

مقایسه مصرف خاکی، محلول پاشی و همراه با آب آبیاری اسید هیومیک بر برخی ویژگی‌های رشدی و فراهمی آهن و فسفر در گیاه کلزا

طالب نظری^۱، مجتبی بارانی مطلق^{۲*}، اسماعیل دردی پور^۳، رضا قربانی نصرآبادی^۴ و سمیه سفیدگر شاهکلایی^۴

- ۱- دانشجوی دکتری گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- ۲- دانشیار گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- ۳- استادیار گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- ۴- فارغ التحصیل دکتری گروه علوم خاک، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخچه مقاله	چکیده
دریافت: ۱۳۹۸/۰۳/۱۰ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۶/۲۶	
کلمات کلیدی: آهن، اسید هیومیک، فسفر، کلزا، رشد رویشی	در این پژوهش، تأثیر کاربرد خاکی، محلول پاشی و مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک بر ویژگی‌های رشد رویشی و فراهمی آهن و فسفر در گیاه کلزا (رقم هایولا ۳۰۸) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار در ۴ تکرار به صورت گلدانی به اجرا درآمد که تیمارها شامل مصرف خاکی اسید هیومیک در سه سطح (۱، ۲ و ۴ گرم بر کیلوگرم خاک)، محلول پاشی در سه سطح (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد)، همراه با آب آبیاری در سه سطح (۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و تیمار شاهد (بدون اسید هیومیک) بود. نتایج نشان داد که اثر نحوه کاربرد و سطوح مختلف اسید هیومیک بر ویژگی‌های رشد رویشی به جز تعداد برگ معنی‌دار شد. بیشترین وزن تر برگ و ساقه به ترتیب با میانگین ۳/۴۳ و ۵/۹۲ گرم در گیاه در تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مصرف همراه با آب آبیاری دیده شد. نتایج نشان داد که بیشترین غلظت آهن کل ساقه و دانه به ترتیب با میانگین ۸۵ و ۳۲۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم مربوط به تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک بود. همچنین تیمار ۰/۴ درصد محلول پاشی اسید هیومیک بیشترین غلظت آهن کل در برگ با میانگین ۲۴۵/۴۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم مربوط را داشت. بیشترین غلظت فسفر در برگ، ساقه و دانه نیز به ترتیب با میانگین ۰/۴۰، ۰/۷۲ و ۰/۸۹۷ درصد مربوط به تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک بود. نتایج حاصل از یافته‌ها نشان داد که هر سه روش استفاده از اسید هیومیک موجب افزایش ویژگی‌های رشد رویشی و فراهمی آهن و فسفر در گیاه کلزا نسبت به شاهد شدند اما در مجموع تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک از دو روش مصرف خاکی و محلول پاشی اسید هیومیک مؤثرتر بود.
* عهده دار مکاتبات Email: mbarani@gau.ac.ir	

مقدمه

در اراضی خشک و نیمه خشک مقدار مواد آلی خاک بسیار ناچیز بوده و استفاده از کودهای آلی یکی از مهمترین راه‌های حفظ بیلان کربن آلی خاک، چرخش طبیعی مواد و عناصر در بوم نظام‌های کشاورزی است. ماده آلی نه تنها منبع بزرگی از عناصرهای غذایی است بلکه با تشدید فعالیت زیستی در خاک به چرخش بهتر مواد غذایی کمک می‌کند (۵۳). ترکیبات هوموسی مواد آلی، دارای دو نوع اسید آلی مهم به نام‌های اسید هیومیک و اسید فولیک هستند. مواد هیومیکی مولکول‌های آلی ناهمگنی هستند که در خاک به‌عنوان محصول فرعی متابولیسم میکروبی مواد آلی مرده تشکیل و سنتز می‌شوند (۴۰). مواد هیومیکی می‌توانند از منابع مختلف زیادی شامل خاک‌ها، پسماندهای شهری، کمپوست و ورمی‌کمپوست‌ها، انواع ذخایر معدنی و زغال سنگ‌ها، پیت و لئوناردیت استخراج شوند. مواد هیومیکی به روش‌های مختلفی از جمله محلول پاشی برگ‌ها، همراه با آب آبیاری و روش مستقیم افزودن به خاک استفاده می‌شوند (۳۰). مواد هیومیکی با اصلاح ساختار خاک جذب عناصر غذایی توسط گیاه را بهبود می‌بخشند. اسید هیومیک دارای اثرات مستقیم و غیرمستقیم در گیاهان می‌باشد اثر غیرمستقیم آن عموماً به شکل تغییر در شرایط محیطی نظیر بهبود ساختمان خاک، هوادهی، زهکشی، ظرفیت نگهداری آب، دمای خاک و اثرات مستقیم آن شامل افزایش زیست توده، جذب عناصر غذایی، فعالیت ضدویروسی در گیاه می‌باشد (۹). اسید هیومیک شامل بسیاری از عناصر غذایی می‌باشد که حاصلخیزی خاک و محتوای مواد آلی خاک را افزایش و در نتیجه رشد و عملکرد گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۴). از مزایای مهم اسید هیومیک کلات کنندگی عناصر غذایی مختلف مانند پتاسیم و منیزیم، کلسیم، روی، آهن و مس برای غلبه بر کمبود عناصر غذایی است که افزایش طول، وزن ریشه و ایجاد ریشه‌های جانبی را سبب می‌شود (۱). لی و بارتلت (۳۳) نشان دادند که کاربرد مواد هیومیکی در غلظت‌های پایین به‌طور معنی‌داری باعث بهبود بهره‌وری فسفر و آهن در گیاه ذرت می‌شوند در حالیکه

