صورت کودآبیاری و سه روز پس از انتقال نشا به زمین اصلی اعمال شدند. پیش از کشت گیاه از خاک مزرعه (عمق ۲۰ سانتی‌متری) نمونه‌برداری شد و برخی از ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک به روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شد (۲۲). کشت گیاه پروانش در کرت‌های ($1 \times 1 \text{ m}^2$) با رعایت حاشیه ۲۰ سانتیمتر از هر سو، فاصله بین ردیف‌ها ۳۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف‌ها ۲۰ سانتی‌متر (در هر کرت ۱۲ گیاه)، انجام شد (شکل ۱)



شکل ۱- مراحل کشت و رشد گیاه پروانش (*Catharanthus roseus*)

Fig. 1. Cultivation and growth stages of Periwinkle (*Catharanthus roseus*)

صفات رشدی شامل وزن تر و خشک برگ، ساقه و ریشه در زمان گلدهی (پایان مرداد و نیمه شهریور) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک، قسمت‌های مختلف گیاه در آون (۶۰ درجه سلسیوس) به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد (۲۲).

به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ابتدا استخراج عصاره گیاه با محلول بافر فسفات سدیم ($\text{pH} = 7$) انجام شد. برای استخراج عصاره گیاه یک گرم بافت گیاهی به کمک نیتروژن مایع کاملاً پودر شد. سپس به آن دو میلی‌لیتر محلول بافر

استخراج اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۴۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ (یخچال‌دار) شد. مقادیر پروتئین محلول برای محاسبه فعالیت آنزیم در یک میلی گرم پروتئین محلول اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز یک میلی لیتر بافر فسفات سدیم (غلظت ۵۰ میکرومولار و $\text{pH} = 7$) و یک میلی لیتر H_2O_2 (۳۰٪) به ۷۵۰ میکرولیتر عصاره گیاه افزوده شد. تغییرات جذب نوری عصاره در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis) در مدت یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیم کاتالاز براساس میلی مولار پراکسید هیدروژن در دقیقه در میلی گرم پروتئین اندازه‌گیری شد (۲۳).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز یک میلی لیتر محلول بافر فسفات سدیم (غلظت ۱۰۰ میلی مولار و $\text{pH} = 7$)، یک میلی لیتر ماده گایاکول (۵ میلی مولار)، یک میلی لیتر H_2O_2 (۱۵ میلی مولار) به ۵۰ میکرولیتر عصاره گیاه افزوده شد. میزان جذب نوری در طول موج ۴۷۰ نانومتر و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis) در مدت دو دقیقه اندازه‌گیری شد (۲۴).

برای اندازه‌گیری پروتئین محلول به روش برادفورد، از کوماسی بلو از نوع G-250 استفاده شد. جذب نوری هر یک از مخلوط‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis) در طول موج ۵۹۵ نانومتر پس از ۱۰ دقیقه انجام شد (۲۵).

کروماتوگرافی با استفاده از دستگاه HPLC ساخت کشور آمریکا، با ستون C_{18} به طول ۱۵۰ میلی متر و قطر داخلی ۴/۶ میلی متر دتکتور UV (Water Dual Absorbance 2487)، پمپ Binar (Binary HPLC pump, 1525) انجام شد. به منظور تهیه عصاره جهت تزریق به دستگاه HPLC و بررسی میزان آلکالوئید کل، ابتدا نمونه‌های برگ در آون با دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک شدند. سپس با استفاده از هاون به طور کامل خرد شدند و میزان ۵۰ میلی گرم از آن برای کلروفیل زدایی داخل لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۵ میلی لیتر استون به آن اضافه شد و پنج مرتبه شستشو با استون به مدت ۱۵ دقیقه همراه با ورتکس انجام شد. پس از هربار ورتکس، ۵ دقیقه زمان داده شد تا محلول به ثبات برسد و ته نشینی ذرات گیاهی به طور کامل صورت گیرد. فاز مایع شامل استون و کلروفیل محلول در آن، با دقت تخلیه شد. پس از کلروفیل زدایی به مدت سه ساعت نمونه‌های برگ داخل لوله آزمایش در

دمای ۶۰ درجه سلسیوس خشک شد. سپس به نمونه‌های خشک شده سه میلی‌لیتر متانول اسیدی متشکل از ۸۵٪ متانول و ۱۵٪ استیک‌اسید اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال ۴ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از سانتریفیوژ نمونه‌ها با دور ۱۴۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه بخش روشناور به عنوان عصاره مورد نظر برداشته و درون تیوب‌های جدید ریخته شد. برای اطمینان یافتن از نبود ذرات معلق در عصاره، نمونه‌ها فیلتر شدند. ۲۰ میکرولیتر از عصاره حاصل به دستگاه تزریق شد (۲۶). برای رسم منحنی استاندارد مقدار ۲۰ میکرولیتر از استاندارد به دستگاه HPLC تزریق شد. کروماتوگرام در طول موج ۲۵۴ نانومتر برای رسم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. پس از آماده شدن نمونه‌ها، مقدار ۲۰ میکرولیتر از آن‌ها به دستگاه HPLC تزریق شد و مساحت زیر منحنی پیک‌های مربوط به نمونه‌ها اندازه‌گیری شده و میزان آلکالوئید کل در نمونه‌های مختلف بر اساس نمونه استاندارد محاسبه شد (۲۷).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS آنالیز شدند و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی ($p < 0.05$) استفاده شد.

نتایج و بحث

خاک زیر کشت گیاه، دارای بافت لومی با پی‌اچ اندکی قلیایی ($\text{pH} = 7.61$)، با قابلیت هدایت الکتریکی بالا ($\text{EC} = 4/13$) دسی‌زیمنس بر متر) و محتوای کربنات کلسیم معادل ۱۳/۵ درصد بود. همچنین از نظر تغذیه‌ای، خاک مورد نظر با محتوی مواد آلی ۱/۳ و نیتروژن کل ۰/۰۸ درصد و مقدار فسفر و پتاسیم فراهم به ترتیب ۱۳/۲ و ۲۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، خاک فقیری شمرده می‌شود.

