Plant Production Technology/ Volume 24/ Issu 2/ Pages 67-82/ Autumn and Winter 2025
https://doi.org/10.22084/ppt.2024.29650.2131

ORIGINAL RESEARCH PAPER

Effect of Potassium Humate on Morphological Traits and Phytochemical Composition of Periwinkle (*Catharanthus Roseus* (L.) G. DON) Medicinal Plant

Kaviani[1], M., Bakhshi[2*], D., Farhangi[3], M. B. and Chaichi[4], M.

1. PhD Student, Department of Horticultural Science and Engineering, University Campus 2, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Associate Professor, Department of Horticultural Science and Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
3. Assistant professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
4. Assistant professor, Department of Seed and Plant Improvement Research, Agriculture and Natural Resources Center, Agriculture Research, Education and Extension Organization, Hamedan, Iran

*: Corresponding Author Email: bakhshi-d@guilan.ac.ir

Received: 2024/07/22 Accepted: 2024/10/14

Background and Objectives
Periwinkle (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) belongs to the plant family Apocynaceae and is cultivated in many countries around the world. Over 130 indole alkaloids, collectively termed terpenoid indole alkaloids, have been extracted from periwinkle, including the most significant and potent anticancer products vincristine and vinblastine. Soil nutrient elements are especially important for improving the growth and development and quality of medicinal plants. This importance is due to the fact that soil nutrients can be managed and changed, and by adjusting and improving them, the quantity and quality of medicinal plants can be improved. In this regard, sustainable agriculture, emphasizing the balanced use of organic and biological fertilizers, provides an effective solution for increasing the production of agricultural products and maintaining the stability of soil fertility, sustainable and high-quality production. Potassium humate (KH) is natural biological organic nutrient, highly affecting physio-biochemical properties of soil and the productivity of plants. Humic materials derive from the chemical and biological humification of animal and plant matter through the biological processes of microorganisms. These substances impact plant performance and soil fertility by an increase in the soil microbial content stimulating the soil productivityby enhancing the soil-root cation exchange capacity.

Methodology
The study aimed at investigating the influence of potassium humate on morphophysiological traits and phytochemical compositions of periwinkle. It utilized a randomized complete block design (RCBD) with three replications during two consecutive growing seasons, 2022 and 2023, in Medicinal herbs garden of Agriculture Research and Training Center, Hamadan. The experiment included five varying doses of potassium humate including 0, 2.5, 3, 3.5, 4 $g.m^{-2}$ applied through fertigation. The aerial parts and roots were collected during the blooming period (end of August and mid-September). Morphological traits, such as plant height (from the crown to the tip of the main stem) and root length, were measured using a ruler in each replication, and then averaged. The number of flowers and fully grown leaves on each plant was tallied until the end of the growth cycle. To ascertain the fresh and dry weight of the above-ground portions, the plants were severed from the soil surface and weighed using a digital scale. Subsequently, the plants underwent a 72-hour drying process in an oven set at 60 degrees Celsius. Once their weight had reached a stable point, they were weighed again. Also the investigated, physiological and biochemical traits included leaf chlorophyll, proline, flavonoid, total phenol, and antioxidant activity in the leaves of this plant.

Results
The effect of potassium humate on flower and leaf numbers, root and stem length, fresh and dry plant weight, chlorophyll, proline, phenol, flavonoid content, and leaf antioxidant activity was significant (p<0.05). Moreover, the year had a notable impact on all these factors except chlorophyll and leaf phenol (p<0.05). The interaction effect of treatment × year on flower numbers, total plant dry weight, and chlorophyll a was also significant (p<0.05). The findings demonstrated that the Potassium humate treatment (4 $g.m^{-2}$) yielded the highest average count of flowers and leaves, stem and root length, fresh and dry weight of the entire plant, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, antioxidant activity, phenol, and leaf flavonoids. Conversely, the control treatment displayed the lowest results. The largest quantity of proline was associated with the control treatment. In the second year, applying treatments significantly improved the characteristics of the periwinkle plant. Notably, there was a marked increase in the number of

flowers, leaves, stem length, total fresh and dry weight, as well as antioxidant and flavonoid activity in the leaves. Root length, on the other hand, was mainly affected by treatments in the first year. Examination of the treatment-year relationship showed the highest flower count (13.77), whole plant dry weight (55.33 g), and chlorophyll a content in the second year with a potassium humate level of 4 $g.m^{-2}$.

Conclusion

Overall, applying 4 $g.m^{-2}$ of Potassium humate showed the most significant effect on the morpho-physiological and phytochemical composition of periwinkle plants in the second year. Consistent use of Potassium humate as an organic fertilizer had a positive impact on these characteristics during the entire growth period. The aim of the study was to replace mineral fertilizers with organic and biological fertilizers to improve nutrient uptake, plant growth and phytochemical compositions of periwinkle.

Keywords: Antioxidant, growth indices, Flavonoid, phenol.

Citations: Kaviani, M., Bakhshi, D., Farhangi, M. B. and Chaichi, M. (2025). Effect of Potassium Humate on Morphological Traits and Phytochemical Composition of Periwinkle (*Catharanthus Roseus* (L.) G. DON) Medicinal Plant. *Plant Production Technology*, 24(2), 67-82. https://doi.org/10.22084/ppt.2024.29650.2131

© 2022 The Author(s). Bu- Ali Sina University Publication. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Online ISSN: 2476-5651 **Print ISSN:** 2476-6321

فنآوری تولیدات گیاهی/ جلد بیست و چهارم/ شمارهٔ دوم/ صفحات ٦٧-٨٢/ پاییز و زمستان ١٤٠٣
https://doi.org/10.22084/ppt.2024.29650.2131

تأثیر هیومات‌پتاسیم بر صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON)

Effect of Potassium Humate on Morphological Traits and Phytochemical Composition of Periwinkle (*Catharanthus Roseus* (L.) G. DON) Medicinal Plant

مریم کاویانی[1]، داود بخشی[2]*، محمد باقر فرهنگی[3]، مهرداد چائی چی[4]

تاریخ دریافت: ١٤٠٣/٠٥/٠١ تاریخ پذیرش: ١٤٠٣/٠٧/٢٣
(مقاله پژوهشی)

چکیده

پروانش با نام علمی (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) متعلق به خانواده Apocynaceae است. این گیاه در بسیاری از کشورهای دنیا کشت و تولید می‌شود. به‌منظور بررسی تأثیر کود هیومات‌پتاسیم بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک و ترکیبات فیتوشیمیایی این گیاه، آزمایش مزرعه‌ای در باغ گیاهان دارویی همدان در دو سال زراعی متوالی ١٤٠١ و ١٤٠٢ در قالب طرح بلوک کامل تصادفی اجرا شد. تیمار هیومات‌پتاسیم در پنج سطح ٠، ٢/٥، ٣، ٣/٥، ٤ گرم بر مترمربع به‌صورت کودآبیاری و در سه تکرار اعمال شد. اثر هیومات‌پتاسیم بر تعداد گل و برگ، طول ریشه و ساقه، وزن تر و خشک کل گیاه، کلروفیل‌کل، پرولین، فنل‌کل، فلانوئیدکل و فعالیت آنتی‌کسیدانی (DPPH) برگ معنی‌دار بود ($p < ٠/٠٥$). هم‌چنین اثر سال بر این فاکتورها به‌جز کلروفیل و فنل برگ معنی‌دار شد ($p < ٠/٠٥$). اثرمتقابل تیمار × سال بر تعداد گل، وزن خشک کل گیاه و کلروفیل a، معنی‌دار شد ($p < ٠/٠٥$). با افزایش سطح هیومات‌پتاسیم مقدار همه صفات به‌جز پرولین افزایش یافت. اعمال تیمار در سال دوم بیشترین تأثیر را بر همه صفات به‌جز کلروفیل a، b، وکل و فنل برگ داشت. مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار × سال نشان داد که بیشترین تعداد گل (١٣/٧٧) و وزن خشک کل (٥٥/٣٢ گرم) در سال دوم کشت در سطح (چهار گرم بر متر مربع) هیومات‌پتاسیم بود. باتوجه‌به نتایج می‌توان گفت که کاربرد پیوسته هیومات‌پتاسیم به‌عنوان کود آلی تأثیر مثبت بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک و ترکیبات فیتوشیمیایی گیاه پروانش داشت.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، شاخص‌های رشد، فلاونوئید، فنل.

ارجاع به مقاله: کاویانی، م.، بخشی، د.، فرهنگی، م.ب.، چائی چی، م. (١٤٠٣). تأثیر هیومات‌پتاسیم بر صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی پروانش (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON)، *مجله فنآوری تولیدات گیاهی*، ٢٤ (٢)، ٦٧-٨٢.
https://doi.org/10.22084/ppt.2024.29650.2131

حق نشر متعلق به نویسنده (گان) است و نویسنده تحت مجوز Commons Creative License Attribution (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) به مجله اجازه می‌دهد مقاله‌ی چاپ شده را در سامانه به اشتراک بگذارد، منوط بر اینکه حقوق مؤلف اثر حفظ و به انتشار اولیه مقاله در این مجله اشاره شود.

