نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۶، بهمن – اسفند ۱۳۹۸، ص. ۸۸۴-۸۷۳

Journal of Water and Soil
Vol. 33, No. 6, Jan-Feb. 2020, p. 873-884

اثر اسید هیومیک بر فراهمی کود فسفر و برخی صفات فیزیولوژیکی گیاه کلزا

آمنه جهاندیده[۱]- مجتبی بارانی مطلق[۲*]- اسماعیل دردی پور[۳]- رضا قربانی نصرآبادی[۴]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۱۰
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۰۷

چکیده

فسفر در مقایسه با دیگر مواد مغذی ضروری، دارای تحرک و قابلیت دسترسی کمتر برای گیاهان است. اگر چه فسفر به اشکال آلی و غیر آلی در خاک‌ها فراوان است، اما اغلب عامل مهم یا حتی محدود کننده اصلی برای رشد گیاه است. در این پژوهش اثرات مصرف هم‌زمان اسید هیومیک و کود فسفر و روش‌های کاربرد آن بر صفات فیزیولوژیک و فراهمی فسفر در گیاه کلزا (رقم هایولا ۵۰) مورد بررسی قرار گرفت، بدین منظور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار به‌صورت گلدانی به اجرا درآمد. تیمارهای شامل فسفر در سه سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کود سوپرفسفات تریپل بر کیلوگرم خاک)، اسید هیومیک در سه سطح (۰، ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم خاک) و روش‌های کاربرد همزمان اسید هیومیک و فسفر بود. اثرات متقابل اسید هیومیک و فسفر و روش‌های کاربرد آن بر تمام صفات اندازه‌گیری شده در سطح یک درصد معنی‌دار شد. نتایج اثرات متقابل سه‌جانبه سطوح اسید هیومیک، سطوح فسفر و روش‌های کاربرد نشان داد که بیشترین مقادیر در انواع کلروفیل (a، b و ab) و کارتنوئید در تیمار کودی ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر و سطح ۱ گرم بر کیلوگرم مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک به‌دست آمد. بیشترین مقدار غلظت فسفر اندام هوایی با میانگین ۰/۳۰ درصد در تیمار یک گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک همراه با آب آبیاری با سطح ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر مشاهده شد هر چند با تیمار ۰/۵ گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک همراه با آب آبیاری از لحاظ آماری اختلاف نداشت. بیشترین مقدار فسفر عصاره‌گیری شده به روش اولسن با میانگین ۴۱/۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم و روش سلطان‌پور و شواب با میانگین ۵/۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم فسفر و مصرف خاکی یک گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک بود. همچنین همبستگی بالا و معنی‌داری بین فسفر عصاره‌گیری شده به روش اولسن و سلطان‌پور و شواب با صفات مورد مطالعه مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد که استفاده از فسفر همراه با اسید هیومیک، بیشتر از کاربرد فسفر به تنهایی، می‌تواند باعث افزایش فسفر قابل‌دسترس در خاک و نیز غلظت فسفر در گیاه کلزا (هایولا ۵۰) شود.

واژه‌های کلیدی: اندام هوایی، کلروفیل، کارتنوئید، وزن تر و خشک

مقدمه

فسفر در بسیاری از فرآیندهای مهم رشد گیاه دخیل می‌باشد و نقش اساسی در ذخیره و انتقال انرژی دارد. فسفر عنصری ضروری در مولکول DNA و RNA، فسفولیپدها، فسفوپروتئین‌ها، کوآنزیم‌ها و نوکلئوتیدها بوده و جزء ترکیبات مهم ساختمان غشا سلولی بوده و لذا در رشد و توسعه اندام‌های زایشی (میوه و بذر) نیز دخیل می‌باشد (۲۲). حرکت فسفر در خاک عمدتاً به صورت انتشار بوده و شیب غلظتی که در نتیجه جذب فسفر توسط گیاه به وجود می‌آید، عامل اصلی انتشار فسفر در خاک است (۵). ناکافی بودن جذب فسفر توسط ریشه، محدودیت مهمی در رشد گیاهان به شمار می‌رود (۴۰). از این رو، مدیریت مناسب کودهای فسفر برای به دست آوردن محصول بهینه، مهم می‌باشد. به دلیل شیمی پیچیده فسفر در خاک، تقریباً ۱۵ تا ۳۰ درصد فسفر مصرف شده، مورد استفاده گیاه قرار می‌گیرد و بقیه آن در خاک تثبیت شده و به شکل غیر قابل دسترس برای گیاه تجمع می‌یابد (۴۷). مصرف غیراصولی و بلندمدت کودهای شیمیایی سبب تخریب تدریجی کیفیت خاک، کاهش ارزش کیفی محصول، برهم زدن تعادل اکوسیستم و گسترش آلودگی محیطی شده است. لزوم سلامت محصولات تولید شده در نظام‌های مختلف کشاورزی از نظر وجود بقایای سموم و مواد شیمیایی و تأثیر آنها بر سلامت انسان و محیط زیست، سبب شده است تا روش‌های تولید و نهاده‌های بکار رفته مورد توجه خاص قرارگیرند. از مهم‌ترین مسائل مؤثر بر سلامت محیط زیست و پایداری تولید غذا، کاربرد کودهای آلی به‌جای کودهای شیمیایی می‌باشد (۴۱). استفاده از انواع کودهای طبیعی از جمله اسید هیومیک بدون اثرات مخرب زیست محیطی به خصوص در شرایط متغیر محیطی می‌تواند مثمر ثمر واقع شود، لذا از اسید هیومیک به عنوان کود آلی دوستدار طبیعت نام برده می‌شود. اسید هیومیک در آب به خوبی حل شده و با کودهای دیگر مایع، قابل اختلاط می‌باشد و می‌توان آن را از طریق محلول‌پاشی، مصرف خاکی

۱، ۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیاران و استادیار، دانشکده مهندسی آب و خاک، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
(*- نویسنده مسئول: Email: mbarani@gau.ac.ir)
DOI: 10.22067/jsw.v33i6.77449

