

## تأثير منظم النمو الساليسليك والحامض العضوي الهيومك في محتوى اوراق نبات عين البزون من قلويد الفنكريستين والـ NPK

كريم معيان ربيع

استاذ مساعد

زينب ابراهيم حسن جدو

باحث

كلية الزراعة – جامعة بغداد – قسم البستنة وهندسة الحدائق

zjaddo@yahoo.com

المستخلص

نفذت الدراسة في مشتل منطقة اليرموك في بغداد في موسم النمو من عام 2014 لدراسة تأثير الرش بحامض الساليسليك وحامض الهيومك في محتوى اوراق نبات عين البزون من قلويد الفنكريستين (Vincristine) و الـ NPK طبقت تجربة عاملية من عاملين حسب تصميم القطاعات الكاملة المعشاة شمل العامل الاول اربعة مستويات من حامض الساليسليك 0 و 25 و 50 أو 100 ملغم. لتر<sup>-1</sup> ورمز لها S<sub>0</sub> و S<sub>1</sub> و S<sub>2</sub> و S<sub>3</sub> بالتتابع و العامل الثاني حامض الهيومك بثلاثة مستويات 0 و 0.75 أو 1.5 و مل. لتر<sup>-1</sup> ورمز له O<sub>0</sub> و O<sub>1</sub> و O<sub>2</sub> بالتتابع، وزعت المعاملات بصورة عشوائية على ثلاثة مكررات، احتوت الوحدة التجريبية على 8 نباتات حلت النتائج باستعمال البرنامج الجاهز Genstat، اختبرت الفروق بين المعاملات بحسب اختبار اقل فرق معنوي LSD تحت مستوى احتمال 5% وبينت اهم النتائج حصول زيادة في قلويد الـ Vincristine في اوراق نبات عين البزون بتاثير الرش بحامض الساليسليك وحامض الهيومك و زيادة NPK في الاوراق، ولم يظهر قلويد الـ Vinblastine في جميع معاملات التجربة، كما تفوقت معاملة التداخل بين حامض الساليسليك 100 ملغم. لتر<sup>-1</sup> وحامض الهيومك 1.5 مل. لتر<sup>-1</sup> (S<sub>3</sub>O<sub>2</sub>) في الصفات المدروسة جميعها، وعليه يمكن الانستنتاج ان حامض الساليسليك و حامض الهيومك هما احد عوامل زيادة قلويد الفنكريستين في نبات عين البزون عند رشهما بتركيز 100 ملغم. لتر<sup>-1</sup> و 1.5 مل. لتر<sup>-1</sup> لكل من الساليسليك والهيومك بالتتابع.

كلمات مفتاحية: حامض الساليسليك، حامض الهيومك، Vincristine، NPK، عين البزون  
\*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences – 47(2): 543-551, 2016

Jaddo &amp; Rabee

### EFFECT OF SALICYLIC AND HUMIC ACID ON VINCRIStINE AND N, P, K CONTENT IN MADAGASCAR PERIWINKLE LEAVES

Z. I. Jaddo  
ResearcherK. M. Rabee  
Ass. Prof.

Dep. Horticulture - College of Agriculture –Baghdad University

zjaddo@yahoo.com

#### ABSTRACT

An Experiment carried out in Al-Yarmook Area in Baghdad for the growing season 2014 to study the effects of foliar application of Salicylic acid and Humic acid on Vincristine and NPK content in *Catharanthus roseus*. A factorial experiment was applied including two factors according to The Complete Randomized Block Design, the first factor included four levels of salicylic acid 0, 25, 50, and 100 mg.L<sup>-1</sup> which were represented with S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, and S<sub>3</sub> sequentially, the second factor included three levels of Humic acid 0, 0.75, and 1.5 ml.L<sup>-1</sup> and were represented with O<sub>0</sub>, O<sub>1</sub>, and O<sub>2</sub> sequentially to make up 12 factors in total that were distributed randomly upon three replicates and each experimental unit included 8 plants. The results were analyzed using Genestat and the differences were tested according to (LSD) with a level of probability 5% and the results were as follows: Vincristine levels increased in the leaves of *Catharanthus roseus* as a result of foliar application of Salicylic acid and Humic as well NPK levels in leaves. Vinblastine was not detected in all treatments. The interaction effect between 100 mg.L<sup>-1</sup> Salicylic acid and 1.5 ml.L<sup>-1</sup>Humic acid had an exceeding effect for all the studied parameters. It may be concluded that Salicylic and Humic acid may be used to increase Vincristine alkaloid content in Periwinkle plants at the levels 100 ml.L<sup>-1</sup> and 1.5 mg.L<sup>-1</sup> subsequently.

Keywords: Salicylic acid, Humic acid, Vincristine, NPK, Periwinkle

\* Part of a M.Sc. Thesis for the first author

## المقدمة

بحامض السالسليك كان له تأثيراً معنوياً في زيادة تركيز الـNPK لنبات الشمرة *Foeniculum vulgare* Mill، كما وجد Idrees وآخرون (21) ان حامض السالسليك زاد من نسبة القلويدات الكلية في نبات عين البزون، ومن جانب آخر اكد العديد من الباحثين ان لحامض الهيومك تأثيراً في نمو النبات فهو يعمل على نقل المغذيات داخل النبات و يرفع من مستوى البناء الضوئي ويزيد من امتصاص العناصر الغذائية ومن المادة الجافة في النبات Singroval وآخرون و McCarthy وآخرون (39 و 25) فضلا عن تحفيز النبات على مقاومة ظروف الاجهاد اذ ان رشه على الاوراق يعمل على زيادة بناء وتراكم المواد الفعالة ومنها قلويدات الـ Vinblastine والـ Vincristine (33 و 16). من خلال ما تقدم فقد هدف البحث الى امكانية زيادة مركبي الـ Vinblastine والـ Vincristine لنبات عين البزون وذلك عن طريق معاملته بحامض السالسليك وحامض الهيومك.