مصرف آنها در غلظت‌های بالای دارای اثرات مثبت ناچیز و کم بوده که احتمالاً دلیل آن عدم کمبود مواد هیومیکی در خاک مورد بررسی بود. دینگ و همکاران^۱ (۱۵) گزارش کردند که اورتوفسفات و ماده آلی محلول عمدتاً جذب سطح هیدروکسیل از گروه‌های هیدروکسیدی فلزی خاک‌های معدنی می‌شوند. که استفاده کردن از اصلاح کننده‌های غنی از کربن (C) در خاک باعث افزایش قابلیت زیستی فسفر می‌شود (۵۶). ابل مگواند و همکاران^۲ (۲) بیان داشتند که منشاء اسید هیومیک مصرفی، غلظت، نوع بستر، پ هاش و همچنین نحوه مصرف اسید هیومیک در نتایج حاصله مؤثر می‌باشد. با توجه به اینکه بیش از ۸۰٪ از زمین‌های کشاورزی در ایران را خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک تشکیل می‌دهد (۱۸). که از نظر مواد آلی فقیر هستند و نیز با توجه به نقش اسید هیومیک در تأمین متوازن عناصر غذایی به عنوان یک ترکیب طبیعی، این پژوهش به منظور بررسی تأثیر نحوه کاربرد و سطوح مختلف استفاده از اسید هیومیک بر رشد رویشی و فرآهمی آهن و فسفر در گیاه کلزا به انجام رسید.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تأثیر کاربرد خاکی، محلول پاشی و مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک بر ویژگی‌های رشد رویشی و فرآهمی آهن و فسفر در گیاه کلزا (رقم هایولا ۳۰۸) مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۰ تیمار و در ۴ تکرار به صورت گلدانی در فضای باز دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به اجرا درآمد. تیمارها شامل کاربرد خاکی اسید هیومیک در ۳ سطح (۱، ۲ و ۴ گرم بر کیلوگرم خاک)، محلول پاشی اسید هیومیک در ۳ سطح (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد) و همراه با آب آبیاری در ۳ سطح (۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر) و تیمار شاهد (بدون اسید هیومیک) بود. کاربرد خاکی به صورت پودر اسید هیومیک

1- Ding et al.

2- Abel-Mawgoand et al

شد تا آب اضافی موجود در سطح آنها حذف شود سپس نمونه‌ها داخل آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند آنگاه ویژگی‌های رشد رویشی شامل وزن تر و خشک برگ، ساقه و تعداد برگ اندازه‌گیری گردید. هضم نمونه‌های گیاهی با روش خشک سوزانی انجام گرفت (۲۹). غلظت آهن در نمونه‌ها با دستگاه جذب اتمی (AAS-919-unicam) تعیین شد. اندازه‌گیری غلظت فسفر عصاره‌های گیاهی با روش مولیبدات وانادات یا روش زرد صورت گرفت (۱۷). تجزیه آماری مقایسه بین تیمارهای مختلف با استفاده از نرم‌افزار SAS و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD (در سطح ۵ درصد) استفاده شد.

نتایج و بحث

بیشترین وزن تر برگ با میانگین ۳/۴۳ گرم در گیاه مربوط به مصرف با آب آبیاری سطح ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بود هرچند که بین تیمار ۴۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. کمترین مقدار آن نیز با میانگین ۲/۲۰ گرم در گیاه در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳). همچنین بیشترین وزن خشک برگ با میانگین ۰/۳۷ گرم در گیاه مربوط به مصرف با آب آبیاری سطح ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر و کمترین مقدار با میانگین ۰/۲۲ گرم در گیاه مربوط به تیمار شاهد بود، با این وجود، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ بین تیمار ۴۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مصرف همراه با آب آبیاری مشاهده نشد (جدول ۳).

و در زمان کشت بر اساس وزن خاک گلدان‌ها و برای محلول‌پاشی و مصرف همراه با آب آبیاری، هر کدام از سطوح به سه قسمت مساوی تقسیم و در سه مرحله (استقرار گیاه، به ساقه رفتن، شروع گلدهی) مورد استفاده قرار گرفتند. محلول‌پاشی در زمان عصر و به‌منظور مؤثرتر بودن آن از چند قطره مویان جهت خیس خوردگی بیشتر برگ‌ها استفاده شد. اسید هیومیک مورد استفاده در این آزمایش اسید هیومیک ۸۰ درصد بانام تجاری هیومکس^۱ بود (جدول ۱). خاک مورد استفاده از عمق ۳۰-۰ سانتی‌متری روستایی حاجی‌غراوی در ۳۰ کیلومتری گنبدکاووس با مختصات جغرافیایی "N: 37 26' 11.5" و "E: 55 23' 59.6" برداشته شد. این خاک براساس سیستم رده‌بندی آمریکایی، تیپیک کلسی زریپت (Typic Calcixerepts) طبقه‌بندی شد. پس از هوا خشک شدن، از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شده و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نظیر بافت خاک (۲۰)، pH در عصاره ۱:۲ (۲۷)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع، کربن آلی (۵۲)، ظرفیت تبادل کاتیونی (۱۰)، نیتروژن کل به روش کجلدال (۶)، فسفر قابل‌استفاده (۴۲)، پتاسیم قابل‌استفاده با استفاده از استات آمونیوم (۴)، آهن، مس، روی و منگنز به‌وسیله دستگاه جذب اتمی بعد از عصاره‌گیری خاک با DTPA (۳۴) تعیین شد (جدول ۲). واحدهای آزمایشی گلدان‌های ۵ کیلوگرمی خاک بود. سپس تعداد ۱۰ عدد بذر در هر گلدان در عمق ۲ سانتی‌متری خاک کاشته که پس از سبز شدن و گذشت دو هفته، تعداد بوته‌ها به چهار عدد در هر گلدان تقلیل یافت. جهت حذف اثرات محیطی در طول دوره رشد جای گلدان‌ها دو بار در هفته به صورت تصادفی تغییر داده شد. عملیات آبیاری و وجین علف‌های هرز با دست انجام گرفت. رطوبت خاک گلدان‌ها در طول دوره رشد گیاه در حدود ظرفیت مزرعه به روش وزنی تأمین شد. آنگاه پس از پایان دوره رشد (به مدت ۱۳۹ روز) گیاهان برداشت شدند و شاخساره گیاه به تفکیک اندام (ساقه و برگ) با آب شهری سپس با آب مقطر شسته و روی تورهای پلاستیکی پخش

جدول (۱) ویژگی‌های اسید هیومیک مورد استفاده در پژوهش
Table (1) Characteristics of humic acid used in the research

اسید هیومیک	اسید فولیک	اکسید پتاسیم	نام تجاری
Humic acid	Fluvic acid	K ₂ O	Trade name
%80	%15	%5	هومیکس-۹۵ Humax-95WSG

جدول (۲) ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در پژوهش
Table (2) Soil physical and chemical characteristics using in the experiment