و سیستم‌های آبیاری تحت فشار مورد استفاده قرار داد (۴۱). اسید هیومیک از طریق اثرات هورمونی و با تأثیر بر متابولیسم سلول‌های گیاهی و با قدرت کی‌لیت‌کنندگی و افزایش جذب عناصر غذایی، سبب افزایش رشد گیاه می‌شود (۳۴). افزون بر این، اسید هیومیک باعث افزایش جذب نیتروژن، پتاسیم، فسفر، کلسیم و منیزیم و همچنین کاهش اثرات تنش خشکی در گیاه می‌گردد (۴۸). اسید هیومیک حاوی بسیاری از عناصر غذایی نیز می‌باشد که حاصلخیزی خاک و محتوایی مواد آلی خاک را افزایش و در نتیجه رشد و عملکرد گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۱). هارپر و همکاران (۲۰) گزارش کردند که دسترسی به کلسیم و فسفر در حضور اسید هیومیک از طریق جلوگیری از ایجاد نمک غیرمحلول فسفات کلسیم افزایش می‌یابد. واریندرپال و همکاران (۵۱) گزارش کردند که فسفر در خاک واکنش‌های گوناگونی مانند جذب سطحی، رسوب، تثبیت و رهاسازی دارد. از جمله عوامل مؤثر بر واکنش‌های فسفر در خاک زمان است. معمولاً استفاده ازکودهای آلی، جذب فسفر، بیشینه ظرفیت بافری و انرژی پیوندی را کاهش و غلظت فسفر را در محلول خاک افزایش می‌دهد. مواد آلی می‌تواند به‌صورت پوششی محافظ در اطراف ذرات کود یا به عنوان پیونددهنده فسفر در محل‌های تبادل آنیونی و یا از طریق واکنش با فسفر و تشکیل ترکیبات فسفر آلی عمل نماید. در تمامی موارد، قابلیت استفاده فسفر برای گیاه افزایش می‌یابد و به تدریج فسفر در محلول خاک آزاد می‌شود (۴). مواد آلی سطوح کربنات کلسیم را اشغال و از تشکیل رسوب هیدروکسی آپاتیت جلوگیری می‌کنند (۲۴). لایتن و وسترمن (۳۰) گزارش کردند که کمپلکس‌های آلی فلزی، با جذب فسفر از محلول خاک و تشکیل پل کاتیونی بین فسفر و کربن آلی، سبب خروج فسفر از محلول خاک می‌شوند. فسفر و اسید هیومیک از عوامل محرک رشد رویشی، بهبود رشد زایشی و افزایش عملکرد کمی و کیفی در انواع گیاهان به شمار می‌روند. در این بین تأثیرات مثبت به مقدار و چگونگی مصرف آنها بستگی دارد. در این راستا، این پژوهش با هدف بررسی اثرات مصرف هم‌زمان اسید هیومیک و کود فسفر و روش‌های کاربرد آن بر فراهمی فسفر در گیاه کلزا (هایولا۵۰) و همچنین بررسی ضرایب همبستگی بین فسفر استخراج شده به روش‌های مختلف عصاره‌گیری با غلظت فسفر و شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیک گیاه کلزا انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، تأثیر کاربرد همزمان اسید هیومیک و کود فسفر بر فراهمی فسفر و انواع کلروفیل (a، b و کل) در گیاه کلزا (رقم هایولا ۵۰) مورد بررسی قرار گرفت. خاک مورد استفاده از عمق ۳۰-صفر سانتی‌متری مزرعه تحقیقاتی شماره ۱ دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان با مختصات جغرافیایی N: 36° 49' 39.34 و E: 54° 19' 25.56 برداشت شد و پس از هوا خشک‌کردن ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نظیر بافت خاک (۷) کربنات کلسیم معادل به روش خنثی‌سازی با اسید (۳۷)، pH و قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع، کربن آلی (۵۲)، ظرفیت تبادل کاتیونی (۱۰)، نیتروژن کل به روش کجلدال (۹)، فسفر عصاره‌گیری شده با روش اولسن (۳۶) و پتاسیم قابل‌استفاده با استفاده از استات‌آمونیوم (۷) اندازه‌گیری شدند (جدول ۱). سپس آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار به‌صورت گلدانی به اجرا درآمد. تیمارها شامل فسفر در سه سطح (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم کود سوپر فسفات تریپل بر کیلوگرم خاک) و اسید هیومیک در سه سطح (۰، ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم خاک) و روش‌های مختلف مصرف همزمان اسید هیومیک و کود فسفر بود. اسید هیومیک و کود فسفر به شکل‌های مختلف باهم مخلوط و مصرف شدند که عبارتند از: اختلاط خاکی و همزمان اسید هیومیک و کود فسفر، حل نمودن اسید هومیک و فسفر در آب آبیاری و کاربرد آنها همراه با آب آبیاری، کود فسفر پوشش داده شده[1] با اسید هیومیک جامد قبل از کاربرد در خاک بود. اسید هیومیک مورد استفاده در این آزمایش اسید هیومیک ۸۰ درصد (شرکت J.H.BIOTECH، آمریکا) با نام تجاری هیومکس (Humax-95WSG) بود (جدول ۲). بر اساس آزمون خاک عناصر نیتروژن و پتاسیم لازم جهت کوددهی خاک از منبع‌های اوره و سولفات‌پتاسیم و عناصر کم مصرف از منبع سولفات تأمین شد. مصرف کود پتاسیم و عناصر کم مصرف در زمان کاشت گیاه ولی کود نیتروژن به سه قسمت مساوی و در سه مرحله کاشت، به ساقه رفتن و گلدهی به گلدان‌ها اضافه شد. سپس تعداد ۱۰ عدد بذر در هر گلدان در عمق ۲ سانتی‌متری خاک کاشته شد. پس از سبز شدن و گذشت دو هفته، تعداد بوته‌ها به چهار عدد در هر گلدان تقلیل یافت. 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 ۱۵۸ روز) گیاهان برداشت و با آب شهری سپس با آب مقطر شسته و روی تورهای پلاستیکی پخش شد تا آب اضافی موجود در سطح آنها حذف شود. سپس وزن تر نمونه‌ها با ترازوی دقیق اندازه‌گیری شد. بلافاصله نمونه‌ها داخل آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و بعد از آن وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری گردید. هضم نمونه‌های گیاهی با روش خشک سوزانی انجام گرفت (۲۵). اندازه گیری غلظت فسفر عصاره‌های گیاهی با روش مولیبدات وانادات یا روش زرد (۱۵) و میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید در برگ‌ها با استفاده از روش بارنس (۶) اندازه‌گیری شد. به منظور استخراج کلروفیل و کارتنوئید ابتدا ۰/۵ گرم برگ تر از هر تکرار توزین و با ۱۰ میلی‌لیتر دی متیل سولفوکسید (DMSO) مخلوط شد. پس از قرار دادن نمونه‌ها در آون ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت سه ساعت، از عصاره حاصل ۱ میلی‌لیتر برداشته شد و با

1- Coated

DMSO به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد. از DMSO خالص به عنوان شاهد استفاده شد. نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۴۵، ۶۶۳، ۴۸۰، ۵۱۰ نانومتر قرائت شدند و با استفاده از فرمول‌های زیر کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتنوئید محاسبه گردید. در این روابط، A بیانگر جذب طول موج بر حسب نانومتر، V حجم نهایی کلروفیل در استون و W وزن تر بافت برحسب گرم می باشد:

غلظت کلروفیل a =
$$12.7(663A) - 2.69(645A) * V/ W* 1000 \quad (۱)$$

غلظت کلروفیل b =
$$22.9(645A) - 4.68(663A) * V/ W *1000 \quad (۲)$$

غلظت کلروفیل کل =
$$20.9 (645A) - 8.02(663A) * V/ W* 1000 \quad (۳)$$

غلظت کارتنوئید =
$$7.6 (480A) – 1.49(510A) * V/ W* 1000 \quad (۴)$$

پس از برداشت گیاهان، بلافاصله خاک گلدان‌ها هوا خشک و از الک ۲ میلی‌متری عبور داده شد. سپس مقدار فسفر خاک توسط بی کربنات آمونیوم- دی تی پی ای (۴۵) و بی کربنات سدیم (۳۶) تعیین شد. تجزیه نتایج آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم-افزار SAS 9.0 انجام و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD (در سطح احتمال ۵ درصد) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح اسید هیومیک، سطوح فسفر و روش‌های کاربرد آن‌ها بر وزن تر و خشک اندام هوایی و رنگدانه‌های فتوسنتزی (a، b و کارتنوئید) گیاه کلزا در جدول ۳ ارائه شده است. مطابق جدول تجزیه واریانس، اثرات اصلی تیمارهای مورد بررسی و اثرات متقابل آنها بر وزن تر و خشک اندام‌های هوایی در سطح یک درصد معنی‌دار بود لکن اثر متقابل سه‌گانه اسید هیومیک، فسفر و کاربرد روش‌های آن بر وزن خشک اندام‌های هوایی معنی‌دار نشد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل سطوح مختلف اسید هیومیک و سطوح فسفر و روش کاربرد آنها نشان داد که بیشترین وزن تر و خشک اندام‌های هوایی به ترتیب با میانگین ۸۰/۴۹ و ۱۴/۱۸ گرم در گیاه مربوط به تیمار یک گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم فسفر به‌صورت مصرف همراه با آب آبیاری بود (جدول ۴). فاطمی و همکاران (۱۷) گزارش کردند که کاربرد اسید هیومیک باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک و تر برگ ریحان شد. اسیدهیومیک با حفظ بافت فتوسنتزی، وزن خشک گیاه را افزایش می‌دهد (۵۰). طالبی و همکاران (۴۹) گزارش کردند که غلظت‌های مختلف اسید هیومیک تأثیر مثبتی در افزایش وزن تر و خشک برگ و قطر ساقه گل رز مینیاتور رقم هفت رنگ داشت. همچنین بوهمه و همکاران (۸) بیان کردند که اسید هیومیک در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای باعث بهبود رشد گیاه از طریق افزایش طول ریشه و افزایش وزن تر و خشک، ساقه و ریشه شد. رستمی و شکوهیان (۴۲) در بررسی اثرات متقابل اسید هیومیک و ازت مشاهده کردند که بیشترین وزن تر بخش‌های هوایی با میانگین ۷۷/۷ گرم در بوته در سطح ازت ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار و کاربرد خاکی ۲ کیلوگرم در هکتار اسید هیومیک بدست آمد.

