Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Plant Production Research

Print ISSN: 2322-2050
Online ISSN: 2322-2778

(OPEN ACCESS)

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

Maryam Kaviani[1], Davood Bakhshi[*2], Mohammad Bagher Farhangi[3], Mehrdad Chaichi[4]

1. Ph.D. Student in Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University Campus 2, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail: kavianimaryam170@yahoo.com
2. Corresponding Author, Associate Prof., Dept. of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail: bakhshi-d@guilan.ac.ir
3. Assistant Prof., Dept. of Soil Science and Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail: m.farhangi@guilan.ac.ir
4. Assistant Prof., Dept. 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

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 01.01.2025
Revised: 02.05.2025
Accepted: 02.23.2025

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

ABSTRACT

Background and Objectives: 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 season, 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 × 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 × 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 ΔOD min^{-1} 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.

Cite this article: Kaviani, Maryam, Bakhshi, Davood, Farhangi, Mohammad Bagher, Chaichi, Mehrdad. 2026. Effect of potassium humate on the growth traits and biochemical composition of periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) medicinal plant. *Journal of Plant Production Research*, 32 (4), 91-107.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/jopp.2025.22858.3196
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۲۰۵۰
شاپا آنلاین: ۲۳۲۲-۲۷۷۸

تأثیر پتاسیم‌هیومات بر صفات رشدی و زیست‌شیمیایی گیاه دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON)

مریم کاویانی[۱]، داود بخشی*[۲]، محمدباقر فرهنگی[۳]، مهرداد چائی‌چی[٤]

۱. دانشجوی دکتری علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، 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

٤. 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

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۳/۱۰/۱۲
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۳/۱۱/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۳/۱۲/۰۵

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

چکیده

سابقه و هدف: گیاه پروانش بانام علمی *Catharanthus roseus* (L.) G. DON متعلق به خانواده Apocynaceae است. بیش از ٤۰۰ آلکالوئید از نوع ترپنوئیدایندول‌آلکالوئید (TIA) از این گیاه استخراج‌شده است که ازجمله مهم‌ترین مواد مؤثره آن می‌توان به ترکیب‌های وین‌کریستین، وین‌بلاستین و آجملاسین اشاره کرد، مقدار محدود آلکالوئید وین‌بلاستین وین‌کریستین در گیاه پروانش و نیاز جوامع و بیماران مبتلا به سرطان از مهم‌ترین دلایل توجه پژوهش‌گران به کشت و تولید این گیاه است. ازآن‌جاکه تأثیر کودهای آلی برکشت این گیاه کم‌تر مطالعه شده است، این پژوهش باهدف بررسی تأثیر کود پتاسیم‌هیومات بر خصوصیات رشدی و زیست‌شیمیایی گیاه پروانش انجام شد.

مواد و روش‌ها: آزمایش مزرعه‌ای در باغ گیاهان دارویی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی شهرستان همدان در دو سال زراعی ۱٤۰۱ و ۱٤۰۲ در سه تکرار اجرا شد. تیمار پتاسیم‌هیومات در پنج سطح ۰، ۲/۵، ۳، ۳/۵ و ٤ گرم در مترمربع به‌صورت کودآبیاری اعمال شد. اندام‌های هوایی و ریشه پروانش در زمان گلدهی (پایان مرداد و نیمه شهریور) جمع‌آوری و صفات رشدی شامل وزن‌تر و خشک برگ، ساقه و ریشه اندازه‌گیری شدند. صفات زیست‌شیمیایی شامل فعالیت آنزیم‌های اکسیداز و کاتالاز در برگ، ساقه و ریشه و آلکالوئید کل در برگ گیاه نیز اندازه‌گیری شد. داده‌ها به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی اجرا و با نرم‌افزار SAS آنالیز شدند.

یافته‌ها: اثر پتاسیم‌هیومات بر وزن‌تر و خشک برگ، ساقه و ریشه، فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز برگ، ساقه و ریشه و آلکالوئید کل در برگ گیاه معنی‌دار شد (P<۰/۰۵). هم‌چنین اثر سال بر همه این عامل‌ها به‌جز وزن‌تر ریشه، فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه معنی‌دار شد (P<۰/۰۵). اثر متقابل تیمار × سال بر وزن‌تر و خشک برگ و ریشه، وزن‌تر ساقه و فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه معنی‌دار شد (P<۰/۰۵). یافته‌ها نشان داد که تیمار پتاسیم‌هیومات (٤ گرم در مترمربع) بیش‌ترین وزن‌تر و خشک گیاه و فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز و تیمار پتاسیم‌هیومات ۳/۵ گرم در مترمربع بیش‌ترین تأثیر را بر آلکالوئید کل در برگ داشت و تیمار شاهد کم‌ترین نتایج را نشان داد. در سال دوم، اعمال تیمارها به‌طور قابل‌توجهی باعث بهبود ویژگی‌های گیاه پروانش شد. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از مقایسه میانگین‌ها تیمار × سال، بیش‌ترین میزان وزن‌تر برگ (۲۰۳/۷۹ گرم در مترمربع)، وزن خشک برگ (۳۳/٤۷ گرم در مترمربع) وزن‌ترساقه (۸۸/۳۸ گرم در مترمربع)، وزن خشک‌ریشه (۵/۲۳ گرم در مترمربع) مربوط به تیمار ٤ گرم در مترمربع پتاسیم‌هیومات در سال دوم بود. هم‌چنین بیش‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۹۲ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در سال دوم وزن‌تر ریشه (۲۷/۷۷ گرم در مترمربع) مربوط به تیمار ۳/۵ گرم در مترمربع پتاسیم‌هیومات در سال اول بود.