## مواد وطرائق العمل والتصميم

اجري البحث في مشتل منطقة اليرموك/بغداد في موسم النمو 2014 اذ زرعت بذور نبات عين البزون صنف Really Red من انتاج شركة Pan American Seed على شكل دايات بتاريخ (2014/2/25) وبعد وصول الشتلات الى الحجم المناسب او ظهور اربع اوراق حقيقية (38) نقلت الى اكياس من البولي اثلين الزراعي سعة 5 كغم مملوءه بخليط من الزميج النهري والبيتموس 1:2 عقت التربة بمبيد فطري بكتيري Chinsol واجرت عمليات الخدمة كافة حسب الحاجة. نفذت تجربة عاملية (3×4) وفق تصميم القطاعات الكاملة المعشاة (RCBD) Block Design بثلاثة مكررات، تضمن العامل الاول الرش باربعة مستويات من حامض السالسليك 0، 25، 50، 100 ملغم. لتر<sup>-1</sup> رمز لها S<sub>0</sub> و S<sub>1</sub> و S<sub>2</sub> و S<sub>3</sub> بالتتابع وتضمن العامل الثاني الرش بثلاثة تراكيز من حامض الهيومك وتضمن التراكيز 0، 0.75، 1.5 ملغم. لتر<sup>-1</sup> رمز لها O<sub>0</sub> و O<sub>1</sub> و O<sub>2</sub> بالتتابع بذلك يكون عدد المعاملات 12 معاملة كررت بثلاثة مكررات و شملت الوحدة التجريبية 8 نباتات. تمت عملية الرش بمرشة سعة 20 لتر بعد عمل التخفيف المطلوبة لعاملي التجربة عند الصباح الباكر ورشت حتى البلل الكامل بعد اضافة المادة الناشرة (Tween 20).

يعود نبات عين البزون *Catharanthus roseus* L. G. Don. الى العائلة الدفلية Apocynacea و يسمى *Madagascar periwinkle* (43)، و ينتج اكثر من مئة قلويد من القلويدات الاندولية التربينية ومشتقاته تتضمن vindoline, lochrovicine, ajmalicine, serpentine وغيرها ومن اهمها القلويدين Vincristine (VC) و Vinblastine (VB)، فضلا عن زراعته لأغراض طبية يزرع بوصفه نبات زينة لازهاره الزاهية في العراق وحول العالم، ان نبات عين البزون من النباتات المتحملة للظروف البيئية القاسية، لذا فان زراعته تعد ناجحة بالعراق (2). اكتشف في القرن الماضي القدرة العلاجية لقلويدات عين البزون ضد الاورام الخبيثة ولكونه المصدر الوحيد لهذه القلويدات يعد نبات عين البزون من اهم النباتات الطبية في وقتنا الحاضر و ان البحث المستمر على قلويدات هذا النبات ربما يؤدي يوماً ما الى القضاء على الامراض السرطانية، نظرا للحاصل المنخفض من القلويدات الكلية (0.1%) للوزن الجاف (8) والحاصل الضئيل جدا من القلويدين VC و VB التي تصل نسبته (0.005%) من الوزن الجاف لنبات عين البزون والتكلفة المرتفعة لهذا الدواء يصل من مليون الى ثلاث ملايين دولار لكل كيلوغرام ونتيجة الطلب الكبير في الاسواق العالمية فقد اصبح محط اهتمام الكثير من الباحثين (44) وعليه فان تحقيق اي زياده في الانتاج للقلويدين اعلاه يوفر لنا امكانيات اقتصادية وطبية كبيرة (37). يعد حامض السالسليك من الهرمونات النباتية ومن مشتقاته الأسبرين Acetyl Salicylic Acid (36) وهو من المستحضرات الكيميائية العضوية التي تعطي اشارة للنباتات على توجيه طاقتها باتجاه تكوين مركبات دفاعية. حصل Pan وآخرون (29) عند معاملة نبات عين البزون بحامض السالسليك على زيادة معنوية في مركبات VB و Catharanthine و Vindoline، كما وجد Alam وآخرون (4) ان حامض السالسليك عمل على زيادة نسبة الـN,P,K في اوراق نبات عين البزون ومحتوى الاوراق والجذور من القلويدات الكلية، وحصل Idrees وآخرون (20) على زيادة نسبة قلويدات الـ VC والـ VB في نباتات عين البزون عند الرش بحامض السالسليك، ولاحظ Hashmi وآخرون (18) ان الرش

ثانية بابة ترشيح من نوع PTFE بقطر 0.2 ماكروميتر ثم اخذ الراشح للقياس في جهاز HPLC. واستُخدمت محاليل قياسية مختبرية من مركبي Vincristine sulphate و Vinblastine sulphate.

