مقایسه ویژگی‌ها و تأثیر اسید هیومیک تجاری و استخراجی از کودهای گاوی و گوسفندی بر رشد سویا

سارا حسینی[1]، مجید حجازی مهریزی، مهدی سرچشمه‌پور و مجید فکری

کارشناسی ارشد علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان؛ **hosseini.s1989@gmail.com**

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان؛ **mhejazi@uk.ac.ir**

دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان؛ **msarcheshmeh@uk.ac.ir**

استاد گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان؛ **mfekri@uk.ac.ir**

ص **289 - 303**

دریافت: **1401/1/29** و پذیرش: **1401/6/6**

چکیده

استخراج مواد هیومیکی از کودهای دامی می‌تواند به عنوان یکی از راهکارهای مدیریت بهینه این ضایعات محسوب گردد. این پژوهش با هدف شناسایی ویژگی‌های اسید هیومیک از دو منبع کود گاوی و گوسفندی در دو سطح 100 میلی گرم و 200 میلی گرم و سپس مقایسه تأثیر آن‌ها و اسید هیومیک تجاری بر رشد سویا در غالب کاملاً تصادفی در شرایط گلخانه‌ای انجام شد. بر اساس نسبت اسپکتروفوتومتری E_3/E_5، کمترین وزن مولکولی مربوط به اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی بود. نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز بیانگر حضور گروه‌های عامل هیدروکسیل فنولی، کربوکسیل و حلقه‌های آروماتیک در اسیدهای استخراجی و اسید هیومیک تجاری بودند که OH فنولی در اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی فراوانی بیشتر داشت و پیک مربوط به حلقه آروماتیک و آلیفاتیکی در اسید هیومیک تجاری حذف شده بود. نتایج نشان داد که اسیدهای هیومیک استخراج شده از کود گوسفندی به میزان 200 میلی‌گرم باعث افزایش 62% وزن تازه شاخسار و 48% وزن تر ریشه گردید و کود گاوی به میزان 200 میلی گرم باعث افزایش 31% ارتفاع شاخسار شد، اما کاربرد اسید هیومیک تجاری نتوانست صفات مذکور را تحت تأثیر قرار دهد. بر اساس نتایج این مطالعه، کود گوسفندی به مقدار 200 میلی گرم به دلیل تأثیر بیشتر روی شاخص های رشد سویا می‌تواند به عنوان منبعی مناسب برای استخراج اسید هیومیک و کاربرد آن در تولید محصول سویا مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: کشاورزی پایدار، نسبت‌های اسپکتروسکوپی، طیف‌سنجی مادون قرمز، هوموس

[1]. نویسنده مسئول، آدرس: دانشگاه شهید باهنر کرمان – دانشکده کشاورزی - گروه علوم و مهندسی خاک

مقدمه

سویا (*Glycine max* L. Merrill) به عنوان یک گیاه مهم در اغلب کشورهای دنیا به منظور تولید روغن، پروتئین گیاهی و علوفه کشت می‌شود و مقام اول در تولید روغن و پروتئین و 50 درصد از تولید دانه‌های روغنی در دنیا را به خود اختصاص داده است (سلیمان زاده و همکاران، 1399). از دلایل اهمیت و توجه به این گیاه می‌توان به پروتئین بالا، مقادیر زیاد کربوهیدرات، فسفر، کلسیم، منیزیم، آهن، روی، فیبر و ویتامین دانه‌های آن اشاره کرد (بایو و همکاران، 2000). دانه سویا به‌عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان روغنی پروتئینی، به‌طور متوسط دارای 40% پروتئین و 20% روغن بوده و از کنجاله آن به میزان قابل توجهی برای تغذیه دام و طیور استفاده می‌شود (نخ زری مقدم و همکاران، 1399). پیش‌بینی‌ها حکایت از افزایش جمعیت جهان از 7/1 میلیارد نفر در سال 2013 به 8/1 میلیارد نفر در سال 2025 و 9/5 میلیارد نفر در سال 2050 دارد (براون و همکاران، 2009). در این راه، بخش کشاورزی نقش مهمی در کاهش و جلوگیری از گرسنگی و تأمین امنیت غذایی ایفا خواهد کرد. با توجه به محدودیت‌های موجود جهت افزایش سطح زیر کشت، تلاش‌ها به افزایش عملکرد در واحد سطح به روش‌های مختلف از جمله کاربرد کودهای شیمیایی، دامی و آلی معطوف شده است به طوری‌که، حاصلخیزی خاک به عنوان یک عامل کلیدی و مهم در افزایش سطح زیرکشت و برقراری امنیت غذایی مطرح است (ماکسل، 2001).

رشد علف‌های هرز در مزارع به عنوان یکی دیگر از معضلات کاربرد کودهای دامی به صورت تازه و پوسیده نشده است و چنانچه تأمین سالانه کودهای دامی از مناطق مختلف صورت گیرد، منجر به رشد گونه‌های جدید در مزرعه و سخت‌تر شدن مبارزه با علف‌های هرز می‌گردد که یکی از روش‌های بهینه در مدیریت کودهای دامی تولید مواد هیومیک است (کیواتوسکا و همکاران، 1992). اسید هیومیک از تغییرات بیوشیمیایی ترکیبات مواد آلی خاک مانند لیگنین، سلولز، همی‌سلولز، قندها و اسیدهای آمینه پس از تجزیه میکروبی در خاک حاصل می‌شوند (شیاوون و همکاران، 2010). در واقع مهمترین عامل مؤثر بر کیفیت خاک، اسید هیومیک است. اسید هیومیک عمر نیتروژن و فسفر را در خاک افزایش می دهند، بافت خاک را بهبود می بخشند و تنفس گیاه را در خاک تحریک می‌کنند (هرناندز و همکاران، 2001).

یکی از راه‌های شناخت مواد هیومیکی، مطالعه طیف ماورای بنفش این مواد است به طوری‌که شدت جذب نور مرئی بیانگر نوع و ساختار مولکولی این مواد است (آیکن، 1984). پارامترهای نسبت طیف سنجی E4/E6 را می توان برای ارزیابی بلوغ کمپوست اسیدهای هیومیک استفاده کرد (حداد و همکاران، 2015). در بیشتر مطالعات برای تعیین ویژگی‌های مواد هیومیکی از نسبت جذب در طول موج‌های مشخصی نظیر 350، 465، 550 و 655 نانومتر استفاده می‌شود. نسبت E_4/E_6 که نسبت دانسیته نوری در طول موج 465 و 655 نانومتر است، بیانگر درجه تراکم ترکیبات آلیفاتیک و آروماتیک مواد هیومیک است به طوری‌که هرچه این نسبت کمتر باشد، نشان دهنده تراکم بیشتر ترکیبات آروماتیک است و در مقابل E_4/E_6 بیشتر نشان دهنده مقدار کم ترکیبات آروماتیک و مقدار بیشتر ترکیبات آلیفاتیک است (چن و همکاران، 1977; ریورو، 2004).