نتیجه‌گیری: تغذیه گیاه با کود پتاسیم‌هیومات در سطح ٤ گرم در مترمربع، بیش‌ترین تأثیر را بر بهبود مؤلفه‌های رشدی شامل وزن‌تر و خشک برگ و ساقه و ریشه گیاه پروانش داشت. هم‌چنین استفاده از این کود در سطح ٤ گرم در مترمربع بیش‌ترین تأثیر را بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز داشت. استفاده از این کود در سطح ۳/۵ گرم در مترمربع بیش‌ترین تأثیر را بر مقدار آلکالوئید کل در برگ داشت.

استناد: کاویانی، مریم، بخشی، داود، فرهنگی، محمدباقر، چائی‌چی، مهرداد (۱۴۰۴). تأثیر پتاسیم‌هیومات بر صفات رشدی و زیست‌شیمیایی گیاه دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON). *نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۳۲ (۴)، ۱۰۷-۹۱.
DOI: 10.22069/jopp.2025.22858.3196

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

با توجه به روند رو به رشد مصرف گیاهان دارویی در جهان، به‌ویژه 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 پریوش بانام 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 به‌صورت چندساله و در مناطق سرد به‌صورت 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 دم‌کرده 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 (٤).

پروانش بیش از ٤۰۰ نوع آلکالوئید از نوع ترپنوئیداندول‌آلکالوئید[1] (TIA) را تولید می‌نماید. ازجمله مهم‌ترین مواد مؤثره پیکره رویشی آن می‌توان به ترکیب‌های وین‌کریستین[2] وین‌بلاستین[3] 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 (٦). افزایش تقاضا و قیمت بالای این داروها و از طرفی هزینه‌بر بودن تولید این آلکالوئیدها به‌صورت 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، عامل‌های خاکی نیز از اهمیت خاصی برخوردار هستند. عناصر غذایی در خاک که به‌راحتی قابل دست‌کاری هستند، می‌توانند کمیت و کیفیت این گیاهان را تحت‌تأثیر قرار دهند. مدیریت عناصر خاک نه‌تنها بر کمیت محصول بلکه بر کیفیت آن نیز مؤثرند و این امر به‌ویژه در گیاهان دارویی که نیازمند استانداردهای دقیق برای استفاده در پزشکی هستند، دارای اهمیت بسیار است. پروانش تقریباً در هر نوع خاکی به‌خوبی رشد می‌کند اما خاک‌های شنی حاوی مقادیر فروان ترکیبات هوموسی، از خاک‌های دیگر بهترند (۹). گیاه پروانش به pH خاک حساس بوده و در pHهای بالاتر از ٦/۳ کمبود شدید ریزمغذی‌هایی مانند آهن را نشان می‌دهد (۱۰).

پتاسیم‌هیومات نمک اسیدهومیک است که از زغال‌سنگ 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 هم‌چنین حاوی هومیک‌اسید نیز می‌باشد که به بهبود کیفیت خاک و افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی کمک می‌کند. مواد هیومیک ترکیبات سازگار با محیط‌زیست می‌باشند. این ترکیبات آلی به‌عنوان بهترین کلات‌کننده طبیعی هستند و در انحلال و آزادسازی عناصر کم‌مصرف و پرمصرف، افزایش ریشه‌زایی، در دسترس قرار دادن فسفات نامحلول نقش مهمی دارند. درنتیجه نیاز به کودهای شیمیایی را کاهش می‌دهند. هم‌چنین ترکیبات هیومیک به‌خاطر pH اسیدی در اصلاح خاک‌های قلیایی مؤثرند (۱۲، ۱۳). پژوهش‌های چن و همکاران (۲۰۲٤) نشان داد که غلظت مناسب پتاسیم‌هیومات تأثیر قابل‌توجهی

1- Terpenoid indole alkaloids
2- Vincristine
3- Vinblastine

بر بهبود عملکرد گیاه دم‌روباهی (*Foxtail millet*) دارد. پتاسیم هیومات باعث افزایش طول خوشه، وزن خوشه و تعداد آن، وزن دانه‌های هر خوشه و به‌طورکلی افزایش عملکرد این گیاه شد (١٤). نتایج پژوهش‌های عزیزی و صفایی (٢٠١٧) بر گیاه رازیانه نشان داد که محلول‌پاشی با اسیدهیومیک با غلظت ٦ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش وزن خشک، ارتفاع، عملکرد دانه، وزن دانه در بوته و میزان و عملکرد اسانس شد (١٥). سپهری و همکاران (٢٠٢٤) دریافتند که استفاده از غلظت ٦٠٠ میلی‌گرم اسیدهومیک بیش‌ترین تأثیر را بر ارتفاع بوته، طول ریشه، تعداد و سطح برگ، وزن‌تر و خشک‌ریشه و اندام هوایی گیاه دارویی کشتوک و کاسنی در سامانه هواکشت داشت و کم‌ترین میزان این صفات نیز مربوط به تیمار بدون هیومیکاسید بود (١٦).