**ظروف الجهاز:** تم تقدير قلويدي الـ Vinblastine و Vincristine لنبات عين البزون في مختبرات البيئة والمياه- وزارة العلوم والتكنولوجيا. طُبقت طريقة الكروماتوغرافيا لتقدير تركيز القلويد في الأوراق وأُستعمل جهاز HPLC من النوع الحديث SYKAM-Germany، لتحديد زمن الإحتجاز Retention time ومساحة حزمة العينة Area لكل من المحلول القياسي ومحلول العينة، وأُستخدم عمود الفصل Column من نوع C18 (250×4.6 mm) و تم دفع الطور المتحرك (mobile phase) Methanol) 77:23 (NaHPO<sub>2</sub>): وبمعدل جريان 1.4 مل/ دقيقة، وقبست القراءات على طول موجي 220 nm وبدرجة حرارة 35م°، واستُخدمت محاليل قياسية مختبرية من مركبي Vincristine sulphate و Vinblastine sulphate ومن ثم تم القياس للمركبات الموجودة في النماذج عن طريق مقارنة مساحة الحزم المجهولة للنموذج مع مساحات الحزم المعلومة للمادة القياسية المطلوبة. كُررت العملية على كل نماذج العينات التي تم تشخيصها وتحت ظروف الفصل نفسها، وعند مقارنة مساحات الحزم المجهولة مع حزم المادة القياسية المعلومة تم تشخيص قلويدي Vincristine فقط، ولم يظهر قلويدي Vinblastine في العينات المقاسة. (42). تم حساب تراكيز المركبات في العينات من المعادلة الآتية:

$$\text{تركيز النموذج القياسي} \times \text{حزمة مساحة النموذج} = \frac{\text{مساحة حزمة النموذج القياسي}}{\text{تركيز النموذج بالعينة} \times \text{عدد مرات التخفيف}}$$

### النتائج والمناقشة

**تأثير حامض السالسيك وحامض الهيومك في محتوى الاوراق من النتروجين (%) .** يتبين من النتائج في الجدول (1) ان حامض السالسيك قد سبب زيادة معنوية في النسبة المئوية للنتروجين بلغ اعلى معدل في المعاملة S<sub>3</sub> التي اعطت 3.96 % وتلتها المعاملة S<sub>2</sub> بمعدل 3.79 % في حين اعطت المعاملة S<sub>0</sub> اقل معدل للنتروجين بلغ 3.59 % . كما كان لحامض الهيومك تأثيرا معنويا في زيادة النسبة

بتركيز 0.1 % اجريت عملية الرش بثلاثة مواعيد اذ رش حامض السالسيك في 9/1 و 9/10 و 9/20 اما حامض الهيومك فقد رش في 9/3 و 9/13 و 9/23 ، مل بعد اضافة المادة الناشرة بتركيز 0.1 % ، تم تحليل النتائج باستعمال البرنامج الجاهز Genestat وقورنت الفروقات بين المتوسطات حسب اختبار اقل فرق معنوي تحت مستوى احتمال 5 % (7).

### الصفات المقاسة:

اخذت عينات من نباتات متجانسة من كل وحدة تجريبية في مرحلة التزهير (3) وتحديدًا بعد اسبوعين من اخر رشة في بداية شهر تشرين الاول والذي يعد الوقت الافضل لاخذ العينات (44 و 18 و 13) تم هضم العينة باخذ 0.2 غم من العينة الورقية الجافة و هضمت باستعمال حامض الكبريتيك والبيركلوريك بنسبة 1:4 ويعد اكمال عملية الهضم تم تقدير العناصر التالية.

**النتروجين (%):** قدر النسبة المئوية للنتروجين الكلي بعد اضافة هيدروكسيد الصوديوم (10 مولاري) بواسطة جهاز كدال Micro Kjeldhal (28) بعد المعايرة بحامض الهيدروكلوريك (0.04 عياري).

**الفسفور (%):** قدر باستخدام موليبيدات الامونيوم وحامض الاسكوريك بجهاز المطياف الضوئي (Spectrop hotometer) على طول موجي 882 نانومتر (8). **البوتاسيوم (%):** قدر بواسطة جهاز Flame Photometer (26).

**تقدير تركيز المركبات القلويدية باستخدام جهاز**

**كروماتوغرافيا السائل ذي الأداء العالي - High Performance Liquid Chromatography (HPLC)**

**استخلاص وفصل القلويدات:** تم اخذ العينات الورقية لغرض تحليل القلويدات في نهاية ايلول عصرا وجففت في درجة حرارة الغرفة. طحنت العينات الورقية وحفظت في اكياس بلاستيكية تحت ظروف التجميد لوقت التحليل. تم تحضير محلول العينة باخذ 0.2 غم من العينة بالميزان الحساس واذابته في الميثانول على حمام مائي مع الرج الاوتوماتيكي Shaker لمدة ثلاثة ساعات، رفع المحلول من الحمام المائي وترك حتى الجفاف التام، ذويت العينة في 1 مل من الميثانول بعدها رشحت العينة بورق الترشيح ورشحت مرة

المئوية للنتروجين اذ اعطت المعاملة O<sub>2</sub> اعلى معدل للصفة بلغ 3.62 % في حين اعطت المعاملة O<sub>0</sub> اقل معدل بلغ 3.55 % . اما عن التداخل الثنائي فقد اثرا معنويا S<sub>0</sub>O<sub>0</sub> والتي اعطت اقل معدل للصفة بلغ 3.55 % . جدول 1: تأثير حامض الساليسيك والمغذي العضوي في محتوى اوراق نبات عين البزون من النتروجين (%).

