

ORIGINAL RESEARCH PAPER

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

Kaviani<sup>1</sup>, M., Bakhshi<sup>2\*</sup>, D., Farhangi<sup>3</sup>, M. B. and Chaichi<sup>4</sup>, M.

1. Ph.D. 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 productivity by 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<sup>-2</sup> 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  $\times$  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<sup>-2</sup>) 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

## Effect of Potassium Humate on Morphological...

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<sup>-2</sup>.

### Conclusion

Overall, applying 4 g.m<sup>-2</sup> 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), 67-81. <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

## تأثیر هیومات پتاسیم 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<sup>۱</sup>، داود بخشی<sup>۲\*</sup>، محمد باقر فرهنگی<sup>۳</sup>، مهرداد چائی چی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۰۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۳

(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. به منظور بررسی تأثیر کود هیومات پتاسیم بر خصوصیات مورفولوژیک و ترکیبات فیتوشیمیایی این گیاه، آزمایش مزرعه‌ای در باغ گیاهان دارویی همدان در دو سال زراعی متوالی ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ در قالب طرح بلوک کامل تصادفی اجرا شد. تیمار هیومات پتاسیم در پنج سطح ۰، ۲/۵، ۳، ۳/۵، ۴ گرم بر مترمربع به صورت کودآبیاری و در سه تکرار اعمال شد. اثر هیومات پتاسیم بر تعداد گل و برگ، طول ریشه و ساقه، وزن تر و خشک کل گیاه، کلروفیل کل، پرولین، فنل کل، فلاونوئیدکل و فعالیت آنتی‌کسیدانی (DPPH) برگ معنی دار بود ( $p < 0/05$ ). هم‌چنین اثر سال بر این فاکتورها به جز کلروفیل و فنل برگ معنی دار شد ( $p < 0/05$ ). اثر متقابل تیمار × سال بر تعداد گل، وزن خشک کل گیاه و کلروفیل a، معنی دار شد ( $p < 0/05$ ). با افزایش سطح هیومات پتاسیم مقدار همه صفات به جز پرولین افزایش یافت. اعمال تیمار در سال دوم بیشترین تأثیر را بر همه صفات به جز کلروفیل a، b، وکل و فنل برگ داشت. مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار × سال نشان داد که بیشترین تعداد گل (۱۳/۷۷) و وزن خشک کل (۵۵/۳۲) در سال دوم کشت در سطح (چهار گرم بر متر مربع) هیومات پتاسیم بود. باتوجه به نتایج می‌توان گفت که کاربرد پیوسته هیومات پتاسیم به عنوان کود آلی تأثیر مثبت بر خصوصیات مورفولوژیک 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. (۱۴۰۳). تأثیر هیومات پتاسیم بر صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی گیاه دارویی

پروانش (*Catharanthus roseus* (L.) G. DON)، مجله فناوری تولیدات گیاهی، ۲۴(۲)، ۶۷-۸۱

<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 چاپی: ۶۳۲۱-۲۴۷۶

شاپا الکترونیکی: ۵۶۵۱-۲۴۷۶

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی باغبانی، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲. دانشیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۳. استادیار، گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۴. استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران

\* 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 به صورت چندساله و در مناطق سرد به صورت گیاه یک‌ساله کشت می‌شود. این گیاه دارویی-زیتی، بوته‌ای و خودگشن است و از طریق بذر تکثیر می‌شود (Omidbaigi, 2005). پروانش منبع غنی از ترکیبات ترپنوئیدایندول آلکالوئید<sup>۱</sup> (TIA) است و بیش از ۱۳۰ نوع آلکالوئید مختلف را تولید می‌کند که از جمله مهم‌ترین مواد مؤثره آن می‌توان به ترکیب‌های وین‌کریستین<sup>۲</sup> و وین‌بلاستین<sup>۳</sup> اشاره کرد که قدرتمندترین داروهای ضدسرطان محسوب می‌شود (Nejat et al., 2015). این ترکیبات در واکنش‌های سلول‌های ساقه و برگ گیاه پروانش تجمع یافته و سنتز آن‌ها به مرحله فیزیولوژیکی و رشد گیاه بستگی دارد، اگرچه معمولاً 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 تأکید 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).