همچنین فرجامی و نبوی کلات (۱۶) در بررسی اثرات متقابل اسید هیومیک و فسفر نشان دادند که بیشترین وزن خشک گل همیشه بهار در سطح ۱۰ کیلوگرم اسید هیومیک و ۶۰ کیلوگرم در هکتار فسفر بدست آمد. با توجه به نتایج به‌دست آمده به احتمال زیاد اسید هیومیک از طریق کمک به فرآیند ریشه‌زایی در گیاه باعث افزایش جذب عناصری مانند نیتروژن و فسفر گردیده که با توجه به نقش مهم این دو عنصر در ساخت کلروفیل و پروتئین‌های دخیل در فتوسنتز، افزایش جذب آنها منجر به افزایش فتوسنتز و به دنبال آن افزایش تولید ماده خشک و وزن خشک اندام هوایی شده است.

جدول ۱- برخی از خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1- Some soil physical and chemical characteristics used in the experiment

بافت خاک Soil texture	رس Clay (%)	شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	کربن آلی OC (%)	pH	هدایت الکتریکی EC (dS/m)	ظرفیت تبادلی کاتیونی CEC ($cmol^+/kg$)	پتاسیم K (mg/kg)	فسفر P (mg/kg)	نیتروژن N (%)
سیلتی لوم Silty loam	14.47	18.3	67.25	0.95	7.83	0.92	9.86	448.87	6.46	0.0045

جدول ۲- خصوصیات اسید هیومیک مورد استفاده در پژوهش

Table 2- Characteristics of humic acid used in the research

نام تجاری Trade name	اکسید پتاسیم K_2O	اسید فولیک Fluvic acid	اسید هیومیک Humic acid
هومیکس-۹۵ Humax-95WSG	%5	%15	%80

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر سطوح اسید هیومیک، سطوح فسفر و روش‌های کاربرد آن‌ها بر وزن تر و خشک اندام هوایی و رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاه کلزا

Table 3- Analysis of variance of the effect of humic acid levels, p levels and methods of their application on wet and dry above ground yield and photosynthetic pigments of canola

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square					
		وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total Chlorophyll	کارتنوئید Carotenoid
روش مصرف Application method	2	247.53**	5.41**	0.88**	0.03**	1.24**	0.008**
سطوح اسید هیومیک HA levels	2	3753.20**	115.36**	7.79**	0.54**	12.25**	0.79**
سطوح فسفر P levels	4	1600.55**	52.10**	5.14**	0.50**	8.78**	0.50**
روش مصرف *سطوح اسید هیومیک Application method × HA levels	4	41.97**	1.71**	0.17**	0.015**	0.29**	0.0004**
روش مصرف* سطوح فسفر Application method× P levels	4	40.29**	0.82**	0.17**	0.005**	0.22**	0.002**
سطوح اسید هیومیک*سطوح فسفر HA levels × P levels	4	127.04**	2.94**	0.13**	0.029**	0.25**	0.06**
اثرات متقابل سه‌جانبه Interaction tripartite	8	10.38**	0.23ns	0.03**	0.01**	0.06**	0.002**
اشتباه آزمایشی Error		1.10	0.22	0.007	0.001	0.009	0.00004
ضریب تغییرات(درصد) C.V (%)		2.17	5.21	2.62	3.82	2.33	0.76

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد.

ns, * and **: non-significant, significant at significance levels of 5% and 1% , respectively.

اثر سطوح اسید هیومیک، سطوح فسفر و روش‌های کاربرد آن‌ها بر انواع کلروفیل (a، b و کل) و کارتنوئید در سطح یک درصد معنی دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سه‌گانه داده‌ها نشان داد که بیشترین مقادیر کلروفیل a و b به ترتیب با میانگین ۴/۴۷ و ۱/۲۰ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در تیمار کودی ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر و سطح ۱ گرم بر کیلوگرم مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک بدست آمد هر چند که با تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر و سطح ۰/۵ گرم بر کیلوگرم مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک و تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر و سطح ۱ گرم بر کیلوگرم مصرف فسفر پوشش‌دار و اسید هیومیک اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول ۴). کلروفیل رنگدانه اصلی جذب نور و فتوسنتز است. موادی نظیر فسفر، نیتروژن، پتاسیم و آهن در تشکیل کلروفیل استفاده می‌شوند که مصرف اسید هیومیک موجب فراهمی بیشتر این عناصر برای گیاه می‌گردد (۲۸). اسید هیومیک از طریق قدرت کی‌لیت‌کنندگی عناصر غذایی و با کاهش تبخیر و تعرق و در نتیجه قرار دادن آب و مواد غذایی بیشتر و مناسب‌تر در اختیار گیاه می‌تواند ساخت رنگدانه‌ها را افزایش دهد و انتقال مواد فتوسنتزی را در گیاه راحت‌تر کند (۳۵). ابوعلی و مادی (۱) گزارش کردند که در اثر کاربرد اسید هیومیک در گیاه گندم کلروفیل a ۳۳ تا ۳۸/۶ درصد و کلروفیل b ۱۰/۵۳ تا ۲۷/۸ درصد افزایش یافت. کودهای شیمیایی برای رشد سریع گیاه بدلیل حلالیت مواد غذایی و جذب سریع آنها و عدم نیاز به تجزیه ارگانیسمی در کشاورزی مورد نیاز بوده و در تلفیق با کودهای آلی مانند اسید هیومیک کارایی و اثرات بیشتری خواهند داشت. همانگونه که از نتایج مشخص است با افزایش فسفر مقدار کلروفیل a و b در گیاه کلزا افزایش یافت از طرف دیگر کاربرد اسیدهیومیک توانست از طریق جلوگیری از تثبیت فسفر و فراهمی عناصر غذایی مقدار این رنگدانه‌ها را افزایش دهد.

همچنین نتایج مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل نحوه کاربرد سطوح مختلف اسید هیومیک در تیمارهای مختلف فسفر نشان داد که بیشترین کلروفیل کل با میانگین ۵/۶۷ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ مربوط به تیمار ۱ گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک و غلظت ۱۰۰ میلی گرم برکیلوگرم فسفر به‌صورت مصرف همراه با آب آبیاری بود.