معدل organic	S <sub>3</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>0</sub>	salicylic * organic
3.55	3.86	3.74	3.61	3.55	O <sub>0</sub>
3.60	3.94	3.79	3.67	3.60	O <sub>1</sub>
3.62	4.09	3.85	3.71	3.62	O <sub>2</sub>
	3.96	3.79	3.66	3.59	معدل salicylic
salicylic * organic	Salicylic		organic		L.S.D
0.09	0.05		0.04		

ازدادت نسبة البوتاسيوم بصورة معنوية نتيجة رش حامض الهيومك اذ اعطت المعاملة O<sub>2</sub> اعلى معدل للصفة بلغ 3.08 % تليها المعاملة O<sub>1</sub> في حين اعطت المعاملة O<sub>0</sub> اقل معدل بلغ 2.76 % . اما عن التداخل الثنائي فقد اعطت المعاملة S<sub>3</sub>O<sub>2</sub> اعلى معدل للصفة بلغ 3.54 % قياسا بمعاملة المقارنة S<sub>0</sub>O<sub>0</sub> والتي اعطت اقل معدل للصفة بلغ 2.42 % .

تأثير حامض الساليسيك وحامض الهيومك في محتوى الاوراق من البوتاسيوم (%) تشير النتائج في الجدول (2) ان النسبة المئوية للبوتاسيوم في الاوراق قد تأثرت معنويا بمعاملات البحث فقد اعطت معاملة الرش بحامض الساليسيك S<sub>3</sub> اعلى معدل بلغ 3.37 % تليها المعاملات S<sub>1</sub> ، S<sub>2</sub> بمعدلات 2.9 % و 2.78 % في حين اعطت المعاملة S<sub>0</sub> اقل معدل بلغ 2.57 % كما

جدول 2. تأثير حامض الساليسيك وحامض الهيومك في محتوى اوراق عين البزون من البوتاسيوم (%).

معدل organic	S <sub>3</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>0</sub>	salicylic * organic
2.76	3.23	2.80	2.58	2.42	O <sub>0</sub>
2.90	3.37	2.89	2.80	2.57	O <sub>1</sub>
3.08	3.54	3.16	2.96	2.69	O <sub>2</sub>
	3.38	2.95	2.78	2.57	معدل salicylic
salicylic * organic	Salicylic		organic		L.S.D
0.10	0.06		0.05		

كما كان لحامض الهيومك تأثيرا معنويا في زيادة النسبة المئوية للفسفور اذ اعطت المعاملة O<sub>2</sub> اعلى معدل للصفة بلغ 0.50 % يتبعها بفرق معنوي ايضا المعاملة O<sub>1</sub> بمعدل 0.46 % في حين اعطت المعاملة O<sub>0</sub> اقل معدل بلغ 0.40 % . اما عن التداخل الثنائي فقد اعطت المعاملة S<sub>3</sub>O<sub>2</sub> اعلى معدل للصفة بلغ 0.596 % قياسا بمعاملة المقارنة S<sub>0</sub>O<sub>0</sub> والتي اعطت اقل معدل للصفة بلغ 0.276 % .

تأثير حامض الساليسيك وحامض الهيومك في النسبة المئوية للفسفور (%) . اظهرت النتائج في الجدول (3) ان النسبة المئوية للفسفور قد تأثرت معنويا بمعاملات البحث اذ اعطت معاملة الرش بحامض الساليسيك S<sub>3</sub> اعلى معدل بلغ 0.55 % تليها المعاملة S<sub>2</sub> التي سجلت معدل 0.480 % وكان لها اختلافات معنوية عن المعاملة S<sub>1</sub> الذي سجلت معدل 0.43 % في حين اعطت المعاملة S<sub>0</sub> اقل معدل بلغ 0.36 % .

جدول 3. تأثير حامض الساليسيك وحامض الهيومك في محتوى اوراق نبات عين البزون من الفسفور (%).

معدل organic	S <sub>3</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>0</sub>	salicylic * organic
0.405	0.513	0.453	0.376	0.276	O <sub>0</sub>
0.462	0.546	0.463	0.446	0.393	O <sub>1</sub>
0.507	0.596	0.523	0.483	0.426	O <sub>2</sub>
	0.552	0.480	0.435	0.365	معدل salicylic
salicylic * organic	Salicylic		organic		L.S.D
0.067	0.038		0.033		

تركيز الفنكستين في الاوراق قد تأثرت معنويا بمعاملات البحث اذ اعطت معاملة الرش بحامض الساليسيك S<sub>3</sub> بتركيز

تأثير حامض الساليسيك وحامض الهيومك في تركيز الفنكستين (ppm): اظهرت النتائج في الجدول (4) ان

الذي تفوق على  $S_0$  تركيز ( 0 ملغم.لتر<sup>-1</sup>) الذي سجل اقل معدل بلغ 2.42 ppm.