شاپا الکترونیکی: ٢٤٧٦-٥٦٥١ **شاپا چاپی**: ٢٤٧٦-٦٣٢١

١. دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی باغبانی، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
٢. دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
٣. استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
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
*: نویسنده مسئول Email: bakhshi-d@guilan.ac.ir

۱. مقدمه

پروانش ماداگاسکار (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON) گیاهی همیشه‌سبز از خانواده خرزهره (Apocynaceae) است که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری به‌صورت چندساله و در مناطق سرد به‌صورت گیاه یک‌ساله کشت می‌شود. این گیاه دارویی-زینتی، بوته‌ای و خودگشن است و از طریق بذر تکثیر می‌شود (Omidbaigi, 2005). پروانش منبع غنی از ترکیبات ترپنوئیدایندول‌آلکالوئید[1](TIA) است و بیش از ۱۳۰ نوع آلکالوئید مختلف را تولید می‌کند که ازجمله مهم‌ترین مواد مؤثره آن می‌توان به ترکیب‌های وین‌کریستین [2]و وین‌بلاستین [3]اشاره کرد که قدرتمندترین داروهای ضدسرطان محسوب می‌شود (Nejat *et al.*, 2015). این ترکیبات در واکوئل‌های سلول‌های ساقه و برگ گیاه پروانش تجمع یافته و سنتز آن‌ها به مرحله فیزیولوژیکی و رشد گیاه بستگی دارد، اگرچه معمولا کم (کمتر از ۱٪ وزن خشک) است (Rao and Revishankar, 2002). گیاه پروانش توانایی رشد در انواع بافت‌های خاکی را دارد، اما خاک‌های شنی دارای ترکیبات فراوان هوموسی را ترجیح می‌دهد. خاک‌های اشباع از آب و قلیایی برای کشت این گیاه مناسب نیستند (Omidbaigi, 2005). هم‌چنین پروانش به pH خاک بسیار حساس بوده و در pH های بالاتر از ۶/۳ کمبود شدید ریزمغذی‌هایی مانند آهن را نشان می‌دهد (Thomas *et al.*, 2012).

در تولید گیاهان دارویی فاکتورهای خاکی علاوه بر شرایط آب و هوایی از اهمیت خاصی برخوردار هستند. عناصر غذایی موجود در خاک، کلیدی اساسی برای بهبود کمیت و کیفیت گیاهان دارویی هستند. چراکه این عامل به آسانی قابل‌تغییر بوده و می‌توان با تغییر آن، کمیت و کیفیت گیاهان دارویی را بهبود بخشید. بنابراین، در کنار توجه به شرایط آب و هوایی، بررسی و مدیریت عوامل خاکی نیز برای تولید گیاهان دارویی با کیفیت بالا و میزان محصول بیشتر، ضروری است (Omidbaigi, 2013).

بیشتر زمین‌های قابل‌کشت ایران در محدوده خاک‌های خشک و نیمه‌خشک با pH قلیایی و مقدار مواد آلی اندکی قرار دارند (Shahbazi and Besharati, 2013). این شرایط خاک، باعث کاهش حلالیت و در دسترس بودن مواد مغذی برای گیاهان، به‌ویژه ریزمغذی‌ها می‌شود. افزایش استفاده از کودهای شیمیایی در سال‌های اخیر، راهکاری برای غلبه بر این چالش بوده‌است. اما مصرف بی‌رویه این کودها پیامدهای منفی طولانی مدتی به‌دنبال دارد. این پیامدها شامل کاهش جمعیت میکروبی خاک، آلودگی زیست‌محیطی و ورود نیترات به چرخه غذایی انسان است که به‌شدت سلامت جامعه بشری را به‌خطر می‌اندازد. برای کاهش این خطرات زیست‌محیطی و در عین حال افزایش عملکرد گیاهان، نیازمند به‌کارگیری تکنیک‌های نوین می‌باشد، در این میان، کشاورزی پایدار با تاکید بر استفاده از کودهای آلی و زیستی، راهکاری مؤثر برای افزایش تولید محصولات کشاورزی و حفظ پایداری حاصل‌خیزی خاک ارائه می‌دهد (Piromyou *et al.*, 2011; Ehteshami and Chai-Chi, 2010).

هیومات‌پتاسیم[4] (KH) یک ماده طبیعی ضروری، محلول در آب و سرشار از گروه‌های عاملی کربوکسیلیک و فنولیک است. کاربرد خاکی آن می‌تواند علاوه بر بهبود ویژگی‌های فیزیکی و بیوشیمیایی خاک، حاصل‌خیزی آن را نیز از طریق اضافه کردن پتاسیم به خاک افزایش دهد. این امر به نوبه خود سبب افزایش عملکرد گیاه خواهد شد (Idrees *et al.*, 2018; Taha *et al.*, 2020). این کود، زیست‌توده گیاهی را بهبود می‌بخشد و تراکم خاک را کاهش می‌دهد. مواد هیومیک نفوذپذیری غشا گیاه، فعالیت آنزیمی و فعالیت هورمونی را بهبود می‌بخشند و توانایی نگهداری آب را افزایش می‌دهند (Ayman *et al.*, 2021).

مواد هیومیک به‌طورکلی با توان بالای کلات‌کنندگی، فراهمی ریزمغذی‌ها و درشت مغذی‌ها مانند نیتروژن، فسفر، آهن و روی را بهبود بخشید. این موضوع به‌ویژه در مورد خاک‌های آهکی و قلیایی صدق می‌کند را افزایش می‌دهد (García *et al.*, 2016; Sanchez-Sanchez *et al.*, 2006; Ozifdan-Konakci *et al.*, 2018; Mohammed *et al.*, 2021) نشان داد که پتاسیم به شکل کلات‌آلی (هیومات)، می‌تواند به‌عنوان یک مکمل غذایی ارزان

1. Terpenoid indole alkaloids
2. Vincristine
3. Vinblastine

4. Potassium humate

قیمت و مؤثر برای کوددهی پتاسیم مورداستفاده قرار گیرد. به‌ویژه برای بوته‌های گوجه‌فرنگی که در خاک شنی کاشته شده‌اند، استفاده از هیومات‌پتاسیم به صورت اسپری روی برگ‌ها، می‌تواند بسیار مفید باشد و به بهبود رشد و عملکرد آن‌ها کمک کند.

تحقیقات نشان داد که اسیدهیومیک می‌تواند رشد گیاه را با فعال کردن مسیرهای متابولیسم کربن و نیتروژن بهبود بخشد. گلوتامات‌دهیدروژناز، نیترات‌ریداکتاز و گلوتامین‌سنتتاز آنزیم‌هایی هستند که در جذب نیتروژن نقش دارند و توسط اسیدهیومیک فعال می‌شوند. این آنزیم‌ها نقش کلیدی در متابولیسم نیتروژن و در نتیجه، رشد گیاه ایفا می‌کنند (Canellas *et al*., 2013; Hernandez *et al*., 2015). نتایج (Schiavon *et al*., 2010) نشان داد که اسیدهیومیک بیان فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز را که فاز اول در بیوسنتز فنیل‌پروپانوئید را کاتالیز می‌کند، با تبدیل تیروزین به اسید کوماریک و فنیل‌آلانین به اسید ترانس‌سینامیک افزایش داد. بیان این آنزیم‌ها با افزایش فنل در برگ همراه بود. که ترکیبات مربوط به مسیر شیکیمیک (فلاونوئیدها، برخی از آلکالوئیدها مانند آلکالوئیدهای ایزوکینولین، توکوفرول‌ها و فنل‌ها) توسط اسیدهیومیک فعال می‌شود. علاوه بر این، یک سیستم آنزیمی‌مانند پراکسیداز و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی‌مانند گلوتاتیون، آسکوربات، فنل‌ها، آلکالوئیدها، کارتنوئیدها و توکوفرول‌ها تحت‌تأثیر تیمارهای اسیدهیومیک قرار گرفته‌اند (Canellas *et al*., 2015; Pizzeghello *et al*., 2001). فلانوئیدها با مهار نمودن آنزیم‌های هیدرولیتیک و اکسیداتیو و عملکرد ضدالتهابی خود، گروه اصلی ترکیبات کنترل کننده رادیکال‌های آزاد به‌شمار می‌روند. ارتباط مهمی میان پتانسیل آنتی‌اکسیدانی گیاهان و محتوای فنل و فلانوئید کل در آن‌ها گزارش شده‌است (Silva *et al*., 2007).