تاثیر پتاسیم‌هیومات و سال بر صفات رشدی گیاه پروانش

اثر سطوح مختلف تیمار پتاسیم‌هیومات بر همه صفات رشدی گیاه در سطح ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین اثر سال بر همه صفات به جز وزن تر ریشه (جدول ۱) در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. اثر متقابل تیمار در سال نیز بر وزن تر و خشک برگ و ریشه، وزن تر ساقه (جدول ۱) در سطح ۵٪ معنی‌دار بود.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر پتاسیم‌هیومات و سال بر صفات رشدی گیاه پروانش.

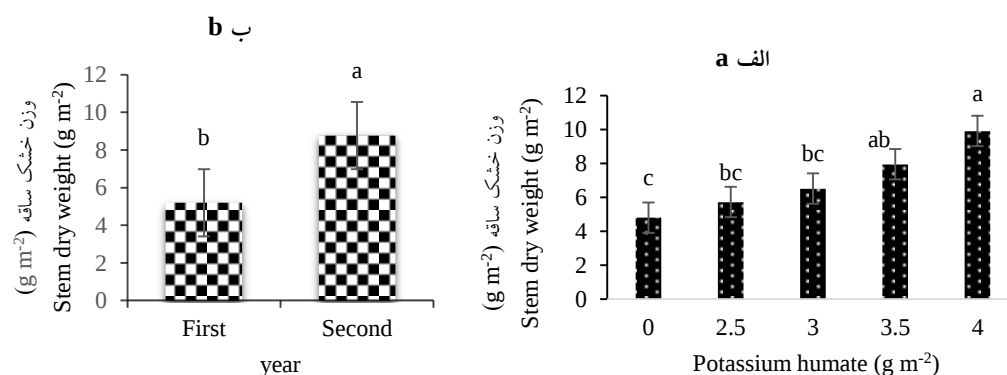
Table 1. Analysis of variance for the effects of potassium humate and year on the growth traits of Periwinkle

Mean squares میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
وزن خشک ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ساقه	وزن تر ساقه	وزن خشک برگ	وزن تر برگ	Degree of freedom	Source of Variations
Root dry Weight	Root fresh weight	Stem dry weight	Stem fresh weight	Leaf dry weight	Leaf fresh weight		
0.359 ^{ns}	9.800*	2.856 ^{ns}	70.707 ^{ns}	1.414 ^{ns}	137.673 ^{ns}	2	Block بلوک
1.825*	148.101*	24.057*	930.258*	97.051*	6181.627*	4	پتاسیم هیومات (K) Potassium humate (K)
15.724*	1.236 ^{ns}	95.872*	9300.545*	958.918*	35971.566*	1	Year (Y) (Y) سال
0.580*	30.183*	5.569 ^{ns}	366.057*	31.176*	1066.473*	4	K × Y
0.121	2.184	2.037	62.170	5.115	191.592	18	Error خطا
10.405	6.909	20.446	19.433	11.418	12.374	-	ضریب تغییرات (%) CV (%)

* و ^{ns} به ترتیب بیانگر اثر معنی دار و غیرمعنی دار در سطح ($p < 0.05$) است

* and ^{ns} indicate significant and non-significant effect at $p < 0.05$, respectively

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین وزن خشک ساقه (۹/۹۱ گرم در متر مربع)، در سطح ۴ گرم در مترمربع پتاسیم هیومات به دست آمد که با تیمار ۳/۵ گرم در متر مربع تفاوت آماری معنی داری نداشت (شکل ۱). بررسی اثر سال نیز نشان داد که بیشترین مقدار وزن خشک ساقه (۸/۷۶ گرم در متر مربع) در سال دوم کشت ثبت شد و ۱/۶۸ برابر نسبت به سال اول کشت افزایش یافت (شکل ۱).



شکل ۱- مقایسه میانگین اثر پتاسیم هیومات (الف) و اثر سال (ب) بر وزن خشک ساقه در گیاه پروانش

Fig. 1. Effect of potassium humate (a) and year (b) on stem dry weight of Periwinkle

میانگین‌های دارای حروف متفاوت در هر صفت بیانگر اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند

Means with different letters in each trait indicate a statistically significant difference at $p < 0.05$

مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل تیمار در سال نشان داد که بیشترین میزان وزن تر برگ (۲۰۳/۷۹ گرم در متر مربع)، وزن خشک برگ (۳۳/۷۴ گرم در متر مربع)، وزن تر ساقه (۸۸/۳۸ گرم در متر مربع)، وزن خشک ریشه (۵/۲۳۰ گرم در متر مربع) مربوط به تیمار ۴ گرم در متر مربع پتاسیم‌هیومات در سال دوم بود که با تیمار ۳/۵ گرم در متر مربع پتاسیم‌هیومات در سال دوم اختلاف معنی‌داری نداشت. بیشترین مقدار وزن تر ریشه (۲۷/۷۷ گرم در متر مربع) مربوط به تیمار ۳/۵ گرم در متر مربع پتاسیم‌هیومات در سال اول مشاهده شد که با تیمار ۴ گرم در متر مربع پتاسیم‌هیومات تفاوت آماری معنی‌دار نداشت (جدول ۲).

نتایج این پژوهش نیز نشان داد که با افزایش سطح پتاسیم‌هیومات از شاهد به ۴ گرم در متر مربع، وزن تر و خشک ریشه گیاه

پروانش به‌ترتیب ۱/۸۴ و ۱/۵۰ برابر شد (جدول ۲) شد. همچنین با افزایش سطح پتاسیم‌هیومات وزن تر و خشک برگ، وزن تر

ساقه (جدول ۲) و وزن خشک ساقه (شکل ۱) گیاه پروانش به‌ترتیب ۲/۲۳، ۱/۵۴، ۲/۲۶، و ۲/۰۶ برابر شد که با نتایج دیگر

پژوهشگران (۱۵، ۱۶) هم راستا بود این نتیجه ممکن است به این دلیل باشد که پتاسیم‌هیومات شامل بسیاری از عناصر مورد نیاز

برای بهبود رشد گیاه، تحریک رشد احتمالی، افزایش فتوسنتز، افزایش غلظت ریبونوکلوئید و بیوسنتز آنزیمی است. نتایج مقایسه

میانگین تیمار × سال نشان داد که با افزایش سطح پتاسیم‌هیومات از صفر به ۴ گرم در متر مربع و تکرار اعمال آن در سال دوم

کشت، به‌ترتیب وزن تر برگ، وزن خشک برگ، وزن تر ساقه، وزن خشک ریشه، ۷/۳۰، ۲/۵۸، ۶/۷۲ و ۲/۲ برابر نسبت به تیمار

شاهد و سال اول افزایش یافت. همچنین وزن تر ریشه در تیمار ۳/۵ گرم در متر مربع و در سال اول کشت نسبت به تیمار شاهد و

سال اول کشت ۲/۴ برابر شد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار پتاسیم‌هیومات در سال بر صفات بررسی شده در گیاه پروانش.