جدول ٤- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل سطوح اسید هیومیک، سطوح فسفر و روش‌های کاربرد آن‌ها بر وزن تر و خشک اندام هوایی و رنگدانه‌های فتوسنتزی کلزا

Table 4- Compare of means for interactions of humic acid levels, p levels and methods of their application on wet and dry above ground yield and photosynthetic pigments of canola

	سطوح اسید هیومیک Humic acid levels	سطوح فسفر p Levels	وزن تر اندام هوایی Shoot fresh weight (gr/plant)	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight (gr/plant)	کلروفیلa Chlorophyll a ($mg.g^{-1}$)	کلروفیلb Chlorophyll b ($mg.g^{-1}$)	کلروفیل کل Total chlorophyll ($mg.g^{-1}$)	کارتنوئید Carotenoid ($mg.g^{-1}$)
مصرف خاکی Soil application	0	0	30.69p	5.43m	2.47n	0.63m	3.10n	0.55r
		50	38.97n	7.53j	2.66m	0.69kl	3.36m	0.68o
		100	42.08l	7.47kj	2.75lm	0.77ifhjg	3.52l	0.76l
	0.5	0	41.45l	7.91ij	2.74lm	0.66ml	3.40lm	0.75n
		50	47.20ih	9.30ef	3.25hg	0.80fe	4.05gf	0.85i
		100	51.95f	9.75ed	3.66c	0.90d	4.56c	0.96g
	1	0	50.40g	9.60ed	3.11hi	0.75ihjg	3.86ih	0.76mln
		50	61.30d	11.54c	3.40fe	0.83e	4.23ed	1.05e
		100	72.40b	13.13b	3.73c	1.11b	4.85b	1.19bc
مصرف همراه با آب آبیاری Use with irrigation water	0	0	29.95p	5.72m	2.29o	0.64m	2.93o	0.59q
		50	39.49mn	7.60j	2.94jk	0.74ikj	3.68jk	0.68o
		100	43.84k	8.41hig	3.11hi	0.79ifheg	3.90gih	0.80j
	0.5	0	44.70kj	7.97hij	2.83lk	0.72kj	3.55lk	0.78k
		50	52.01f	9.35ef	3.60dc	0.76ifhjg	4.37d	0.89h
		100	57.34e	10.26d	3.97b	0.95dc	4.92b	0.98f
	1	0	48.02h	9.07efg	3.33fg	0.79fheg	4.13ef	0.76ml
		50	66.50c	12.17c	4.45a	1.18a	5.63a	1.18c
		100	80.49a	14.18a	4.47a	1.20a	5.67a	1.20a
فسفر پوشش‌دار با اسید هیومیک Coated P with humic acid	0	0	31.24p	5.99lm	2.37o	0.54n	2.92o	0.63p
		50	34.02o	6.76lk	2.79lm	0.74ihj	3.54lk	0.68o
		100	40.83ml	7.68ij	2.99ji	0.79fheg	3.78ji	0.75mn
	0.5	0	41.67l	7.74ij	2.78lm	0.64ml	3.43lm	0.78k
		50	45.67ij	8.72hfg	3.50de	0.73kj	4.24ed	0.85i
		100	49.94g	9.73ed	3.68c	0.92dc	4.81c	0.96g
	1	0	45.81ij	8.14hij	3.18h	0.79feg	3.98gfh	0.76l
		50	55.70e	10.31d	3.96b	0.97c	4.93b	1.11d
		100	52.97d	11.66c	4.37a	1.19a	5.57a	1.19ba

در هر ستون برای هر تیمار، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Within each column, data with different letters were significantly different at $p < 0.05$.

هرچند با تیمار ۰/۵ گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم فسفر به‌صورت همراه با آبیاری و تیمار ۱ گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم فسفر پوشش‌دار از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار نداشت (جدول ۴). همچنین بیشترین مقدار کارتنوئید نیز با میانگین ۱/۲۰ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ مربوط به تیمار ۱ گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک و غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر به‌صورت مصرف همراه با آب آبیاری بود (جدول ۴). سلمان و ابوحسین (۴۳) نیز بیان داشتند که مواد هیومیکی در فرآیندهای بیولوژیکی گیاه مانند فتوسنتز و مقدار کلروفیل کل مؤثر هستند. ال‌بسیونی و همکاران (۱۳) دریافتند که محلول‌پاشی اسید هیومیک در لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) سبب افزایش پروتئین و کلروفیل در گیاه از طریق افزایش سرعت و میزان جذب مواد غذایی شد. آل سعید و همکارن (۱۴) در بررسی اثر اسید هیومیک با منبع مختلف فسفر بر عملکرد و رشد تربچه در خاک‌های آهکی گزارش کردند که کاربرد اسید هیومیک همراه با منابع مختلف فسفر، محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، b، ab و کارتنوئید) را افزایش داد. بالاترین مقدار رنگدانه‌ها از کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر بیو فسفات و میزان ۰/۱ درصد اسید هومیک به‌دست آمد. اسید هیومیک در واقع یک بهبود دهنده رشد و نمو گیاه می‌باشد. این ترکیب می‌تواند بطور مستقیم اثرات مثبتی بر رشد گیاه بگذارد، رشد قسمت هوایی و ریشه گیاه توسط اسید هیومیک تحریک می‌شود، ولی اثر آن روی ریشه برجسته تر است، حجم ریشه را افزایش داده و باعث اثربخشی سیستم ریشه می‌گردد. با افزایش سیستم ریشه‌ای جذب عناصر غذایی افزایش می‌یابد. در این پژوهش نیز مشخص شد اسید هیومیک در افزایش جذب فسفر، افزایش مقادیر رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاه کلزا مؤثر است.

نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح اسید هیومیک، سطوح فسفر و روش‌های کاربرد آن‌ها بر غلظت فسفر خاک و گیاه کلزا در جدول ۵

ارائه شده است. مطابق با نتایج تجزیه واریانس کاربرد سطوح اسید هیومیک، سطوح مختلف فسفر و اثرات متقابل آن‌ها از لحاظ آماری ($p < ۰/۰۱$) بر غلظت فسفر اندام‌های هوایی در گیاه کلزا معنی‌دار شد (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین اثرات سه گانه نحوه کاربرد سطوح مختلف اسید هیومیک در تیمارهای مختلف فسفر نشان داد که بیشترین غلظت فسفر اندام هوایی با میانگین ۰/۳۰ درصد مربوط به تیمار مصرف ۱ گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک همراه با آب آبیاری با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم فسفر بود هر چند که با تیمار ۰/۵ گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار نداشت (جدول ۶). آسنجو و همکاران (۳) اظهار داشتند که اسید هیومیک به‌دلیل دارا بودن وزن ملکولی بالا، سریع جذب بذر شده و باعث افزایش جذب عناصر غذایی مانند نیتروژن و فسفر نسبت به تیمار شاهد شد. ژو (۵۴) گزارش کرد که اصلاح‌کننده‌های غنی از کربن (C) خاک باعث افزایش قابلیت زیستی فراهمی فسفر می‌شوند. افزودن اسید هیومیک به احتمال زیاد باعث بهبود قابلیت دسترسی فسفر خاک (۳۹) و حتی افزایش بازدهی فسفر قابل استفاده در خاک های آهکی می‌شود (۱۲). اسید هیومیک با وزن مولکولی بالا، مانع از جذب فسفر به مواد معدنی خاک شده (۲) و باعث فراهمی فسفر در خاک می‌شود (۱۸). آل سعید و همکاران (۱۴) با بررسی کاربرد اسید هیومیک و منابع مختلف فسفر بر جذب عناصر غذایی تربچه گزارش کردند که کاربرد ۲۰۰ کیلوگرم در هکتار سوپر بیو فسفات و سطح ۰/۱ درصد اسید هیومیک بیشترین مقدار جذب فسفر را داشت. معمولاً استفاده از کودهای آلی، جذب فسفر، حداکثر ظرفیت بافری و انرژی پیوندی را کاهش داده و غلظت فسفر را در محلول خاک افزایش می‌دهد در این پژوهش نیز به نظر می‌رسد اسید هیومیک مورد استفاده ظرفیت تثبیت فسفر را کاهش و جذب و حلالیت فسفر غیرمحلول در خاک را افزایش داده است.