هیومات پتاسیم<sup>۴</sup> (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 می‌بخشد 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 که افزایش می‌دهد (Ozifdan-Konakci et al., 2018; Sanchez-Sanchez et al., 2006; Garcia et al., 2016). نتایج تحقیقات (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

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 سولفات پتاسیم 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 هیومات پتاسیم 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 هیومات پتاسیم بر رشد، اسانس و ترکیبات سه گونه نعنا گربه‌ای (*Nepeta*) انجام شد. نتایج نشان داد کاربرد هیومات پتاسیم باعث افزایش شاخص‌های رشد، محتوای اسانس و عملکرد گیاه، و فلاونوئیدها در این گیاه شد (Mohamed et al., 2018). نتایج اثر محلول‌پاشی هیومات پتاسیم بر گیاه رازیانه شیرین (*Foeniculum vulgare*) نشان داد که افزایش غلظت هیومات پتاسیم 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 هیومات پتاسیم، بر ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک و ترکیب فیتوشیمیایی گیاه پروانش دارویی، در مزرعه گیاهان دارویی در شهرستان همدان انجام شد.

قیمت و مؤثر برای کوددهی پتاسیم مورد استفاده قرار گیرد. به‌ویژه برای بوته‌های گوجه‌فرنگی که در خاک شنی کاشته شده‌اند، استفاده از هیومات پتاسیم 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 گلوتامین‌سنتاز 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 فنیل‌آلانین‌آمونیا لایز را که فاز اول در بیوسنتز فنیل‌پروپانویید 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 ایزوکیولین، توکوفرول‌ها و فنل‌ها) توسط اسیدهیومیک فعال می‌شود. علاوه بر این، یک سیستم آنزیمی مانند پراکسیداز و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی مانند گلوکاتایون، آسکوربات، فنل‌ها، آلکالوئیدها، کارتنوئیدها و توکوفرول‌ها تحت تأثیر تیمارهای اسیدهیومیک قرار گرفته‌اند (Canellas et al., 2015; Pizzeghello et al., 2001). فلاونوئیدها با مهار نمودن آنزیم‌های هیدرولیتیک و اکسیداتیو و عملکرد ضدالتهابی خود، گروه اصلی ترکیبات کنترل‌کننده رادیکال‌های آزاد به‌شمار می‌روند. ارتباط مهمی میان پتانسیل آنتی‌اکسیدانی گیاهان و محتوای فنل و فلاونوئید کل در آن‌ها گزارش شده است (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 زیست‌فناورانه

## ۲. مواد و روش‌ها

این پژوهش در باغ گیاهان دارویی استان همدان واقع در شهرستان همدان با موقعیت جغرافیایی  $51^{\circ} 48'$  طول شمالی و  $80^{\circ} 34'$  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 ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ 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 هیومات پتاسیم از شرکت آروچ گستر سما به صورت پودری خریداری شد که حاوی چهل درصد اسید هیومیک و بیست درصد اکسید پتاسیم بود.

تیمار آزمایشی شامل هیومات پتاسیم در پنج سطح شامل ۰، ۳/۵، ۳، ۲/۵، ۰ گرم در مترمربع به صورت 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 گرفته شد.

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 <sup>-1</sup> -----						---- mg kg <sup>-1</sup> ----		dS m <sup>-1</sup>	-
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 (°C)	2.7	6.1	10.1	14.6	15.5	10.6
	Average of Max. Temperature (°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 (°C)	2.9	5.5	10.9	14.7	16.0	13.8
	Average of Max. Temperature (°C)	17.1	23.2	28.8	35.2	35.5	33.7

### ۱-۲. اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک

اندام‌های هوایی و ریشه پروانش در زمان گلدهی (پایان مرداد و نیمه شهریور) جمع‌آوری شد. صفات مورفولوژیک 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 به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک و پس از اطمینان از تثبیت وزن، توزین آن‌ها انجام شد (Rady, 2019).