هیومیک اسید سبب افزایش تولید آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز، دی‌فنل‌اکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و اینورتاز و محتوی پروتئین برگ می‌شود (١٧). آنتی‌اکسیدان‌ها مجموعه وسیعی از ترکیبات هستند که رادیکال‌های آزاد را خنثی می‌کنند و از آسیب به یاخته‌ها جلوگیری می‌کنند. ترکیبات آنتی‌اکسیداتیو موجود در منابع طبیعی نقش مهمی در پیش‌گیری از تنش اکسیداتیو همچنین در محدود کردن تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن[1] (ROS) ایفا می‌کنند (١١٨). کاربرد اسیدهیومیک در گیاه به‌صورت کاربرد برگی (محلول‌پاشی)، سبب افزایش تنفس، تولید اسیدهای نوکلئیک، جذب یون‌ها و افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود. هم‌چنین با افزایش فعالیت آنزیم روبیسکو، سبب افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاه می‌شود (١٩). استفاده از اسیدهومیک 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 می‌گردد (٢٠). استفاده از اسیدهومیک از طریق افزایش ظرفیت فتوسنتزی، بهبود جذب عناصر غذایی، افزایش کارایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فنل کل باعث بهبود افزایش عملکرد، صفات ریخت‌شناسی (ارتفاع گیاه، قطر ساقه، روز تا گلدهی) و زیست‌شیمیایی (فعالیت آنزیم‌های‌پراکسیداز و کاتالاز) گیاه پروانش شد (٢١). بااین‌حال پژوهش‌های کمی در مورد تأثیر پتاسیم‌هیومات در فضای مزرعه بر روی گیاهان ازجمله پروانش انجام‌شده 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 تولید این آلکالوئیدها به‌صورت مصنوعی، کشت گیاه در اولویت قرارگرفته 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 باهدف بررسی تأثیر کود پتاسیم‌هیومات بر رشد و ترکیبات زیست‌شیمیایی گیاه دارویی پروانش در شرایط مزرعه انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در باغ گیاهان دارویی استان همدان واقع در شهرستان همدان (′٥١ °٤٨ طول شمالی و ′٨٠ °٣٤ عرض شرقی)، ارتفاع ١٨٧٠ متر از سطح دریا و دارای اقلیم سرد و نیمه‌خشک و در دو سال زراعی ١٤٠١ و ١٤٠٢ انجام شد. بذر گیاه پروانش رقم صورتی F1 از شرکت Ballhort آمریکایی خریداری شد و در نیمه‌فروردین در بستر پیت و کوکوپیت (به نسبت ١:١) کشت و در خردادماه در مرحله چهار تا شش‌برگی به زمین اصلی منتقل شد. کود پتاسیم‌هیومات از شرکت آرویج گستر سما به‌صورت پودری خریداری شد که حاوی چهل درصد اسیدهومیک و بیست درصد پتاسیم‌اکساید بود.

1- Reactive Oxygen Species

آزمایش مزرعه‌ای به‌صورت فاکتوریل درقالب بلوک کامل تصادفی اجرا شد. تیمار آزمایشی شامل پتاسیم‌هیومات در پنج سطح صفر، ۲/۵، ۳، ۳/۵ و ٤ گرم در مترمربع بود که در دو سال متوالی کشت و در سه تکرار به کرت‌ها اعمال شد. تیمارها به‌صورت 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- شیمیایی خاک به روش‌های استاندارد استفان و همکاران (۲۰۱۳) اندازه‌گیری شد (۲۲). کشت گیاه پروانش در کرت‌های ($1\times1\ m^{-2}$) 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 وزن‌تر 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 (٦٠ درجه سلسیوس) به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شد (۲۲).

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ابتدا استخراج عصاره گیاه با محلول بافر فسفات سدیم (pH=۷) 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 به‌مدت ۱۵ دقیقه در ١٤٠٠٠ دور سانتریفوژ (یخچال‌دار) شد. مقادیر پروتئین محلول جهت محاسبه فعالیت آنزیم در یک میلی‌گرم پروتئین محلول اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز یک میلی‌لیتر بافر فسفات‌سدیم (غلظت ۵۰ میکرومولار و pH=۷) و یک میلی‌لیتر H_2O_2 (۳۰ درصد) به ۷۵۰ میکرولیتر عصاره گیاه افزوده شد. تغییرات جذب نوری عصاره در طول‌موج ۲٤۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis) در مدت یک دقیقه ثبت شد. فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میلی‌متر پراکسیدهیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین اندازه‌گیری شد (۲۳).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز یک میلی‌لیتر محلول بافر فسفات سدیم (غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار و pH=۷)، یک میلی‌لیتر ماده گایاکول (۵ میلی‌مولار)، یک میلی‌لیتر H_2O_2 (۱۵ میلی‌مولار) به

۵۰ میکرولیتر عصاره گیاه افزوده شد. میزان جذب نوری در طول‌موج ٤٧٠ نانومتر و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkin Elmer Lambda 25 UV/Vis) در مدت دو دقیقه اندازه‌گیری شد (٢٤).