نتایج تحقیقات (Noroozisharaf and Kaviani, 2018) بر گیاه آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) نشان داد که تیمارهای اسیدهیومیک اثرات معنی‌داری بر هیدروکربن‌های مونوترپن، مونوترپن‌های اکسیژن‌دار، استرهای مونوترپن و سسکوی‌ترپن‌های اکسیژن‌دار دارد. بنابراین، استفاده از اسیدهیومیک می‌تواند به‌عنوان یک رویکرد زیست فناورانه قوی برای توسعه رشد گیاهان در سیستم‌های کشاورزی پایدار مورد بررسی قرار گیرد.

نتایج تحقیقات (Farshchi *et al*., 2014) بر ویژگی‌های فیتوشیمیایی و مورفولوژیکی گیاه دارویی گل راعی (*Hypericum perforatum*) نشان داد استفاده از تیمار کودی سولفات‌پتاسیم و اسیدهیومیک باعث افزایش ارتفاع ساقه، تعداد گل، تعداد ساقه‌های گلدار، آنتی‌اکسیدان و تولید اسانس در این گیاه شد. مطالعات (Retabe *et al*., 2022) بر رشد گیاه چای‌ترش (*Hibiscus sabdariffa L*) نشان داد استفاده از هیومات‌پتاسیم و گوگرد به‌طور قابل‌توجهی باعث افزایش عملکرد، ارتفاع، شاخه‌دهی، گل‌دهی و میوه‌دهی، نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلروفیل ،کربوهیدرات و آنتی‌اکسیدان در این گیاه شد. آزمایشی مزرعه‌ای به‌منظور بررسی محلول‌پاشی هیومات‌پتاسیم بر رشد، اسانس و ترکیبات سه گونه نعنا گربه‌ای (*Nepeta*) انجام شد. نتایج نشان داد کاربرد هیومات‌پتاسیم باعث افزایش شاخص‌های رشد، محتوای اسانس و عملکرد گیاه، و فلاونوئیدها در این گیاه شد (Mohamed *et al*., 2018). نتایج اثر محلول‌پاشی هیومات‌پتاسیم بر گیاه رازیانه شیرین (*Foeniculum vulgare*) نشان داد که افزایش غلظت هیومات‌پتاسیم باعث افزایش رشد رویشی، ترکیبات شیمیایی برگ و پیاز، عملکرد، اسانس و کیفیت گیاهان رازیانه شیرین شد (El-Sawy *et al*., 2021).

اهمیت گیاه پروانش در اقلیم‌ها و کشورهای مختلف، روزبه‌روز در حال افزایش است. برای ارتقای ویژگی‌های رشد و میزان آلکالوئید این گیاه و هم‌چنین کنترل ظاهر آن برای اهداف دوگانه دارویی و زینتی، می‌توان از روش‌های کنترل رشد، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و کودهای زیستی مناسب استفاده کرد (Omidbeigi, 2007). باتوجه‌به شرایط سرد و نیمه‌خشک شهرستان همدان و قلیایی بودن خاک، و نیازهای رشدی گیاه پروانش، این گیاه در گلخانه قابل کشت است. این تحقیق با هدف بررسی تأثیر کاربرد هیومات‌پتاسیم، بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و ترکیب فیتوشیمایی گیاه پروانش دارویی، در مزرعه گیاهان دارویی در شهرستان همدان انجام شد.

۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش در باغ گیاهان دارویی استان همدان واقع در شهرستان همدان با موقعیت جغرافیایی ۵۱َ ۴۸° طول شمالی و ۸۰َ ۳٤° عرض شرقی در ارتفاع ۱۸۷۰ متر از سطح دریا و دارای اقلیم سرد و نیمه‌خشک و آزمایشگاه علوم باغبانی دانشگاه گیلان در دو سال زراعی ۱٤۰۱ و ۱٤۰۲ انجام شد. ابتدا بذر گیاه پروانش رقم صورتی F1 از شرکت Ballhort آمریکایی خریداری و در نیمه فروردین، بذرها در سینی کشت دارای پیت و کوکوپیت (به نسبت ۱:۱) کشت و در خرداد ماه در مرحله چهار تا شش برگی به زمین اصلی منتقل شد. کود هیومات‌پتاسیم از شرکت آرویج گستر سما به‌صورت پودری خریداری شد که حاوی چهل درصد اسیدهیومیک و بیست درصد اکسیدپتاسیم بود.

تیمار آزمایشی شامل هیومات‌پتاسیم در پنج سطح شامل ٤، ۳/۵، ۳، ۲/۵ ، ۰ گرم در مترمربع به‌صورت کودآبیاری پس از سه روز از انتقال نشاء به زمین اصلی، در سه تکرار و در دو سال متوالی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی اجرا شد. پیش از کشت گیاه از خاک مزرعه (عمق ۲۰ سانتی‌متری) نمونه‌برداری انجام گرفت و برخی از ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی خاک به روش استاندارد (Estefan *et al.*, 2013) اندازه‌گیری شد (جدول ۱). پس از آماده‌سازی زمین کشت گیاه پروانش در کرت‌های یک در یک مترمربع با رعایت حاشیه ۲۰ سانتی‌متر از هر سو انجام شد. فاصله بین ردیف‌های کشت ۳۰ سانتی‌متر و فاصله روی ردیف‌ها ۲۰ سانتی‌متر (در هر کرت ۱۲ گیاه) در نظر گرفته‌شد.

Table 1: Physical and chemical characteristics of the soil used before culture (0-20 cm deep)

Texture	CCE	Clay	Silt	Sand	N (total)	Organic matter	K (available)	P (available)	EC	pH
-	----------	----------	g $100g^{-1}$	----------	----------	----------	---- mg kg^{-1}	----	dS m^{-1}	-
Loam	13.5	17.3	31.3	51.4	0.084	1.3	230	13.2	4.135	7.61

Table 2: Rainfall and temperature parameters in the first six months of the years 2022 and 2023

Year	Parameters	April	May	June	July	August	September
1401	Total precipitation (mm)	9.7	21.8	0.0	0.0	0.0	0.1
	Average of Min. Temperature (^{0}C)	2.7	6.1	10.1	14.6	15.5	10.6
	Average of Max. Temperature (^{0}C)	19.7	22.5	31.0	35.0	36.0	31.8
1402	Total precipitation (mm)	29.0	32.3	28.3	0.0	0.0	0.0
	Average of Min. Temperature (^{0}C)	2.9	5.5	10.9	14.7	16.0	13.8
	Average of Max. Temperature (^{0}C)	17.1	23.2	28.8	35.2	35.5	33.7

۲-۱. اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی

اندام‌های هوایی و ریشه پروانش در زمان گلدهی (پایان مرداد و نیمه شهریور) جمع‌آوری شد. صفات مورفولوژیکی شامل ارتفاع بوته توسط خط‌کش بر حسب سانتی‌متر از محل طوقه تا نوک ساقه اصلی و طول ریشه برای هر تکرار اندازه‌گیری و سپس میانگین آن‌ها محاسبه شد. تا پایان دوره رشد، تعداد گل‌ها و برگ‌های توسعه‌یافته هر بوته شمارش شد. به‌منظور تعیین وزن تر و خشک اندام هوایی، بوته‌ها از سطح خاک قطع شدند و با ترازوی دیجیتال توزین شدند. سپس بوته‌ها در آون به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد خشک و پس از اطمینان از تثبیت وزن، توزین آن‌ها انجام شد (Rady, 2019).

۲-۲. اندازه‌گیری کلرفیل

برای اندازه‌گیری کلروفیل برگ ابتدا مقدار ۰/۵ گرم از نمونه تر در هاون چینی با نیتروژن مایع ساییده و یک میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به آن اضافه شد. نمونه به‌مدت ۱۰ ثانیه ورتکس شد

سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. سپس فاز روشناور مخلوط به‌دقت جدا و با استون ۸۰٪ ۱۰ بار رقیق شد. میزان جذب نوری عصاره با دستگاه اسپکتروفتومتر ((T80+UV/Vis:PG Instruments L td در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر خوانده شد. محتوای کلروفیل برحسب میلی‌گرم در گرم توسط رابطه زیر محاسبه شد (Lichtenthaler and Buschmann., 2001) (رابطه ۱،۲،۳).