### ۲-۲. اندازه‌گیری کلروفیل

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 به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس شد. سپس به مدت 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 اسپکتروفوتومتر (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 ۳،۲،۱).

(رابطه ۱) کلروفیل a =  $663 \times 12/7$  (جذب نانومتر) -  $645 \times 2/69$  (جذب نانومتر) [ میلی لیتر استن / میلی گرم بافت برگ

(رابطه ۲) کلروفیل b =  $645 \times 22/9$  (جذب نانومتر) -  $663 \times 4/68$  (جذب نانومتر) [ میلی لیتر استن / میلی گرم بافت برگ

(رابطه ۳) کلروفیل کل = کلروفیل a + کلروفیل b

### ۲-۳. اندازه‌گیری پرولین

خنک شد در ادامه چهار میلی لیتر تولوئن به محلول اضافه شده و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شد. نمونه‌ها دو دقیقه ثابت نگه داشته شد 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 ۴).

$$y=0.099x-0.004$$

$$R^2=0.974$$

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

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 میلی لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اسید سه درصد به آن افزوده شد. عصاره حاصل، با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفیوژ شد. در ادامه، دو میلی لیتر از محلول رویی با دو میلی گرم شناساگر ناین-هیدرین و دو میلی لیتر اسیداستیک ترکیب گردید. این ترکیب، یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و سپس در حمام یخ (رابطه ۴)

### ۲-۴. اندازه‌گیری مقدار فنل کل، فلاونوئیدکل و آنتی‌اکسیدان

مقدار فلاونوئید با استفاده از روش کلریدآلومینیوم بر حسب میلی گرم در گرم 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<sup>۱</sup> (Hatano et al., 1988) اندازه‌گیری شد.

### ۲-۴-۱. تهیه عصاره

برای به دست آوردن عصاره ۰/۵ گرم از بافت خشک برگ پودر شده با پنج میلی لیتر متانول اسیدی ۸۵٪ در حضور نیتروژن مایع ساییده شد. ترکیب نمونه و حلال به مدت سه ساعت در تاریکی قرار گرفت. سپس عصاره به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰۰۰۰ (دور در دقیقه) سانتیفیوژ شد و فاز بالایی برای سنجش میزان فنل کل، فلاونوئیدکل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی جداسازی و نگه‌داری شد.

### ۲-۴-۳. سنجش محتوای فلاونوئیدکل

برای سنجش محتوای فلاونوئید کل ابتدا ۵۰ میکرو لیتر عصاره تهیه شده با ۱۸۰۰ میکرو لیتر اتانول ۳۰ درصد، ۷۵ میکرو لیتر

### ۲-۴-۲. فنل کل

برای سنجش محتوای فنل کل ابتدا ۷۰ میلی لیتر عصاره تهیه شده با ۱۳۰ میلی لیتر آب مقطر و یک میلی لیتر فولین ۱۰٪ مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه استراحت داده شد. سپس ۸۰۰ میکرو لیتر 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 اسپکتروفتومتر (T80+UV/Vis:PG Instruments L td) در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد و محتوای فنل کل از منحنی استاندارد محاسبه شد (رابطه ۶).

$$Y=3.0912x+0.0502$$

(رابطه ۶)

کاوایی و همکاران: تأثیر هیومات پتاسیم بر صفات مورفولوژیک و فیتوشیمیایی...

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 هیومات پتاسیم 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، فلانویید 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، فلانویید برگ در سطح پنج درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل تیمار × سال بر میانگین تعداد گل، وزن خشک کل گیاه، کلروفیل a، در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۳).

نیتريت سدیم ۰/۵ نرمال، ۷۵ میکرولیتر آلومینیم کلراید ۰/۳ نرمال مخلوط شد. مخلوط به مدت 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 کوئرتستین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی استفاده شد (رابطه ۷).

$$Y=2.3821x+0.3112 \quad (\text{رابطه ۷})$$

### ۲-۴-۴. سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

ابتدا یک میلی‌لیتر DDPH به عصاره استخراج شده اضافه شد. جذب نوری نمونه‌ها پس 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) به دست آمد (Hatano et al., 1988).