ماده آلی (درصد) (OM) (%)	1.78
رس (درصد) (Sand) (%)	27
سیلت (درصد) (Silt) (%)	48.5
شن (درصد) (Clay) (%)	24.5
بافت (Texture)	Silty loam
pH (1:2)	7.2
قابلیت هدایت الکتریکی (EC) (dSm ⁻¹)	1.15
کربنات کلسیم معادل (%) (CCE)	15.5
ظرفیت تبادل کاتیونی (CEC) (cmolc kg ⁻¹)	17.7
نیترژن کل (درصد) (%) (Total nitrogen)	0.056
فسفر قابل جذب (mg kg ⁻¹) (Phosphorus)	10.4
پتاسیم قابل جذب (mg kg ⁻¹) (Potassium)	219
آهن عصاره گیری با DTPA (mg kg ⁻¹) (DTPA extractable Fe)	1.44
روی عصاره گیری با DTPA (mg kg ⁻¹) (DTPA extractable Zn)	0.46
منگنز عصاره گیری با DTPA (mg kg ⁻¹) (DTPA extractable Mn)	0.34
مس عصاره گیری با DTPA (mg kg ⁻¹) (DTPA extractable Cu)	0.44

خشک ساقه و ریشه می‌شود. همچنین کاربرد این ماده آلی به خاک باعث افزایش ریشه‌های جانبی و سهولت جذب عناصر پرمصرف و کم مصرف می‌شود. طبق پژوهش کردیرو و همکاران^۲ (۱۴) اسید هیومیک می‌تواند نسبت وزن تازه و خشک ریشه در ذرت را افزایش دهد. ترکمن و همکاران (۴۹)، گزارش کردند اسید هیومیک با حفظ بافت فتوستنتزی، وزن خشک گیاه را افزایش می‌دهد.

بیشترین مقادیر وزن تر و خشک ساقه با میانگین‌های ۵/۹۲ و ۱/۵۳ گرم در گیاه در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم در

مطالعه کاربرد اسید هیومیک بر پارامترهای رشد رویشی و جذب عناصر معدنی گل رز نشان داد که نحوه کاربرد (محلول پاشی و مصرف خاکی) و غلظت‌های مختلف (۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰) اسید هیومیک تأثیر مثبتی در افزایش وزن تر و خشک برگ و قطر ساقه داشت که بیشترین وزن تر و خشک برگ مربوط به تیمار ۵۰۰ میلی گرم در لیتر مصرف خاکی اسید هیومیک بود (۴۶). بوهمه و همکاران^۱ (۵) بیان کردند که اسید هیومیک در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه ای باعث بهبود رشد گیاه از طریق افزایش طول ریشه و افزایش وزن تر و

فرعی و عملکرد بیولوژیکی، میزان و عملکرد اسانس گیاه دارویی سیاهدانه تاثیر معنی داری داشت. در این پژوهش روش محلول پاشی بر غلظت آهن برگ مؤثرترین روش بود به گونه‌ای که بیشترین غلظت آهن برگ با میانگین ۲۴۵/۴۶ میلی گرم بر کیلوگرم مربوط به تیمار ۰/۴ درصد روش محلول پاشی اسید هیومیک بود.

همچنین بیشترین مقدار جذب آهن در برگ نیز در تیمار ۰/۴ درصد محلول پاشی با میانگین ۸۷/۷۸ میلی گرم برگرم ماده خشک گیاه مشاهده گردید (جدول ۴). آهن نقش اساسی در متابولیسم کلروفیل‌ها دارد و به عنوان کوفاکتور در بسیاری از پروتئین‌های دخیل در فعالیت‌های سلولی از قبیل تنفس، فتوسنتز و تمایز سلولی شرکت دارد (۷). کمبود آهن می‌تواند کارایی اندامک‌های فتوسنتزی را به شدت تحت تأثیر قرار دهد (۱۹). ملکول‌های اسید هیومیک می‌توانند از غشاء سلول عبور و در آپوپلاست باعث احیای آهن شوند و در دسترس بودن آهن را افزایش دهند. اثر افزایش جذب آهن توسط اسید هیومیک به دلیل خاصیت احیاء کنندگی آن مرتبط است که در دسترس بودن و تجمع آهن در بافت گیاهی را افزایش می‌دهد (۴۱). وطن خواه و همکاران (۵۰) گزارش کردند که افزایش انباشت آهن توسط ترکیبات هیومیکی را می‌توان ناشی از آزاد کردن مواد فنولی در ریزوسفر ریشه و بهبود احیا و جذب بیشتر آهن در اثر کاربرد این مواد دانست. حکیمی و فرزاسی‌سپهر (۲۳) گزارش کردند اسید هیومیک احتمالاً با تشکیل کمپلکس‌های فلز-لیگاند بر روی سطوح جذب کننده در نمونه خاک‌ها موجب افزایش جذب عناصر کم مصرف می‌شود.

لیتر مصرف همراه با آب آبیاری دیده شد و کمترین مقادیر آن‌ها با میانگین ۲/۲۰ و ۰/۴۷ گرم در گیاه مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۳). پیکولو و همکاران^۱ (۴۴) دریافتند که اصلاح و بهبود خاک با مواد هیومیکی، پایداری توده‌های خاک را افزایش می‌دهند آنها این پدیده را به توانایی مواد هیومیکی به تشکیل کمپلکس‌های رس هیومیک با اجزای آبدوست متمایل شده به مرکز توده و اجزای آبگریزی که به سمت خارج سو گرفته‌اند نسبت دادند. این عمل نفوذ آب به توده را کاهش می‌دهد که باعث می‌شود که آنها بیشتر در شرایط رطوبت و خشکی پایدارتر باشند. بهبود پایداری توده منجر به بهبود هوادهی خاک، تسهیل کردن نفوذ ریشه در خاک، دسترسی آب بیشتر برای گیاهان که به‌طور غیرمستقیم در افزایش بهره‌وری عناصر غذایی خاک تأثیر می‌گذارند (۸). محمدی‌پور و همکاران (۳۹) با مطالعه کاربرد اسید هیومیک به مقدار ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر بر عملکرد و اجزای عملکرد گیاه گشنیز نشان دادند که بیشترین وزن خشک، ارتفاع گیاه و تعداد برگ و گل مربوط به تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر مصرف خاکی اسید هیومیک بود. با این وجود، ترکمن (۴۸) گزارش کرد که کاربرد خاکی اسید هیومیک به میزان ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک موجب افزایش طول هیپوکوتیل، قطر ساقه، طول ساقه، وزن خشک، میزان عناصر غذایی و عملکرد گیاه فلفل شد. مای و همکاران (۳۶) نیز دریافتند که کاربرد اسید هیومیک به میزان ۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به صورت محلول پاشی بر روی خصوصیات اندازگیری شده مانند وزن خشک و تر، تعداد گل در گیاه، تعداد شاخه در گل همیشه بهار اثر قابل توجهی داشت. عزیزی و صفری (۳) گزارش کردند که محلول پاشی اسید هیومیک با غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر بر ارتفاع، شاخص سطح برگ، وزن خشک، تعداد شاخه