Table 2. Mean comparison for the interaction effects of potassium humate and year on the measured traits of Periwinkle

سال	پتاسیم‌هیومات	وزن تر برگ	وزن خشک	وزن تر ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک
-----	---------------	------------	---------	-------------	-------------	---------

ریشه	Root fresh weight (g m ⁻²)	Stem fresh weight (g m ⁻²)	برگ Leaf dry weight (g m ⁻²)	Leaf fresh weight (g m ⁻²)	Potassium humate (g m ⁻²)	Year
Root dry weight (g m ⁻²)						
2.333 ^c	11.157 ^e	13.133 ^f	13.067 ^d	27.91 ^d	0	
2.466 ^c	18.477 ^d	21.847 ^{ef}	12.267 ^d	79.50 ^c	2.5	۱۴۰۱
2.533 ^c	23.843 ^{abc}	24.510 ^{def}	12.667 ^d	83.52 ^c	3	(2022)
2.833 ^c	27.777 ^a	28.130 ^{def}	16.833 ^{cd}	100.02 ^{bc}	3.5	
2.933 ^c	26.720 ^{ab}	27.213 ^{def}	15.933 ^{cd}	95.17 ^{bc}	4	
3.105 ^{bc}	17.697 ^d	37.833 ^{cde}	18.450 ^{bcd}	105.93 ^{bc}	0	
3.368 ^{bc}	18.490 ^d	46.040 ^{bcd}	22.100 ^{bc}	123.56 ^b	2.5	۱۴۰۲
4.146 ^{ab}	20.900 ^{cd}	52.000 ^{bc}	23.153 ^b	128.68 ^b	3	(2023)
4.488 ^a	22.313 ^{bcd}	66.653 ^{ab}	29.860 ^a	170.44 ^a	3.5	
5.230 ^a	26.543 ^{ab}	88.380 ^a	33.740 ^a	203.79 ^a	4	

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند.

Means with at least on common letter in each column are not significantly different at $p < 0.05$

بررسی‌های کانلسا و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که هیومیک‌اسید را می‌توان به‌عنوان یک ترکیب شبه‌هورمونی در نظر گرفت

که با حفظ نفوذپذیری غشا و افزایش متابولیسم یاخته، رشد گیاهان را در شرایط محیطی مختلف بهبود می‌بخشد (۲۸).

هیومیک‌اسید با افزایش جذب نیتروژن در خاک قلیایی سبب تحریک رشد اندام‌های هوایی می‌شود (۲۹) و از این طریق محتوای

آنزیم‌ها و پروتئین‌ها در گیاهان، به‌ویژه آن‌هایی که در چرخه فتوسنتز نقش دارند؛ مانند سیتوکروم‌ها، فردوکسین‌ها، پلاستوسیانین و

آنزیم روبیسکو را افزایش می‌دهد (۳۰). نتایج پژوهش گردگانه و همکاران (۲۰۲۰) در خصوص کاربرد هیومیک‌اسید به صورت

خاکی و محلول‌پاشی بر ویژگی‌های کمی و کیفی زعفران (*Crocus sativus* L.) نشان داد که استفاده از هیومیک‌اسید در مقایسه با

شاهد سبب افزایش تعداد گل، عملکرد گل تر، عملکرد کلاله تر، عملکرد کلاله خشک، قطر بته، وزن بته، طول برگ نسبت به

شاهد شد (۳۱).

نتایج پژوهش ابدو و همکاران (۲۰۲۴) نشان داد که با استفاده از سطوح مختلف پتاسیم‌هیومات در گیاه رزماری (*Rosmarinus*

officinalis) تحت تنش شوری ارتفاع بوته، وزن تر و خشک گیاه، درصد اسانس و عملکرد بوته به‌طور قابل توجهی افزایش یافتند

که این امر حاکی از این است که این ترکیب باعث کاهش اثرات مضر شوری بر این گیاه می‌شود. پتاسیم هیومات به عنوان منبع پتاسیم جذب و انتقال این عنصر را در سراسر گیاه بهبود می‌بخشد و این عنصر با تنظیم اسمزی، سدیم را حذف می‌کند و اثرات آن را بر پاسخ‌های رشد گیاه کاهش می‌دهد (۳۲). هیومیک‌اسید با تحریک و تقویت گیاه، نه تنها باعث افزایش عملکرد می‌شود، بلکه به طور غیرمستقیم ریزمغذی‌های ضروری گیاه را نیز تامین می‌کند (۳۳). مطالعات غفاری و مرادی (۲۰۱۷) در گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) نشان داد استفاده از هیومیک‌اسید باعث افزایش وزن تر و خشک شاخساره، عملکرد خشک، درصد اسانس، عملکرد اسانس و اجزای اسانس شد (۳۴). نتایج حیدری و مینایی (۲۰۱۴) در گل گاوزبان نشان داد که استفاده از هیومیک‌اسید باعث افزایش معنی‌دار زیست توده گیاه شده است (۳۵).