شاخص E_3/E_5 نشان‌دهنده اندازه مولکولی است و هر چه این نسبت بیشتر باشد، اندازه مولکولی کوچکتر است (هلال و همکاران، 2011). پژوهش‌ها نشان داده که مواد هیومیکی با نسبت E_3/E_5 بالاتر داری کیفیت بهتری خواهند بود و نقش مؤثرتری در رشد گیاه ایفا می‌کنند (هارتز و باتوم، 2010). اسید هیومیک به عنوان تنظیم کننده رشد با تأثیر در جذب غلظت عناصر غذایی به خصوص پتاسیم اثرات ناخواسته تنش‌های محیطی نظیر شوری و خشکی را نیز تعدیل می‌کند (موسوی، 1399; حاتمی و همکاران، 1399). حضور گروه‌های عامل فراوان نظیر گروه‌های اسیدی کربوکسیلیک، بنزوئیک و فنولیک

سبب افزایش تحرک و قابلیت دسترسی عناصر کم‌متحرک نظیر آهن، روی و فسفر در خاک می‌شود (ختاب و همکاران، 2012). ترکمن (2005) با کاربرد اسید هیومیک تجاری به میزان 500، 1000 و 2000 میلی گرم بر کیلوگرم خاک، افزایش قطر و طول ساقه، وزن خشک گیاه، افزایش جذب میزان عناصر غذایی درون گیاه فلفل که باعث رفع کلروز برگی شد را گزارش کرد. هاکان و همکاران (2011) در یک پژوهش گلخانه‌ای اثر غلظت-های مختلف اسید هیومیک را بر رشد ذرت در خاک‌های آهکی مورد بررسی و نشان داد که غلظت‌های 0/1 و 0/2 اسید هیومیک تاثیر معنی‌داری بر وزن خشک گیاه و جذب عناصر مس، روی، منگنز و فسفر داشت.

با توجه به اینکه در مطالعات گذشته تاثیر اسید هیومیک استخراجی از کود های دامی و مقایسه آن با اسید هیومیک تجاری بر روی رشد سویا کمتر مورد بررسی قرار نگرفته است و نقش مهم سویا به عنوان یک کالای استراتژیک در زنجیره غذایی جهت تولید روغن و همچنین کاربردهای مهم صنعتی، و نقش اسید هیومیک به عنوان بخش مهمی از ماده آلی در افزایش حاصلخیزی خاک، ارایه راهکارهای مناسب جهت افزایش تولید سویا امری ضروری است. لذا این مطالعه با هدف استخراج و شناسایی اسید هیومیک از کود گاوی و گوسفندی و بررسی تأثیر اسیدهای استخراجی از این منابع بر رشد سویا انجام شد.

مواد و روش‌ها

الف- تهیه کمپوست

جهت تهیه کمپوست از کودهای گاوی و گوسفندی و استخراج اسید هومیک 25 کیلوگرم کود پوسیده، از این دو کود از مزرعه دامپروری دانشگاه شهید باهنر کرمان جمع‌آوری و در جعبه های سوراخ دار با ابعاد 0/5، 0/3 و 0/2 قرار داده شد رطوبت 75 درصد و هوادهی منظم به مدت سه ماه نگهداری با دمای 25 تا 28 درجه نگهداری شدند. در پایان دوره، شاخص هوموسی‌شدن از رابطه زیر محاسبه شد

معادله (1) $HI=(HA/TOC)\times100$

که در این معادله، HI شاخص هوموسی شدن می‌باشد که از تقسیم (HA) مقدار هیومیک اسید استخراج‌شده و (TOC) مقدار کربن آلی کل کمپوست حیوانی است که به روش تجزیه عنصری اندازه‌گیری شد (امیر و همکاران 2008).

ب- استخراج اسید هیومیک

استخراج اسید هیومیک طبق روش پیشنهادی انجمن بین المللی مواد هیومیک انجام شد (سوئیفت، 1996). برای این منظور کمپوست آماده شده از کودهای دامی با نسبت 1:10 (وزنی به حجمی) با سود 0/5 مولار مخلوط و تحت فشار گاز N_2 به مدت 24 ساعت (زمان استخراج) در محیط تاریک با شدت 160 دور در دقیقه تکان داده شدند. پس از این زمان فاز محلول (محلول تیره‌رنگ) از فاز رسوب از طریق سانتریفیوژ (2000 دور در دقیقه) جداسازی شد. به بخش محلول، اسید کلریدریک 6 مولار اضافه گردید تا pH محلول به حدود 1 تا 2 رسید و اسید هیومیک به صورت رسوب جدا شد. سپس جهت کاهش میزان خاکستر و سیلیس موجود در رسوب، اسید هیومیک استخراجی با محلول رقیق HCl/HF (0/3 / 0/1 مولار) خالص‌سازی و با آب مقطر شسته شد. در نهایت اسید هیومیک استخراجی در دمای 45 درجه سلسیوس خشک و درصد استخراج اسید هیومیک از رابطه زیر محاسبه گردید.

معادله (2)

$$\%\text{راندمان استخراج} = \frac{m}{n} \times 100$$

که در این معادله m مقدار اسید هیومیک استخراج‌شده بر حسب گرم و n مقدار کمپوست استفاده شده بر حسب گرم را نشان می‌دهد.

ج- تعیین برخی ویژگی‌های شیمیایی اسیدهای استخراجی

برای اندازه گیری نسبت‌های اسپکتروفوتومتری ابتدا 3 میلی گرم از هر نمونه اسید هیومیک استخراج شده در 10میلی لیتر بافر بی کربنات سدیم 0/05 مولار حل شد و سپس برای تعیین نسبت های E4/E6 (نسبت ترکیبات

آلیفاتیک به آروماتیک) E3/ E5 (اندازه مولکولی در اسید هیومیک های استخراجی از ورمی کمپوست) میزان جذب در طول موج‌های 350 (E_3)، 465 (E_4)، 550 (E_5) و 665 (E_6) نانومتر با استفاده از دستگاه UV/VIS CECIL 292 اندازه گیری شد (نواک، 2001).

جهت طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)، از دستگاه FTIR مدل TENSOR 27 در محدوده عدد موجی شده cm^{-1} 4000 - 400 استفاده شد (فرانسیوسکو و همکاران، 1998). ترکیب عنصری اسیدهای هیومیک استخراج‌شده و اسید هیومیک تجاری شامل کربن، هیدروژن، نیتروژن، و گوگرد توسط دستگاه تجزیه عنصری مدل Elementar Analyser system GmbH vario Macro تعیین شد. برای برآورد اکسیژن در نمونه‌های اسید هومیک نیز از رابطه زیر استفاده شد (پالازو و همکاران، 2008).

معادله (3)

$$\%O = 100 - (\%C + \%H + \%N + \%S)$$

مقایسه خصوصیات اسیدهای استخراجی از کود گاوی و گوسفندی با اسید هیومیک تجاری تولید شده توسط شرکت مولکول کرمان، صورت گرفت.

د- تأثیر سطوح مختلف اسید هیومیک بر برخی خصوصیات رویشی سویا

در این مرحله تأثیر اسیدهای هیومیک استخراج شده از کودگاوی و گوسفندی، بصورت آزمایشی گلخانه‌ای با گیاه سویا انجام شد. مقدار کافی خاک از عمق صفر تا 30 سانتی‌متری مزرعه تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان با رژیم حرارتی ترمیک و رطوبتی اریدیک و طبق رده‌بندی آمریکا رده اریدی‌سول با زیر رده Typic Haplocalcids (مختصات جغرافیایی ′57°07 طول شرقی ′14°30 عرض شمالی) و پس از هوا خشک کردن نمونه‌ها و عبور از الک دو میلی‌متری، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن از جمله قابلیت هدایت الکتریکی (کارتر و گریگوریچ، 2008)، واکنش خاک (مسلین، 1992)، بافت خاک (بویوسوس، 1962)، درصد کربنات کلسیم معادل (لبرون و همکاران، 2002)، میزان نیتروژن کل (برمنر و میولونسی، 1982)، فسفر قابل جذب خاک و پتاسیم قابل جذب (هلمک و همکاران، 1996) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت (جدول 1).