100 ملغم.لتر<sup>-1</sup> اعلى معدل بلغ 7.39 ppm اختلفت معنويا عن المعاملة  $S_2$  التي بلغت معدل 5.56 ppm وبدورها اختلف الاخير عن المعاملة  $S_1$  بمعدل 3.39 ppm

جدول 4. تأثير حامض الساليسليك وحامض الهيومك في تركيز الاوراق من الفنكرستين (ppm)

معدل organic	$S_3$	$S_2$	$S_1$	$S_0$	salicylic * organic
3.7	6.00	4.61	2.69	1.42	$O_0$
4.64	7.50	5.43	3.23	2.39	$O_1$
5.74	8.65	6.64	4.26	3.38	$O_2$
	7.39	5.56	3.39	2.42	معدل salicylic
salicylic * organic		Salicylic	organic		L.S.D
0.59		0.34	0.29		

الاغشية الخلوية اذ اشار الباحثون بان هذه الاحماض تعدل الفوسفوليبيدات للاغشية الخلوية وبالنتيجة يصبح الغشاء الخلوي افضل في نقل المغذيات من خارج الخلية للساييتوبلازم مما يحسن الحالة التغذوية وامتصاص العناصر التي تدخل في العمليات الفسلجية المهمة كالتمثيل الضوئي والعمليات المرتبطة بها(6)، او ربما حامض الهيومك زاد من نسبة العناصر الممتصة بسبب تنشيطه انزيم ال H-ATPase في الغشاء الخلوي للخلايا (33) وان هذه الانزيم يزيد من امتصاص وانتقال العناصر الغذائية والاحماض الامينية عن طريق الخشب واللحاء (28)، فضلا عن تأثير حامض الهيومك المنشط على صفات النمو الخضري والجذري وبالتالي زيادة الامتصاص من قبل الجذور والاوراق فان زيادة كفاءة البناء الضوئي ومحتوى الورقة من الكلوروفيل وزيادة النمو الخضري يتطلب سحب كميات اكبر من النتروجين. اما عن تأثير حامض الساليسليك في زيادة العناصر في دوره في زيادة نمو الجذور وبالتالي زيادة امتصاص العناصر الغذائية عن طريق زيادة سرعة نمو وتمايز الجذور واداء الثغور (36) وبالتالي زيادة تراكم العناصر او ربما يرجع الى دوره في تنظيم عمل الجذور والنتج وسحب النسغ الصاعد فيتبخر الماء وتتراكم العناصر في الاوراق، فضلا عن تنظيم التنفس وانتاج الكلوروفيل (32 و 14 و 47). ان حامض الهيومك يحتوي على البوتاسيوم الذي يعد مرافقا لايون النترات السالبة عند انتقاله من الجذور الى الاوراق (5) مؤديا الى زيادة النتروجين في الاوراق. ان حامض الهيومك يزيد من التركيز الداخلي للهورمونات ومنها IAA و GA3 والتي تعد مناطق نشاطها مصدر جذب للعناصر الغذائية الامر الذي ادى الى زيادتها في الاوراق (41). انفتحت النتائج

كما كان لحامض الهيومك تأثيرا معنويا في زيادة تركيز الفنكرستين اذ اعطت المعاملة  $O_2$  اعلى معدل للصفة بلغ 5.74 ppm تليها المعاملة  $O_1$  الذي بلغ معدل 4.64 ppm في حين اعطت المعاملة  $O_0$  اقل معدل بلغ 3.7 ppm. لوحظ ان تداخل حامض الساليسليك مع المعاملات حامض الهيومك كان له اثر معنوي في زيادة محتوى الاوراق من الفنكرستين فقد اعطت المعاملة  $S_3O_2$  اعلى معدل للصفة محققة زيادة بلغت 8.65 ppm قياسا بمعاملة المقارنة  $S_0O_0$  والتي اعطت اقل قيمة لمحتوى الاوراق من الفنكرستين بلغت 1.42 ppm. حامض الساليسليك يعمل على تحسين النمو ومعدل النتج وتنظيم فتح وغلق الثغور والبناء الضوئي وامتصاص ونقل العناصر داخل النبات (30) اما حامض الهيومك يحتوي على مركبات عضوية واحماض امينية وعناصر معدنية ولا سيما البوتاسيوم الذي ينظم عملية فتح وغلق الثغور والتنفس وبالتالي تحسين البناء الضوئي كما انه ينظم معدل النتج والذي يزيد من سحب الماء والمغذيات من التربة (28) هذه العمليات بشكل عام تتطلب سحب كمية اكبر من العناصر سيما النتروجين حيث ان النتروجين يدخل في بناء جزيئة الكلوروفيل واحماض امينية ومنظمات نمو مثل الاوكسين IAA الذي يعمل على انقسام واستطالة الخلايا وبالتالي زيادة في بناء مركبات الايض الثانوي. وقد يرجع زيادة العناصر في الاوراق الى دور حامض الهيومك و كونه مصدر غني بالعناصر التي رشت على الاوراق فضلا عن احتوائه على الاحماض الامينية التي يدخل بتركيبها النتروجين بشكل رئيس ويكون جاهز للامتصاص والتمثيل بشكل مباشر (31)، وربما يعود ايضا الى ما يحتويه حامض الهيومك من احماض عضوية وامينية والتي تزيد من نفاذية

aniline و انتاج الـ anhydrovinblastine الذي يتحول الى Vinblastine (40) وقد بين Ahn وآخرون (3) ان انزيم الـ Peroxidase ينظم عملية اكسدة الفنبلاستين ليتحول الى فنكرستين ويحتاج هذا التفاعل الى  $H_2O_2$  الذي يحفز تراكمه حامض السالسليك ولعله يكون السبب في زيادة معاملة التداخل بين حامض السالسليك والهيومك بزيادة تركيز الفنكرستين. هذا وقد يكون تأثير عاملي البحث في زيادة الفنكرستين عن طريق زيادة محتوى النبات من الهرمونات اما عن طريق تحفيز البناء الحيوي للهرمونات او منع تدهم هذه الهرمونات (10) فرما ازدادت نسبة الفنكرستين بزيادة التركيز الداخلي للـ IAA والـ  $GA_3$  (4) اذ ان اضافة حامض السالسليك وحامض الهيومك يعملان على رفع التركيز الداخلي للهرمونات وبالاخص IAA (10 و 12).