(رابطه ۱) کلروفیل a =[(۱۲/۷×۶۶۳ جذب نانومتر)-(۲/۶۹× ۶۴۵ جذب نانومتر)] میلی‌لیتر استن/میلی‌گرم بافت برگ

(رابطه ۲) کلروفیل b =[(۲۲/۹×۶۴۵ جذب نانومتر)-(۴/۶۸× ۶۶۳ جذب نانومتر)] میلی‌لیتر استن/میلی‌گرم بافت برگ

(رابطه۳) کلروفیل کل = کلروفیل a + کلروفیل b

۲-۳. اندازه‌گیری پرولین

برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیتس و همکاران (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. ابتدا ۰/۵ گرم از برگ تازه در هاون چینی به همراه نیتروژن مایع ساییده شد و ۱۰ میلی‌لیتر محلول سولفوسالیسیلیک‌اسید سه درصد به آن افزوده شد. عصاره حاصل، با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در ادامه، دو میلی‌لیتر از محلول رویی با دو میلی‌گرم شناساگر ناین-هیدرین و دو میلی‌لیتر اسیداستیک ترکیب گردید. این ترکیب، یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و سپس در حمام یخ خنک شد در ادامه چهار میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه شده و به‌مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شد. نمونه‌ها دو دقیقه ثابت نگه داشته‌شد تا دو فاز مجزا در آن‌ها تشکیل شود. از فاز بالایی (رنگی) که دارای پرولین محلول در تولوئن بود برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده شد. قرائت نمونه‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (T80+UV/Vis:PG Instruments Ltd) انجام و منحنی استاندارد با استفاده از محلول‌های استاندارد پرولین تهیه شد (رابطه ٤).

y=0.099x-0.004
R2=0.974

(رابطه ٤)

(رابطه ۵) میلی‌گرم پرولین بر گرم وزن تر = (میلی‌لیتر تولوئن× میلی‌گرم پرولین بر میلی‌لیتر)/(۱۱۵/۵ میلی‌لیتر تولوئن× ۰/۵ گرم نمونه)

۲-٤. اندازه‌گیری مقدار فنل‌کل، فلاونوئیدکل و آنتی‌اکسیدان

مقدار فلانوئید با استفاده از روش کلریدآلومینیوم بر حسب میلی‌گرم درگرم وزن خشک (Chang *et al.*, 2002) اندازه‌گیری شد. مقدار فنل کل با استفاده از روش (Singleton *et al.*, 1999) محاسبه شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از روش DPPH[1] (Hatano *et al.*, 1988) اندازه‌گیری شد.

۲-٤-۱. تهیه عصاره

برای به‌دست‌آوردن عصاره ۰/۵گرم از بافت خشک برگ پودر شده با پنج میلی‌لیتر متانول اسیدی ۸۵٪ در حضور نیتروژن مایع ساییده شد. ترکیب نمونه و حلال به‌مدت سه ساعت در تاریکی قرار گرفت. سپس عصاره به‌مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰۰۰۰ (دور در دقیقه) سانتریفوژ شد و فاز بالایی برای سنجش میزان فنل‌کل، فلانوئیدکل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی جداسازی و نگه‌داری شد.

۲-٤-۲. فنل‌کل

برای سنجش محتوای فنل کل ابتدا ۷۰ میلی‌لیتر عصاره تهیه شده با ۱۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و یک میلی‌لیتر فولین ۱۰٪ مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه استراحت داده شد. سپس ۸۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد به نمونه اضافه شد. با توجه به غلیظ بودن نمونه‌ها از متانول اسیدی برای رقیق‌سازی استفاده شد. از اسیدگالیک به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استفاده شد.

قرائت نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (T80+UV/Vis:PG Instruments L td) در طول موج ۷۲۵

1. Diphenyl-Picryl-Hydrazyl

نانومتر خوانده شد و محتوای فنل کل از منحنی استاندار محاسبه شد (رابطه ٦).

(رابطه ٦) Y=3.0912x+0.0502

۲-٤-۳. سنجش محتوای فلاونوئیدکل

برای سنجش محتوای فلانوئید کل ابتدا ۵۰ میکرولیتر عصاره تهیه شده با ۱۸۰۰ میکرولیتر اتانول ۳۰ درصد، ۷۵ میکرولیتر نیتریت‌سدیم ۰/۵ نرمال، ۷۵ میکرولیتر آلومینیم کلراید ۰/۳ نرمال مخلوط شد. مخلوط به‌مدت پنج دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس ۵۰۰ میکرولیتر هیدروکسید سدیم یک نرمال به آن اضافه شد. پس از ۱۵ دقیقه ورتکس جذب موری نمونه‌ها با دستگاه اسپکتوفتومتر (T80+UV/Vis:PG Instruments L td) در طول موج ۵۱۰ خوانده شد. از کوئرستین به‌عنوان استاندارد برای رسم منحنی استفاده شد (رابطه ۷).

(رابطه ۷) Y=2.3821x+0.3112

۲-٤-٤. سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

ابتدا یک میلی‌لیتر DDPH به عصاره استخراج شده ضافه شد. جذب نوری نمونه‌هاپس از ۳۰ دقیقه در تاریکی و دمای آزمایشگاه با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH از رابطه (۸) به‌دست آمد (Hatano *et al*., 1988).

۲-۵. آنالیز آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح پنج انجام شد.

(رابطه ۸) فعالیت آنتی‌اکسیدانی= (جذب کنترل- جذب نمونه)/ جذب کنترل)× ۱۰۰

۳. نتایج

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح مختلف تیمار هیومات‌پتاسیم بر میانگین تعداد گل، میانگین تعداد برگ، میانگین طول ریشه، میانگین طول ساقه، وزن تر کل گیاه، وزن خشک کل گیاه، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، پرولین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل، فلانوئید برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. همچنین اثر سال بر تعداد گل، میانگین تعداد برگ، میانگین طول ریشه، میانگین طول ساقه، وزن تر کل گیاه، وزن خشک کل گیاه، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فلانوئید برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. اثرمتقابل تیمار × سال بر میانگین تعداد گل، وزن خشک کل گیاه، کلروفیل a، در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

Table 3: Analysis of variance for effect of potassium humate treatments and year on measured traits of Periwinkle *Catharanthus roseus*

Source of variation	Degrees of freedom	average of squares						
		Plant dry weight	Plant fresh weight	Stem length	Root length	Leaf number	Flower number	Flavonoid
Potassium humate	4	284.29*	15783*	19.09*	49.63*	1921.99*	54.21*	833.97*
Year	1	2258.58*	95911*	80.88*	118.88*	4191.84*	63.09*	837.77*
Block (year)	4	13.353ns	949ns	5.16*	12.33ns	224.73ns	1.94ns	40.86 ns
Potassium humate×year	4	70.059*	1944ns	1.49ns	18.190ns	93.33ns	5.84*	66.94 ns
Error	16	18.35	827	0.927	8.500	102.24	0.85	27.06
Coefficient of variation (%)		14.40	16.85	8.20	16.06	15.51	13.06	27.39

ns, * indicate non-significance, significance at 5% level, respectively.

Continued Table 3: Analysis of variance for effect of potassium humate treatments and year on measured traits of Periwinkle *Catharanthus roseus*

Source of variation	Degrees of freedom	average of squares					
		Total phenol	Antioxidant	Proline	Total leaf Chlorophyll content	Chlorophyll b	Chlorophyll a
Potassium humate	4	5417.25*	110.24*	0.66*	2309.83*	768.08*	450.69*
Year	1	710.15ns	348.17*	0.06ns	1218.46ns	943.95ns	17.49ns
Block(year)	4	703.61*	30.110*	0.062*	211.38ns	165.90ns	30.20ns
Potassium humate×year	4	10.06ns	0.67ns	0.0064ns	78.52ns	107.67ns	60.42*
Error	16	67.002	1.46	0.013	104.80	97.60	13.35
Coefficient of variation (%)		4.32	1.65	12.58	9.44	15.49	8.19

ns, * indicate non-significance, significance at 5% level, respectively

باتوجه‌به نتایج جدول مقایسه میانگین (جدول ٤)، بیش‌ترین تعداد گل (١٠/٦٢)، میانگین تعداد برگ (٨٤/٩٠)، میانگین طول ساقه (١٣/٨٠ سانتی‌متر)، میانگین طول ریشه (٢١/٠٥ سانتی‌متر) ، میزان وزن تر کل گیاه پروانش (٢٣٣/٩١ گرم)، میزان مجموع وزن خشک کل گیاه پروانش (٣٨/٨٣گرم)، مقدار کلروفیل a (٥٧/٥٩ میلی‌گرم کلروفیل در هر گرم بافت برگ)، مقدار کلروفیل b (٧٦/٨٤ میلی‌گرم کلروفیل در هر گرم بافت برگ)، مقدار کلروفیل کل (١٣٤/٤٤ میلی‌گرم کلروفیل در هر گرم بافت برگ)، درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ (٧٨/٥٢ درصد بافت برگ)، میزان فنل برگ (٢٢٦/٢٧ گرم در وزن خشک برگ)، و میزان فلانوئید برگ (٣٤/٧٠ گرم در وزن خشک برگ)، در سطح ٤ گرم در مترمربع هیومات‌پتاسیم، ثبت شد که با تیمار ٣/٥ گرم در متر مربع هیومات‌پتاسیم اختلاف معنی‌دار نداشت و کم‌ترین آن مربوط به تیمار شاهد بود. بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمار شاهد (١/٣٧میلی‌گرم پرولین بر گرم وزن تر برگ) بود و کمترین آن در تیمار ٤ گرم در مترمربع هیومات‌پتاسیم (٠/٥٢ میلی‌گرم پرولین بر گرم وزن تر برگ) ثبت شد.