جدول 1- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در کشت

ویژگی	واحد	مقدار
بافت	------	لوم شنی
شن	(%)	75/6
سیلت	(%)	16
رس	(%)	8/4
کربن آلی	(%)	0/69
کربنات کلسیم معادل	(%)	8/32
قابلیت هدایت الکتریکی	($dS\ m^{-1}$)	2/2
پهاش (خمیر اشباع)	-	7/50
نیتروژن کل	(%)	0/03
پتاسیم قابل جذب	($mg\ kg^{-1}$)	150
فسفر قابل جذب	($mg\ kg^{-1}$)	14

جهت بررسی سطوح مختلف اسید هیومیک بر رشد سویا، ابتدا بذرهای سویا شسته شد و سپس برای شکستن خفتگی بذور در آب 50 درجه سانتی گراد قرار داده شدند. پس از گذشت چند دقیقه، بذور در پارچه مرطوب

پیچیده شده و به مدت دو روز در یخچال با دمای 4 درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. بعد از جوانه زنی، بذور سویا به گلدان‌های حاوی سطوح صفر، 100 و 200 میلی‌گرم اسید هیومیک استخراجی از کود گاوی (CHA)، گوسفندی (SHA) و اسید هیومیک تجاری (HA) منتقل شد. همچنین بر اساس آزمون خاک، مقدار یک گرم در لیتر کود اوره در هفته سوم، پنجم و هفتم همراه با آب آبیاری به گلدان‌ها افزوده شد. تیمارها در سه تکرار و آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در شرایط کنترل شده دمای بین 25 تا 30 درجه و رطوبت خاک ظرفیت زراعی در طول دوره رشد در با استفاده از توزین گلدان ها در هنگام ظرفیت زراعی و اختلاف آن با وزن گلدان ها چند روز پس از آبیاری در حد ظرفیت زراعی مزرعه حفظ گردید. بعد از گذشت 70 روز، بخش هوایی و ریشه‌های جدا شده سویا ابتدا با آب معمولی و سپس با آب مقطر شستشو داده شد. جهت اندازه‌گیری وزن تازه شاخساره و ریشه، پس از جدا کردن بخش هوایی گیاه از محل طوقه بلافاصله توزین شدند. ارتفاع شاخسار از سطح خاک تا انتهای جوانه، با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری و بر حسب سانتی‌متر گزارش گردید. همچنین جهت اندازه‌گیری وزن خشک شاخسار و ریشه نمونه‌های گیاهی در آون در دمای 65 درجه سلسیوس تا رسیدن به وزن ثابت، خشک و سپس توزین شدند. حجم ریشه در هر تیمار، از طریق غوطه‌ورسازی ریشه در آب و از اختلاف حجم اولیه و ثانویه آب در استوانه مدرج اندازه‌گیری و بر حسب سانتی‌متر مکعب گزارش شد. پس از مرتب سازی و وارد کردن داده ها در نرم افزار اکسل تجزیه واریانس داده‌ها از طریق نرم افزار SAS و در سطح احتمال یک درصد انجام شد. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال 5 درصد بهره گرفته شد. رسم نمودار با استفاده از نرم افزار اکسل انجام شد.

نتایج و بحث

درصد استخراج و شاخص هوموسی شدن هیومیک اسید

مقادیر بدست آمده از شاخص هوموسی شدن کود گوسفندی و گاوی به ترتیب 25/6 و 22/9 اندازه‌گیری شد (جدول 2). مطالعه هوموسی شدن معمولاً به منظور ارزیابی و شناخت تحولات مواد آلی انجام می‌شود. تغییرات هوموسی شدن و ثبات ماده آلی در خاک معمولاً توسط نسبت‌هایی که شاخص ثبات (به عنوان معیارهای کیفیت برای محصول نهایی) نامیده می‌شود، ارزیابی می‌گردد (اورلوف و بیریاکوا، 1996). این شاخص از مقادیر اسید هیومیک و کربن آلی محاسبه می‌گردد. هوموسی شدن مواد آلی به عنوان یک شاخص مناسب برای ارزیابی کیفیت و پایداری کمپوست در نظر گرفته شده است، چرا که هوموسی شدن مواد آلی در سطح بالا باعث افزایش ارزش و کارایی محصول نهایی (اسید هیومیک استخراج‌شده) می‌گردد (اورلوف و بیریاکوا، 1996). با توجه به بالاتر بودن شاخص هوموسی شدن در کود گوسفندی، می‌توان انتظار داشت که اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی کمیت بهتری در مقایسه اسید هیومیک استخراجی از کود گاوی داشته باشد.

درصد استخراج اسید هیومیک از کود گاوی و کود گوسفندی تفاوت کمی نشان داد و به ترتیب برابر با 8/5 و 7/6 درصد اندازه‌گیری شد (جدول 2). مقدار استخراج اسید هیومیک از ترکیبات آلی به عوامل متعددی از جمله درجه هوموسی شدن ترکیب و نوع عصاره‌گیر بستگی دارد به طوری‌که هرچه درجه هوموسی شدن بیشتر باشد درصد استخراج اسید هیومیک نیز افزایش خواهد یافت (شهبازی و همکاران، 1398). در مطالعه انجام شده توسط طالع‌فراهی و همکاران (1393) عملکرد اسید هیومیک استخراج شده از چهار منبع (بیوچار تولیده شده در دمای 200، 400، و لجن و کود دامی) با دو استخراج کننده متفاوت (هیدروکسید سدیم و هیدروکسید پتاسیم) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آنان نشان داد که بیشترین درصد اسید هیومیک استخراجی از لجن (به میزان 9 درصد) با

استفاده از هیدروکسید پتاسیم و کمترین درصد استخراج نیز از بیوچار تولید شده در 400 درجه سانتی‌گراد (به میزان 1/4 درصد) با استفاده از هیدروکسید سدیم به دست آمد.

نسبت‌های اسپکتروفتومتری (E_4/E_6 و E_3/E_5)

نتایج نشان داد که در بین اسیدهای هیومیک مورد مطالعه، اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی بیشترین دارای بیشترین مقدار ترکیبات آروماتیکی با نسبت E4/E6 (4/40) بود که اختلاف اندکی با هیومیک گاوی داشت که این نسبت 4/35 بود (جدول 2). کود گوسفندی درجه تراکم کم ترکیبات آروماتیکی را نشان می‌دهد و برعکس هیومیک تجاری تراکم زیاد حلقه‌های آروماتیکی در مولکول اسید هیومیک دارد (مارتینز و همکاران، 1998).

افزایش جزئی در نسبت E4/E6 در طول کمپوست سازی شامل کاهش وزن مولکولی ساختارهای هیومیک احتمالاً با حذف ترکیبات آلیفاتیک، افزایش محتوای اکسیژن است (چن و همکاران، 1997) که شاخص هوموسی شدن بیشتر در کود گوسفندی درستی این مطلب را نشان می‌دهد.

تچگونی و همکاران (2013) گزارش کردند که E4/E6 در ابتدای فرآیند کمپوست 3/96 بود و پس از 3 ماه، تقریباً در 2/68 تثبیت شد. مقدار کمتر این نسبت در کود دامی (2/08) نشان دهنده پایداری بیشتر است. نسبت های پایین تر E4/E6 نشان دهنده غالب بودن ترکیبات آروماتیک است، در حالی که نسبت های E4/E6 بالاتر نشان دهنده برجسته بودن ساختارهای آلیفاتیک است.