#### REFERENCES

- 1.A.O.A.C. 1970. Official Method of Analysis 11<sup>th</sup> Edn., Association Of The Official Analytical Chemistry, Washington, D.C. U.S.A. pp. 101.
- 2.Abdul Jaleel, C., B. Sanker, P. V. Murali, M. Gomathinayagam, G. M. A. Lakshmanan, and R. Panneerselvam .2007. Water deficit stress on reactive oxygen metabolism in *Catharanthus roseus*; impacts on ajmalicine accumulation. 62 (1);105-111.
- 3.Ahn, S. H., M. W. Duffel , and J. P. N. Rosa-zza .1997. Oxidations of Vincristine catalyzed by peroxidase and ceruloplasmin. J. Nat. Prod. 60 (11); 1125–1129.
- 4.Alam, M. M., M. Naem, M. Idrees, M. Masroor A. Khan, and Moinuddin .2012. Augmentation of photosynthesis, crop productivity, enzyme activities and alkaloids production in Sadabahar (*Catharanthus roseus* L.) through application of diverse plant growth regulators. J. Crop Sci. Biotech.15 (2); 117-129.
- 5.Al-Saady, I. S. S. 2007. Evaluation Of Potassium State Added From Two Fertilizer Sources Under Irrigation Systems On Growth And Tomato Yield In Yellow Maiz. Ph.D. Dissertation. College of agriculture. University of Baghdad. pp.26.
- 6.Al-Sahaf, F. H. 1989. Plant Nutrition Application. Ministry of Higher Education and Scientific Research. Book House Press. University of Musul. Iraq. pp 198.

مع ما وجده Evans و Li (13) اذ وجدا ان الرش الورقي بحامض الهيومك على شتلات عين البزون زاد من الوزن الرطب والجاف للجذور مقارنة عند الرش بمحلول العناصر الغذائية. وان حامض السالسليك يسبب تغييرات في كهربائية الاغشية مما قد يشجع امتصاص العناصر (23). كما اتفقت النتائج مع Hanafy-Ahmed وآخرون (17) و Ji-hong وآخرون (22) اذ وجدا ان رش حامض السالسليك وحامض الهيومك قد زادا من محتوى الاوراق والجذور من النتروجين في نبات *Eruca vesicaria* subsp. *Sativa* و نبات *Salvia miltiorrhiza*. ربما تعود زيادة الفنكرستين الى دور حامض السالسليك بزيادة نشاط العديد من الانزيمات منها انزيم مختزل النترات Nitrate reductase (4) وان عمل هذه الانزيم ضروري لتحفيز انتاج الـ Catharanthine البادئ لانتاج الفنكرستين (46)، او قد يعود الى دوره في تحفيز انزيم الـ Tryptophan Decarboxylase (TDC) وانزيم الـ Strictosidine Synthase (STR) لتكوين مركب الـ Strictosidine وهو البادئ لجميع القلويدات الاحادية Monomeric alkaloids ومنها التي تدخل في بناء الفنكرستين (27 و 9 و 50). و قد يكون تأثير حامض السالسليك من خلال تنشيط انزيم الـ Catalase (35) الذي يؤدي هذه التنشيط الى زيادة نسبة الـ  $H_2O_2$  وهذه المركب الاخير يعمل على زيادة تحفيز انزيم الـ TDC والـ STR ومن ثم زيادة بناء القلويدات (34). اما عن دور حامض الهيومك في زيادة الفنكرستين ربما يعود الى تأثيره التحفيزي في زيادة القلويدات عن طريق تنشيط انزيم الـ  $H^+$ -ATPase في الغشاء الخلوي للخلايا (49) وان هذه الانزيم يزيد من امتصاص وانتقال العناصر الغذائية والاحماض الامينية عن طريق الخشب واللحاء (26) وزيادة الـ NPK جدول 3 و 2 و 1 وتحديد النتروجين الذي يدخل بشكل رئيسي في بناء القلويدات فيتنفق ذلك مع ما وجده Guo وآخرون (16) والذي اشار بان زيادة النتروجين بالمقدار المناسب زاد من الفنكرستين. وقد يؤثر حامض الهيومك في تقليل تحلل الاحماض الامينية (30) المهمة في بناء القلويدات. او قد يرجع تأثير حامض الهيومك في زيادة القلويدات الى تأثيره في تحفيز انزيم الـ Peroxidases (15) حيث ان هذه الانزيم يسيطر على عملية اقتران الـ Vindoline والـ Cathar-