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سه‌گانه داده‌ها نشان داد که بیشترین مقادیر غلظت فسفر خاک به روش اولسن و سلطان‌پور و شواب به ترتیب با میانگین ۴۱/۱۶ و ۵/۲۴ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک در تیمار کودی ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر و سطح ۱ گرم بر کیلوگرم مصرف خاکی اسید هیومیک بدست آمد (جدول ۶).

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر سطوح اسید هیومیک، سطوح فسفر و روش‌های کاربرد آن‌ها بر غلظت فسفر در خاک و گیاه کلزا

Table 5- Analysis of variance of the effect of humic acid levels, p levels and methods of their application on P concentration in soil and canola

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square		
		غلظت فسفر اندام هوایی P concentration in shoots	فسفر اولسن HCO_3^- 0.5M	فسفر سلطانپور و شواب NH_4HCO_3 + DTPA
روش مصرف Application method	2	0.001**	134.85**	2.82**
سطوح اسیدهیومیک HA levels	2	0.04**	1462.01**	31.71**
سطوح فسفر P levels	4	0.02**	647.58**	10.76**
روش مصرف *سطوح اسیدهیومیک Application method × HA levels	4	0.0001**	16.52**	0.49**
روش مصرف* سطوح فسفر Application method × P levels	4	0.0001**	13.09**	0.079*
سطوح اسید هیومیک*سطوح فسفر HA levels × P levels	4	0.001**	253.38**	3.84**
اثرات متقابل سه‌جانبه Interaction tripartite	8	0.00007**	8.13**	0.093**
اشتباه آزمایشی Error		0.000001	1.08	0.03
ضریب تغییرات(درصد) C.V (%)		0.48	6.41	7.54

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد.

ns, * and **: non-significant, significant at significance levels of 5% and 1% , respectively.

زمانی که میزان فسفر در خاک زیاد باشد، فسفر می‌تواند به شکل‌های پایدارتر خود مثل آپاتیت تبدیل شود و در نهایت میزان آپاتیت در خاک افزایش یابد. محققین گزارش دادند که ماده آلی تشکیل آپاتیت را به میزان ۱۰ درصد کاهش داده و حتی قادر به جداسازی فسفر از بلورهای تازه تشکیل شده آپاتیت می‌باشد (۴۶). مواد آلی و اسید هیومیک حاصل از تجزیه آنها در خاک‌های آهکی، سطوح کربنات کلسیم را اشغال و از رسوب فسفر به صورت هیدوکسی آپاتیت جلوگیری می‌کند (۲۳). والن و چانگ (۵۳) گزارش کردند که استفاده دراز مدت از مواد آلی باعث نگهداری فسفر با پیوند کم انرژی‌تر شده و قابلیت فراهمی آن را در خاک افزایش می‌دهد.

کلاسن و همکاران (۱۱) چند ساز و کار برای کاهش فسفر در خاک‌ها با ماده آلی زیاد ارائه کردند ۱) ملکول‌های هیومیک به سطح رس‌ها و ذرات اکسیدهای هیدراته فلزات چسپیده و روی مکان‌های تثبیت کننده فسفر را می‌پوشانند.۲) اسیدهای آلی تولید شده به وسیله رشد گیاهان و تجزیه میکروبی برای جذب شدن روی سطوح رس‌ها و هیدروکسیدها با فسفات رقابت می‌کنند. ۳) اسیدهای آلی با آهن و آلومینیم کمپلکس‌های پایدار به نام کی‌لیت تشکیل می‌دهند و مانع از واکنش این فلزات با یون فسفر محلول خاک می‌شوند ۴) با زیاد شدن ماده آلی خاک ممکن است میزان معدنی شدن فسفر آلی هم زیاد شود. سپهر و زبردست (۴۴) گزارش کردند که مصرف مواد هیومیکی و کودهای فسفاته از طریق رقابت بر سر مکان‌های جذب و درنتیجه کاهش تثبیت فسفر در خاک، می‌تواند 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 کم‌مصرف است، هنگام کاربرد همزمان با کودهای شیمیایی تعادل تغذیه‌ای مناسبی را برای گیاه فراهم می‌کنند و به جذب بیشتر عناصر غذایی و پاسخ‌های عملکردی مشخص در گیاه منجر می‌شوند.

جدول ٦- مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل سطوح اسید هیومیک ، سطوح فسفر و روش‌های کاربرد آن‌ها بر غلظت فسفر در خاک و گیاه کلزا

Table 6- Compare of means for interactions of humic acid levels, P levels and methods of their application on P concentration in soil and canola

	سطوح اسید هیومیک Humic acid levels	سطوح فسفر P Levels	غلظت فسفر اندام هوایی P concentration in shoots (%)	فسفر اولسن HCO_3^- 0.5M(mg.kg^{-1})	فسفر سلطانپور و شواب NH_4HCO_3 + DTPA(mg.kg^{-1})
مصرف خاکی Soil application	0	0	0.16w	8.48mn	1.10no
		50	0.18t	11.24jik	1.27mno
		100	0.20p	12.03i	1.39ml
	0.5	0	0.19r	14.64g	1.78k
		50	0.22k	18.98f	2.19gh
		100	0.25h	20f	2.37gf
	1	0	0.22m	14.09hg	2.09gih
		50	0.27e	26.24d	4.21dc
		100	0.28c	41.16a	5.24a
مصرف همراه با آب آبیاری Use with irrigation water	0	0	0.17v	7.69n	1.01o
		50	0.19s	8.88mln	1.24mno
		100	0.21n	9.59mlk	1.34mn
	0.5	0	0.20q	10.22jlk	1.41ml
		50	0.23i	11.01jik	1.81jk
		100	0.26f	12.59hi	2.07jih
	1	0	0.22lk	12.11i	1.63lk
		50	0.30a	24.74ed	3e
		100	0.30a	29.87c	3.98d
فسفر پوشش‌دار با اسید هیومیک Coated P with humic acid	0	0	0.17u	8.88mln	1.24mno
		50	0.19s	9.74mlk	1.78k
		100	0.20o	11.01jik	1.83jik
	0.5	0	0.20o	11.72ji	2.07jih
		50	23j	15.35g	2.35gfh
		100	0.25g	18.51f	2.62f
	1	0	0.22l	12.59hi	2.16gh
		50	0.27d	23.64e	4.29c
		100	0.29b	33.58b	4.76b

در هر ستون برای هر تیمار، حروف مشابه نمایانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

Within each column, data with different letters were significantly different at $p < 0.05$.