بیشترین مقدار E3/E5 در اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی (5/64) اندازه‌گیری شد در حالیکه کمترین مقدار E3/E5 مربوط به اسید هیومیک تجاری (4/61) بود (جدول 2). بر همین اساس می‌توان گفت که اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی در مقایسه با اسید هیومیک گاوی و اسید هیومیک تجاری از کیفیت بهتری برخوردار بود. بالاتر بودن نسبت E3/E5 در کود گوسفندی می‌تواند ناشی از تجزیه‌پذیری بیشتر و بالاتر بودن شاخص هوموسی کود گوسفندی باشد. لگیوراتی و همکاران (2005) در مطالعه‌ای با بررسی هوا دهی و آبیاری بر روی استخراج اسید هیومیک از کمپوست شهری گزارش کردند که نسبت E3/E5 برای اسیدهای هیومیک آبیاری شده و هوادهی شده بیشتر از اسید هیومیک‌های هوادهی شده و آبیاری نشده بود که می تواند محتوای بالای اکسیژن و وزن مولکولی اسیدهای هیومیک مربوط باشد آن ها گزارش کردند نسبت‌های بالای E3/E5 نشان می‌دهد که اسید هیومیک اندازه مولکولی کوچکی دارد. نسبت جذب ماده هیومیک به طور کلی یک پارامتر سنتی برای تخمین اندازه مولکولی آن است. در تحقیقی دیگر نیز، نسبت‌های E3/E5 و E4/E6 میزان جذب بیشتری را در اسید هیومیک استخراجی از اوره نشان دادند که نشان از اندازه کوچک اسید هیومیک استخراجی از اوره داشت (همتی و همکاران، 2012).

ترکیب عنصری اسید هیومیک

جهت شناسایی نوع مواد هیومیک و تعیین ساختار آن، نسبت‌های عنصری مورد استفاده قرار می‌گیرند (برونل و همکاران 1987; استیونسون، 1994). نتایج تجزیه عنصری نشان داد که اسید هیومیک استخراج شده از کود گوسفندی بیشترین مقدار نیتروژن و گوگرد را دارا است. بیشترین مقدار اکسیژن و هیدروژن به ترتیب در اسید هیومیک تجاری و اسید هیومیک استخراجی از کود گاوی اندازه‌گیری شد (جدول 2). نتایج تجزیه عنصری نشان داد که مقادیر به دست آمده برای اسیدهای استخراجی از کود گاوی و گوسفندی با مقادیر گزارش شده توسط کونونوا (1966) و آرواجو و همکاران (2017) مطابقت دارد. اما نتایج تجزیه عنصری اسید هیومیک تجاری با مقادیر گزارش شده توسط این پژوهشگران متفاوت بود. نتایج نشان داد که اسید هیومیک استخراج‌شده از کود گوسفندی کمترین مقدار و اسید هیومیک تجاری بیشترین مقدار C/N را دارا ابود. تفاوت در نسبت C/N ناشی از تفاوت در کیفیت مواد اولیه جهت استخراج اسید هیومیک است

(آباکوموف و همکاران، 2013). نسبت هیدروژن به کربن (H/C) علاوه بر این که بیان‌کننده‌ی نسبت اشباع شدگی اسید هیومیک است (سان و همکاران، 2012)، اطلاعاتی از میزان تراکم ترکیبات آروماتیک در ترکیب نیز بیان می‌کند به طوری‌که افزایش این نسبت نشان از افزایش نسبت ترکیبات آروماتیک به آلیفاتیک در ترکیب آلی دارد (برونول، 1987). نتایج نشان داد که اسید هیومیک استخراج شده از کود گاوی بیشترین مقدار و اسید هیومیک تجاری کمترین مقدار H/C را دارد. کمترین میزان این نسبت در اسید هیومیک تجاری (0/06) مشاهده شد که این نشان‌دهنده تراکم بالای ترکیبات آلیفاتیک در این اسید است. از نسبت اکسیژن به کربن (O/C) برای شناسایی انواع مختلف مواد هیومیک استفاده می‌گردد. هر چه این نسبت کمتر باشد، اسید هیومیک زودتر تجزیه شده و از دسترس گیاه خارج می‌شود (برونول، 1987). بیشترین نسبت O/C در اسید هیومیک کود گوسفندی و کمترین مقدار در اسید هیومیک تجاری به دست آمد (جدول 2). این نتایج نشان دهنده پایداری بالاتر اسید هیومیک گوسفندی در خاک و تأثیر ماندگارتر این اسید بر خصوصیات خاک است (دشماخ و همکاران، 2002). بنابراین، اسید هیومیک نه تنها بر مبنای نسبت C/N بلکه بر اساس درجه هوموسی شدن نیز ارزیابی شود. نشان داده شده است که هیومیک اسید با نسبتهای H/C پایین و C/N بالا، درجه پایداری و چگالندگی بالاتری از خود نشان می‌دهند (بارانسیکوا، 1997).

جدول 2- برخی ویژگی‌های اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی، گاوی و اسید هیومیک تجاری

خصوصیات	کود گوسفندی	کود گاوی	تجاری
شاخص هوموسی شدن	25/64	22/93	-------
درصد استخراج اسید هیومیک	8/5	7/6	-------
pH (1:20)	4/9	5	9/5
EC (1:20) ($dS\ m^{-1}$)	9/6	8/6	10/7
E_4/E_6	4/40	4/35	3/24
E_3/E_5	5/64	5/56	4/61
(%) O	33/15	37/51	46/27
(%) (H)	4/06	4/49	2/94
(%) (C)	55/32	52/74	48/66
C/O	1/67	1/41	1/05
H/C	0/07	0/09	0/06
C/N	12/7	13/8	64

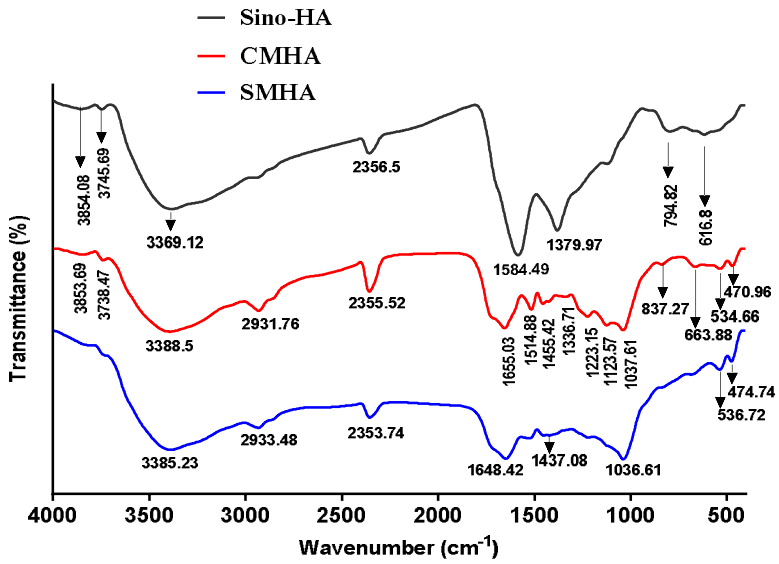
طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR)