### ۲-۵. آنالیز آماری

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	13.353 <sup>ns</sup>	949 <sup>ns</sup>	5.16*	12.33 <sup>ns</sup>	224.73 <sup>ns</sup>	1.94 <sup>ns</sup>	40.86 <sup>ns</sup> 66.94 <sup>ns</sup>
Potassium humate×year	4	70.059*	1944 <sup>ns</sup>	1.49 <sup>ns</sup>	18.190 <sup>ns</sup>	93.33 <sup>ns</sup>	5.84*	
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.

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	710.15 <sup>ns</sup>	348.17*	0.06 <sup>ns</sup>	1218.46 <sup>ns</sup>	943.95 <sup>ns</sup>	17.49 <sup>ns</sup>
Block(year)	4	703.61*	30.110*	0.062*	211.38 <sup>ns</sup>	165.90 <sup>ns</sup>	30.20 <sup>ns</sup>
Potassium humate×year	4	10.06 <sup>ns</sup>	0.67 <sup>ns</sup>	0.0064 <sup>ns</sup>	78.52 <sup>ns</sup>	107.67 <sup>ns</sup>	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



درصد بافت برگ)، میزان فنل برگ (۲۲۶/۲۷) گرم در وزن خشک برگ)، و میزان فلانوئید برگ (۳۴/۷۰) گرم در وزن خشک برگ)، در سطح ۴ گرم در مترمربع هیومات پتاسیم، ثبت شد که با تیمار ۳/۵ گرم در متر مربع هیومات پتاسیم اختلاف معنی دار نداشت و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد بود. بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمار شاهد (۱/۳۷ میلی گرم پرولین بر گرم وزن تر برگ) بود و کمترین آن در تیمار ۴ گرم در مترمربع هیومات پتاسیم (۰/۵۲ میلی گرم پرولین بر گرم وزن تر برگ) ثبت شد.

باتوجه به نتایج جدول مقایسه میانگین (جدول ۴)، بیشترین تعداد گل (۱۰/۶۲)، میانگین تعداد برگ (۸۴/۹۰)، میانگین طول ساقه (۱۳/۸۰ سانتی متر)، میانگین طول ریشه (۲۱/۰۵ سانتی متر)، میزان وزن تر کل گیاه پروانش (۲۳۳/۹۱) گرم، میزان مجموع وزن خشک کل گیاه پروانش (۳۸/۸۳) گرم، مقدار کلروفیل a (۵۷/۵۹) میلی گرم کلروفیل در هر گرم بافت برگ)، مقدار کلروفیل b (۷۶/۸۴) میلی گرم کلروفیل در هر گرم بافت برگ)، مقدار کلروفیل کل (۱۳۴/۴۴) میلی گرم کلروفیل در هر گرم بافت برگ)، درصد فعالیت آنتی اکسیدانی برگ (۷۸/۵۲)

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	23.28 <sup>c</sup>	106.83 <sup>d</sup>	9.45 <sup>d</sup>	14.74 <sup>c</sup>	41.52 <sup>c</sup>	2.99 <sup>c</sup>
2.5	23.91 <sup>c</sup>	138.07 <sup>cd</sup>	10.52 <sup>cd</sup>	15.56 <sup>bc</sup>	52.90 <sup>bc</sup>	5.94 <sup>b</sup>
3	27.71 <sup>bc</sup>	166.73 <sup>bc</sup>	11.85 <sup>bc</sup>	18.83 <sup>abc</sup>	68.25 <sup>ab</sup>	6.49 <sup>b</sup>
3.5	34.94 <sup>ab</sup>	207.67 <sup>ab</sup>	13.05 <sup>ab</sup>	20.56 <sup>ab</sup>	78/32 <sup>a</sup>	9.36 <sup>a</sup>
4	38.83 <sup>a</sup>	233.91 <sup>a</sup>	13.80 <sup>a</sup>	21.05 <sup>a</sup>	84.90 <sup>a</sup>	10.62 <sup>a</sup>

Numbers followed by the same letter are not significantly different ( $P \leq 0.05$ )

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

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

Numbers followed by the same letter are not significantly different ( $P \leq 0.05$ )

(۲۰/۱۴۰ سانتی متر) 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 آنتی اکسیدانی ۱/۰۹ برابر، فلانوئید برگ ۱/۷۷ برابر نسبت به سال اول کشت شد. هم چنین طول ریشه در سال اول ۱/۲۴ برابر نسبت به سال دوم کشت بود.