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

به‌منظور تهیه عصاره جهت تزریق به دستگاه HPLC و بررسی میزان آلکالوئید کل، ابتدا نمونه‌های برگ در آون با دمای ٦٠ درجه سلسیوس خشک شدند سپس با استفاده از هاون به‌طور کامل خرد شدند و میزان ۵۰ میلی‌گرم از آن را جهت کلروفیل‌زدایی داخل لوله‌آزمایش ریخته شد. سپس ۵ میلی‌لیتر 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 ته‌نشینی ذرات گیاهی به‌طور کامل صورت گیرد. مرحله مایع شامل استون و کلروفیل محلول در آن، با دقت تخلیه شد. پس از کلروفیل‌زدایی به‌مدت سه ساعت نمونه‌های برگ داخل لوله‌آزمایش در دمای ٦٠ درجه سلسیوس خشک شد. سپس به نمونه‌های خشک‌شده سه میلی‌لیتر متانول اسیدی متشکل از ۸۵ درصد متانول و ۱۵ درصد استیک اسید اضافه شد و به مدت ٢٤ ساعت در یخچال ٤ درجه سلسیوس قرار داده شد. پس از سانتریفیوژ نمونه‌ها با دور ١٤٠٠٠ به مدت ۱۵ دقیقه بخش روشناور به‌عنوان عصاره موردنظر 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 (٢٦). برای رسم منحنی استاندارد مقدار ۲۰ میکرولیتر از استاندارد به دستگاه HPLC تزریق شد. کروماتوگرام در طول‌موج ٢٥٤ نانومتر برای رسم منحنی استاندارد مورداستفاده قرار گرفت. کروماتوگرافی با استفاده از دستگاه HPLC ساخت کشور آمریکا، با ستون C_{18} به طول ۱۵۰ میلی‌لیتر و قطر داخلی ٤/٦ میلی‌متر دتکتور UV (Water Dual Absorbance 2487)، پمپ Binary (Binary HPLC pump, 1525) انجام شد. 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 تجزیه شدند و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی ($P<۰/۰۵$) استفاده شد.

نتایج و بحث

خاک زیر کشت گیاه، دارای بافت لومی با پی‌اچ اندکی قلیایی (pH=۷/٦١)، باقابلیت هدایت الکتریکی بالا (EC=٤/١٣) دسی‌زیمنس بر متر) و محتوای کربنات کلسیم معادل ۱۳/۵ درصد بود. هم‌چنین ازنظر تغذیه‌ای، خاک موردنظر با محتوی مواد آلی ۱/۳ و نیتروژن کل ۰/۰۸ درصد و مقدار فسفر و پتاسیم فراهم به‌ترتیب ۱۳/۲ و ۲۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، خاک فقیری شمرده می‌شود.

اثر سطوح مختلف تیمار پتاسیم‌هیومات بر همه صفات گیاهی در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول‌های ۱ و ۲). هم‌چنین اثر سال بر همه صفات به‌جز وزن‌تر ریشه (جدول ۱) و فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه، (جدول ۲) در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. اثرمتقابل تیمار در سال نیز بر وزن‌تر و خشک برگ و ریشه، وزن‌تر ساقه (جدول ۱) و فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه (جدول ۲) در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود.

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

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

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

* و ^{ns} به‌ترتیب بیانگر اثر معنی‌دار و غیرمعنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) است

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

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر پتاسیم‌هیومات و سال بر فعالیت آنزیم‌ها و آلکالوئید کل برگ در گیاه پروانش.

Table 2. Analysis of variance for the effect of potassium humate and year on the enzyme activities and total alkaloids in Periwinkle.

منابع تغییرات Source of Variations	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean squares						
		پراکسیداز برگ Leaf peroxidase	پراکسیداز ساقه Stem peroxidase	پراکسیداز ریشه Root peroxidase	کاتالاز برگ Leaf catalase	کاتالاز ساقه Stem catalase	کاتالاز ریشه Root catalase	آلکالوئید کل Total alkaloids
بلوک Block	2	0.018^{ns}	0.001^{ns}	0.138^{ns}	0.0008^{ns}	0.0004*	0.0006^{ns}	21113.49^{ns}
پتاسیم‌هیومات (K) Potassium humate (K)	4	0.634*	0.276*	0.39*	0.013*	0.005*	0.047*	22347.03*
سال (Y) Year (Y)	4	0.0038*	0.125*	0.093^{ns}	0.009*	0.004*	0.002*	55331.01*
K × Y	4	0.005^{ns}	0.0182*	0.047^{ns}	0.001^{ns}	0.00006^{ns}	0.0007^{ns}	2343.39^{ns}
خطا Error	18	0.007	0.004	0.04	0.0004	0.00008	0.0001	5746.91
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	8.11	13.16	22.36	14.86	12.27	10.35	30.44

* و ^{ns} به‌ترتیب بیانگر اثر معنی‌دار و غیرمعنی‌دار در سطح (P<۰/۰۵) 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 مترمربع)، فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ (١/٤٦ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)، ریشه (۱/۲۱ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)، فعالیت آنزیم کاتالاز برگ (۰/۲۱ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و ریشه (۰/١٦ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در سطح ٤ گرم در مترمربع پتاسیم‌هیومات به‌دست آمد که در پارامترهای فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز برگ با دیگر سطوح تفاوت آماری معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). مقدار آلکالوئید کل (۳۳۲/۳٦ میلی‌گرم در گرم وزن خشک) در تیمار ۳/۵ گرم در مترمربع به‌دست آمد. کم‌ترین مقدار همه این صفات مربوط به تیمار شاهد بود. همه صفات گفته‌شده به‌جز فعالیت کاتالاز ریشه در بالاترین سطح تیمار هیومات پتاسیم حدود دو برابر افزایش یافت، درحالی‌که فعالیت کاتالاز ریشه چهار برابر زیاد شد (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر پتاسیم‌هیومات بر صفات رشدی و زیست‌شیمیایی برگیاه پروانش.