نتایج تاثیر پتاسیم هیومات و سال بر صفات بیوشیمیایی گیاه پروانش

اثر سطوح مختلف تیمار پتاسیم هیومات بر همه صفات گیاهی بیوشیمیایی در سطح ۵٪ معنی‌دار بود (جدول ۳). همچنین اثر سال بر همه صفات به جز فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه، (جدول ۳) در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. اثر متقابل تیمار در سال نیز بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه (جدول ۳) در سطح ۵٪ معنی‌دار بود.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر پتاسیم هیومات و سال بر فعالیت آنزیم‌ها و آلکالوئید کل برگ در گیاه پروانش

Table 3. Analysis of variance for the effect of potassium humate and year on the enzyme activities and total alkaloids in Periwinkle

Mean squares میانگین مربعات							درجه آزادی	منابع تغییرات
آلکالوئید کل	کاتالاز ریشه	کاتالاز ساقه	کاتالاز برگ	پراکسیداز ریشه	پراکسیداز ساقه	پراکسیداز برگ		
Total alkaloid	Root catalase	Stem catalase	Leaf catalase	Root peroxidase	Stem peroxidase	Leaf peroxidase	Degree of freedom	Source of Variations
21113.49 ^{ns}	0.0006 ^{ns}	0.0004*	0.0008 ^{ns}	0.138 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.018 ^{ns}	2	Block بلوک
22347.03*	0.047*	0.005*	0.013*	0.39*	0.276*	0.634*	4	پتاسیم هیومات

							(K)
							Potassium humate (K)
							سال (Y)
							Year (Y)
							K × Y
							Error خطا
							ضریب تغییرات (%)
							CV (%)
55331.01*	0.002*	0.004*	0.009*	0.093 ^{ns}	0.125*	0.0038*	4
2343.39 ^{ns}	0.0007 ^{ns}	0.00006 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.047 ^{ns}	0.0182*	0.005 ^{ns}	4
5746.91	0.0001	0.00008	0.0004	0.04	0.004	0.007	18
30.44	10.35	12.27	14.86	22.36	13.16	8.11	-

* و^{ns} به ترتیب بیانگر اثر معنی دار و غیر معنی دار در سطح ($p < 0.05$) است

* and ^{ns} indicate significant and non-significant effect at $p < 0.05$, respectively

با توجه به نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ (۱/۴۶ جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین)، ریشه (۱/۲۱ جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین)، فعالیت آنزیم کاتالاز برگ (۰/۲۱ جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین) و ریشه (۰/۱۶ جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین) در سطح ۴ گرم در مترمربع پتاسیم هیومات به دست آمد که در پارامترهای فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز برگ با دیگر سطوح تفاوت آماری معنی دار داشت (جدول ۴) ($p < 0.05$).

با افزایش سطح پتاسیم هیومات در این پژوهش به ترتیب فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ، ساقه، و ریشه، فعالیت آنزیم کاتالاز برگ و ریشه ۲/۴۰، ۲/۹۴، ۲/۲۰، ۲/۲۱، ۳/۴۷ برابر نسبت به سطح شاهد شد (جدول ۴). مقدار آلکالوئید کل (۳۳۲/۳۶ میلی گرم در گرم وزن خشک) در تیمار ۳/۵ گرم در متر مربع به دست آمد. کمترین مقدار همه این صفات مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر پتاسیم هیومات بر صفات رشدی و بیوشیمیایی برگ‌پروانش.

Table 4. Mean comparison for the effect of potassium humate on the growth traits and biochemical composition of Periwinkle

پتاسیم هیومات Potassium humate (g m ⁻²)	وزن خشک ساقه Stem dry weight (g m ⁻²)	فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ Leaf peroxidase activity (ΔOD min ⁻¹ mg ⁻¹ protein)	فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه Root peroxidase activity (ΔOD min ⁻¹ mg ⁻¹ protein)	فعالیت آنزیم کاتالاز برگ Leaf catalase activity (ΔOD min ⁻¹ mg ⁻¹ protein)	فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه Root catalase activity (ΔOD min ⁻¹ mg ⁻¹ protein)	آلکالوئید کل برگ Total alkaloids (mg g ⁻¹)
0	4.806 ^c	0.607 ^d	0.550 ^c	0.098 ^c	0.046 ^d	154.43b
2.5	5.726 ^{bc}	0.910 ^c	0.841 ^{bc}	0.112 ^c	0.111 ^c	202.15b
3	6.516 ^{bc}	1.051 ^c	1.045 ^{ab}	0.128 ^{bc}	0.127 ^{bc}	242.04ab
3.5	7.941 ^{ab}	1.244 ^b	1.062 ^{ab}	0.158 ^b	0.148 ^{ab}	332.36a
4	9.913 ^a	1.462 ^a	1.211 ^a	0.217 ^a	0.160 ^a	313.90a

میانگین‌های دارای یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ می‌باشند.

Means with at least on common letter in each column are not significantly different at $p < 0.05$

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که هیومیک‌اسید وضعیت تغذیه‌ای گیاه را بهبود می‌بخشد و جذب عناصر غذایی را افزایش می‌دهد،

همچنین باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود (۳۶). آنزیم‌های پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز با شکستن

هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن، سبب پاکسازی و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند (۳۷). افزایش فعالیت

کاتالاز در گیاهان یک ویژگی سازشی بوده و با کاهش میزان پراکسید هیدروژن از آسیب رسیدن به بافت جلوگیری می‌کند (۳۸).

گزارش پژوهش موسوی و همکاران (۲۰۲۳) در گیاه فیسالیس (*Physalis peruviana* L.) نشان داد که استفاده از هیومیک‌اسید