Table 4: Mean comparison for effect of potassium humate treatments on measured traits of Periwinkle *Catharanthus roseus.*

Potassium humate	Plant dry weight (g)	Plant fresh weight (g)	Stem length (cm)	Root length (cm)	Leaf number (per plant)	Flower number (per plant)
0	23.28c	106.83d	9.45d	14.74c	41.52c	2.99c
2.5	23.91c	138.07cd	10.52cd	15.56bc	52/90bc	5.94b
3	27.71bc	166.73bc	11.85bc	18.83abc	68.25ab	6.49b
3.5	34.94ab	207.67ab	13.05ab	20.56ab	78/32a	9.36a
4	38.83a	233.91a	13.80a	21.05a	84.90a	10.62a

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

Continued Table 4: Mean comparison for effect of potassium humate treatments on measured traits of Periwinkle *Catharanthus roseus.*

Potassium humate	Flavonoid (mg100g DW^{-1})	Total phenol (mg100g DW^{-1})	Antioxidant (% DPPH SC)	Proline (mg proline FW^{-1})	Chlorophyll a (mg g FW^{-1})	Chlorophyll b (mg g FW^{-1})	Total chlorophyll (mg g FW^{-1})
0	4.18d	155.47d	67.63e	1.37a	34.94d	46.14b	81.08c
2.5	11.92cd	164.58d	70.56d	1.14b	40.81cd	62.39ab	103.21b
3	18.83bc	187.80c	73.27c	0.86c	41.44c	64.26a	105.71b
3.5	25.29b	211.36b	75.90b	0.77c	48.33b	69.10a	117.43ab
4	34.70a	226.27a	78.52a	0.52d	57.59a	76.84a	134.44a

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

باتوجه‌به نتایج جدول مقایسه میانگین (۵) ، بیش‌ترین تعداد گل (۸/۵) ، میانگین تعداد برگ (۷۷)، میانگین طول ساقه (۱۳/۳۷ سانتی‌متر)، میزان مجموع وزن تر کل گیاه پروانش (۲۲۷/۱۸ گرم)، میزان مجموع وزن خشک کل گیاه پروانش (۳۸/۴۱ گرم)، درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ (۷۶/۵۵ درصد) و میزان فلانوئید برگ (۲۴/۲۷ در وزن خشک برگ) در سال دوم کشت ثبت شد و کم‌ترین آن‌ها مربوط به سال اول کشت بود (جدول ۵). هم‌چنین بیش‌ترین میانگین طول ریشه (۲۰/۱۴۰ سانتی‌متر) درسال اول کشت ثبت شد و کمترین آن مربوط به سال دوم بود (جدول ۵).

نتایج جدول مقایسه میانگین اثر سال (جدول ۵) نشان داد که در سال دوم تعداد گل ۱/۵ برابر، تعداد برگ ۱/۴ برابر، طول ساقه ۱/۳ برابر، وزن تر کل دو برابر، وزن خشک کل ۱/۸۲ برابر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۱/۰۹ برابر، فلانوئید برگ ۱/۷۷ برابر نسبت‌به سال اول کشت شد. هم‌چنین طول ریشه در سال اول ۱/۲۴ برابر نسبت به سال دوم کشت بود.

Table 5: Mean comparison for effect of year on measured traits of Periwinkle *Catharanthus roseus*

Year	Flavonoid (g DW^{-1})	Antioxidant (% DPPH SC)	Plant dry weight (g)	Plant fresh weight (g)	Stem length (cm)	Root length (cm)	Leaf number (per plant)	Flower number (per plant)
First year	13.705^{b}	69.775^{b}	21.060^{b}	114.10^{b}	10.09^{b}	20.14^{a}	53.35^{b}	5.63^{b}
Second year	24.27^{a}	76.58^{a}	38.41^{a}	227.18^{a}	13.37^{a}	16.15^{b}	77.00^{a}	8.53^{a}

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

باتوجه‌به نتایج به‌دست‌آمده از مقایسه میانگین‌ها تیمار × سال، بیشترین تعداد گل (۱۳/۷۷)(شکل ۱)، بیش‌ترین میزان مجموع وزن خشک کل گیاه پروانش (۵۵/۳۲ گرم) (شکل ۲)، بیشترین مقدار کلروفیل a (۸۷/۹۵ میلی‌گرم کلروفیل در هر گرم بافت برگ) (شکل ۳) مربوط به تیمار چهار گرم در مترمربع هیومات‌پتاسیم در سال دوم ثبت شد که با تیمار ۳/۵ گرم در مترمربع هیومات‌پتاسیم در سال دوم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و کم‌ترین آن مربوط به تیمار شاهد در سال اول بود. نتایج به‌دست‌آمده از مقایسه میانگین تیمار × سال (شکل ۱،۲،۳) نشان داد که با افزایش سطح هیومات‌پتاسیم از سطح شاهد به تیمار چهار گرم در متر مربع و در سال دوم کشت، به‌ترتیب تعدادگل، وزن خشک کل گیاه و کلروفیل a ۷/۳۱، ۲/۸۷ و ۲/۳۶ برابر نسبت به تیمار شاهد و سال اول شد.

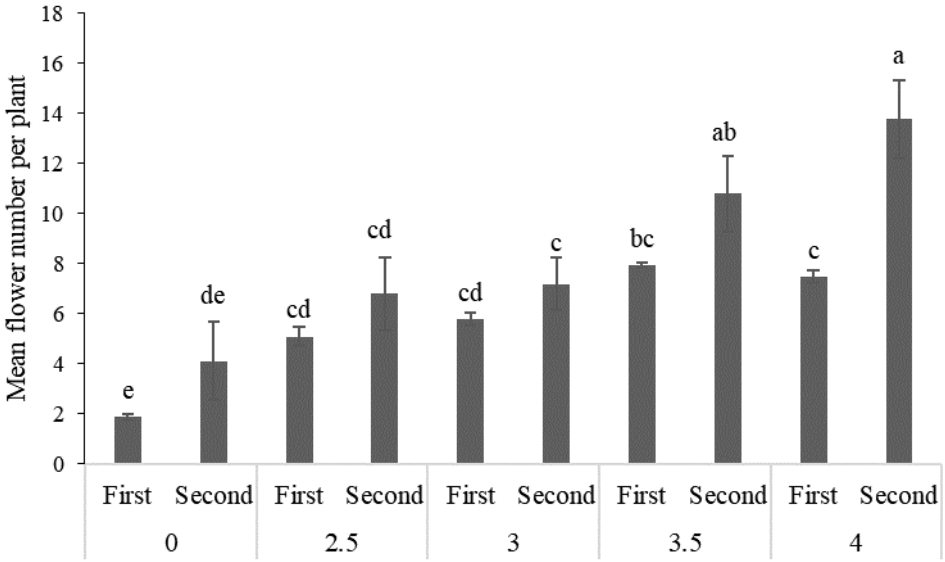

Fig. 1: Effect of potassium humate treatments and year on flower number of Periwinkle *Catharanthus roseus* Means with same letter are not significantly different (P≤0.05)

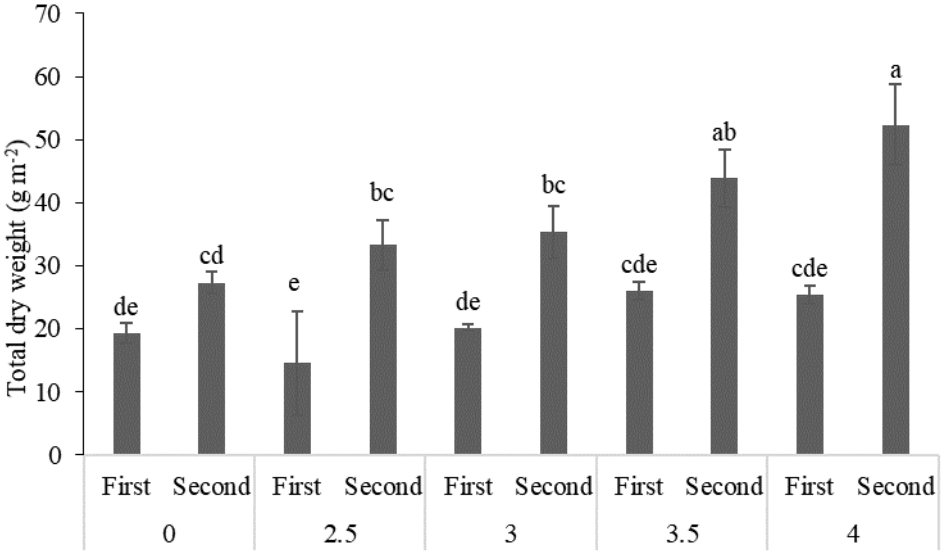

Fig. 2: Effect of potassium humate treatments and year on dry weight of Periwinkle *Catharanthus roseus* Means with same letter are not significantly different (P≤0.05)