نتایج طیف مادون قرمز اسیدهای هیومیک استخراجی و تجاری در شکل (1) نشان داده شده است. در طیف مربوط به این اسیدها یک پیک پهن نزدیک $3300\ cm^{-1}$ – 3400 دیده شد که بیانگر هیدروکسیل فنولی (OH فنولی) است و وجود پیک مربوط به خمش حلقه آروماتیک در نزدیکی 1200 – 1100 آن را تأیید می‌کند. همچنین حضور پیک در ناحیه $1700\text{-}1600\ cm^{-1}$ می‌تواند ناشی از کشش C=C آروماتیکی، C=O مربوط به کتون یا کوئینون متصل به هم و یا کشش C=O مربوط به آمیدها باشد. این پیک در اسید هیومیک تجاری با شدت بیشتری مشاهده شد. پیک مشاهده شده در ناحیه $1200\text{-}1100 cm^{-1}$ می‌تواند مربوط به خمش حلقه آروماتیک یا خمش C-H آلیفاتیکی باشد که در اسید هیومیک تجاری این پیک حذف شده بود. در طیف اسید هیومیک تجاری، پیکی در ناحیه $1400\text{-}1350 cm^{-1}$ دیده شد که می‌تواند مربوط به COO یا CH_3 باشد (اوتمانه و همکاران، 2000). مقایسه طیف‌ها نشان داد که پیک مربوط به OH فنولی در اسید هیومیک استخراجی از کود

گوسفندی شدت بیشتری را در مقایسه با سایر نمونه‌ها نشان داد که نشان از فراوانی بیشتر OH فنولی دارد که نشانه هوموسی شدن بیشتر هیومیک استخراجی از کود گوسفندی است.کیواتسوکا و تسیوتساکی (1978) ساختار شیمیایی اسید هیومیک خاک را بررسی و رابطه بین گروه‌های عاملی با درجه هوموسی شدن و نوع خاک را به دست آوردند. آنها به این نتیجه رسیدند که طی فرایند هوموسی شدن، گروه‌های هیدروکسیل فنولی و کربوکسیل افزایش و گروه‌های هیدروکسیل الکلی و متوکسیل کاهش می‌یابند.

تأثیر اسیدهای هیومیک بر صفات رویشی سویا

نتایج تجزیه واریانس اثر اسید هیومیک از منابع مختلف بر صفات رویشی سویا در جدول 3 نمایش داده شده است



شکل 1- طیف‌سنجی مادون قرمز اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی (SHA) و گاوی (CHA) و اسید هیومیک تجاری (HA)

جدول 3- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف اسید هیومیک بر برخی از صفات رویشی گیاه سویا

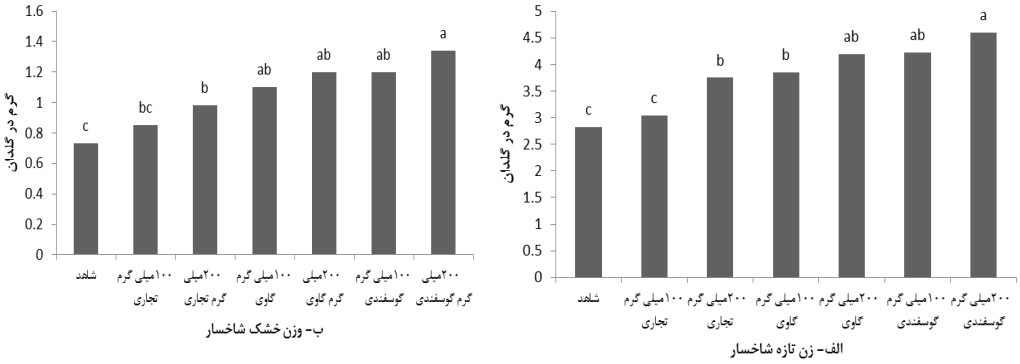
منابع تغییرات	درجه آزادی	مربعات میانگین					
		ارتفاع	وزن تازه شاخسار	وزن خشک شاخسار	حجم ریشه	وزن تازه ریشه	وزن خشک ریشه
تیمار	6	6/7^{ns}	1/09**	0/14**	0/13*	0/03**	0/03**
خطا	14	17/58	0/25	0/026	0/05	0/001	0/001
ضریب تغییرات	-	10/26	13/74	15/66	18	2/03	20/98

n.s و** و * به ترتیب غیرمعنی‌دار بودن و اختلاف معنی‌دار در سطح 1 و 5 درصد.

وزن تازه و خشک شاخسار

نتایج نشان داد که کاربرد سطوح مختلف اسید هیومیک باعث افزایش معنی‌دار وزن تازه و خشک شاخسار شد (جدول 3). که مصرف اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی به میزان 200

میلی گرم دارای بیشترین تأثیر بود کـه وزن تـر و خشـک شاخسار رو به ترتیب 62 درصد 83 درصد افـزایش داد و کمترین مقدار این مقدار از مصرف اسید هیومیک تجـاری به میزان 100 میلی گرم حاصل شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار شاهد نداشت (شکل 2). اسید هیومیک حاصل از کود گوسفندی دارای بیشترین مقدار افزایش بود که علت آن به دلیل تأثیر اسید هیومیـک در جـذب بیشـتر عناصـر نیتروژن و پتاسیم نسبت به اسید هیومیک حاصـل از کـود گاوی و اسید هیومیک تجاری بود (جدول 2). در حالی‌که با کاربرد اسید هیومیک تجاری در خاک تغییر معنـی‌داری از این نظر مشاهده نشد (شکل 2- الـف و ب). همچنـین نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین سطوح کـاربردی اسیدهای هیومیک وجود ندارد. نتایج این مطالعه با نتـایج دیگر پژوهش‌ها مطابقت دارد. گالسر و همکـاران (2010) نشان دادند اسید هیومیک تجاری سبب افزایش وزن تازه و خشک برگ و ساقه در فلفل گردید. ژانـگ و همکـاران (2013) معتقدند که اسید هیومیـک از طریـق افـزایش جذب عناصر غذایی به ویژه نیتـروژن و پتاسـیم سـبب افزایش فتوسنتز و تولید ماده خشک می‌گردد. همچنین بخشـی از افـزایش وزن تـازه و خشـک شاخسـار را می‌توان به افزایش رشد ریشـه و جـذب بیشـتر آب و عناصر غذایی نسبت داد. افزایش عملکـرد بیولـوژیکی با مصرف اسید هیومیک را می‌توان بـه تحریـک رشـد گیـاه از طریـق سـوخت‌و سـاز عناصـر کـم‌مصـرف و پرمصرف، فعالسازی آنزیم‌هـا و تغییـر در نفوذپـذیری غشا، سنتز پروتئین‌ها دانست که مجمـوع ایـن عوامـل سبب افزایش بیوماس گیاه می‌شود (یولوکان، 2008).