7. Al-Sahoky, M. and K. M. Wahayib .1990. Applications In Experimental Design And Analysis. Ministry of Higher Education and scientific research. Iraq. pp.109.
8. Andrade, S.A.L., S. Malik, A.C.H.F. Saw - aya, A. Bottcher, and P. Mazzafera .2012. Assosiation With Arbuscular Mycorrhizal Fungi Influences Alkaloid Synthesis and Accumulation in *Catharanthus roseus* and *Nicotiana Tabacum* Plants. *Acta physiologiae plantarum*. 35(3); 867-880.
9. Canel, C., M.I. Lopes-Cardoso, S. Whitmer, L. Van der Fits, G. Pasquali , R. Van der Heijden, J.H. Hoge, and R. Verpoorte .1998. Effects of over-expression of strictosidine synthase and tryptophan decarboxylase on alkaloid production by cell cultures of *Catharanthus Roseus*. *Planta*. 205(3); 414-419.
10. Dawood, M. G., M. S. Sadak and M. Hoza -yen .2012. Physiological role of salicylic acid in improving performance, yield and some biochemical aspects of sunflower plant grown under newly reclaimed sandy soil. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 6(4); 82-89.
11. Dumas, Y., S. Smail and A. Benamara .2004. Effect of potassium fertilization on the behavior of three processing tomato cultivars under various watering levels. *Acta Hort*. 13.
12. El-Bassiouny, H. S. M., B. A. Bakry, A.A. Attia, and M. M. Abd Allah .2014. Physio - logical role of humic acid and nicotinamide on improving plant growth, yield, and mineral nutrient of wheat (*Triticum durum*) grown under newly reclaimed sandy soil. *Agricultural Sciences*. 5(8); 687-700.
13. Evans, M.R. and G. Li .2003. Effect of hu - mic acids on growth of annual ornamental seedling plugs. *HortTechnology*. 13(4); 661-665.
14. Fariduddin, Q., S. Hayat, and A. Ahmad 2003. Salicylic acid influences net photosy - nthetic rate, carboxylation efficiency, nitrate reductase activity and seed yield in brassica juncea. *Photosynthetica*. 41; 281-284.
15. Garcia, A. C., R. L. L. Berbara, L. P. Farias, F. G. Izquierdo, O. L. Hernández, R. H. Campos and R. N. Castro .2012. Humic acids of vermicompost as an ecological pathway to increase resistance of rice seedlings to water stress. *African Journal of Biotechnology*. 11(13): 3125-3134.
16. Guo X., B. Chang, Y. Zu, and Z. Tang .2014. The impacts of increased nitrate supply on *Catharanthus roseus* growth and alkaloid accumulations under ultraviolet-B stress. *Journal of plant Interactions*. 9(1); 640-646.
17. Hanafy-Ahmed, A. H., M.K. Khalil, and A. M. Farrag. 2000. Nitrate accumulation, gro - wth, yield and chemical composition of rocket (*Eruca vesicaria* subsp. *Sativa*) plant as affect - ted by NPK fertilization, Kinetin and Salicylic Acid. *Cairo University, Egypt*. 495-508.
18. Hashmi N., M. Masroor A. Khan, Moinu - ddin, M. Idrees, and T. Aftab .2012. Exoge - nous salicylic acid stimulates physiological and biochemical changes to improve growth, yield and active constituents of Fennel essential oil. *Plant Growth Regulation*. 68(2); 281-291.
19. Haynes, R.J. 1980. A comparison of two modified kjeldahl digestion techniques for multi-element plant analysis with conventional wet and dry ashing methods. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 11 (5); 459-467.
20. Idrees M., M. Naeem, T. Aftab, and M.M.A. Khan .2011. Salicylic acid mitigates salinity stress by improving antioxidant defense system and enhances vincristine and vinblastine alkaloids production in periwinkle [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don]. *ActaPhys - iologiae Plantarum*. 33(3); 987-999.
21. Idrees M., M. Naeem, T. Aftab, and M. Khan .2013. Salicylic acid restrains nickel toxicity, improves antioxidant defence system and enhances the production of anticancer alkaloids in *Catharanthus roseus* (L.). *J. Haz Mat*. 252; 367-374.
22. Ji-hong, M., K. Tai-ji, L. Wei, M. Fan-hua, and J.I. Dong-hua. 2012. Effects of humic acid on dry matter accumulation and nutrient utilization of *Salvia miltiorrhiza*. *Shandong agricultural sciences*. 01.
23. Katz, V.A., A. Fuchs and V. Conrath . 2002. Pretreatment with salicylic acid prim s parstey cells for enhanced ion transport flowing elicitation. *FEBS. Lett*. 520; 53-57.
24. Khan, W., B. Prithviraj, and D.L. Smith. 2003. Photosynthetic responses of corn and