باتوجه به نتایج جدول مقایسه میانگین (۵)، بیشترین تعداد گل (۸/۵)، میانگین تعداد برگ (۷۷)، میانگین طول ساقه (۱۳/۳۷) سانتی متر)، میزان مجموع وزن تر کل گیاه پروانش (۲۲۷/۱۸) گرم)، میزان مجموع وزن خشک کل گیاه پروانش (۳۸/۴۱) گرم)، درصد فعالیت آنتی اکسیدانی 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). هم چنین بیشترین میانگین طول ریشه

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

Year	Flavonoid (g DW <sup>-1</sup> )	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 <sup>b</sup>	69.775 <sup>b</sup>	21.060 <sup>b</sup>	114.10 <sup>b</sup>	10.09 <sup>b</sup>	20.14 <sup>a</sup>	53.35 <sup>b</sup>	5.63 <sup>b</sup>
Second year	24.27 <sup>a</sup>	76.58 <sup>a</sup>	38.41 <sup>a</sup>	227.18 <sup>a</sup>	13.37 <sup>a</sup>	16.15 <sup>b</sup>	77.00 <sup>a</sup>	8.53 <sup>a</sup>

Numbers followed by the same letter are not significantly different ( $P \leq 0.05$ )

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 هیومات پتاسیم از سطح شاهد به تیمار چهار گرم در متر مربع و در سال دوم کشت، به‌ترتیب تعداد گل، وزن خشک کل گیاه و کلروفیل a  $۷/۳۱$ ،  $۲/۸۷$  و  $۲/۳۶$  برابر نسبت به تیمار شاهد و سال اول شد.

باتوجه به 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 هیومات پتاسیم در سال دوم ثبت شد که با تیمار  $۳/۵$  گرم در مترمربع هیومات پتاسیم در سال دوم اختلاف معنی‌داری

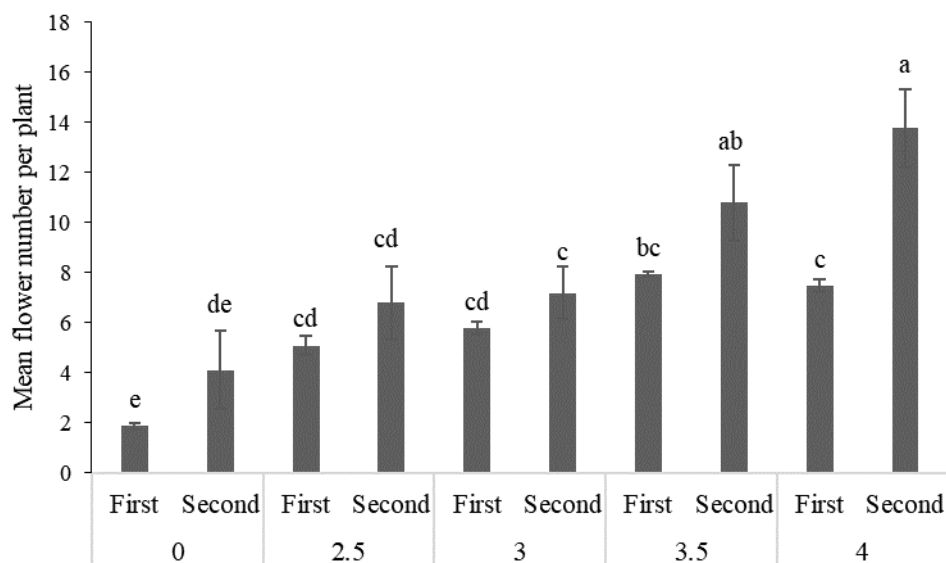


Fig. 1: Effect of potassium humate treatments and year on flower number of Periwinkle *Catharanthus roseus* Means with same letter are not significantly different ( $P \leq 0.05$ )