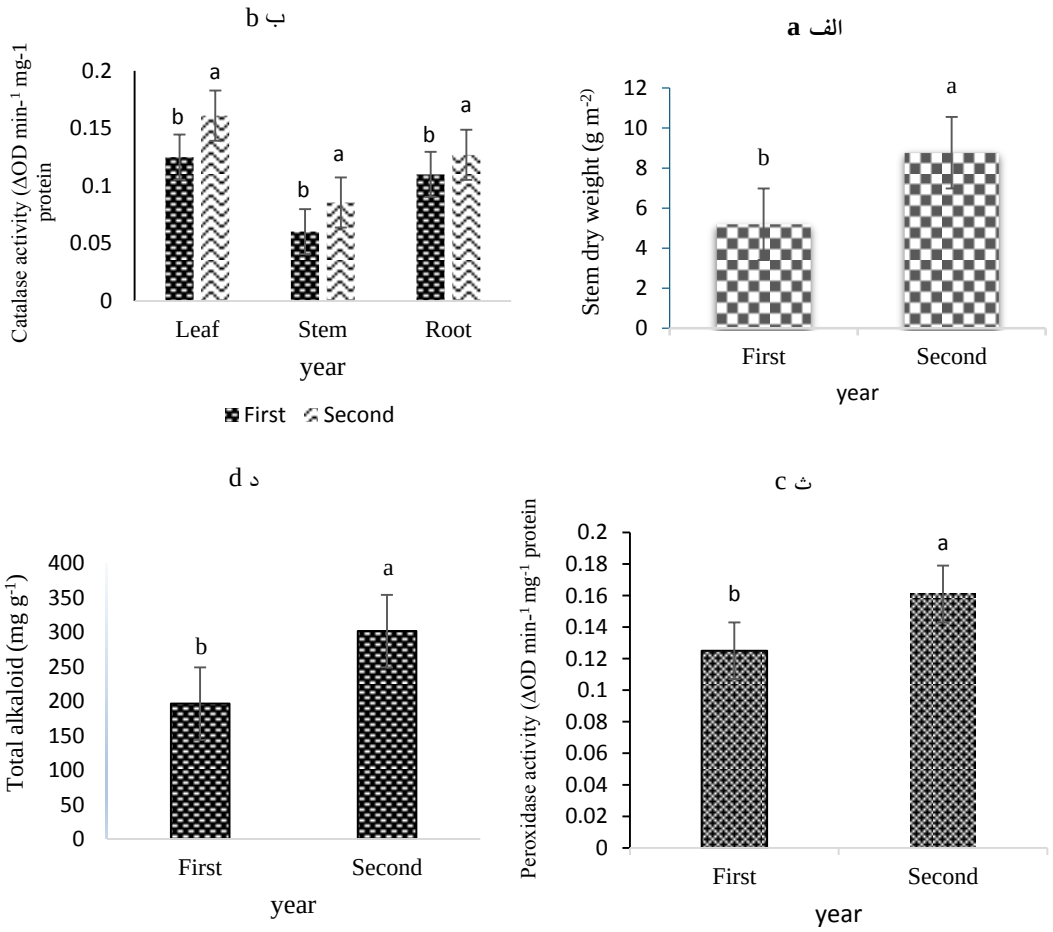
Table 3. Mean comparison for the effect of potassium humate on the growth traits and biochemical composition of Periwinkle.

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

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05)

بررسی اثر سال نشان داد که بیش‌ترین مقدار وزن خشک ساقه (۸/۷٦ گرم در مترمربع) و فعالیت آنزیم کاتالاز برگ (۰/١٦ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)، کاتالاز ساقه (۰/۰۸۵ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و ریشه (۰/۱۲ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین)، پراکسیداز برگ (۰/١٦١ جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) و آلکالوئید کل در برگ (۳۰۱/۵۷ میلی‌گرم در گرم برگ خشک) در سال دوم کشت ثبت شد (شکل ۲) و به‌ترتیب ١/٦٨، ١/٢٨، ١/٤، ١/١٥، ١/٢ و ١/٥ برابر نسبت به سال اول کشت افزایش یافت (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر سال بر وزن خشک ساقه (الف)، فعالیت آنزیم کاتالاز برگ، ساقه و ریشه (ب)، فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ (ث) و آلکالوئید کل برگ (د) در گیاه پروانش.

Fig. 2. Effect of year on stem dry weight (a) and leaf, stem and root catalase activity (b), leaf peroxidase activity(c) and leaf total alkaloid(d) of Periwinkle *Catharanthus roseus*.

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

Numbers followed by the different letters indicate significant difference (P<0.05).

مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل تیمار در سال نشان داد که بیشترین میزان وزن‌تر برگ (۲۰۳/۷۹ گرم در مترمربع)، وزن خشک برگ (۳۳/۷٤ گرم در مترمربع)، وزن‌تر ساقه (۸۸/۳۸ گرم در مترمربع)، وزن خشک‌ریشه (۵/۲۳۰ گرم در مترمربع) مربوط به تیمار ٤ گرم در مترمربع پتاسیم‌هیومات در سال دوم بود که با تیمار ۳/۵ گرم در مترمربع پتاسیم‌هیومات در سال دوم اختلاف معنی‌داری نداشت. بیش‌ترین مقدار وزن‌تر ریشه (۲۷/۷۷ گرم در مترمربع) مربوط به تیمار ۳/۵ گرم در مترمربع پتاسیم‌هیومات در سال اول مشاهده شد که با تیمار ٤ گرم در مترمربع پتاسیم‌هیومات تفاوت آماری معنی‌دار نداشت. هم‌چنین بیش‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه (۰/۹۲) مربوط به تیمار ۳/۵ گرم درمترمربع پتاسیم‌هیومات در سال دوم ثبت شد که با تیمار ٤ گرم در مترمربع پتاسیم‌هیومات در سال دوم تفاوت آماری معنی‌دار نداشت (جدول ٤). نتایج مقایسه میانگین تیمار × سال نشان داد که با افزایش سطح پتاسیم‌هیومات از صفر به ٤ گرم در مترمربع و تکرار اعمال آن در سال دوم کشت، به‌ترتیب وزن‌تر برگ،