همبستگی ساده بین تیمارهای آزمایش

همبستگی بین فسفر استخراج شده توسط عصاره‌گیرهای شیمیایی با خصوصیات فیزیولوژیک و مقادیر غلظت فسفر در خاک و گیاه در جدول ۷ آورده شده است. بررسی نتایج حاکی از آن است که بین فسفر عصاره‌گیری شده به روش اولسن با فسفر عصاره‌گیری شده به روش سلطان‌پور و شواب همبستگی بالایی (r =۰/۹۵) در سطح آماری یک درصد وجود داشت (جدول ۷). کامپراز و واتسون (۲۶) گزارش کردند که مکانیسم استخراج فسفر با روش‌های اولسن، کول ول و سلطان‌پور و شواب مشابه است یعنی آنیون بی‌کربنات با کلسیم موجود در خاک ترکیب شده و در نتیجه ضمن کاهش فعالیت کلسیم باعث آزاد شدن فسفر متصل به کلسیم می‌گردد. آنان همچنین بیان داشتند که علت اصلی کمتر بودن مقدار فسفر عصاره‌گیری شده با روش سلطان‌پور و شواب احتمالاً ناشی از کم بودن زمان عصاره‌گیری می‌باشد. بررسی نتایج مولینا و همکاران (۳۳) نشان داد که مقدار فسفر استخراجی در خاک‌های قلیایی و اسیدی توسط روش بی‌کربنات آمونیوم-دی تی پی ای با فسفر استخراجی به روش اولسن همبستگی (r =۰/۷۴۷) در سطح آماری پنج درصد داشت. همچنین مقصودی و همکاران (۳۱) در بررسی ۲۵ خاک مورد مطالعه در استان آذربایجان شرقی گزارش کردند که همبستگی بالایی (r =۰/۹۷) بین فسفر استخراج شده با روش اولسن و روش چند عنصری سلطان‌پور و شواب وجود داشت. بین مقدار فسفر عصاره‌گیری شده با بی‌کربنات ۰/۵ مولار و غلظت فسفر اندام هوایی گیاه کلزا (r=۰/۸۴) همبستگی معنی‌داری در سطح پنج درصد دیده شد. همچنین بین مقدار فسفر عصاره‌گیری شده با روش بی‌کربنات آمونیوم–دی تی پی ای با غلظت فسفر نیز همبستگی بالا (r=۰/۸۵) و معنی‌داری مشاهده شد که نشان‌دهنده این امر است که این دو عصاره‌گیر ساز و کار مشابهی برای اندازه‌گیری فسفر دارند (جدول ۷). نتایج لابستوار و سلطان‌پور (۲۹) حاکی از وجود همبستگی (r=۰/۵۲) بین فسفر جذب شده توسط یونجه و فسفر عصاره‌گیری شده توسط سلطان‌پور و شواب بود. ملکوتی و همایی (۳۲) به طور کلی تأثیر ماده آلی بر افزایش جذب فسفر را به تولید CO_2 در اثر تجزیه این مواد، تشکیل ترکیبات آلی فسفر، تماس فسفر با سطوح ذرات اکسیدهای آهن و آلومینیم، رس و کربنات کلسیم و در نتیجه کاهش تثبیت آن می‌دانند. حلاج‌نیا و همکاران (۱۹) گزارش کردند که ماده آلی و اسیدهای آلی حاصل از تجزیه آن، سطوح کربنات کلسیم را اشغال کرده و فرایند تشکیل رسوب فسفات‌های کلسیم نامحلول و کم محلول را کند می‌کند؛ در نتیجه مواد آلی موجب افزایش فراهمی فسفر در خاک‌های آهکی می شوند. بین وزن تر و خشک اندام‌های هوایی، انواع کلروفیل (a، b و ab) و کارتنوئید با مقادیر فسفر استخراج شده توسط روش‌های اولسن و سلطان‌پور و شواب همبستگی بالا و معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود داشت (جدول ۷). کریمی و همکاران (۲۷) نیز گزارش کردند که فسفر عصاره‌گیری شده با روش‌های اولسن، بی کربنات آمونیوم-دی تی پی ای همبستگی معنی‌داری با شاخص‌های (عملکرد نسبی، غلظت و جذب فسفر) گیاه برنج دارد. پگلیاری و همکاران (۳۸) گزارش کردند که فسفر استخراج شده با روش اولسن شاخص مناسبی از فسفر قابل استفاده ذرت است و از همبستگی بالایی (r=۰/۸۹) با جذب فسفر در ذرت (*Zea mays* L.) برخوردار است. آزمون شیمیایی اولسن در خاک‌های آهکی برآوردی واقع بینانه‌تر از فسفر قابل دسترس گیاه دارد از طرف دیگر، امروزه به دلیل افزایش تقاضا برای آزمون شیمیایی خاک و همچنین صرفه جویی در وقت و هزینه، استفاده از عصاره‌گیرهای چند منظوره مانند روش بی‌کربنات آمونیوم دی تی پی ای رواج یافته است. در این پژوهش نیز مشخص شد هر دو روش عصاره‌گیری فسفر با خصوصیات فیزیولوژیک و مقادیر غلظت فسفر در خاک و گیاه همبستگی بالا و معنی‌داری دارد. بنابراین می‌توان از هر دو روش عصاره‌گیری بسته به شرایط آزمایش برای ارزیابی فسفر قابل استفاده کلزا در خاک‌های آهکی استفاده کرد.

نتیجه‌گیری

قابلیت جذب فسفر، تابع عوامل بسیاری است. در خاک‌های آهکی به علت وجود کلسیم با فعالیت زیاد با اضافه شدن کودهای فسفر، فسفات‌های کلسیم تشکیل می‌شود که با گذشت زمان نیز به فرم‌های نامحلول تبدیل می‌گردد. در دسترس بودن فسفات برای جذب گیاه یک موضوع مهم کشاورزی، به ویژه در مناطق خشک و نیمه خشک با خاک آهکی است. فسفر یک ماده غذایی ضروری گیاهی بوده و سطح پایین فسفات می‌تواند تولید را محدود کند. مواد هیومیک در تعامل با فسفر در خاک، می‌تواند باعث کاهش تثبیت فسفر و افزایش فسفر در دسترس گیاهان شود. بر اساس نتایج این پژوهش، مصرف ترکیبی ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر و ۱ گرم بر کیلوگرم مصرف همراه با آب آبیاری اسید هیومیک بیشترین افزایش را در انواع کلروفیل (a، b و ab)، کارتنوئید، مقدار فسفر در اندام هوایی کلزا (هایولا ۵۰) داشت. بیشترین مقدار فسفر عصاره‌گیری شده به روش اولسن با میانگین ۴۱/۱۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم و روش سلطان‌پور و شواب با میانگین ۵/۲۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم مربوط به تیمار ۱۰۰ میلی‌گرم برکیلوگرم فسفر و مصرف خاکی یک گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک بود. همچنین همبستگی بالا و معنی‌داری بین فسفر عصاره گیری شده به روش اولسن و سلطان‌پور و شواب با صفات مورد مطالعه مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد که استفاده از فسفر همراه با اسیدهیومیک، بیشتر از کاربرد فسفر به‌تنهایی، می‌تواند باعث افزایش فسفر قابل‌دسترس در خاک و نیز غلظت فسفر گیاه شود. در نهایت می‌توان مصرف ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر همراه با ۰/۵ گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک همراه با آب آبیاری را در شرایط مشابه پیشنهاد کرد لیکن با توجه به تغذیه گیاه و برای بررسی این موضوع

به‌صورتی که به واقعیت نزدیک‌تر باشد توصیه می‌گردد تأثیر اسید هیومیک بر فراهمی فسفر در خاک آهکی در مقیاس مزرعه‌ای و برای گیاهان مختلف نیز مورد پژوهش قرار گیرد.

جدول ۷- ضریب همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه

Table 7- Simple correlations coefficients between studied traits

	1	2	3	5	6	7	8
فسفر اولسن HCO_3^- 0.5M	1						
فسفر سلطان پور NH_4HCO_3 + DTPA	0.955**	1					
فسفر اندام هوایی % P shoots	0.841**	0.856**	1				
کلروفیل a Chlorophyll a	0.740**	0.752**	0.962**	1			
کلروفیل b Chlorophyll b	0.838**	0.804**	0.929**	0.927**	1		
کلروفیل کل Total chlorophyll	0.772**	0.773**	0.967**	0.996**	0.955**	1	
کارتنوئید Carotenoid	0.891**	0.896**	0.981**	0.928**	0.925**	0.939**	1

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک و پنج درصد می‌باشد.

ns, * and **: non-significant, significant at significance levels of 5% and 1% , respectively.