- soybean to foliar application of salicylates. *J Plant Physiol.* 160; 485-492.
25. MacCarthy, P. 2001. The Principles of Humic Substances, *Soil Science.* 166; 738-751.
26. Michelet, B. and M. Boutry (1995) The plasma membrane h<sup>+</sup>-atpase. *Plant Physiol.* 108: 1-6.
27. Mustafa, N. R., H. K. Kim, Y. H. Choi and R. Verpoorte .2009. Metabolic profiling of *Catharanthus roseus* cell suspension cultures elicited with salicylic acid (Chapter 7). *BiotechnolLett.* 31(12); 1967–1974.
28. Olsen, S. K. and L.E. Sommers .1982. Phosphorus In Page, A.L. Et Al (Eds) *Methods Of Soil Analysis.* Am. Agron. Inc. Medison, Wisconsin, New York.
29. Pan, Q., Q. Wang, F. Yuan, S. Xing, J. Zhao, Y. H. Choi, R. Verpoorte, Y. Tian, G. Wang, and K. Tang .2012. Overexpression of ORCA3 and G10H in *Catharanthus roseus* plants regulated alkaloid biosynthesis and metabolism revealed by nmr-metabolo - mics. *PLoS One.* 7(8).1-14.
30. Pandey, H.C, M.J. Baig and R.K. Bhatt. 2012. Effect of moisture stress on chlorophyll accumulation and nitrate reductase activity at vegetative and flowering stage in *Avena* species. *Agricultural science research journal.* vol.2 (3); 111-118.
31. Pettit, R.E. 2004. Organic Matter, Humus, Humate, Humic Acid, Fulvic Acid and Humin; Their Importance in Soil Fertility and Plant Health [Online]. Available at [www.humates .com](http://www.humates.com).
32. Popova, L., T. Pancheva, and A. Uzunova .1997. Salicylic acid : properties, biosynthesis and physiological role. *Bulg. J. Plant Physiol.* 23; 85-93.
33. Qian, W., W. Kangcai, C. Zhiwei, and W. Xiaoyan .2013. Effect of humic acid on secondary metabolism and growth physiolo - gical property of *Pinellia pedatisecta* under high temperature stress. *Acta Botanica Boreali Occidentalia Sinica.* 33(9); 1845-1850.
34. Ramani, S., and J. Chelliah .2007. UV-B-induced signaling events leading to the enhanced production of catharanthine in *Cath - aranthus roseus* cell suspension cultures. *BMC Plant Biol.* 7(7):61.
35. Rao, M.V., G. Paliyath, D.P. Ormrod, D.P. Murr, and C.B. Watkins .1997. Influence of salicylic acid on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production, oxidative stress and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolizing enzymes. *Plant Physiol.* 115; 137-149.
36. Raskin, I. 1992. Salicylate, a New plant hormone. *Plant Physiol.* 99; 799-803.
37. Sepehri, B., R. Zarghami, N. Nemati, and H.R. TohidiMoghaddam. 2014. Investigation of the effect of three levels of mycorrhiza and four levels of plating bed on total alkaloids, vinblastine and vincristine of periwinkle (*Catharanthus alba*). *International Journal of Agriscience.* 4(7); 374-382.
38. Simaysim, I. A. A., and M. A. A. Al-Rubae. 2013. Effect of *Bacillus subtilis* KB1, paclobutrazol and KT-30 on growth *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. and production of vincristine and vinblastine alkaloids Magazine of Al-Kufa University for Biology. 5(1): 80-89.
39. Singroval, R., T.N. Balasubramanian and R. Govindasamy. 1993. Effect of humic acid on sesame (*Sesamum indicum*). *Indian Journal Agronomy.* 38;147-149.
40. Sottomayor, M., and A. Ros Barcelo. 2003. Peroxidase from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don and the biosynthesis of alpha-3',4'-anhydrovinblastine: a specific role for a mul - tifunctional enzyme. *Protoplasma.* 1(2):97-105.
41. Taiz, L. and Zeiger, E. (2010) *Plant Physiology, Fifth Edition.* Sinauer Associates. Sunderland, MA.
42. Tikhomiroff, C., and M. Jolicoeur. 2002. Screening of *Catharanthus roseus* secondary metabolites by highperformance liquid chromatography. *J. Chromatogr A.* 955; 87-93.
43. Van der Heijden, R., D.I. Jacobs, Snoeijer, W., D. Hallard, and R. Verpoorte. 2004. The *Catharanthus* alkaloids: pharmacognosy and biotechnology. *Curr. Med. Chem.,* 11(5); 607-628.
44. Verpoorte, R., R. Van der Heijden, and W.M. Van Gulik (1991) *Alkaloids.* San Diego 7 Academic Press, California.
45. Wickens, G.E. 2001. *Economic Botany : Principles and Practice.* Springer Netherlands, Dordrecht.
46. Xu, M., and J. Dong. 2005. Elicitor-Induced nitric oxide burst is essential for triggering catharanthine synthesis in *Cath - aranthus roseus* suspension cells. *Appl Micr - obiol Bio technol in.* 67(1); 40-4.

47. Yu J., S. Yuan, H. Pang, X. Zhang, X. Jia, Z. Tang, and Y. Zu. 2010. Distribution and accumulation of vindoline, catharanthine and vinblastine in *Catharanthus roseus* cultivated in China. *Zhong guo Zhong Yao ZaZhi*. 35 (23); 3093-4006.
48. Yusuf, M., S.A. Hasan, B. Ali, S. Hayat, Q. Fariduddin, and A. Ahmad. 2008. Effect of salicylic Acid on salinity induced changes in *Brassica juncea*. *J Integrative Plant Biol* 50:14.
49. Zandonadi, D.B., M.P. Santos, L.B. Dobbss, F.L. Olivares, L.P. Canellas, M.L. Binzel, A.L. Okorokova-Façanha, and A.R. Façanha. 2010. Nitric oxide mediates humic acids-induced root development and plasma membrane h<sup>+</sup>-atpase activation. *Planta*. 231; 1025-1036.
50. Zhao, J., L.C. Davis, and R. Verpoorte. 2005. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnol Adv*. 23(4); 283-333.