وزن خشک برگ، وزن‌تر ساقه، وزن خشک‌ریشه، ۷/۳۰، ۲/۵۸، ٦/۷۲ و ۲/۲ برابر نسبت به تیمار شاهد و سال اول افزایش یافت. هم‌چنین وزن‌تر ریشه در تیمار ۳/۵ گرم در مترمربع و در سال اول کشت نسبت به تیمار شاهد و سال اول کشت ۲/٤ برابر شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه در تیمار ۳/۵ گرم در مترمربع و در سال دوم کشت ۳/۵۸ برابر نسبت به تیمار شاهد و در سال اول کشت ثبت شد.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار پتاسیم‌هیومات در سال بر صفات بررسی‌شده بر گیاه پروانش.

Table 4. Mean comparison for the interaction effects of potassium humate and year on the measured traits of Periwinkle.

فعالیت آنزیم پراکسیداز ساقه Stem peroxidase activity (ΔOD min^{-1} mg^{-1} protein)	وزن خشک‌ریشه Root dry weight ($g\ m^{-2}$)	وزن‌تر ریشه Root fresh weight ($g\ m^{-2}$)	وزن‌تر ساقه Stem fresh weight ($g\ m^{-2}$)	وزن خشک برگ Leaf dry weight ($g\ m^{-2}$)	وزن‌تر برگ Leaf fresh weight ($g\ m^{-2}$)	پتاسیم‌هیومات Potassium humate ($g\ m^{-2}$)	سال Year
0.257^{f}	2.333^{c}	11.157^{e}	13.133^{f}	13.067^{d}	27.91^{d}	0	١٤٠١ (2022)
0.331^{ef}	2.466^{c}	18.477^{d}	21.847^{ef}	12.267^{d}	79.50^{c}	2.5	
0.398^{def}	2.533^{c}	23.843^{abc}	24.510^{def}	12.667^{d}	83.52^{c}	3	
0.659^{bc}	2.833^{c}	27.777^{a}	28.130^{def}	16.833^{cd}	100.02^{bc}	3.5	
0.529^{cd}	2.933^{c}	26.720^{ab}	27.213^{def}	15.933^{cd}	95.17^{bc}	4	
0.280^{f}	3.105^{bc}	17.697^{d}	37.833^{cde}	18.450^{bcd}	105.93^{bc}	0	١٤٠٢ (2023)
0.358^{def}	3.368^{bc}	18.490^{d}	46.040^{bcd}	22.100^{bc}	123.56^{b}	2.5	
0.509^{cde}	4.146^{ab}	20.900^{cd}	52.000^{bc}	23.153^{b}	128.68^{b}	3	
0.922^{a}	4.488^{a}	22.313^{bcd}	66.653^{ab}	29.860^{a}	170.44^{a}	3.5	
0.752^{ab}	5.230^{a}	26.543^{ab}	88.380^{a}	33.740^{a}	203.79a	4	

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک در هر ستون فاقد اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند

Numbers followed by the same letter are not significantly different (P<0.05)

اسیدهیومیک با افزایش محرک‌های رشد بر رشد گیاهان تأثیر معنی‌دار می‌گذارد (۲۸). بررسی‌های کانلسا و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که اسیدهومیک را می‌توان به‌عنوان یک ترکیب شبه‌هورمونی در نظر گرفت که با حفظ نفوذپذیری غشا و افزایش سوخت‌وساز یاخته، رشد گیاهان را در شرایط محیطی مختلف بهبود می‌بخشد (۲۹). اسیدهومیک باعث جذب بیش‌تر عنصر نیتروژن در خاک قلیایی سبب تحریک رشد اندام‌های هوایی می‌شود (۳۰). اسیدهومیک با بهبود جذب نیتروژن، میزان آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، به‌ویژه آن‌هایی که در چرخه فتوسنتز نقش دارند، مانند سیتوکروم‌ها، فردوکسین‌ها، پلاستوسیانین و آنزیم روبیسکو را افزایش می‌دهد (۳۱). نتایج این پژوهش نیز نشان داد که با افزایش سطح هیومات‌پتاسیم از شاهد به ٤ گرم در مترمربع، وزن‌تر و خشک‌ریشه گیاه پروانش به‌ترتیب ۱/۸٤ و ۱/۵۰ برابر شد (جدول ٤) شد. هم‌چنین با افزایش سطح هیومات‌پتاسیم وزن‌تر و خشک برگ، وزن‌تر و خشک ساقه گیاه پروانش به‌ترتیب، ۲/۲۳، ۱/۵٤، ۲/۲٦ و ۲/۰٦ برابر شد که با نتایج پژوهش‌های عزیزی و صفایی (۲۰۱۷) و سپهری و همکاران (۲۰۲٤) هم‌راستا بود (۱۵، ١٦) (جدول‌های ۳ و ٤). این نتیجه

ممکن است به این دلیل باشد که هیومات‌پتاسیم شامل بسیاری از عناصر موردنیاز برای بهبود رشد گیاه، تحریک رشد احتمالی، افزایش فتوسنتز، افزایش غلظت ریبونوکلوئید و بیوسنتز آنزیمی است.