جدول (۳) مقایسه میانگین‌های نحوه کاربرد و سطوح مختلف اسید هیومیک بر پارامترهای رشد رویشی در گیاه کلزا
Table(3) Means comparison of application methods and different levels of humic acid on growth parameters of canola

عامل آزمایش	تعداد برگ	وزن تر برگ (گرم در گیاه)	وزن تر ساقه (گرم در گیاه)	وزن خشک برگ (گرم در گیاه)	وزن خشک ساقه (گرم در گیاه)
Experiment factor	Leaf No.	Leaf wet weight(gr plant ⁻¹)	Stem wet weight (gr plant ⁻¹)	Leaf dry weight (gr plant ⁻¹)	Stem dry weight (gr plant ⁻¹)
شاهد Blank	7.5 ^a	2.20 ^e	2.20 ⁱ	0.22 ^d	0.47 ^h
مصرف خاکی					
Soil application					
1 g kg ⁻¹ soil	7.5 ^a	3.25 ^{cb}	3.07 ^g	0.30 ^c	0.83 ^f
2 g kg ⁻¹ soil	8.25 ^a	2.83 ^d	3.44 ^f	0.32 ^{cb}	0.96 ^e
4 g kg ⁻¹ soil	8.25 ^a	3.17 ^c	4.81 ^c	0.31 ^c	0.98 ^e
مصرف با آبیاری					
With irrigation water					
1000 mg l ⁻¹	7.5 ^a	2.69 ^d	4.09 ^e	0.31 ^c	1.07 ^d
2000 mg l ⁻¹	7.5 ^a	3.43 ^a	5.92 ^a	0.35 ^{ab}	1.53 ^a
4000 mg l ⁻¹	7.5 ^a	3.37 ^{ab}	5.17 ^b	0.37 ^a	1.32 ^b
محلول پاشی					
Spraying					
0.1 %	7.75 ^a	2.29 ^e	2.84 ^h	0.25 ^d	0.75 ^g
0.2 %	7.50 ^a	2.80 ^d	3.57 ^f	0.32 ^{cd}	0.96 ^e
0.4 %	8.25 ^a	3.27 ^{ab}	4.35 ^d	0.35 ^{ab}	1.21 ^c

در هر ستون برای هر تیمار، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد هست

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

۱۰۰۰ و ۲۰۰۰) اسید هیومیک بر فرآهمی عناصر غذایی در گل رز میناتور گزارش کردند که بیشترین میزان آهن در برگ مربوط به تیمار ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر مصرف خاکی اسید هیومیک بود که این امر نشان دهنده آن است که تیمار-های خاکی اسید هیومیک نسبت به محلول پاشی تأثیر بیشتری در جذب آهن گیاه داشتند. چن و همکاران (۱۱) بیان داشتند که مواد هیومیکی اضافه شده به محلول عناصر غذایی، حلالیت عناصر آهن و روی را با تشکیل کمپلکس‌های فلز-هیومیک افزایش می‌دهند. کمپلکس‌های هیومیکی آهن در دسترس گیاه هستند، صرف نظر اینکه آنها از استراتژی اولیه (گیاهان دولپه و گیاهان غیر غلات تک لپه-ای) و یا استراتژی ثانویه (گیاهان تک لپه‌ای غلات) برای تحریک و دسترسی آهن استفاده می‌کنند.

یافته‌های این پژوهش نشان داد که تیمارهای مختلف محلول پاشی، مصرف خاکی و مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک، غلظت و میزان جذب آهن ساقه را نسبت به شاهد (عدم استفاده از اسید هیومیک) به طور معنی داری افزایش دادند. در هر سه نحوه کاربرد اسید هیومیک با افزایش غلظت اسید هیومیک، میزان غلظت و جذب آهن ساقه افزایش یافت. بیشترین میزان غلظت و جذب آن به ترتیب با میانگین‌های ۸۵ میلی گرم بر کیلوگرم و ۱۳۰/۶۷ میلی گرم بر گرم ماده خشک مربوط به تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک بود. همچنین تیمارهای خاکی اسید هیومیک نسبت به محلول-پاشی تأثیر بیشتری در میزان غلظت و جذب آهن داشتند. (جدول ۴). طالبی و همکاران (۴۶) در بررسی نحوه کاربرد (خاکی و محلول پاشی) و غلظت‌های مختلف (۰، ۵۰۰،

جدول (۴) مقایسه میانگین نحوه کاربرد و سطوح مختلف اسید هیومیک بر غلظت آهن و جذب آن در گیاه کلزا

Table (4) Means comparison of application methods and different levels of humic acid on concentration and uptake of iron in canola

عامل آزمایش	غلظت آهن	جذب آهن	غلظت آهن	جذب آهن	غلظت آهن ریشه	غلظت آهن
Experiment factor	برگ (میلی گرم بر کیلوگرم)	برگ (میلی گرم بر کیلوگرم خشک گیاه)	ساقه (میلی گرم بر کیلوگرم)	ساقه (میلی گرم بر کیلوگرم خشک گیاه)	(میلی گرم بر کیلوگرم)	دانه (میلی گرم بر کیلوگرم)
	Iron concentrations of leaf (mg kg ⁻¹)	Iron uptake of leaf (mg kg ⁻¹ dry plant)	Iron concentrations of stem (mg kg ⁻¹)	Iron uptake of leaf (mg kg ⁻¹ dry plant)	Iron concentration root (of mg kg ⁻¹)	Iron concentration of seed (mg kg ⁻¹)
شاهد Blank	120.50 ^j	26.65 ^e	54.62 ^f	29.96 ^h	66.75 ^a	171.43 ^g
مصرف خاکی Soil application						
1 g kg ⁻¹ soil	175.52 ⁱ	53.97 ^{cd}	63.25 ^e	52.49 ^f	66.75 ^a	270.82 ^e
2 g kg ⁻¹ soil	180.54 ^h	59.13 ^c	73.12 ^c	70.29 ^d	67 ^a	290.50 ^c
4 g kg ⁻¹ soil	192.31 ^f	60.09 ^c	78.25 ^b	76.50 ^c	67 ^a	290.50 ^c
مصرف با آبیاری With irrigation water						
1000 mg l ⁻¹	185.07 ^g	58.76 ^c	62.75 ^e	67.29 ^e	66.75 ^a	253.50 ^d
2000 mg l ⁻¹	304.61 ^c	72.63 ^b	85 ^a	130.67 ^a	66.25 ^a	321.25 ^a
4000 mg l ⁻¹	193.50 ^e	73.04 ^b	68.04 ^d	90.15 ^b	66.25 ^a	290.75 ^b
محلول پاشی Spraying						
0.1 %	201.49 ^d	50.34 ^d	63.12 ^e	47.33 ^g	66.75 ^a	201.50 ^f
0.2 %	226.62 ^b	73.09 ^b	69.53 ^d	66.74 ^e	67 ^a	210.25 ^e
0.4 %	245.46 ^a	87.78 ^a	75.37 ^c	91.66 ^b	67 ^a	210.25 ^e