منابع

1- Abou-Aly H.E., and Mady M.A. 2009. Complemented effect of humic acid and biofertilizers on wheat (*Triticum aestivum* L.) productivity. Annals of Agricultur Science Moshtohor 47(1): 1-12.
2- Antelo J., Arce F., Avena M., Fiol S., López R., and Macías F. 2007. Adsorption of a soil humic acid at the surface of goethite and its competitive interaction with phosphate. Geoderma 138(1-2): 12-19.
3- Asenjo M.C.G., Gonzalez J.L., and Maldonado J.M. 2000. Influence of humic extracts on germination and growth of ryegrass. Communications in Soil Science and Plant Analysis 31(1-2): 101-114.
4- Barahimi N., Afyuni M., Karami M., and Rezaee Nejad Y. 2009. Cumulative and residual effects of organic amendments on nitrogen, phosphorus and potassium concentrations in soil and wheat. JWSS-Isfahan University of Technology 12(46): 803-812.
5- Barber S.A. 1995. Soil Nutrient Bioavailability: a Mechanistic Approach. 2nd ed. John Wiley, New York, USA, 414 p.
6- Barnes J.D., Balaguer L., Manrique E., Elvira S., and Davison A.W. 1992. A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophyll a and b in lichens and higher plants. Environmental and Experimental Botany 32(2): 85-90.
7- Berg M.G., and Gardner E.H. 1978. Methods of soil analysis used in the soil testing laboratory at Oregon State University.
8- Boehme M., Schevtschenko J., and Pinker I. 2005. Iron supply of cucumbers in substrate culture with humate. Acta Horticulturae 697, 329.
9- Bremner J.M., and Mulvaney C.S. 1982. Nitrogen—Total 1. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties, (methodsofsoilan 2), 595-624.
10- Chapman H.D. 1965. Cation-exchange capacity 1. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties, (methodsofsoilanb), 891-901.
11- Classen N., and jones D.L. 2004. Phosphorus solubilization by citrate in soil of low p availibilaty effect and mechanisms. Rhizospher International on Gress Abstract 145:12-17.
12- Delgado A., Madrid A., Kassem S., Andreu L., and del Carmen del Campillo, M. 2002. Phosphorus fertilizer recovery from calcareous soils amended with humic and fulvic acids. Plant Soil 245: 277–286.
13- El-Bassiony A.M., Fawzy Z.F., El-Baky M.A., and Mahmoud A. R. 2010. Response of snap bean plants to mineral fertilizers and humic acid application. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 6(2): 169-175.
14- El-Sayed S.A.A., Hellal F.A., and KAS M. 2014. Effect of Humic acid and phosphate sources on nutrient composition and yield of Radish grown in calcareous soil. European Inter. J. Sci. and Tech. ISSN, 2304-9693.
15- Emami M. 1996. Legs analysis methods Technical Journal number 982. Soil and Water Research Institute, Tehran. Iran. Caver 2.

16- Fargami A.A., and Nabavi Kalat S.M. 2013. The role of humic acid and phosphorus on the quality and quantity of spring wheat (*Calendula officinalis* L.). Ecophysiology of Crop Plants (Agriculture Sciences) 28(4): 443-452. (In Persian)
17- Fatemi H., Ameri A., and Aminifard M.H. 2011. In Investigation of Effect of humic acid Fertilizer on growth and Yield of Ocimum basilicum under Field Conditions. 1st National Conference on New Concepts in Agriculture. Faculty of Agriculture, Saveh Branch, Islamic Azad University (IAU), November, 678-683.
18- Fu Z., Wu F., Song K., Lin Y., Bai Y., Zhu Y., and Giesy J.P. 2013. Competitive interaction between soil-derived humic acid and phosphate on goethite. Applied Geochemistry 36: 125-131.
19- Hallajnia A., Fotovat A., and Khorasani R. 2006. Availability of soil phosphorus resulting from different amounts of phosphorus fertilizer in soils of Hamedan province. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources 4(10): 121-132. (In Persian)
20- Harper S.M., Kerven G.L., Edwards D.G., and Ostatek-Boczynski Z. 2000. Characterisation of fulvic and humic acids from leaves of *Eucalyptus camaldulensis* and from decomposed hay. Soil Biology and Biochemistry 32(10): 1331-1336.
21- Hartwigson J.A., and Evans M.R. 2000. Humicacid seed and substrate treatments promote seedling root development. Horticultur Science 35(7): 1231-1233.
22- Havlin J.L., Beaton J.D., Tisdale S.L., and Nelson W.L. 2005. Soil fertility and fertilizers: An introduction to nutrient management (Vol. 515, pp. 97-141). Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall.
23- Hu H.Q., He J.Z., Li X.Y., and Liu F. 2001. Effect of several organic acids on phosphate adsorption by variable charge soils of central China. Environment International 26(5-6): 353-358.
24- Inskeep W.P., and Silvertooth J.C. 1998. Inhibition of hydroxy apatite precipitation in the presence of fulvic, humic and tannic acids. Soil Science Society of America Journal 52: 941-946.
25- Jones Jr 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.
26- Kamprath E.J. and Watson M.E. 1980. Conventional soil and tissue tests for assessing the phosphorus status soils. pp. 433-469. In: Khasawneh et al. (eds). The Role of Phosphorus in Agriculture. ASA, CSSA, SSSA, Madison, Wisconsin, USA.
27- Karimi Amir Kia Sar M., Ardalan M., Kavusi M., and Shokri Vahed H. 2001. Field and laboratory evaluation of some extraction methods for determining the available phosphorous in some rice paddies in Guilan province. Water and Soil Journal (Agricultural Sciences and Technology) 25(4): 814-822. (In Persian with English Abstract)
28- Khoram Ghahfarokhi A., Rahimi A., and Torabi B. 2016. Effect of humic acid fertilizer application and foliar spraying of compost tea and vermiwash on growth indices of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Journal of Oil Plants Production 2(1): 71-84. (In Persian)
29- Labhsetwar V.K., and Soltanpour P.N. 1985. A comparison of NH4HCO3-DTPA, NaHCO3, CaCl2, and Na2-EDTA soil tests for phosphorus. Soil Science Society of America Journal 49:1437-1440.
30- Leytem A.B., and Westermann D.T. 2003. Phosphate sorption by pacific northwest calcareous soils Journal of Soil Science 168: 368-375.
31- Maghsudi M.R., Reihanitabar A., and Najafi N. 2014. Evaluation of some extraction methods for determining the available phosphorus of *Zea mays* in some calcareous soils of East Azarbaijan Province. Water and soil knowledge 24(2): 199-214. (In Persian with English Abstract)
32- Malekooti M.J., and Homaee M. 2004. Fertility of arid and semi-arid soils (Problems and solutions). Tarbiat Modares University. Office of Scientific Works 195-241. (In Persian)
33- Molina M., Ortega R., and Escudey M. 2012. Evaluation of the AB-DTPA multiextractant in Chilean soils of different origin with special regard to available phosphorus. Archives of Agronomy and Soil Science 58: 789-803.
34- Nardi S., Pizzeghello D., Muscolo A., and Vianello A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry 34: 1527-1536.
35- Nasooti Miandoab R., Samavat S., and Tehrani M.M. 2010. Humic acid fertilizer on plants and soil properties. Agric. Food, 101: 53-55. (In Persian with English Abbstract)
36- Olsen S. R. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. United States Department Of Agriculture, Washington.
37- Page A.L., Miller R.H., and Keeney D.R. 1982. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties. Agronomy, No. 9. Soil Science Society of America, Madison, WI, p.1159.
38- Pagliari, P., Rosen C., Strock J., and Russelle M. 2010. Phosphorus availability and early corn growth response in soil amended with Turkey manure ash. Commun. Soil Sci. Plant Anal 41: 1369-1382.
39- Perassi I., and Borgnino L. 2014. Adsorption and surface precipitation of phosphate onto $CaCO_3$–montmorillonite: effect of pH, ionic strength and competition with humic acid. Geoderma 232: 600-608.
40- Richardson A.E., Barea J.M., McNeill A.M., and Combaret C.P. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. Plant Soil 321: 305-339.
41- Roozbehani A., Ghorbani S., Mirzaee M.M., and Orujnia S. 2013. Study of the Effect of Humic Acid and Folic Acid on Yield and Yield Components of Hordeum vulgare. Journal of Agriculture and Plant Breeding 9(2): 25-33. (In Persian)
42- Rostami M., and Shokouyan A.A. 2018. Evaluation of Humic Acid Techniques and Nitrogen Ratios on

Morphological Characteristics and Strawberry Function (*Fragaria ananassa* Duch.) Parus. journal of horticulture, 32(2): 251-261. (In Persian)

43- Salman S.R., Abou-Hussein S.D., Abdel-Mawgoud A.M.R., and El-Nemr M.A. 2005. Fruit yield and quality of watermelon as affected by hybrids and humic acid application. Journal of Applied Sciences Research 1: 51-58.