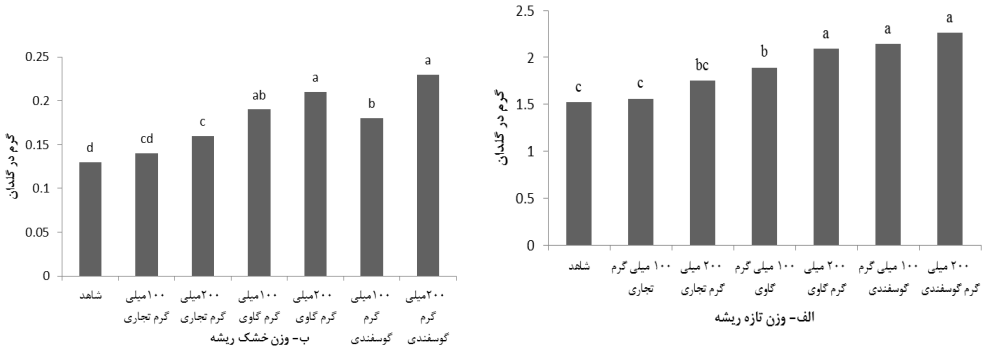


شکل 2- تأثیر اسید هیومیک تجاری، گوسفندی و گاوی بر وزن تازه ش(الف) و وزن خشک شاخسار (ب) گیاه سویا
(ستون‌های با حداقل یک حرف لاتین مشترک فاقد اختلاف معنادار در سطح احتمال 5 درصد آزمون دانکن می‌باشند).

وزن تازه و خشک ریشه

نتایج نشان داد که کاربرد اسید هیومیک استخراج شده از کود گاوی و گوسفندی سبب افزایش معنی‌دار وزن تازه ریشه سویا شد در حالی‌که اسید هیومیک تجاری در سطح 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم تأثیر کمی بر این صفت داشت که معنی‌دار نبود. همچنین بیشترین وزن تازه ریشه از تیمار 200 میلی گرم اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی اندازه‌گیری شد که باعث افزایش 48 درصدی نسبت به تیمار شاهد بود و تفاوت معنی‌داری با 100 میلی گرم اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی و 200 میـلی‌گرم استـخراجی از کـود گاوی نداشت. کاربرد اسید هیومیک استخراجی از کود گاوی و گوسفندی بر وزن خشک ریشه سویا نیز تأثیر کاملاً مشهودی را سبب شد (شکل 3-الف). بیشترین وزن خشک ریشه سویا در تیمار 200 میلی‌گرم بر کیلوگرم اسید هیومیک گوسفندی اندازه‌گیری شد که 77 درصد افزایش نسبت به تیمار شاهد بود و تفاوت معنی‌داری با سطح 200 میلی‌گرم بر

کیلوگرم اسید هیومیک استخراج شده از کود گاوی نداشت (شکل 3- ب). افزایش رشد ریشه را به اثرات شبه‌اکسینی اسید هیومیک نسبت داده‌اند که سبب تحریک رشد ریشه و اثر بخشی بهتر سیستم ریشه‌ای می‌شود (شریفی اصل و همکاران، 1399). مواد هیومیکی به صورت غیرمستقیم از طریق فراهم آوردن عناصر معدنی و اغلب نیتروژن، فسفر و پتاسیم و همچنین عناصر کم مصرف برای ریشه، بهبود ساختار خاک و در نتیجه افزایش نفوذپذیری بستر ریشه به آب و هوا، افزایش جمعیت میکروبی خاک از جمله میکروارگانیسم‌های مفید، افزایش تبادل کاتیونی(CEC) و توانایی بافر کردن محیط ریشه سبب افزایش رشد ریشه می‌شوند (شریف و همکاران، 2002). طبق پژوهش جینگ‌مین و همکاران (2010) با افزایش آب و استفاده از اسید هیومیک، فعالیت ریشه، وزن ریشه و وزن کل صنوبر افزایش یافت. آرانسون و همکاران (2003) نشان دادند که اسید هیومیک استخراجی از کود گاوی با غلظت 250، 500 و 1000 میلی گرم رشد ریشه توت فرنگی را به طور معنی‌داری با افزایش مصرف افزایش یافت.



شکل 3- تأثیر اسید هیومیک تجاری، گوسفندی و گاوی بر وزن تازه ریشه (الف) و وزن خشک ریشه (ب) گیاه سویا

(ستون‌های با حداقل یک حرف لاتین مشترک فاقد اختلاف معنادار در سطح احتمال 5 درصد آزمون دانکن می‌باشند).

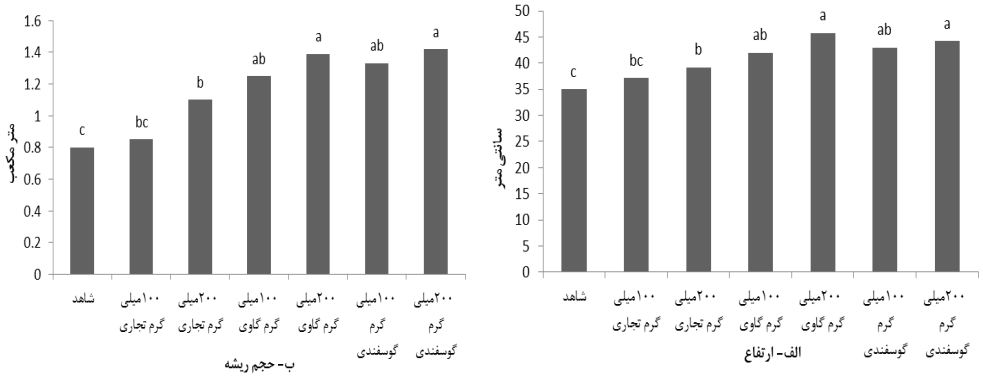
ارتفاع شاخساره

نتایج نشان داد که مصرف اسید هیومیک از منابع مختلف دامی و تجاری مختلف باعث افزایش ارتفاع گیاه سویا شد. مصرف اسید هیومیک استخراجی از کود گاوی و کود گوسفندی به میزان 200 میلی‌گرم به ترتیب باعث افزایش 31 و 29 درصدی در ارتفاع گیاه سویا شد و کمترین مقدار از اسید هیومیک تجاری به دست آمد که باتیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت(شکل 4-الف). در ارتباط با تأثیر اسید هیومیک بر ارتفاع شاخسار گیاهان مطالعات متعددی انجام شده است. وجود ترکیبات به هورمونی از جمله اکسینی (اتیه و همکاران، 2002) و ترکیبات شبه جیبرلینی (ناردی و همکاران، 2002) در هیومیک اسید می‌تواند رشد سلول‌ها را تحت تأثیر قرار دهد احتمالاً اسید هیومیک با تأثیر بر غشای سلول و رشد آن بر افزایش ارتفاع بوته مؤثر بود در مطالعه‌ای کاربرد هیومیک اسید به میزان 1000 میلی گرم با افزایش رشد ریشه و افزایش سطح جذب سبب افزایش قطر و ساقه گوجه‌فرنگی شد (ترکمن و همکاران، 2004). همچنین تغییر فعالیت H+-ATPase در ریشه، تغییر توزیع نیترات ریشه به ساقه و به دنبال آن تغییر در توزیع سیتوکینین و پلی‌آمین‌ها به عنوان عوامل مؤثر در افزایش ارتفاع گیاه بعد از کاربرد اسید هیومیک شناخته شده است (روبیو و همکاران، 2009).

مواد هیومیک با مکانیسم‌های مختلف سبب تسریع رشد در گیاهان می‌شوند. یکی از این مکانیسم‌ها به اثر مستقیم این ترکیبات و وجود ترکیبات شبه‌هورمونی، از جمله ترکیبات اکسینی و شبه‌اکسینی، مربوط می‌باشد که می‌توانند رشد سلول‌ها را تحت‌تأثیر قرار دهند (اتیه و همکاران، 2002).