در هر ستون برای هر تیمار، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد هست

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

تشکیل کمپلکس‌های آلی محلول از رسوب اکسیدهای آهن جلوگیری کرده و موجب افزایش پخشیدگی آهن به سمت ریشه گیاه می‌شوند. کمبود عناصری مثل آهن، روی و مس در خاک‌های قلیایی بسیار شایع است که دلیل آن تشکیل کمپلکس‌های نامحلول این عناصر در چنین شرایطی می‌باشد. اسید هیومیک علاوه بر اینکه خود منبع غنی از عناصر کم‌مصرف است، به آزاد سازی و جذب بهتر عناصر تثبیت شده نیز کمک می‌کند (۲۲).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که کاربرد سطوح مختلف اسید هیومیک بر مقدار غلظت آهن ریشه معنادار نشد (جدول ۴). بر اساس تحقیق حاضر، در هر سه روش کاربرد اسید هیومیک با افزایش غلظت اسید هیومیک، مقدار آهن دانه افزایش یافت. لکن بیشترین مقدار غلظت آهن دانه با میانگین ۳۲۱/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم مربوط به تیمار ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک بود (جدول ۴). پژوهش‌ها نشان می‌دهند که ترکیب‌های آلی نقش مهمی در فراهمی آهن گیاه دارند، مواد هیومیکی با

بیشترین مقدار فسفر ساقه در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر با میانگین ۰/۷۲ درصد مربوط به روش مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک و کمترین مقدار مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۰/۱۷ درصد بود. همچنین بیشترین مقدار جذب فسفر در ساقه نیز در تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر با میانگین ۱/۱۱ میلی گرم بر گرم ماده خشک دیده شد (جدول ۵). اسید هیومیک جذب سطحی فسفر را کاهش و فراهمی فسفر را در خاک افزایش می دهد اگر چه مقدار این اثر در خاک های آهکی که حاوی کلسیم و منیزیم هستند متفاوت است (۳۵). اسید هیومیک موثرترین ترکیب در میان ترکیبات ارگانیک مورد مطالعه، در انسداد مکان های جذب فسفر در سطح هیدروکسیدها آلومینیم است (۲۱). همچنین هو^۵ (۲۶) اعتقاد داشت که رقابت اسیدهای آلی از جمله مالیک و استیک با فسفر برای مکان های جذب، در آزادسازی فسفر به محلول خاک نقش مهمی دارد. علاوه بر این تولید اسیدهای آلی مانند اسید سیتریک در نتیجه تجزیه مواد آلی می تواند در کاهش pH خاک های آهکی و در نتیجه افزایش فراهمی فسفر در خاک مؤثر باشند (۳۸). جونز و همکاران^۶ (۲۸) نیز گزارش کردند که اسید هیومیک به دلیل در دسترس قرار دادن عنصر فسفر و سایر عناصر غذایی برای گیاه گندم، سبب افزایش عملکرد در مرحله زایشی دانه بندی شد. بیشترین مقدار فسفر ریشه با میانگین ۰/۴۰۵ درصد در تیمار ۴ گرم بر کیلوگرم مربوط مصرف خاکی اسید هیومیک بود. همچنین بیشترین مقدار فسفر در دانه با میانگین ۰/۸۹۷ درصد مربوط به تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک بود هر چند با تیمار ۴۰۰۰ میلی گرم بر لیتر مصرف همراه با آب آبیاری از لحاظ آماری اختلاف معنی دار نداشت (جدول ۵). افزایش غلظت اسید هیومیک به ۲۰۰۰ میلی گرم در لیتر در مقایسه با شاهد منجر به افزایش ۲۷/۲۳ درصد مقدار غلظت فسفر در دانه کلزا شد (جدول ۵).

مقایسه میانگین های غلظت و جذب فسفر در برگ ها نشان داد که تیمار ۲۰۰۰ میلی گرم بر لیتر مصرف همراه با آب آبیاری به ترتیب با میانگین ۰/۴۰ درصد و ۰/۱۴۳ میلی گرم بر گرم ماده خشک بیشترین غلظت و جذب فسفر برگ را داشت (جدول ۵). واگان و همکاران^۱ (۵۱) در آزمایش مزرعه ای اسید هیومیک را به همراه کود فسفره به خاک اضافه نموده و دریافتند که غلظت های ۵ تا ۵۰ میلی گرم در لیتر اسید هیومیک سبب افزایش معنی داری در جذب فسفر شد. آنان مشاهده نمودند که میزان جذب فسفر، ۲۵ درصد نسبت به عدم حضور اسید هیومیک افزایش یافت. سیمیرین و ایلیمز^۲ (۱۲) با مطالعه اسید هیومیک و فسفر بر رشد و مقدار عناصر غذایی کاهو اظهار داشتند که اسید هیومیک و فسفر و ارتباط متقابل این دو مقدار نیتروژن کاهو را افزایش داده و موجب افزایش قابلیت دسترسی به فسفر گردید. حیدری و خلیلی (۲۵) گزارش کردند که محلول پاشی اسید هیومیک باعث افزایش جذب فسفر، افزایش مقادیر رنگدانه های فتوسنتزی و نیز بهبود اجزای عملکرد دانه و گل در گیاه چای ترش شد. براساس نظر تی لوا و بومه^۳ (۴۷) اسید هیومیک دارای فعالیت شبه هورمونی است و جذب عناصر معدنی همانند فسفر و پتاسیم را در گیاهان افزایش می دهد. کایا و همکاران^۴ (۳۱) گزارش کردند اسید هیومیک نقش مهمی در جذب عناصر غذایی دارد. این ترکیب با افزایش جذب عناصر غذایی پرمصرف و کم مصرف در گیاهان سبب افزایش رشد و عملکرد آنها می شود. الهوردی و نظری دلجو (۱۶) گزارش کردند که کاربرد اسید هیومیک به میزان ۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم بر لیتر در محلول های غذایی نقش به سزایی در افزایش جذب فسفر توسط گل همیشه بهار داشت. آنان دریافتند که بیشترین میزان جذب فسفر در اندام های هوایی مربوط به غلظت ۲۵۰ میلی گرم بر لیتر بود.