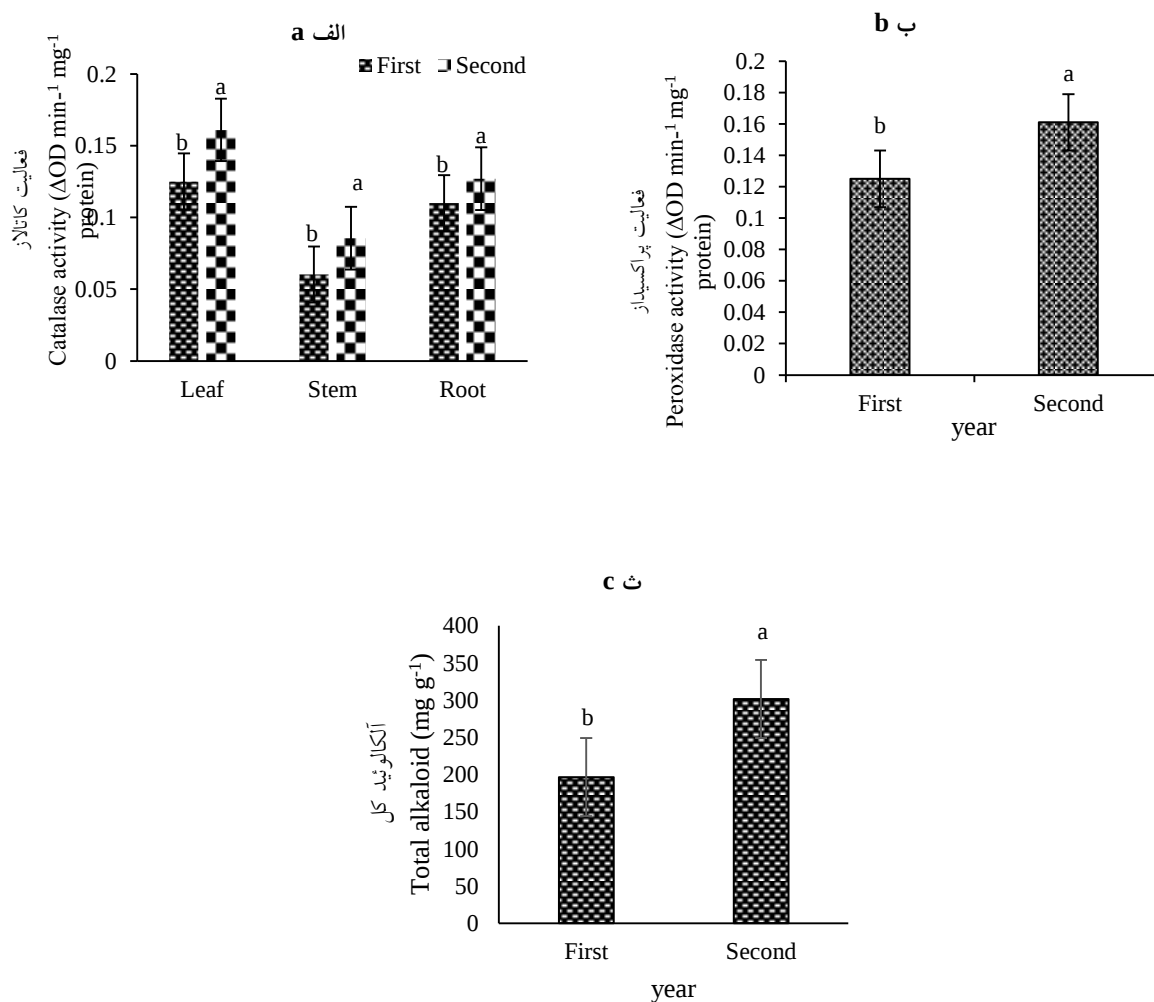
سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان، فعالیت آنزیم کاتالاز و و پراکسیداز در این گیاه شد که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی داشت

(۳۹).

بررسی اثر سال نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز برگ (۱۶٪ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)، کاتالاز ساقه

(۸۵٪ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و ریشه (۱۲٪ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)، پراکسیداز برگ (۱۶٪)

جذب در دقیقه در میلی گرم پروتئین) و آلکالوئید کل در برگ ($301/57$ میلی گرم در گرم برگ خشک) در سال دوم کشت ثبت شد (شکل ۲) و به ترتیب، $1/28$ ، $1/4$ ، $1/15$ ، $1/2$ و $1/5$ برابر نسبت به سال اول کشت افزایش یافت (شکل ۲). بنابراین به نظر می رسد کاربرد پیوسته هیومات پتاسیم بر آلکالوئیدها تاثیر بیشتری نسبت به دیگر پارامترهای اندازه گیری شده داشته باشد.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر سال بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ، ساقه و ریشه (الف)، فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ (ب)

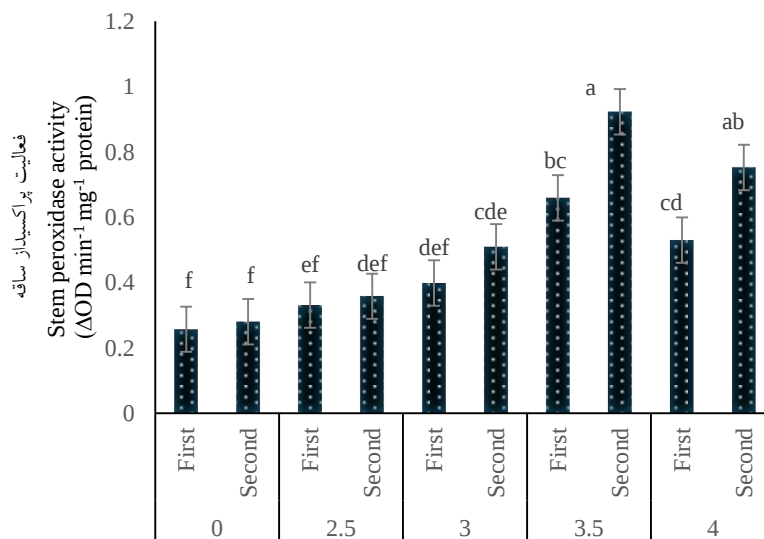
و آلکالوئید کل برگ (ث) در گیاه پروانش

Fig. 2. Effect of year on catalase activity in leaf, stem, and root (a), leaf peroxidase activity (b) and leaf total alkaloid (c) of Periwinkle

میانگین های دارای حروف متفاوت در هر صفت بیانگر اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۵٪ می باشد

Means with different letters in each trait indicate a statistically significant difference at $p < 0.05$