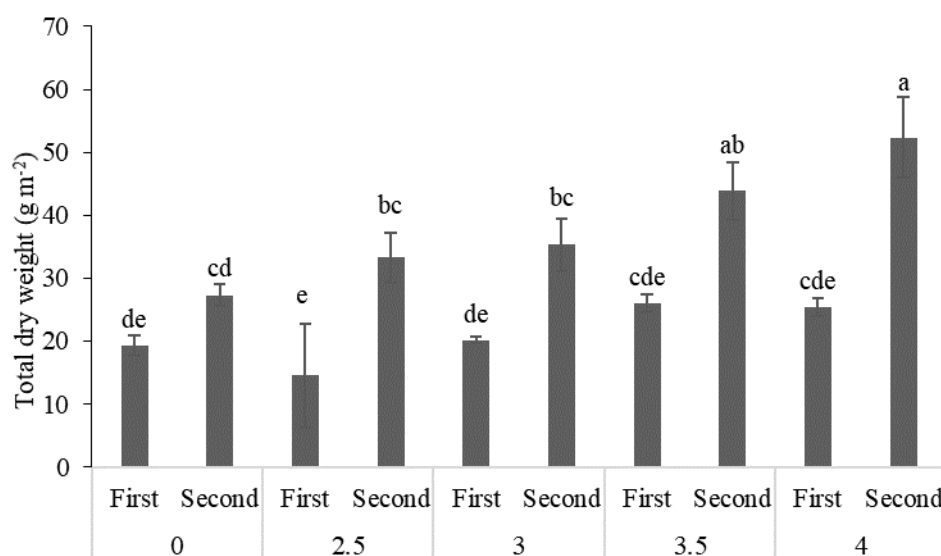


Fig. 2: Effect of potassium humate treatments and year on dry weight of Periwinkle *Catharanthus roseus* Means with same letter are not significantly different ( $P \leq 0.05$ )

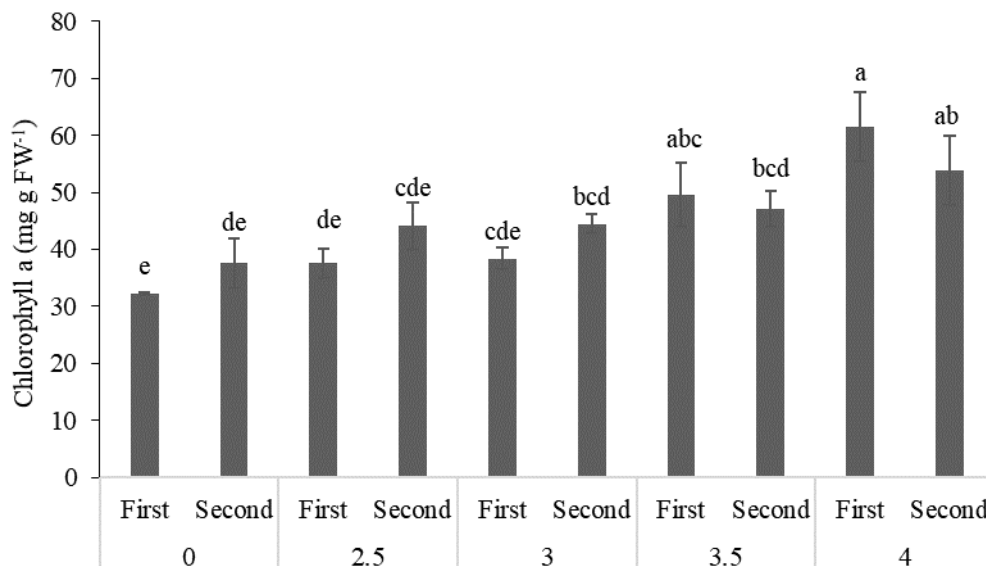


Fig. 3: Effect of potassium humate treatments and year on Chlorophyll a of Periwinkle *Catharanthus roseus* Means with same letter are not significantly different ( $P \leq 0.05$ )

#### ۴. بحث

برابر شد (جدول ۴). (Gulser, 2010) گزارش کرد اسیدهیومیک باعث افزایش وزن تر و خشک برگ و ساقه فلفل می‌شود. نتایج این پژوهش نیز نشان داد که با افزایش سطح هیومات‌پتاسیم وزن تر و خشک گیاه پروانش به ترتیب ۲/۱۸ و ۱/۶۶ برابر شد (جدول ۴).