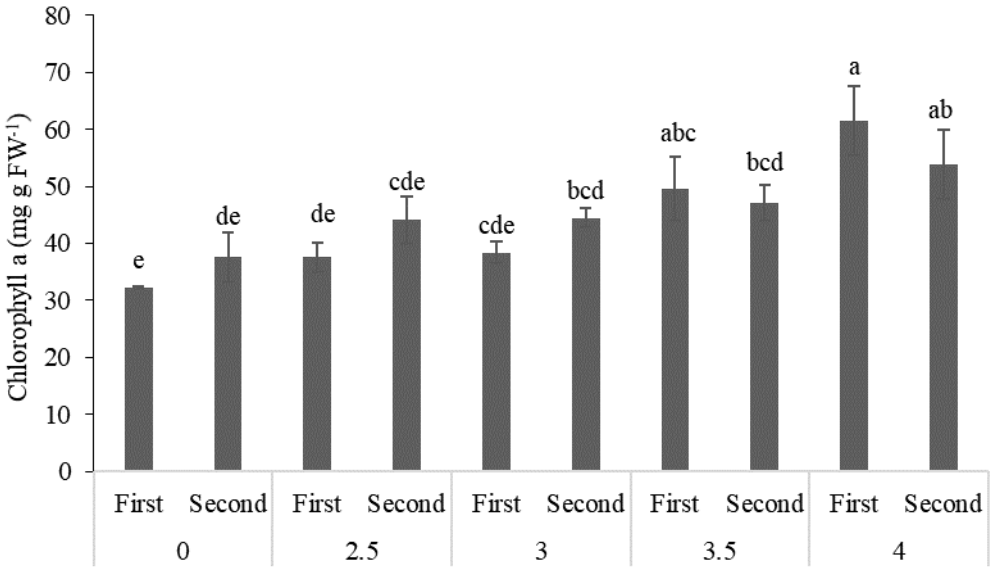

Fig. 3: Effect of potassium humate treatments and year on Chlorophyll a of Periwinkle *Catharanthus roseus* Means with same letter are not significantly different (P≤0.05)

٤. بحث

اسیدهیومیک، با ویژگی‌های سایتوکینینی خود، باعث تأخیر در تجزیه کلروفیل و پروتئین‌ها در برگ‌ها می‌شود. این ترکیبات نقش اساسی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و انتقال آن‌ها به جوانه‌های در حال رشد دارند. به‌این‌ترتیب، میزان ماده خشک در گل‌ها افزایش می‌یابد و طول عمر آن‌ها بیشتر می‌شود (Arteca, 1996). نتایج تحقیقات (Cordeiro *et al.*, 2011) نشان داد که اسیدهیومیک می‌تواند تأثیر قابل‌توجهی بر فیزیولوژی گیاه داشته باشد و منجر به رشد و توسعه ریشه‌های اصلی و جانبی شود.

پتاسیم به جذب سایر عناصر و جابه جایی آن‌ها در داخل گیاه کمک می‌نماید و در فتوسنتز و در تشکیل و انتقال کربوهیدرات‌ها و پروتئین اهمیت دارد. هم‌چنین پتاسیم باعث ایجاد فشار اسمزی و درنتیجه جذب آب توسط ریشه گیاهان می‌شود. گیاهان برای تولید آدنوزین تری فسفات در فرایند فتوسنتز و تنفس، به پتاسیم نیاز دارند (Jalali, 2013). طی تحقیقی دریافت که مصرف اسیدهیومیک

در گیاه کلزا (*Brassica napus*) باعث بهبود قابل توجه محتوی کلروفیل a (۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر)، کلروفیل b (۰/۳۹ میلی‌گرم در لیتر) و کلروفیل کل (۱/۱۲ میلی‌گرم در لیتر) می‌شود که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. در پژوهش ما با افزایش سطح هیومات‌پتاسیم (از شاهد به تیمار چهار گرم در متر مربع)، میانگین کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل ۱/٦٦ برابر شد (جدول ٤). (Gulser, 2010) گزارش کرد اسیدهیومیک باعث افزایش وزن‌تر و خشک برگ و ساقه فلفل می‌شود. نتایج این پژوهش نیز نشان داد که با افزایش سطح هیومات‌پتاسیم وزن تر و خشک گیاه پروانش به‌ترتیب ۲/۱۸ و ۱/٦٦ برابرشد (جدول ٤).

اسیدهیومیک اثر شبه‌هورمونی، (مثل اکسین و ایندول استیک‌اسید) بر گیاهان دارد و این اثر اولیه، عامل بیولوژیکی مهمی‌در رشد گیاهان محسوب می‌شوند (Arancon *et al.*, 2003; Nardi *et al.*, 2016). گزارش‌ها نشان می‌دهند افزایش رشد ریشه‌های جانبی توسط مواد هیومیک (اسیدهیومیک و فولویک) با تقسیمات سلولی مرتبط است که تحت کنترل هورمون اکسین قرار دارد (Trevisan *et al.*, 2010). اسیدهیومیک باعث افزایش فعالیت آنزیم H+-ATPase در سلول‌های ریشه می‌شود که می‌تواند منجر به افزایش سطح ریشه و گاهی اوقات افزایش تراکم ریشه شود (Canellas *et al.*, 2009). یکی دیگر از روش‌های تأثیر مواد هیومیک بر رشد گیاه، از طریق تأثیر آن‌ها بر گروه‌های فعال اکسیژن(O_2, O_2^-, OH^- H_2O) می‌باشد (Suzuki *et al.*, 2012). برای مثال، در گیاه برنج، هنگام استفاده از اسیدهیومیک، گروه‌های فعال اکسیژن تولیدشده در گیاه، باعث پراکسیداسیون لیپید نشده و رشد ریشه جانبی افزایش یافت (Berbara and García, 2013). در این پژوهش نیز مشاهده شد که با افزایش میزان هیومات‌پتاسیم، میانگین طول ریشه ۱/٤ برابر شاهد شده‌است (جدول ٤).

نتایج تحقیقات (Rahi *et al.*,2013) بر رشد رویشی گیاه گونه مرتعی علف گندمی (*Agropyron cristatum* L.) نشان داد که اسیدهیومیک باعث افزایش صفات ارتفاع تا اولین برگ، تعداد برگ، وزن تر برگ و ساقه، نسبت بخش هوایی به ریشه، کلروفیل b و کارتنوئید سطح برگ می‌شود.

نتایج تحقیقات (Farjami and Nabavi Kalat ., 2014) بر عملکرد کمی و کیفی همیشه‌بهار (*Calendula officinalis* L.) نشان داد که اسیدهیومیک در سطح ۱۰ کیلوگرم در هکتار بیشترین عملکرد گل خشک، تعداد گل، درصد اسانس و ماده موثره گل داشت و بیشترین عملکرد بذر، روغن بذر در سطح پنج کیلوگرم در هکتار اسیدهیومیک به‌دست‌آمد. در این پژوهش نیز با افزایش سطح هیومات‌پتاسیم میانگین تعداد گل و تعداد برگ به‌ترتیب ۳/۵ و دو برابر شاهد شد (جدول ٤). نتایج تحقیقات (Nourihoseini *et al.*, 2016) در گیاه زیره (*Bunium persicum* Boiss) نشان داد که مصرف کودهای گاوی، ورمی‌کمپوست، اسیدهیومیک و مواد شیمیایی عملکرد دانه، ارتفاع بوته، فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس دانه زیره را افزایش داد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد که در آن با افزایش سطح هیومات‌پتاسیم ارتفاع بوته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌ترتیب ۱/٤ و ۱/١٦ برابر شد (جدول ٤). در واقع اسیدهیومیک با افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، ظرفیت نگهداری آب در خاک و هم‌چنین ایفای نقش بر روی نفوذپذیری غشا به‌عنوان ناقل پروتئین، فعال‌سازی فرایندهای حیاتی گیاه مانند تنفس، چرخه کربِس، فتوسنتز و سنتز آمینواسیدهاو آدنوزین‌تری‌فسفات تأثیرگذار است. (Muscolo *et al.*, 2013). اسیدهیومیک جذب عناصر ضروری مانند نیتروژن، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و فسفر را توسط گیاه افزایش می‌دهد و در نتیجه، رشد و عملکرد گیاه را بهبود می‌بخشد (Liu *et al.*, 1998).

هیومات پتاسیم با افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی بر عملکرد گیاه و حاصلخیزی خاک تأثیر می‌گذارد (Dawood *et al.*, 2019). یکی از تأثیرات هیومات پتاسیم کاهش pH خاک است.کاهش pH در خاک قلیایی باعث افزایش نفوذپذیری سلول‌های غشاهای گیاهی و افزایش جذب مواد مغذی در گیاه می‌شود (Shrivastava and Kumar., 2015). کاربرد هیومات‌پتاسیم در ذرت رشد یافته در خاک آهکی اثرات مثبتی بر عملکرد و جذب عناصر غذایی داشت. در حضور هیومات‌پتاسیم، جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم گیاه نیز به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافت. افزایش جذب عناصر غذایی در حضور هیومات‌پتاسیم می‌تواند به‌دلیل تأثیر مثبت آن بر نفوذپذیری غشا گیاهان باشد (Ibrahim and Ali., 2018).