نتایج پژوهشی نشان داد که با استفاده از سطوح مختلف پتاسیم‌هیومات درگیاه رزماری (*Rosmarinus officinalis*) تحت تنش شوری ارتفاع بوته، تعداد شاخه در بوته، وزن‌تر و خشک گیاه، درصد اسانس، عملکرد بوته، محتوای رنگدانه و نیتروژن، پتاسیم و فسفر به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافتند که این امر بیانگر این است که این ترکیب باعث کاهش اثرات مضر شوری بر این گیاه می‌شود. پتاسیم‌هیومات جذب و انتقال پتاسیم را در سراسر گیاه بهبود می‌بخشد. پتاسیم موجود در این ترکیب با تنظیم اسمزی، سدیم را حذف می‌کند و اثرات آن را بر پاسخ‌های رشد گیاه کاهش می‌دهد (۳۲). پتاسیم می‌تواند اثرات سدیم را خنثی کند و به‌این‌ترتیب، پاسخ‌های رشدی گیاه به عوامل مختلف را بهبود بخشد (۳۳). استفاده از کود اسیدهومیک باعث کاهش شوری خاک می‌شود درنتیجه جذب آب و مواد معدنی توسط گیاهان افزایش می‌یابد (۳٤). اسیدهومیک با تحریک و تقویت گیاه، نه‌تنها باعث افزایش عملکرد می‌شود، بلکه به‌طور غیرمستقیم ریزمغذی‌های ضروری گیاه را نیز تأمین می‌کند (۳۵). مطالعه‌ای در گیاه بادرنجبویه (*Melissa officinalis*) نشان داد استفاده از اسیدهومیک بر وزن‌تر و خشک شاخساره، عملکرد خشک، درصد اسانس، عملکرد اسانس و اجزای اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار بود (۳٦). نتایج پژوهشی در گیاه گل‌گاوزبان نشان داد که استفاده از اسیدهومیک باعث افزایش معنی‌داری بر عملکرد گل، عملکرد زیست‌توده و تعداد شاخه‌های جانبی گیاه شده است (۳۷).

پژوهش‌ها نشان داده‌اند که اسیدهومیک وضعیت تغذیه‌ای گیاه را بهبود می‌بخشد و جذب عناصر غذایی را افزایش می‌دهد، همچنین باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود (۳۸). آنزیم‌های پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز با شکستن هیدروژن‌پراکسید به آب و اکسیژن، سبب پاک‌سازی و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شوند (۳۹). افزایش فعالیت کاتالاز در گیاهان یک ویژگی سازشی بوده و با کاهش میزان پراکسیدهیدروژن از آسیب رسیدن به بافت جلوگیری می‌کند (٤۰).

گزارش پژوهشی در گیاه فیسالیس (*Physalis peruviana* L.) نشان داد که استفاده از اسیدهومیک تحت شرایط کم‌آبیاری سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان، فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در این گیاه شد که با نتایج این پژوهش هم‌خوانی داشت (٤۱). به‌طوری‌که با افزایش سطح پتاسیم‌هیومات به‌ترتیب فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ، ساقه و ریشه، فعالیت آنزیم کاتالاز برگ و ریشه ۲/٤۰، ۲/۹٤، ۲/۲۰، ۲/۲۱، ۳/٤۷ برابر نسبت به سطح شاهد شد (جدول‌های ۳ و ٤). نتایج پژوهش گردگانه و همکاران (۲۰۲۰) در خصوص کاربرد اسیدهومیک به‌صورت خاکی و محلول‌پاشی بر ویژگی‌های کمی و کیفی زعفران (*Crocus sativus* L.) نشان داد که استفاده از اسیدهومیک در مقایسه با شاهد سبب افزایش تعداد گل، عملکرد گل‌تر، عملکرد کلاله تر، عملکرد کلاله خشک، قطر بنه، وزن بنه، طول برگ، پیکروکروسین، سافرانال، کروسین نسبت به شاهد شد (٤۲).

استفاده از تیمارهای مختلف اسیدهومیک تحت شرایط تنش شوری باعث افزایش آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در توت‌فرنگی رقم سابرینا شد (٤۳). نتایج پژوهش دادنیا (۲۰۱۷) نشان داد اسیدهومیک موجب تولید سریع‌تر سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز از پیش ماده خود (سوپراکسید یک پپتید بنام دیسموتاز و پورفیبرین در