اسیدهیومیک اثر شبه‌هورمونی، (مثل اکسین و ایندول استیک‌اسید) بر گیاهان دارد و این اثر اولیه، عامل بیولوژیکی مهمی در رشد گیاهان محسوب می‌شوند (Arancon et al., 2016; Nardi et al., 2003). 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<sup>+</sup>-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<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O OH<sup>-</sup>) 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

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. به این ترتیب، 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 جابه‌جایی 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 در نتیجه جذب آب توسط ریشه گیاهان می‌شود. گیاهان برای تولید آدنوزین تری فسفات در فرایند فتوسنتز و تنفس، به پتاسیم نیاز دارند (Jalali, 2013). (Pazoki, 2012) 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 ۱/۶۶

می‌شود (Shrivastava and Kumar., 2015). کاربرد هیومات پتاسیم در ذرت رشد یافته در خاک آهکی اثرات مثبتی بر عملکرد و جذب عناصر غذایی داشت. در حضور هیومات پتاسیم، جذب نیتروژن، فسفر و پتاسیم گیاه نیز به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. افزایش جذب عناصر غذایی در حضور هیومات پتاسیم می‌تواند به دلیل 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 به طور 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 ۶۰ درصدی نیاز آبی گیاه فیسالیس، بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل، فلاونوئیدها و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز را به دنبال 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 هیومات پتاسیم مقدار فنل و فلاونوئید برگ به ترتیب ۱/۴ و ۸/۳۰ برابر شاهد شد (جدول ۴).

اسیدهیومیک با بهبود حاصل‌خیزی خاک، نقش مهمی در 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 نسبت به سال اول بهبود قابل توجهی نشان دادند (جدول ۵). به طوریکه وزن تر و میزان فلاونوئید برگ حدوداً دو برابر شد. هم‌چنین در سال دوم تأثیر هیومات پتاسیم بر فاکتورهای بررسی شده برجسته‌تر شد (شکل‌های ۱، ۲ و ۳) که به دلیل تداوم اعمال تیمار پتاسیم هیومات است. اگرچه در پژوهش حاضر آبیاری به صورت مرتب انجام می‌شد اما در خرداد ماه سال دوم کشت، بارندگی قابل توجهی در منطقه رخ داد (جدول ۲) که ممکن است در توزیع هیومات پتاسیم در منطقه ریشه و شسته

هیومات پتاسیم، میانگین طول ریشه ۱/۴ برابر شاهد شده است (جدول ۴).

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 به دست آمد. در این پژوهش نیز با افزایش سطح هیومات پتاسیم میانگین تعداد گل و تعداد برگ به ترتیب ۳/۵ و دو برابر شاهد شد (جدول ۴).

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 هیومات پتاسیم ارتفاع بوته و فعالیت آنتی‌اکسیدانی به ترتیب ۱/۴ و ۱/۱۶ برابر شد (جدول ۴). در واقع اسیدهیومیک با افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، ظرفیت نگهداری آب در خاک و هم‌چنین ایفای نقش بر روی نفوذپذیری غشا به عنوان ناقل پروتئین، فعال‌سازی فرایندهای حیاتی گیاه مانند تنفس، چرخه کربس، فتوسنتز و سنتز آمینواسیدها و آدنوزین‌تری فسفات 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

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 اسیدآمین، 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 (۲/۶۳ برابر) (جدول ۴) نسبت به شاهد شد.

## ۵. 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.

## ۶. 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](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](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 Bakhoun, 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 Nematī, 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/asejaiqsae.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](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](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>