مطالعات نشان داده‌اند که اسیدهیومیک باعث سنتز ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها می‌شود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه افزایش می‌یابد (Theunissen *et al*., 2010). هم‌چنین، کاربرد خاکی اسیدهیومیک به‌طور معنی‌داری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و عملکرد گیاه را در شرایط آبیاری معمول و کم‌آبی افزایش و نشت یونی از برگ‌ها را کاهش داد. کاربرد سه کیلوگرم در هکتار اسیدهیومیک در خاک، در شرایط کم‌آبیاری ٦٠ درصدی نیاز آبی گیاه فیسالیس، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ، فنل کل، فلاونوئیدها و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را به‌دنبال داشت (Mousavi *et al*., 2023) . همسو با پژوهش‌های ذکر شده و هم‌چنین (Aslani *et al* .,2019) در گیاه گوجه فرنگی، در این پژوهش نیز با افزایش سطح هیومات‌پتاسیم مقدار فنل و فلانوئید برگ به‌ترتیب ١/٤ و ٨/٣٠ برابر شاهد شد (جدول ٤).

اسیدهیومیک با بهبود حاصل‌خیزی خاک، نقش مهمی‌در افزایش رشد گیاهان و عملکرد آن‌ها ایفا می‌کند. این اسید باعث افزایش قابلیت دسترسی و جذب عناصر ضروری برای گیاهان، مانند نیتروژن، کلسیم، فسفر، پتاسیم، منگنز، آهن، روی و مس می‌شود. (Chowdhury *et al*., 2017) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. از آنجایی که پژوهش در دو سال متوالی انجام شده است، بسیاری از صفات مورد بررسی در سال دوم نسبت‌به سال اول بهبود قابل توجهی نشان دادند (جدول ٥). به طوریکه وزن تر و میزان فلانوئید برگ حدودا دو برابر شد. هم‌چنین در سال دوم تأثیر هیومات‌پتاسیم بر فاکتورهای بررسی شده برجسته‌تر شد (شکل‌های ١، ٢ و ٣) که به‌دلیل تداوم اعمال تیمار پتاسیم‌هیومات است. اگرچه در پژوهش حاضر آبیاری به‌صورت مرتب انجام می‌شد اما در خرداد ماه سال دوم کشت، بارندگی قابل توجهی در منطقه رخ داد (جدول٢) که ممکن است در توزیع هیومات‌پتاسیم در منطقه ریشه و شسته شدن نمک‌های اضافی از منطقه ریشه تأثیر داشته باشد و باعث بروز بهتر تأثیر تیمارها شود. با این حال تغییرات دما در طی دو سال کشت قابل توجه نبود. شایسته یادآوری است که EC آب باران بسیار کمتر از آب آبیاری است. بررسی کامل نقش تغییرات اقلیم در کشت این گیاه نیازمند پژوهش‌های بیشتر است.

اسیدهیومیک با بهبود جذب و انتقال نیتروژن و همچنین افزایش میزان سنتز ترکیبات آلی نیتروژن‌دار مانند پروتئین و اسیدآمینه، با تجمع بیشتر پرولین در گیاه سبب حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش تحمل به کم آبی می‌شود (Sharif *et al*., 2002) که با نتایج این تحقیق مطابقت نداشت. چرا که در پژوهش گفته شده تنش کم آبی اعمال شده بود در صورتی که در این پژوهش هیچ تنشی اعمال نشد و بنابراین کاربرد هیومات‌پتاسیم سبب کاهش تجمع پرولین در برگ (٢/٦٣ برابر)(جدول ٤) نسبت‌به شاهد شد.

٥. نتیجه‌گیری کلی

نتایج بررسی اثر هیومات‌پتاسیم بر صفات مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه پروانش نشان داد که هیومات‌پتاسیم در سطح (چهار گرم در لیتر مترمربع)، در سال دوم بیش‌ترین تأثیر را بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک و ویژگی فیتوشیمیایی گیاه پروانش داشت. به‌طورکلی نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد پیوسته هیومات‌پتاسیم به‌عنوان کود آلی تأثیر مثبت بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک و ویژگی فیتوشیمیایی گیاه پروانش داشت. این نتیجه ممکن است به این دلیل باشد که هیومات‌پتاسیم شامل بسیاری از عناصر موردنیاز برای بهبود رشد گیاه، تحریک رشد احتمالی، افزایش فتوسنتز و تسریع تقسیم سلولی است.

٦. منابع

Arancon, N. Q., Lee, S., Edwards, C. A. and Atiyeh, R. (2003). Effects of humic acids derived from cattle, food and paper-waste vermicomposts on growth of greenhouse plants: The 7th international symposium on earthworm ecology· Cardiff· Wales· 2002. *Pedobiologia*, 47(5-6): 741-744. https://doi.org/10.1016/S0031-4056(04)70262-0

Arteca, R. N. (1996). *Plant Growth Substances: Principles and Applications*. Springer Science & Business Media. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2451-6

Aslani, S., Barzegar, T. and Nikbakht, J. (2019). Effect of foliar application of humic acid on growth, yield, and fruit quality of tomato (*Lycopersicon pimpinellifolium* (L.) Mill) under irrigation deficit stress. *Plant Process and Function*, 8 (32) : 69-84 (In persian)URL: http://jispp.iut.ac.ir/article-1-851-en.html

Ayman, H. A., Badawy, S. A., Abdel Latef, A. A. H., El Hosary, A. A., Abd El Razek, U. A. and 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): 461-473. https://doi.org/10.3390/agronomy11030461

Bates, L. S., Waldren, R. P. A. and Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Berbara, R. L. and García, A. C. (2013). *Humic substances and plant defense metabolism*. In: Physiological mechanisms and adaptation strategies in plants under changing environment. Springer, New York, pp. 297-319. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8591-9_11

Canellas, L. P., Balmori, D. M., Médici, L. O., Aguiar, N. O., Campostrini, E., Rosa, R. C. and Olivares, F. L. (2013). A combination of humic substances and Herbaspirillum seropedicae inoculation enhances the growth of maize (*Zea mays* L.). *Plant and soil*. 366: 119-132. https://doi.org/10.1007/s11104-012-1382-5

Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P. and Piccolo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*. 196: 15-27. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.013

Canellas, L. P., Spaccini, R., Piccolo, A., Dobbss, L. B., Okorokova-Façanha, A. L., de Araújo Santos, G. and Façanha, A. R. (2009). Relationships between chemical characteristics and root growth promotion of humic acids isolated from Brazilian oxisols. *Soil Science*. 174(11): 611-620. https://doi.org/10.1097/SS.0b013e3181bf1e03

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(3). https://doi.org/10.38212/2224-6614.2748

Chowdhury, J. A., Karim, M. A., Khaliq, Q. A., Ahmed, A. U. and Mondol, A. M. (2017). Effect of drought stress on water relation traits of four soybean genotypes. *SAARC Journal of Agriculture*. 15(2): 163-175. https://doi.org/10.3329/sja.v15i2.35146

Cordeiro, F. C., Santa-Catarina, C., Silveira, V., & De Souza, S. R. (2011). Humic acid effect on catalase activity and the generation of reactive oxygen species in corn (*Zea mays*). *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 75(1): 70-74. https://doi.org/10.1271/bbb.100553

Dawood, M. G., Abdel-Baky, Y. R., El-Awadi, M. E. S. and Bakhoum, G. S. (2019). Enhancement quality and quantity of *faba* bean plants grown under sandy soil conditions by nicotinamide and/or humic acid application. *Bulletin of the National Research Centre*. 43: 1-8. https://doi.org/10.1186/s42269-019-0067-0

Ehteshami, M. R. and Chai-Chi, M. R. (2010). *Organic Agriculture (Keshtazi)*. Guilan University Publications. (In persian).

El-Sawy, S. M., El-Bassiony, A. M., Fawzy, Z. F. and Shedeed, S. I. (2021). Improving yield, physical and chemical qualities of sweet fennel bulbs by spraying of potassium humate. *Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants*. 13(3): 272-281. https:// doi.org/ 10.5829/idosi.jhsop.2021.272.281

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). https://doi.org/10.1186/s42269-019-0067-0

Farjami, A. A. and NABAVI, K. S. (2014). Effect of humic acid and phosphorus on the quantity and quality of Marigold (*Calendula officinalis* L.) yield. *Journal of Crop Ecophysiology*. 7: 4 (28), 443-452. (In persian).