حجم ریشه

حجم ریشه سویا در پاسخ به کاربرد اسید هیومیک استخراج شده از کود گوسفندی و گاوی و تجاری به طور معنی‌داری افزایش یاف. مصرف اسید هیومیک استخراجی از کود گوسفندی به میزان 200 میلی گرم دارای بیشترین مقدار افزایش بود که نسبت به تیمار شاهد 78 درصد بود. و اختلاف معنی‌داری با تیمار 200 میلی‌گرم اسید هیومیک استخراجی از کود گاوی نداشت اسید هیومیک تجاری توانست حجم ریشه را به طور معنی‌دار افزایش دهد، اما این افزایش نسبت به اسید هیومیک استخراج شده از کود گوسفندی و گاوی کمتر بود (شکل 4-ب). گیاهانی که ریشه‌های وسیع‌تر و قوی‌تر داشته باشند، رشد بهتری نیز خواهند داشت. اسید هیومیک میتوان با کلات کردن عناصر غذایی مختلف مانند سدیم، پتاسیم، منیزیم، روی، کلسیم، آهن، مس و سایر عناصر در جهت غلبه بر کمبود عناصر، سبب افزایش طول و وزن ریشه و آغازش ریشه های جانبی می شود (عابدی و پاک نیت، 2010). اسید هیومیک با تأثیر بر محیط ریزوسفر و کلات کردن عناصر باعث افزایش نفوذپذیری سلول‌های ریشه به جذب بهتر مواد غذایی و توسعه بیشتر گیاه کمک می‌نماید (پیکولو و همکاران، 1993). اسید هیومیک از طریق افزایش متابولیسم و فعالیت آنزیمی گیاه، افزایش سطح بیومس ریشه را موجب می‌شوند. اسیدهای هیومیک باعث تولید بیشتر اسیدهای نوکلئیک و اسیدهای آمینه در گیاه به واسطه افزایش جذب عناصر می‌شود که تکثیر سلولی را در کل گیاه و به ویژه در ریشه‌ها افزایش می‌دهند (دورسان و همکاران، 2002). نیکبخت و همکاران (2008) دریافتند که غلظت 1000 میلی‌گرم در لیتر اسید هیومیک سبب افزایش 52 درصدی در ریشه گیاه ژربرا نسبت به تیمار شاهد شد.



شکل 4- تأثیر اسید هیومیک تجاری، گوسفندی و گاوی بر ارتفاع (الف) و حجم ریشه (ب) گیاه سویا

(ستون‌های با حداقل یک حرف لاتین مشترک فاقد اختلاف معنادار در سطح احتمال 5 درصد آزمون دانکن می‌باشند).

(ستون‌های با حداقل یک حرف لاتین مشترک فاقد اختلاف معنادار در سطح احتمال 5 درصد آزمون LSD می‌باشند).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که میزان استخراج اسید هیومیک از کود گوسفندی و کود گاوی اختلاف اندکی با هم داشت. همچنین نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز، نسبت‌های اسپکتروسکوپی و تجزیه عنصری، ماهیت هیومیکی بودن اسید استخراج شده از کود گوسفندی و گاوی را تأیید کرد. نتایج مطالعه گلخانه‌ای نشان از تأثیر مؤثرتر اسید هیومیک‌های استخراجی از کود گوسفندی و کود گاوی بر خصوصیات رشدی سویا در مقایسه با اسید هیومیک تجاری داشت که غلظت 200 میلی گرم مؤثرتر از 100 میلی‌گرم بود. از طرفی نقش اسید هیومیک استخراج شده از کود گوسفندی بر خصوصیات رشدی گیاه سویا بیشتر از اسید هیومیک استخراجی از کود گاوی

بود و غلظت 100 میلی گرم اسید هیومیک تجاری اختلاف کمی با تیمار شاهد داشت و پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی از غلظت‌های بالای200 میلی‌گرم اسید هیومیک‌های استخراجی از کودهای حیوانی مورد بر روی صفات رویشی و جذب عناصر غذایی در سویا و سایر گیاهان مورد بررسی قرار گیرد.

فهرست منابع:

1. حاتمی، ا. شکوهیان، ع. قنبری، ع. و ناصری، ل. 1399. بررسی اثر اسید هیومیک بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پایه های بادام تحت تنش شوری. مجله علوم باغبانی ایران (علوم کشاورزی ایران). جلد 51، شماره 3، صفحات 523 تا 536.
2. زندسلیمی، س.، صادقی، م.ر.، محبوبی، ع.ا. و رشیدیان، م. 1386. کودهای دامی و آلودگی محیط زیست. دهمین همایش ملی بهداشت محیط. همدان.
3. سلیمان زاده، گ. سلطانی، ا. ترابی، ب. ابراهیمی، ح. و شاکری، ا. 1399. مدل سازی تأثیر کشت نشایی بر عملکرد و مصرف آب سویا در شرایط گرگان. تولید فرآوری محصولات زراعی و باغی. جلد 10، شماره 3، صفحات 111 تا 125.
4. شهبازی, ش. فاتح, ا. و آینه بند, ا.1394. مطالعه اثر کاربرد هیومیک اسید و ورمی‌کمپوست بر عملکرد و اجزای عملکرد سه رقم گندم نواحی گرمسیری .تولیدات گیاهی. جلد 38، شماره 2، صفحات 99 تا 110.
5. شهبازی، ک. مارزی، م. و طباخیان، ش. 1398. بررسی روش‌های اندازه‌گیری هیومیک اسید و فولویک اسید در مواد کودی. نشریه علمی ترویجی مدیریت اراضی. شماره 7، صفحات 97 تا 114.
6. طالع فراهی, ف. غلامعلی زاده, ا. و همتی, آ. 1398. اثر اسیدهیومیک استخراجی از منابع مختلف بر صفات آفتابگردان رشد یافته در یک خاک آهکی .تنش‌های محیطی در علوم زراعی. جلد 12، شماره 2، صفحات 617 تا 630.
7. موسوی، س. 1399. تأثیر میکوریزا و هیومیک اسید بر صفات مورفولوژیک و عملکرد پنبه تحت تنش خشکی. دانش کشاورزی و تولید پایدار (دانش کشاورزی). جلد 30، شماره 1، صفحات 121 تا 139.
8. نخ زری مقدم، ع. صمصامی، ن. راحمی کاریزکی، ع. و قلی نژاد، ا. 1399. تأثیر تنش کم آبی بر صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه سویا تحت تأثیر تلقیح و عدم تلقیح با قارچ میکوریزا و باکتری ریزوبیوم. تنش‌های محیطی در علوم زراعی. جلد 13، شماره 2، صفحات 413 تا 423.
9. Abakumov E.V., T. Cajthaml and J. Brus. 2013. Humus accumulation, humification, and humic acid composition in soils of two post-mining chronosequences after coal mining. Journal od Soils and Sediments. 13: 491–500.
10. Aiken G.R. 1984. Evaluation of ultrafiltration for determining molecular weight of fulvic acid. Environmental Science and Technology. 18: 978-981.
11. Amir S., F. Benlboukht, N. Cancian, P. Winterton and M Hafidi. 2008. Physico-chemical analysis of tannery solid waste and structural characterization of its isolated humic acids after composting. Journal of Hazardous Materials 160: 448–455.
12. Araújo B.R., L.P. Bruno, M.E. Doumer and A.S. Mangrich. 2017. Evaluation of the interactions between chitosan and humics in media for the controlled release of nitrogen fertilizer. Journal of Environmental Management. 190: 122-131.
13. Atiyeh, R. M., Lee, S., Edwards, C. A., Arancon, N. Q., & Metzger, J. D. (2002). The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. Bioresource Technology. 84(1): 7-14.
14. Bellamy L.J. 1975. The Infrared Spectra of Complex Molecules, Chapman and Hall, London.