1 - Vaughan *et al.*

2 - Cimrin and Yilmaz

3 - Thi Lua and Bome

4 - Kaya *et al.*

5 - Hue

6 - Jones *et al.*

جدول (۵) مقایسه میانگین نحوه کاربرد و سطوح مختلف اسید هیومیک بر غلظت فسفر و جذب آن در گیاه کلزا

Table (5) Means comparison of application methods and different levels of humic acid on concentration and uptake of phosphorous in canola

عامل آزمایش	غلظت فسفر برگ (درصد)	جذب فسفر برگ (گرم در گیاه)	غلظت ساقه (درصد)	جذب فسفر ساقه (گرم در گیاه)	غلظت فسفر ریشه (درصد)	غلظت فسفر دانه (درصد)
Experiment factor	P concentration of leaf (%)	P uptake of leaf (gr plant ⁻¹)	ساقه (درصد) P concentration of stem (%)	P uptake leaf (gr plant ⁻¹) of	P concentration of root (%)	P concentration of seed (%)
شاهد Blank	0.14 ^h	0.031 ^f	0.17 ^h	0.8 ^h	0.142 ^g	0.705 ^f
مصرف خاکی Soil application						
1 g kg ⁻¹ soil	0.20 ^f	0.062 ^{de}	0.42 ^e	0.35 ^f	195 ^d	0.785 ^d
2 g kg ⁻¹ soil	0.24 ^d	0.080 ^c	0.50 ^d	0.48 ^d	0.285 ^b	0.832 ^c
4 g kg ⁻¹ soil	0.29 ^c	0.090 ^b	0.56 ^c	0.54 ^c	0.405 ^a	0.865 ^b
مصرف با آبیاری With irrigation water						
1000 mg l ⁻¹	0.21 ^e	0.069 ^d	0.42 ^e	0.45 ^e	0.165 ^e	0.832 ^c
2000 mg l ⁻¹	0.40 ^a	0.143 ^a	0.72 ^a	1.11 ^a	0.216 ^c	0.897 ^a
4000 mg l ⁻¹	0.37 ^b	0.138 ^a	0.69 ^b	0.91 ^b	0.217 ^c	0.895 ^a
محلول پاشی Spraying						
0.1 %	0.15 ^h	0.037 ^f	0.29 ^g	0.21 ^g	0.155 ^f	0.705 ^f
0.2 %	0.17 ^g	0.056 ^e	0.35 ^f	0.33 ^f	0.165 ^e	0.701 ^f
0.4 %	0.18 ^g	0.069 ^d	0.36 ^f	0.44 ^e	0.170 ^e	0.717 ^e

در هر ستون برای هر تیمار، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد هست

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

جذب و انتقال فسفر در خاک افزایش می یابد. افزودن اسید هیومیک باعث بهبود قابلیت دسترسی فسفر خاک و حتی افزایش بازدهی فسفر قابل استفاده در خاک های آهکی می شود (۴۳). نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد اسید هیومیک باعث افزایش غلظت آهن و فسفر در گیاه کلزا شد. اسید هیومیک می تواند مستقیماً عناصر مختلف را از مواد معدنی آزاد کرده، به خود جذب نموده و در زمان مناسب در اختیار ریشه قرار دهد. ثانیاً اسید هیومیک خوراک و محرک رشد ریزجانداران مفید خاک است که با روش های گوناگون به آزاد سازی عناصر در خاک کمک می کنند (۳۷). سپهر و

کلاسن و جونز (۱۳) گزارش کردند که ملکول های هیومیک به سطح رس ها و ذرات اکسید های هیدراته فلزات چسبیده و روی مکان های تثبیت کننده فسفر را می پوشانند یا با آهن و آلومینیم کمپلکس های پایدار به نام کیلیت تشکیل می دهند و مانع از واکنش این فلزات با یون فسفر محلول خاک می شوند همچنین با زیاد شدن ماده آلی خاک ممکن است میزان معدنی شدن فسفر آلی هم زیاد شود. ژن و همکاران^۱ (۵۵) گزارش کردند که به کاربرد اسید هیومیک با منوفسفات کلسیم قابلیت

میلی گرم در لیتر مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک از دو روش مصرف خاکی و محلول پاشی اسید هیومیک مؤثرتر بود. تأثیرات اسید هیومیک نه تنها به غلظت مصرفی اسید هیومیک بلکه به روش کاربرد آن نیز وابسته است. با اینحال، هنوز هم پرسش‌هایی بی پاسخ باقی می ماند. مشخص نیست که محلول پاشی اسید هیومیک بطور مستقیم سبب افزایش ویژگی‌های رشد رویشی و فراهمی آهن و فسفر می شود یا اینکه مرتبط با تولید بیشتر شبه هورمون‌ها (اکسین و سائتوکینین)، اسیدهای نوکلئیک و اسیدهای آمینه در کل گیاه به خصوص در ریشه‌ها است یا خیر. شفاف سازی این ابهامات می تواند منجر به درک بهتر از نقش دقیق محلول پاشی اسید هیومیک در فراهمی عناصر غذایی باشد.

زبردست (۴۵) گزارش کردند که مصرف مواد هیومیکی و کودهای فسفات از طریق رقابت بر سر مکان‌های جذب و در نتیجه کاهش تثبیت فسفر در خاک، می تواند گامی مهم در کاهش مصرف کودهای فسفر در نتیجه کاهش اثرات زیست محیطی باشد. از آنجا که اسید هیومیک منبعی با ارزش از عناصر غذایی پرمصرف و کم مصرف است، هنگام کاربرد همزمان با کودهای شیمیایی تعادل تغذیه‌ای مناسبی را برای گیاه فراهم می کنند و به جذب بیشتر عناصر غذایی و پاسخ‌های عملکردی مشخص در گیاه منجر می شوند.