Farshchi, H. S. K., Arani, M. A. and NematiI, S. H. (2014). Phytochemical and Morphological Attributes of St. John's Wort (Hypericum perforatum) Affected by Organic and Inorganic Fertilizers; Humic Acid and Potassium Sulphate. *Notulae Scientia Biologicae*. 6(3): 326-330. https://doi.org/10.15835/nsb639398

García, A. C., Santos, L. A., de Souza, L. G. A., Tavares, O. C. H., Zonta, E., Gomes, E. T. M., & Berbara, R. L. L. (2016). Vermicompost humic acids modulate the accumulation and metabolism of ROS in *rice* plants. *Journal of Plant Physiology*. 192: 56-63. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.01.008

Gulser, F., Sonmez, F., & Boysan, S. (2010). Effects of calcium nitrate and humic acid on pepper seedling growth under saline condition. *Journal of Environmental Biology*. 31(5): 873.

Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., & Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 36(6): 2090-2097. https://doi.org/10.1248/cpb.36.2090

Hernandez, O. L., Calderín, A., Huelva, R., Martínez-Balmori, D., Guridi, F., Aguiar, N. O. and Canellas, L. P. (2015). Humic substances from vermicompost enhance urban lettuce production. Agronomy for Sustainable Development. 35: 225-232. https://doi.org/10.1007/s13593-014-0221-x

Ibrahim, S. M., & Ali, A. (2018). Effect of potassium humate application on yield and nutrient uptake of *maize* grown in a calcareous soil. *Alexandria Science Exchange Journal*. 39(July-September), 412-418. https://doi.org/10.21608/asejaiqjsae.2018.10601

Idrees, M., Anjum, M. A., & Mirza, J. I. (2018). Potassium humate and NPK application rates influence yield and economic performance of *potato* crops grown in clayey loam soils. *Soil Environ*. 37(1): 53-61. https://doi.org/10.25252/SE/18/51384

Jalali, M. (2013). *Soil fertility. Bu Ali Sina University Press*, 551p. (In persian)

Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 1(1): F4-3. https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01

Liu, C., Cooper, R. J., & Bowman, D. C. (1998). Humic acid application affects photosynthesis, root development, and nutrient content of creeping bentgrass. *Horticultural Science*. 33(6): 1023-1025. https://doi.org/10.21273/HORTSCI.33.6.1023

Mohamed, H. F., Mahmoud, A. A., Alatawi, A., Hegazy, M. H., Astatkie, T. and Said-Al Ahl, H. A. (2018). Growth and essential oil responses of Nepeta species to potassium humate and harvest time. *Acta Physiologiae Plantarum*.40, 1-8. https:// doi.org/ 10.1007/s11738-018-2778-5.

Mohammed, M. H., Abd-Alrahman, H. A., Abdel-Kader, H. H., & Aboud, F. S. (2021). Effect of potassium humate and levels of potassium fertilization on growth, yield and nutritional status of tomato plants. *Journal of Horticultural Sciences &Ornamental Plants*. 13(2): 124-133. DOI: 10.5829/idosi.jhsop.2021.124.133

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). https://doi.org/10.22067/jhs.2023.80428.1226

Muscolo, A., Sidari, M. and Nardi, S. (2013). Humic substance: relationship between structure and activity. Deeper information suggests univocal findings. *Journal of Geochemical Exploration*. 129: 57-63. https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.10.012

Nardi, S., Pizzeghello, D., Schiavon, M. and Ertani, A. (2016). Plant biostimulants: physiological responses induced by protein hydrolyzed-based products and humic substances in plant metabolism. *Scientia Agricola*. 73(1): 18-23. https://doi.org/10.1590/0103-9016-2015-0006

Nejat, N., Valdiani, A., Cahill, D., Tan, Y. H., Maziah, M. and 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

Noroozisharaf, A. and Kaviani, M. (2018). Effect of soil application of humic acid on nutrients uptake, essential oil and chemical compositions of garden thyme (*Thymus vulgaris L.*) under greenhouse conditions. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 24(3): 423-431. https://doi.org/10.1007/s12298-018-0510-y

Nourihoseini, S. M., Khorassani, R., Astaraei, A., Rezvani Moghadam, P. and Zabihi, H. (2016). Effect of different fertilizer resources and humic acid on some morphological criteria, yield and antioxidant activity of black zira seed (*Bunium persicum Boiss*). *Applied Field Crops Research*. 29(4): 88-105. (In persian)

Omidbaigi, R. (2005). *Production and processing of medicinal plants. Astan Quds Publication*, Tehran, Iran, 348 pp. (In persian)

Omidbaigi, R. (2013). *Production and processing of medicinal plants. Astan Quds Publication*, Tehran, (In Persian).

Omidbeigi, R. (2007). *Production and processing of medicinal plants. Astane Ghodse Razavi*, Mashhad. (In Persian).

Ozfidan-Konakci, C., Yildiztugay, E., Bahtiyar, M. and Kucukoduk, M. (2018). The humic acid-induced changes in the water status, chlorophyll fluorescence and antioxidant defense systems of wheat leaves with cadmium stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 155: 66-75. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.02.071

Pazoki, A.R., (2012). Effect of lead, azospirillum and humic acid on chlorophyll content, root and shoot dry weight in rapeseed. *Journal of Crop Production Research (environmental stresses in plant sciences)*. 4(2): 173-184. (In persian)

Piromyou, P., Buranabanyat, B., Tantasawat, P., Tittabutr, P., Boonkerd, N. and Teaumroong, N. (2011). Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) inoculation on microbial community structure in rhizosphere of forage corn cultivated in Thailand. *European Journal of Soil Biology*. 47(1): 44-54. https://doi.org/10.1016/j.ejsobi.2010.11.004

Pizzeghello, D., Nicolini, G. and Nardi, S. (2001). Hormone-like activity of humic substances in *Fagus sylvaticae* forests. *New Phytologist*. 151(3): 647-657. https://doi.org/10.1046/j.0028-646x.2001.00223.x

Rady, M. R. (2019). *Plant Biotechnology and Medicinal Plants*. Springer International Publishing.

Rahi, A., Davoodi, F. M., Azizi, F. and Habibi, D. (2012). The study examIned the effects of different amounts of humic acid and response curves In the *Dactylis glomerata*. 8 (3), 15-28. (In Persian)

Rao, S. R. and Ravishankar, G. A. (2002). Plant cell cultures: chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 20(2): 101-153. https://doi.org/10.1016/S0734-9750(02)00007-1

Retab, Y., Selim, S. H., Matter, F., & Hassanein, M. (2022). Influence of sulphur, potassium humate and their interactions on growth, flowering and chemical constituents of roselle plant (Hibiscus sabdariffa). *Fayoum Journal of Agricultural Research and Development*. 36(1): 34-48. https:// doi.org/ 10.21608/fjard.2022.240921

Sánchez-Sánchez, A., Sánchez-Andreu, J., Juárez, M., Jordá, J., & Bermúdez, D. (2006). Improvement of iron uptake in table *grape* by addition of humic substances. *Journal of Plant Nutrition*. 29(2): 259-272. https://doi.org/10.1080/01904160500476087

Schiavon, M., Pizzeghello, D., Muscolo, A., Vaccaro, S., Francioso, O. and Nardi, S. (2010). High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolism in maize (*Zea mays* L.). *Journal of Chemical Ecology*. 36: 662-669. https://doi.org/10.1007/s10886-010-9790-6

Shahbazi, K., & Besharati, H. (2013). Overview of the fertility status of agricultural soils in Iran. *Journal of Land Management*.1: 1-15. (In Persian).

Sharif, M., Khattak, R. A. and Sarir, M. S. (2002). Effect of different levels of lignitic coal derived humic acid on growth of *maize* plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 33(19-20): 3567-3580.

Shrivastava, P. and Kumar, R. (2015). Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 22(2): 123-131. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.12.001

Silva, E. M., Souza, J. N. S., Rogez, H., Rees, J. F. and Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry*. 101(3): 1012-1018. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.055

Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 299: 152-178. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1

Suzuki, N., Koussevitzky, S. H. A. I., Mittler, R. O. N. and Miller, G. A. D. (2012). ROS and redox signalling in the response of plants to abiotic stress. *Plant, Cell & Environment*. 35(2): 259-270. https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02336.x

Taha, R., Seleiman, M. F., Alotaibi, M., Alhammad, B. A., Rady, M. M. and HA Mahdi, A. (2020). Exogenous potassium treatments elevate salt tolerance and performances of *Glycine max* L. by boosting antioxidant defense system under actual saline field conditions. *Agronomy*. 10(11): 1741. https://doi.org/10.3390/agronomy10111741

Theunissen, J., Ndakidemi, P. A. and Laubscher, C. P. (2010). Potential of vermicompost produced from plant waste on the growth and nutrient status in vegetable production. *International Journal of the Physical Sciences*. 5(13): 1964-1973. https://doi.org/10.5897/IJPS.9000448

Thomas, P. A., Woodward, J., Stegelin, F. and Pennisi, B. (2012). *A guide for commercial production of vinca*. Biulletin, 1219: 1-27.

Trevisan, S., Francioso, O., Quaggiotti, S. and Nardi, S. (2010). *Humic substances biological activity at the plant-soil interface: from environmental aspects to molecular factors*. *Plant Signaling & Behavior*. 5(6): 635-643. https://doi.org/10.4161/psb.5.6.11211