بررسی فعالیت آنزیمی نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه (۰/۹۲) مربوط به تیمار ۳/۵ گرم درمتر مربع پتاسیم هیومات در سال دوم ثبت شد که با تیمار ۴ گرم در متر مربع پتاسیم هیومات در سال دوم تفاوت آماری معنی دار نداشت (شکل ۳). فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه در تیمار ۳/۵ گرم در متر مربع و در سال دوم کشت ۳/۵۸ برابر نسبت به تیمار شاهد و در سال اول کشت ثبت شد. نتایج پژوهش نجفی وفا و همکاران (۲۰۲۱) در گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) نشان داد که استفاده تلفیقی ۱۵۰ میلی گرم در لیتر هیومیک اسید به همراه دو گرم در لیتر کود نانوکلات روی مقدار آنزیم پراکسیداز، کاتالاز، روی، وزن خشک بوته، طول برگ و سطح برگ را افزایش داد (۴۰). مطالعات پتیت (۲۰۰۶) نشان داده است که هیومیک اسیدها می توانند با افزایش غلظت mRNA در سلول های گیاهی، بیوسنتز آنزیمی و محتوای پروتئینی برگ ها را بهبود بخشند که این فرایند بیوشیمیایی منجر به افزایش فعالیت آنزیم هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و اینورتاز می شود که نقش مهمی در متابولیسم گیاه ایفا می کنند که با نتایج این تحقیق هم راستا بود (۱۷).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر پتاسیم هیومات و سال بر فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه در گیاه پروانش

Fig. 3. Effect of potassium humate and year on stem peroxidase activity of Periwinkle

میانگین های دارای حروف متفاوت در هر صفت بیانگر اختلاف آماری معنی دار در سطح احتمال ۵٪ می باشند

Means with different letters in each trait indicate a statistically significant difference at $p < 0.05$

افزایش متابولیسم آنتی اکسیدان‌ها و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی با استفاده از هیومیک اسید، نقشی حیاتی در محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو دارد. استفاده از تیمارهای مختلف هیومیک اسید در شرایط تنش شوری باعث افزایش آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در توت‌فرنگی رقم سابرینا شد (۴۱). نتایج تحقیق دادنیا (۲۰۱۷) نشان داد هیومیک اسید موجب تولید سریع‌تر سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز از پیش ماده خود (سوپراکسید یک پپتید به نام دیسموتاز و پورفیرین در مورد کاتالاز) می‌شود. این یافته‌ها نشان‌دهنده نقش مهم هیومیک اسید در افزایش آنتی اکسیدان‌ها و در نتیجه بهبود سلامت یاخته‌ها و محافظت از آن‌ها در برابر تنش اکسیداتیو است (۴۲). نتایج پژوهش شارما و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که هیومیک اسید با تقویت سیستم متابولیک گیاه و افزایش جذب عناصر غذایی موجب افزایش تولید آلکالوئیدها می‌شود (۴۳) که با نتایج این پژوهش هم راستا بود. مطالعات موسکولا و همکاران (۲۰۱۳) در گیاه توتون نشان داد که استفاده از هیومیک اسید موجب زیاد شدن میزان آلکالوئیدها در برگ می‌شود (۴۴). همچنین در زعفران گزارش شد که کاربرد هیومیک اسید سبب افزایش پیکروکروسین، سافرانال، کروسین نسبت به شاهد شد (۳۱).

نتیجه‌گیری کلی

تغذیه گیاه با کود پتاسیم هیومات در سطح ۴ گرم در مترمربع، بیشترین تاثیر را بر بهبود مولفه‌های رشدی شامل وزن تر و خشک برگ و ساقه و ریشه گیاه پروانش داشت. همچنین استفاده از این کود در سطح ۴ گرم در متر مربع بیشترین تاثیر را بر فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز بخش‌های مختلف گیاه داشت. اما استفاده از این کود در سطح ۳/۵ گرم در متر مربع بیشترین تاثیر را بر مقدار آلکالوئید کل در برگ گیاه پروانش داشت. تیمار گیاه با کود پتاسیم هیومات با توجه به پتاسیم‌دار بودن این کود، باعث افزایش جذب ترکیبات مغذی گیاه و افزایش خصوصیات مربوط به عملکرد می‌شود. از آنجا که پتاسیم نقش مهمی در نقل و انتقال مواد در آوندها، فعالیت هورمون‌ها و آنزیم‌های گیاه دارد و بر تولید متابولیت‌های ثانویه موثر است، بنابراین کاربرد پتاسیم-هیومات می‌تواند بر محتوای آلکالوئیدها در پروانش تاثیر قابل توجهی داشته باشد.

منابع

1. Rashmi, R., & Trivedi, M. P. (2014). Assessing the morphological characters for taxonomic significance among intraspecific variations of *Catharanthus roseus*. *Biolife Journal*, 2 (4), 1002-1007.
2. Awaad, A. S., Govil, J. N., & Singh, V. K. (2010). *Recent Progress in Medicinal Plants*. Drug plants I (pp. 485). Volume: 27.
3. Danaee, E. (2020). A Review on the Botanical, phytochemical and pharmacological properties of *Catharanthus roseus*. *Iran. Journal Plant biotechnology*, 15 (1), 21-31.
4. Mishra, J.N. & Verma, N.K. (2017). A brief study on *Catharanthus roseus*: A review. *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2 (2), 20-23.
5. Sain, M., & Sharma, V. (2013). *Catharanthus roseus* (An anti-cancerous drug yielding plant)-A Review of Potential Therapeutic Properties. *International Journal of Pure & Applied Bioscience*, 1 (6), 139-142.
6. Barrales-Cureño, H. J., Reyes, C. R., García, I. V., Valdez, L. G. L., De Jesús, A. G., Ruíz, J. A. C., ... & Montoya, J. M. (2019). Alkaloids of pharmacological importance in *Catharanthus roseus* (Vol. 1, p. 18). Intech Open Ltd.: London, UK.
7. Alipor, N. and Shahmohamadi, F. (2017). Medicinal plants effective in the treatment of cancer Isaac Publications. P 103-131.
8. Singh, S., Pandey, S. S., Tiwari, R., Pandey, A., Shanker, K., & Kalra, A. (2021). Endophytic consortium with growth-promoting and alkaloid enhancing capabilities enhance key terpenoid indole alkaloids of *Catharanthus roseus* in the winter and summer seasons. *Industrial Crops and Products*, 166, 113437.
9. Omidbaigi, R. (2013). Production and processing of medicinal plants. Astan Quds Publication, Tehran, (In Persian).
10. Thomas, P. A., Woodward, J., Stegelin, F., & Pennisi, B. (2012). A guide for commercial production of vinca. *Biulletin*, 1219, 1-27.
11. Mahdi, A. H., Badawy, S. A., Abdel Latef, A. A. H., El Hosary, A. A., Abd El Razek, U. A., & Taha, R. S. (2021). Integrated effects of potassium humate and planting density on growth, physiological traits and yield of *Vicia faba* L. grown in newly reclaimed soil. *Agronomy*, 11(3), 461.
12. Yuan, Y., Gai, S., Tang, C., Jin, Y., Cheng, K., Antonietti, M., & Yang, F. (2022). Artificial humic acid improves *maize* growth and soil phosphorus utilization efficiency. *Applied Soil Ecology*, 179, 104587.
13. Rostami, G., Moghaddam, M., Saeedi Pooya, E., & Ajdanian, L. (2019). The effect of humic acid foliar application on some morphophysiological and biochemical characteristics of spearmint (*Mentha spicata* L.) in drought stress conditions. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12 (1), 95-110.