نتیجه گیری

به طور کلی کاربرد اسید هیومیک می تواند باعث افزایش پارامترهای رشد رویشی، فراهمی عناصر کم-مصرف و فسفر در نتیجه کاهش مصرف کود شیمیایی و آلودگی محیط زیست شود. نتایج حاصل از یافته‌ها نشان داد که روش‌های مصرف خاکی، محلول پاشی و مصرف همراه آب آبیاری اسید هیومیک نسبت به شاهد موجب افزایش ویژگی‌های رشد رویشی و فراهمی آهن و فسفر در گیاه کلزا شدند اما در مجموع تیمار ۲۰۰۰

منابع

1. Abedi, T., and Pakniyat, H. 2010. Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 46(1): 27-34.
2. Abel-Mawgoand, A.M.R., El-Greadly, N.H.M., Helmy, Y.I., and Singer, S.M. 2007. Responses of tomato plants to different rates of humic-based fertilizer and NPK fertilization. *Journal of Applied Sciences Research*, 3: 169-174.
3. Azizi, M., and Safaei, Z 2013. Effect of Humic Acid and Nanocyd Pharmax Spray on Oil and Essential Oil Seed Oil (*Nigella sativa*). *First National Conference on Medicinal Plants and Sustainable Agriculture*, Hamedan, Hegmataneh Environmental Assessment Center, 30(4): 671-680. (in Persian).

4. Berg Marlene, G., and Hugh Gardner, E. 1978. Methods of soil analysis used in the soil testing laboratory at Oregon State University. Corvallis, Or. Agricultural Experiment Station, Oregon State University, 89: 4-16.
5. Boehme, M., Schevtschenko, J., and Pinker, I. 2005. Iron supply of cucumbers in substrate culture with humate. *Acta Horticulturae*, 41: 329-335.
6. Bremner, J.M., and Mulvaney, C.S. 1982. Nitrogen total. *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological*.
7. Broadley, M., Brown, P.I.C., Rengel, Z., and Zhao, F. 2012. Function of nutrients: micronutrients. In: Marschner, P. (Ed.), *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Elsevier, Amsterdam.
8. Bronick, C.J., and Lal, R. 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma*, 124: 3-22.
9. Cacco, G., Attina, E., Gelsomino, A., and Sidari, M. 2000. Effect of nitrate and humic substances of different molecular size on kinetic parameters of nitrate uptake in wheat seedlings. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 163: 313-320.
10. Chapman, H.D. 1965. Cation exchange capacity. In: *Methods of Soil Analysis. Part 2*. Black CA (ed). American Society of Agronomy, Madison, Wis, USA . Pp. 891- 901.
11. Chen, Y., Clapp, C.E., and Magen, H. 2004. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: the role of organo-iron complexes. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50: 1089–1095.
12. Cimrin, M.K., and Yilmaz, I. 2005. Humic acid application to lettuce do not improve yield but do improve phosphorus availability. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Plant Soil Science*, 55(1): 58- 63.
13. Classen, N., and Jones, D.L. 2004. Phosphorus solubilization by citrate in soil of low p availibility effect and mechanisms. *Rhizosphere international on gress abstract*, 145: 12-17.
14. Cordeiro, F., Catarina, C., Silveira, V., and Souza, S. 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.
15. Ding, X., Song, X., and Boily, J.F. 2012. Identification of fluoride and phosphate binding sites at FeOOH surfaces. *The Journal of Physical Chemistry*, 116(41): 21939-21947.
16. Elahvirdizade, N., Nazari deljou, M.J. 2019. Effect of humic acid on morphophysiological indices, nutrient uptake and durability of post harvest harvest of marigold (*Calendula officinalis* cv. *Crysantha*) in Hydroponic System. *Science and Technology of Greenhouse Crops*, 5(18): 133-142.
17. Emami, M. 1996. Legs analysis methods *Technical Journal number 982*. Soil and Water Research Institute, Tehran. Iran. 2: 128-128.

18. Farajzadeh, M., and Nikeghbal, M., 2007. Evaluation medalus model eor desertification hazard zonation using GIS; study area: iyzad khast plain, Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10 (16): 2622- 2630.
19. Frey, P.A., and Reed, G.H. 2012. The ubiquity of iron. *ACS Chemical Biology*, 7: 1477–1481.
20. Gee, G.H. and Bauder, J.W. 1986. Particle size analysis, In *Methods of Soil Analysis. Part 2, Physical properties*. SSSA: Madison,WI. 383-409.
21. Guan, X.H., Shang, C., Chen, G.H. 2006. Competitive adsorption of organic matter with phosphate on aluminum hydroxide. *Journal of Colloid and Interface Science*, 296(1): 51-58.
22. Hakan, C., Vahap Katkat, A., Bulent Asik, B., and Turan, M.A. 2011. effect of foliar applied humic acid to dry weight and mineral nutrient uptake of maize under calcareous soil conditions communications. *Soil Science and Plant Analysis*, 42(1): 29-38.
23. Hakimi, L., and Farzami sepehr, M. 2016. Investigating the accumulation of iron, copper and antioxidant response of dominant plant species around the Sorkhe township in Marand. *Journal of Plant Peril Physiology*,10(40): 21-30.
24. Hartwigson, J.A., and Evans, M.R. 2000. Humicacid seed and substrate treatments promote seedling root development. *Horticultural Science*, 35(7): 1231-1233.
25. Heidari, M., Khalili, S. 2014. Effect of Humic Acid and P Phosphorus on Grain and Flower, Photosynthetic Pigments and Mineral Ingredients in Sour Tea (*Hisbiscus sabdariffa* L). *Journal of Iranian Crop Sciences*, 45(2): 191-193.
26. Hue, N.V. 1991. Effects of organic acids/anions on P sorption and phytoavailability in soils with different mineralogies. *Soil Science*, 152(6): 463-471.
27. Jackosn, M.L. 1973. *Soil Chemical Analysis* Prentice Halla of India Private Limited. New Delhi, indian, 250p.
28. Jones, C.A., Jacobsen, J.S., and Mugaas, A. 2004. Effects of humic acid on phosphorus avaliability and spring wheat yield. *Facts Fertilizer*, 32.
29. Jones, J.B., and Case., V.W. 1990. Sampling, handling and analyzing plant tissue samples. *Sampling, handling and analyzing plant tissue samples*, (Ed. 3), 389-427.
30. Katkat, A.V., Celik, H., Turan, M.A., and Boulet, B. 2009. Effects of soil and foliar applications of humic substances on dry weight and mineral nutrients uptake of wheat under calcareous soil conditions. *Australian. Journal of Basic Applied Science*, 3: 1266-1273.
31. Kaya, C., Higgs, D., and Kirnak, H. 2001. The Effects of salinity and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 27(3-4): 47-59.