مورد کاتالاز) می‌باشد. این یافته‌ها نشان‌دهنده نقش مهم اسیدهومیک در افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها و درنتیجه بهبود سلامت یاخته‌ها و محافظت از آن‌ها در برابر تنش اکسیداتیو است (٤٤). پژوهشی نشان داد که کاربرد اسیدهومیک روی گیاهان باعث افزایش آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند اسیداسکوربیک و گلوتاتیون می‌شود که به نوبه خود، آسیب اکسیداتیو را کاهش داده یا حذف می‌کند (٤٥). نتایج پژوهش نجفی‌وفا و همکاران (۲۰۲۱) بر گیاه دارویی مرزه (*Satureja hortensis* L.) نشان داد که استفاده تلفیقی ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسیدهومیک به همراه دو گرم در لیتر کود نانوکلات‌روی مقدار آنزیم پراکسیداز، کاتالاز، روی، وزن خشک بوته، طول برگ و سطح برگ را افزایش داد (٤٦). مطالعات پتیت (۲۰۰٦) نشان داده است که اسیدهومیک‌ها می‌توانند با افزایش غلظت mRNA در سلول‌های گیاهی، بیوسنتز آنزیمی و محتوای پروتئینی برگ‌ها را بهبود بخشند که این فرایند زیست‌شیمیایی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و اینورتاز می‌شود که نقش مهمی در سوخت‌وساز گیاه ایفا می‌کنند که با نتایج این پژوهش هم‌راستا بود (۱۷). افزایش سوخت‌وساز آنتی‌اکسیدان‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با استفاده از اسیدهومیک، نقشی حیاتی در محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو دارد. مطالعه‌ای در گیاه توتون نشان داد که استفاده از هیومیک اسید موجب زیادشدن میزان آلکالوئیدها در برگ می‌شود (٤٧). هم‌چنین نتایج پژوهشی نشان داد که هیومیک اسید با تقویت سامانه سوخت‌وسازی گیاه و افزایش جذب عناصر غذایی موجب افزایش تولید آلکالوئیدها می‌شود (٤٨) که با نتایج این پژوهش هم‌راستا بود.

نتیجه‌گیری کلی

تغذیه گیاه با کود پتاسیم‌هیومات در سطح ٤ گرم در مترمربع، بیش‌ترین تأثیر را بر بهبود مؤلفه‌های رشدی شامل وزن‌تر و خشک برگ و ساقه و ریشه گیاه پروانش داشت. هم‌چنین استفاده از این کود در سطح ٤ گرم در مترمربع بیش‌ترین تأثیر را بر فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز بخش‌های مختلف گیاه داشت؛ اما استفاده از این کود در سطح ۳/۵ گرم در مترمربع بیش‌ترین تأثیر را بر مقدار آلکالوئید کل در برگ گیاه پروانش داشت. تیمار گیاه با کود پتاسیم هیومات با توجه به این کود حاوی پتاسیم می‌باشد، باعث افزایش جذب ترکیبات مغذی گیاه و افزایش خصوصیات مربوط به عملکرد می‌شود. پتاسیم نقش مهمی در نقل‌وانتقال مواد در آوندها، فعالیت هورمون‌ها و آنزیم‌های گیاه دارد. با توجه به اثر پتاسیم بر سوخت‌وسازهای ثانویه، ممکن است بر محتوای آلکالوئیدها در پروانش تأثیر قابل‌توجهی 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 roseous*. *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., & 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, J., Xiao, X., Zhong, D., & Lian, H. (2024). Potassium humate supplementation improves photosynthesis and agronomic and yield traits of foxtail millet. *Scientific Reports*, 14(1), 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 chrocum*, *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 ϒ-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., & Ryan, J. (2013). Methods of soil, plant, and water analysis. *A manual for the West Asia and North Africa region*. 3 (2), 65-119.
23.Dazy, M., Jung, V., Férard, 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., & 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., & Tang, K. (2012). Overexpression of ORCA3 and G10H in Catharanthus roseus plants regulated alkaloid biosynthesis and metabolism revealed by NMR-metabolomics. *PLoS ONE*, 7(8), 189-203.
27.Gupta, M. M., Singh, D. V., Tripathi, A. K., Pandey, R., Verma, R. K., Singh, S., & 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.Ertani, A., Pizzeghello, D., Baglieri, A., Cadili, V., Tambone, F., Gennari, M., & Nardi, S. (2013). Humic-like substances from agro-industrial residues affect growth and nitrogen assimilation in maize (*Zea mays* L.) plantlets. *Journal of Geochemical Exploration*, 129, 103-111.
29.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.
30.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.
31.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.
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.Amer, M., & El-Ramady, H. (2015). Alleviation soil salinity and sodicity hazard using some bio-chemical amendments for production of canola (*Brassica napus* L.) In north delta region. *Journal of Soil Sciences and Agricultural Engineering*, 6 (4), 415-432.
34.Ouni, Y., Ghnaya, T., Montemurro, F., Abdelly, C., & Lakhdar, A. (2014). The role of humic substances in mitigating the harmful effects of soil salinity and improve plant productivity. *International Journal of Plant Production*, 8 (3), 353-374.
35.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.
36.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.

37. 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.
38. 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.
39. 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.
40. 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.
41. Mousavi, S. A. H., Barzegar, T., Nekounam, F., Ghahremani, Z., & Khani, A. (2023). The effect of humic acid on physiological characterristics, 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]
42. 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.
43. 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.
44. Dadnia, M. R. (2017). Effect of humic acid on activity of antioxidant enzymes and yield of castor bean (*Ricinus commonis*) under water deficit condition. *Journal of Crop Ecophysiology*. 11 (1), 85-98.
45. Hemida, K. A., Eloufey, A. Z., Seif El-Yazal, M. A., & Rady, M. M. (2017). Integrated effect of potassium humate and α-tocopherol applications on soil characteristics and performance of Phaseolus vulgaris plants grown on a saline soil. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 63 (11), 1556-1571.
46. 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.
47. 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.
48. 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.