14. Shen, Jie, Xiaolu Xiao, Dandan Zhong, and Huida Lian. "Potassium humate supplementation improves photosynthesis and agronomic and yield traits of *foxtail millet*." *Scientific Reports* 14, 1 (2024): 9508.
15. Azizi, M., & Safaei, Z. (2017). The effect of foliar application of humic acid and nano fertilizer (Pharmks®) on morphological traits, yield, essential oil content and yield of Black Cumin (*Nigella sativa* L.). *Journal of Horticultural Science*, 30 (4), 671-680. [In Persian with English summary].
16. Sepehri, Z., Movahedi, Z., & Ayyari, M. (2024). Effects of humic acid on quantitative characteristics of pergularia and chicory in aeroponic system. *Plant Production and Genetics*, 4 (2), 279-290.
17. Pettit, R. E. (2006). Organic matter, humus, humate, humic acid, fulvic acid and humin. The Wonderful World of Humus and Carbon. *CTI Research*, 1-17.
18. Bangou, M. J., Meda, N. T. R., Thiombiano, A. M. E., Kiendrebeogo, M., Zeba, B., Millogo-Rasolodimby, J., ... & Yougbaré-Ziébrou, M. (2012). Antioxidant and antibacterial activities of five Verbenaceae species from Burkina Faso. *Current Research Journal of Biological Sciences*, 4 (6), 665-672.
19. Chamani, F., Khodabandeh, N., Habibi, D., Asgharzadeh, A., & Davoudi Fard, M. (2012). Effect of salinity stress on yield and yield components in wheat, inoculated with growth promoting bacteria (*Azotobacter chroocum*, *Azospirillio lipophorum*, *Pseudomonas putida*) and humic acid. *Agronomy and Plant Breeding*, 8 (1), 37-25. (In Persian).
20. Elmongy, M. S., Zhou, H., Cao, Y., Liu, B., & Xia, Y. (2018). The effect of humic acid on endogenous hormone levels and antioxidant enzyme activity during in vitro rooting of evergreen azalea. *Scientia Horticulturae*, 227, 234-243.
21. Bayanloo, E., Aelaei, M., & Sanikhani, M. (2020). Effect of γ-aminobutyric acid (GABA), humic acid and salicylic acid on some morphophysiological responses and antioxidant characters of *Catharanthus roseus* L. (G.Don). *Iranian Journal of Horticultural Science*, 50 (4), 993-1008.
22. Estefan, G., Sommer, R., and Ryan, J., (2013). Methods of soil, plant, and water analysis. *A manual for the West Asia and North Africa region*. 3 (2).
23. Dazy, M., Jung, V., Féraud, J. F., & Masfaraud, J. F. (2008). Ecological recovery of vegetation on a coke-factory soil: role of plant antioxidant enzymes and possible implications in site restoration. *Chemosphere*, 74 (1), 57-63.
24. Reuveni, R. (1995). Biochemical marker of disease resistance. In: Singh, R. P., and Singh, U. S. (Ed.) *Molecular Methods in Plant Pathology*, (pp. 99-114).
25. 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 (1-2), 248-254.

26. Pan, Q., Wang, Q., Yuan, F., Xing, S., Zhao, J., Choi, Y. H., ... and Tang, K. (2012). Overexpression of ORCA3 and G10H in *Catharanthus roseus* plants regulated alkaloid biosynthesis and metabolism revealed by NMR-metabolomics. *Molecul*, 23(8), 189-203.
27. Gupta, M. M., Singh, D. V., Tripathi, A. K., Pandey, R., Verma, R. K., Singh, S., ... and Khanuja, S. P. S. (2005). Simultaneous determination of vincristine, vinblastine, catharanthine, and vindoline in leaves of *Catharanthus roseus* by high-performance liquid chromatography. *Journal of chromatographic science*, 43(9), 450-453.
28. Canellas, L. P., Canellas, N. O., Soares, T. S., & Olivares, F. L. (2019). Humic acids interfere with nutrient sensing in plants owing to the differential expression of TOR. *Journal of Plant Growth Regulation*, 38, 216-224.
29. Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., & Vianello, A. (2002). Physiological effects of humic substances on higher plants. *Soil Biology and Biochemistry*, 34 (11), 1527-1536.
30. Dordas, C. A., & Sioulas, C. (2008). Safflower yield, chlorophyll content, photosynthesis, and water use efficiency response to nitrogen fertilization under rainfed conditions. *Industrial crops and products*, 27 (1), 75-85.
31. Gerdakaneh, M., Amini, E., & khan ahmadi, M. (2020). Effects of Soil and Foliar Spraying Application of Humic Acid on Qualitative and Quantitative Properties of Saffron. *Journal of Saffron Research*, 8 (1), 71-84.
32. Abdou, M. A. H. H., Abdel-Rahim, A. F. B. A., & Gahory, A. A. M. O. (2024). Influence potassium humate on Rosemary plants grown in sandy soil under irrigation with saline water. *Scientific Journal of Flowers and Ornamental Plants*, 11 (1), 1-15.
33. Mohsen, A. A., Ibraheim, S. K. A., & Abdel-Fattah, M. K. (2017). Effect of potassium humate, nitrogen bio fertilizer and molybdenum on growth and productivity of garlic (*Allium sativum* L.). *Current Science International* , 6 (1), 75-85.
34. Ghaffari, N., & Moradi, P. (2017). Effect of foliar application of zinc and Humic acid on the growth physiology and the essential oil component of *Melissa officinalis*. *Iranian Journal of Plant & Biotechnology*. 12 (3), 23-31.
35. Heidari, M., & Minaei., A. (2014). Effects of drought stress and humic acid application on flower yield and content of macro-elements in medical plant borage (*Borago officinalis* L.). *Journal of Plant Production Research*. 21 (1). 167- 182.
36. Tabatabaie, S. J., & Nazari, J. (2007). Influence of nutrient concentrations and NaCl salinity on the growth, photosynthesis, and essential oil content of peppermint and lemon verbena. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 31(4), 245-253.