32. Kulikova, N.A., and Perminova, I.V. 2002. Binding of atrazine to humic substances from soil, peat, and coal related to their structure. *Environmental. Science and Technology*, 36: 3720-3724.
33. Lee, Y.S., and Bartlette, R.J. 1976. Stimulation of plant growth by humic substances. *Soil Science Society of America Journal*, 40: 876-879.
34. Lindsay, W.L., and Norvell, W.A. 1978. Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42(3): 421-428.
35. Maluf, H.J.G.M., Silva, C.A., Curi, N., Norton, L.D., and Rosa, S.D. 2018. Adsorption and availability of phosphorus in response to humic acid rates in soils limed with CaCO₃ or MgCO₃. *Ciência e Agrotecnologia*, 42(1): 7-20.
36. Mayi, A.A., Ramazan Ibrahim, Z., and Abdurrahmano, A.S. 2014. Effect of foliar spray of humic acid, ascorbic acid, cultivars and their interactions on growth of Olive (*Olea European L.*) Transplants Cvs. Khithairy and Sorany, *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 7(4): 18-30.
37. Merkl, N., Hoogen, V., Hoogen, H., and Bens, O. 2006. Humic acid-based soil conditioners for soil cultivation in arid and semiarid climates: Potential for the economization of water and fertilizers. *international Symposium on Drylands and ecology and human security, isdehs, sharjah, uae.*
38. Mohammadiaria M., Lakzaeian A., and Haghnia Gh. 2011. Effect of Inoculant Containing *Thiobacillus* and *Aspergillus* on Corn Growth. *Iranian Journal of Agricultural Research*, 8(11): 82-89. (In Persian).
39. Mohammadipour, E., Golchin, A., Mohammadi, J., Negahdar, N., and Zarchini, M. 2012. Effect of humic acid on yield and quality of marigold (*Calendula officinalis L.*). *Annals of Biological Research*, 3(11): 5095-5098.
40. Nardi, S., Muscolo, A., Vaccaro, S., Baiano, S., Spaccini, R., and Piccolo, A. 2007. Relationship between molecular characteristics of soil humic fractions and glycolytic pathway and krebs cycle in maize seedlings. *Soil Biology and Biochemistry*, 39: 3138-3146.
41. Nikolic, M., Cesco, S., Romheld, V., Varanini, Z., and Pinton, R. 2003. Uptake of iron (Fe-59) complexed to water-extractable humic substances by sunflower leaves. *Journal of Plant Nutrition*, 26(10): 2243-2252.
42. Olsen, S.R. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. *United States Department Of Agriculture; Washington.*
43. Perassi, I., and Borgnino, L. 2014. Adsorption and surface precipitation of phosphate onto CaCO₃-montmorillonite: effect of pH, ionic strength and competition with humic acid. *Geoderma*, 232: 600-608.

44. Piccolo, A., Celanoand, G., and Pietramellara, G. 1993. Effects of fractions of coal-derived humic substances on seed germination and growth of seedlings (*Lactuca sativa* and *Lycopersicon esculentum*). *Biology and Fertility of Soils*, 16: 11-15.
45. Sepehr, I., and zebardast, V.R. 2013. Effect of Humic Acid on Phosphorus Absorption Behavior in a Calcareous Soil. *Journal water and soil (Agriculture Sciences and Technology)*, 27(4): 720-731.
46. Talebi, P., Jabarzadeh, M., and Sedighani, R. 2018. Effect of Azideomic Application on Some Physiological Features of Seven-Color Miniature Roses. *Process and Plant Application*, 4(18): 789-804. (In Persian).
47. Thi Lua, H., and Bome, M. 2001. The influence of humic acid on tomato in hydroponic system. *Acta Horticulturae*, 548: 451-458.
48. Turkmen, O. 2005. Effects of arbuscular mycorrhizal fungus and humic acid on the seedling development and nutrient content of pepper grown under saline soil conditions. *Journal of Biological sciences*, 5(5): 568-574.
49. Turkmen, O., Dursun, A., Turan, M., and Erdinc, C. 2004. Calcium and humic acid affect seed germination, growth, and nutrient content of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings under saline soil conditions. *Acta Agriculture Scandinavica*, 7: 168-174.
50. Vatankhah, A., Mohammadkhani, A.R., Hushmand, S., and Kiani, Sh. 2015. Investigation on the effect of humic acid and zinc element on fruit quality and quantity, photosynthetic pigments and concentration of some elements in Asgari cultivar. *To agricultural crop*, 18(2): 303-318. (In Persian).
51. Vaughan, D., and Malcolm, R.E. 1979. Effect of soil organic matter on peroxidase activity of wheat roots. *Soil Biology and Biochemistry*, 11(1): 57-63.
52. Walkley, A., and Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37(1): 29-38.
53. Whalen, J.K., Chang, C., and Olson, B.M. 2001. Nitrogen and phosphorus mineralization potentials of soils receiving repeated annual cattle manure applications. *Biology and Fertility of Soils*, 34: 334-341.
54. Xie, R.J., OHalloran, I.P., Mackenzie, A.F., and Fyles, J.W. 1993. Phosphate sorption and desorption as effected by addition sequences on ammonium lignosulphonate and diammonium phosphate in a clay soil. *Canadian Journal of Soil Science*, 73: 275-285.
55. Zhen-Yu, D.U., Qing-Hua, W.A.N.G., Fang-Chun, L.I.U., Hai-Lin, M.A., Bing-Yao, M.A., and Malhi, S.S. 2013. Movement of phosphorus in a calcareous soil as affected by humic acid. *Pedosphere* 23(2): 229-235.
56. Zhou, D. 2011. An in-vitro model of calcium phosphate mineralization in bone: transformation from amorphous calcium phosphate to apatite. (Thesis (M.S.) Central Michigan University.