44- 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(In Persian with English abstract)

45- Soltanpour P.N., and Schawb A.P. 1977. A new soil test for simultaneous extraction of macro and micro nutrients in alkaline soils. Commn. Soil Sci. Plant Anal 8:195-207.

46- Ström L., Owen A.G., Godbold D.L., and Jones D.L. 2002. Organic acid mediated P mobilization in the rhizosphere and uptake by maize roots. Soil Biology and Biochemistry 34(5): 703-710.

47- Syers J.K., Johnston A.E., and Curtin D. 2008. Efficiency of soil and fertilizer phosphorus use. FAO Fertilizers and Plant Nutrition Bulletin no 18. Rome, Italy. FAO.

48- Taghadosi M., Hasani N., and sinky J. 2012. Disruption of irrigation and spraying stress with humic acid and algae extract on antioxidant enzymes and propylene in forage sorghum. Journal of Crop Production in Environmental Conditions 4(4):1-12. (In Persian)

49- Talebi P., Jabarzade M., and sedighani R. 2017. Effect of application and different concentrations of humic acid on performance and mineral absorbption of minor roses seven colors. To Agricultural Crop 4(18): 789-804. (In Persian)

50- Türkmen Ö., Dursun A., Turan M., and Erdinç Ç. 2004. Calcium and humic acid affect seed germination, growth, and nutrient content of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings under saline soil conditions. Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science 54(3): 168-174.

51- Varinderpal S., Dhillon N.S., and Brar B.S. 2006. Influence of long-term use of fertilizers and farmyard manure on the adsorption–desorption behaviour and bio-availability of phosphorus in soils. Nutrient Cycling in Agroecosystems 75: 67-78.

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., and Chang C. 2002. Phosphorus sorption capacities of calcareous soils receiving cattle manure applications for 25 years. Communications in Soil Science and Plant Analysis 33(7-8): 1011-1026.

54- Zhou D. 2011. An in-vitro model of calcium phosphate mineralization in bone: transformation from amorphous calcium phosphate to apaptite. (Thesis (M.S.) Central Michigan University.

Journal of Water and Soil
Vol. 33, No. 6, Jan-Feb. 2020, p. 873-884

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۶، بهمن –اسفند ۱۳۹۸، ص. ۸۸۴-۸۷۳

The Effect of Humic Acid on the Availability of Phosphorus Fertilizer and some Physiological Traits of Rapeseed (Canola)

A. Jahandideh[1]- M. Barani Motlagh[2*]- E. Dordipur[3]- R. Ghorbani Nasrabadi[4]

Received: 31-12-2018
Accepted: 28-12-2019

Introduction: One of the most important needs in the farm planning is the evaluation of different systems of plant nutrition. By supplying the correct way of plant nutrition, one can preserve the environment and increase the efficiency of agricultural inputs. Humic acid contains many nutrients that increase soil fertility, soil organic matter content, and access to macro- and micro-nutrients by preventing the formation of insoluble salts and chelating properties. Phosphorus and humic acid stimulate vegetative growth, improve reproductive growth, and increase the quantitative and qualitative yield of plants. In this regard, the positive effects depend on the amount and how they are applied. The present study was conducted with the aim of investigating the effects of different levels of humic acid and phosphorus fertilizer on phosphorus availability and photosynthetic pigments (a, b and carotenoids) in canola (cv. Hyola 50).

Methods and Materials: The soil used in this study was collected from 0-30 cm layer of a soil profile passed through a 2-mm sieve after air-drying. The soil chemical and physical properties were then determined. The pot experiment was conducted as factorial based on completely randomized design with three replications. Treatments include phosphorous fertilizer as super phosphate in three levels (0, 50 and 100 mg/kg) and humic acid in three levels (0. 0.5 and 1 gr/kg soil), phosphorous and humic acid application ways. Humic acid and phosphorous treatments were mixed in various forms including simultaneous mixing of humic acid and phosphorous fertilizer in the soil matrix, application of humic acid and phosphorous via irrigation water and coting of phosphorous fertilizer via solid humic acid before soil application. Then 10 canola seeds were planted in each pot at 2-cm depth which were declined to 4 plants in each pot after emerging and greening phases. At the end of the growth period (158 days), the plants were harvested. Determination of phosphorus concentrations of plant extracts by molybdenum vanadate or yellow method and chlorophyll content (a, b and ab) and carotenoids were measured precisely before harvesting using Barnes method. After harvesting the plants, the soil was immediately air-dried and passed through a 2mm sieve. Then, the amount of phosphorus was determined by sodium-DTPA and sodium bicarbonate. The statistical results of the data were analyzed using SAS software and LSD test (at 5% level) was used for comparing the mean values.

Results and Discussion: The interactions of humic acid and phosphorus and its application methods were significant for all measured traits at the 5% level. The results of the triple effects of humic acid levels and its application at the presence of phosphorus treatments showed that the highest chlorophyll (a, b and ab) and carotenoid content was obtained at 100 mg/kg phosphorus and 1 g/kg humic acid along with irrigation water. The highest concentration of plant shoot phosphorus with an average of 0.30% was observed in 1 g/kg humic acid with irrigation water at the level of 100 mg/kg phosphorus, although had no significant difference with 0.5 g/kg of humic acid with irrigation water. Maximum amount of P was extracted by Olsen method with the mean of 16.14 mg/kg and Soltanpour and Schwab method with the mean of 5.24 mg/kg obtained in 100 mg/kg phosphorus and 1 g/kg soil humic acid application. There was a significant correlation between the phosphorus extracted by Olsen method and Soltanpour and Schwab method ($r = 0.95$), which was significantly correlated with concentration of phosphorus ($r = 0.84$) and ($r = 0.85$) ($P<0.05$). There was also a significant correlation between fresh and dry above-ground biomass, types of chlorophyll (a, b and ab) and carotenoids with phosphorus extracted by Olsen and Soltanpour and Schwab methods at 5% significance level.

Conclusion: P adsorption capacity is a function of many factors. Application of phosphorous fertilizers in calcareous soils, due to the presence of calcium with high activity, results in the formation of calcium phosphates, which becomes insoluble, over time. Humic material in interaction with phosphorus in the soil can reduce phosphorus stabilization and increase plant available phosphorus. The results of this study showed that the use of phosphorus with humic acid, rather than the use of phosphorus alone, could increase the available phosphorus in the soil and also the phosphorus concentration within the plant.

Keywords: Carotenoid, Chlorophyll, Fresh and Dry Weight, Shoots

1, 2, 3 and 4- M.Sc. Graduated, Associate Professors and Assistant Professor, Faculty of Water and Soil Engineering, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, respectively.
(*- Corresponding Atuhor Email: mbarani@gau.ac.ir)