37. Ahmadizadeh, M., Valizadeh, M., Zaefizadeh, M., & Shahbazi, H. (2011). Antioxidative protection and electrolyte leakage in durum wheat under drought stress condition. *Journal of Applied Sciences Research*, 7(3), 236-246.
38. Gill, S. S., & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48 (12), 909-930.
39. Mousavi, S. A. H., Barzegar, T., Nekounam, F., Ghahremani, Z., & Khani, A. (2023). The effect of humic acid on physiological characteristics, antioxidant activity and yield of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) under deficit irrigation. *Journal of Plant Process and Function*. 12 (54),171-186. (In persian).
40. Najafi vafa., Z., Sirousmehr, A., & Bijhani, M. (2021). Effect of different levels of humic acid and none-zinc fertilizer on the antioxidant enzyme activities and essential oil of Savory (*Satureja hortensis hortensis* L.). *Research Paper*. 3 (2). 43-58.
41. Khodamoradi, P., Amiri, J., & Dovlati, B. (2018). Influence of humic acid on some antioxidant enzymes activity and compatible metabolites in strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch. cv. *Sabrina*) under salinity stress. *Research in Pomology*, 3 (1), 23-35.
42. Dadnia, M. R. (2017). Effect of humic acid on activity of antioxidant enzymes and yield of castor bean (*Ricinus communis*) under water deficit condition. *Journal of Crop Ecophysiology*. 11 (1), 85-98.
43. Schrama, M., De Haan, J. J., Kroonen, M., Verstegen, H., & Van der Putten, W. H. (2018). Crop yield gap and stability in organic and conventional farming systems. *Agriculture, ecosystems & environment*, 256, 123-130.
44. Muscolo, A., Sidari, M., & Nardi, S. (2013). Humic substance: relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. *Journal of Geochemical Exploration*, 129, 57-63.

Effect of potassium humate on the growth traits and biochemical composition of periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) medicinal plant

Abstract

Background and Objective: The plant *Catharanthus roseus* (L.) G. DON, belonging to the family Apocynaceae, is renowned for its abundant terpenoid indole alkaloids (TIA), with over 400 distinct alkaloids. Among the most significant active compounds are vincristine, vinblastine, and ajmalicine. The limited availability of vinblastine and vincristine, coupled with the increasing demand from communities and patients suffering from cancer, underscores the importance of cultivating the plant. As the effects of organic fertilizers on the cultivation of *Catharanthus roseus* have not been thoroughly studied, this

research aims to investigate the influence of potassium humate on the growth and biochemical characteristics of the plant.

Materials and Methods: A field experiment was conducted at the Medicinal Plants Research and Education Center in Hamadan County over two agricultural seasons, 2022 and 2023, with three replications. The potassium humate treatments were applied at five levels: 0, 2.5, 3, 3.5, and 4 g m⁻² through fertigation. The aerial and root organs were collected at flowering time (late August and mid-September), and growth traits, including fresh and dry weights of leaves, stems and roots were measured. Biochemical traits, such as the activity of oxidase and catalase in leaves, stems, and roots, as well as the total alkaloids in the leaves were also assessed. Data were analysed in factorial arrangement in a completely randomized block design using SAS software.

Results: The effect of potassium humate on the fresh and dry weights of leaves, stems, and roots, as well as the activity of peroxidase and catalase in leaves, stems, and roots, and the total alkaloids in the leaves of the plant were significant ($p < 0.05$). Additionally, the effect of the year on all these factors, except for the fresh weight of the roots and the activity of peroxidase in the roots, was significant ($p < 0.05$). The interaction effect of treatment $\times$ year was significant for the fresh and dry weights of leaves and roots, the fresh weight of stems, and the activity of peroxidase in stems ($p < 0.05$). The results indicated that the potassium humate treatment of 4 g m⁻² resulted in the highest fresh and dry weight of the plant, as well as the highest activities of peroxidase and catalase, while the control treatment displayed the lowest amount. Based on the results from the means comparison of treatment $\times$ year, the highest fresh leaf weight (203.79 g m⁻²), dry leaf weight (33.47 g m⁻²), fresh stem weight (88.38 g m⁻²), and dry root weight (5.23 g m⁻²) were associated with the 4 g m⁻² potassium humate treatment in the second year. Furthermore, the highest peroxidase enzyme activity (0.92 $\Delta\text{OD min}^{-1} \text{mg}^{-1}$ protein) in the second year and the highest fresh root weight (27.77 g m⁻²) were noted for the 3.5 g m⁻² potassium humate treatment in the first year.

Conclusion: Application of potassium humate at a level of 4 g m⁻² had the most significant impact on improving the growth indices, including the fresh and dry weights of the leaves, stems, and roots of *Catharanthus roseus*. Furthermore, the application of this fertilizer at 4 g m⁻² had the greatest effect on the activities of the catalase and peroxidase enzymes. However, using this fertilizer at a level of 3.5 g m⁻² had the greatest impact on the total alkaloid content in the leaves.

Keywords: Catalase, Growth indices, Organic fertilizer, Peroxidase, Total alkaloids