15. Ben Mbarek, H., Ben Mahmoud, I., Chaker, R., Rigane, H., Maktouf, S., Arous, A., . & Gargouri, K. 2019. Change of soil quality based on humic acid with date palm compost incorporation. International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture. 8(3): 317-324.
16. Brown M.E. B. Hintermann and N. Higgins. 2009. Markets, climate change, and food security in West Africa. Environmental Science and Technology. 43: 8016-8020.
17. Brownell J.R., G. Nordstrom, J. Marihart and G. Jorgensen. 1987. Crop responses from two new leonardite extracts. Science of the Total Environment. 62: 491-499.
18. Chen Y., N. Senesi and M. Schnitzer. 1977. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. Soil Science Society of American Journal. 41: 352-358.
19. Durig D.T., J.S. Esterle, T.J. Dickson and J.R. Durig. An investigation of the chemical variability of woody peat by FTIR spectroscopy. Applied Spectroscopy. 42: 1239–1244.
20. Dursun A., I. Güvenç, and M. Turan. 2002. Effects of different levels of humic acid on seedling growth and macro and micronutrient contents of tomato and eggplant. Acta Agrobotanica. 55: 81-88.
21. Ertani A., O. Francioso, V. Tugnoli, V. Righi and S. Nardi. 2011. Effect of commercial lignosulfonate-humate on Zea mays L. metabolism. Journal of agricultural and food chemistry. 59: 11940-11948
22. Gulser F., F. Sonmez and S. Boysan. 2010. Effects of calcium nitrate and humic acid on pepper seedling growth under saline condition. Journal of Environmental Biology. 31: 875-876.
23. Haddad G, El-Ali F, Mouneimne AH 2015 Humic Matter of Com-post: determination of Humic Spectroscopic Ratio (E4/E6). Current Science International Journal.4:56–72.
24. Hakan C., A. Vahap Katkat, B. Bulent Asık and M.A. Turan. 2011. Effect of foliar applied Humic acid to dry weight and mineral nutrient uptake of maize under calcareous soil conditions. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 42: 29-38.
25. Hartz T.K. and T.G. Bottoms. 2010. Humic substances generally ineffective in improving vegetable crop nutrient uptake or productivity. HortScience. 45: 906-910.
26. Helal A.A, G.A. Murad and A.A. Helal. 2011. Characterization of different humic materials by various analytical techniques. Arabian Journal of Chemistry. 4: 51-54.
27. Hernandez TC, Garcia JA, Pascual, Moreno JL (2001) Humic acids from various organic wastes and more traditional organic matter: effect on plant growth and nutrient absorption. In: Swift RS, Spark KM (eds) Understanding and managing organic matter in soils, sediments and waters. Proceeding of the 9th international confer-ence of the International Humic Substances Society University of Adelaide, Adelaide, Australia, 21st–25th September 1998.
28. Jing-min Z., X. Shang-jun, S. Mao-peng, M. Bingyao, C. Xiu-mei and L. Chunsheng. 2010. Effect of humic acid on poplar physiology and biochemistry properties and growth under different water level. Journal of Soil and Water Conservation. 24: 6-10.
29. Khattab M., A. Shaban, H.A. El-Shrief and A. ElDeen Mohamed. 2012. Effect of humic acid and amino acids on pomegranate trees under deficit irrigation. I: growth, flowering and fruiting. Journal of Horticultural Science and Ornamental Plants. 4: 253-259.
30. Kononova M.M. 1966. Soil organic matter. Pergamon press. Oxford.
31. Muscolo A., F. Bovalo, F. Gionfriddo and S. Nardi. 1999. Earthworm humic matter produces auxin-like effects on Daucus carota cell growth and nitrate metabolism. Soil Biology and Biochemistry. 31: 1303-1311.
32. Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., & Vianello, A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biology and Biochemistry, 34(11):1527-1536.
33. Nikbakht A., M. Kafi, M. Babalar, Y.P. Xia, A. Luo and N.A. Etemadi. 2008. Effect of humic acid on plant growth, nutrient uptake, and postharvest life of gerbera. Journal of Plant Nutrition. 31: 2155-2167.

34. Novak J., J. Kozler, P. Janoš, J. Čežíková, V. Tokarová and L. Madronová. 2001. Humic acids from coals of the North-Bohemian coal field: I. Preparation and characterization. Reactive and Functional Polymers. 47: 101-109.
35. Orlove D.S and O.N. Biryukova. 1996. Humin substances of vermicomposts. Agrokhimiia. Nauka Moscow.
36. Ouatmane A., V. Dorazio, M. Hafidi, J.C. Revel and N. Senesi. 2000. Elemental and spectroscopic characterization of humic acids fractionated by gel permeation chromatography. Agronomie. 20:491-504.
37. Palazzo A.J, C.E. Clapp, N. Senesi, M.H.B. Hayes, T.J. Cary, J.D. Mao, L. Terry and T.L. Bashore. 2008. Isolation and characterization of humic acids inidaho slickspot soils. Soil Science. 173: 375-386.
38. Piccolo A., G. Celano and G. Pietramellara. 1993. Effects of fractions of coal-derived humic substances on seed germination and growth of seedlings (Lactuga sativa and Lycopersicum esculentum). Biology and Fertility of Soils. 16: 11-15.
39. Rajesh P. 2010. Effect of potassium humate and deproteinised Juice (DPJ) on seed germination and seedling growth of wheat and jowar. Annals of biological research. 1: 148-151.
40. Rivero C, T. Chirenje, L.Q. Ma and G. Martinez. 2004. Influence of compost on soil organic matter quality under tropical conditions. Geoderma. 123: 355-361.
41. Rubio V., R. Bustos, M.L. Irigoyen, X. Cardona, M. Rojas-Triana and J. Paz-Ares. 2009. Plant hormones and nutrient signaling. Plant Molecular Biology. 69: 61-73.
42. Schiavon M., D. Pizzeghello, A. Muscolo, S. Vaccaro, O. Francioso and S. Nardi .2010. High molecular size humic substances enhance phenylpropanoid metabolism in maize (Zea mays L.). Journal of Chemical Ecology. 36: 662–669.
43. Sharif, M., Khattak, R.A. and Sarir, M.S. 2002. Effect of different levels of lignitic coal drived humic acid on growth of maize plants. Communication in Soil Science and Plant Analysis. 33:3567-3580. (In Persian).
44. Stevenson F.J. 1982. Humus chemistry: Genesis, Composition, Reactions. John Wiley & sons. New York.
45. Sun C.Y., J.S. Liu, Y. Wang, N. Zheng, X.Q. Wu and Q Liu. 2012. Effect of long-term cultivation on soil organic carbon fractions and metal distribution in humic and fulvic acid in black soil. Northeast China. Soil Research. 50: 562-569.
46. Swift R.S. 1996. Organic matter characterization. p.1018-1020. In D.L. Sparks et al. (ed.). Methods of Soil Analysis Part 3-Chemical Methods. Agron. ASA and SSSA, Madison, WI.
47. Tchegueni S, Koriko M, Koledzi E, Bodjona BM, Kili A, Tchangbedji G, Baba G, Hafidi M 2013 Physicochemical characterization of organic matter during co-composting of shea-nut cake with goat manure. Africa Journal of Biotechnology 12:3466–3471.
48. Türkmen Ö. 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: 568-574.
49. Türkmen, Ö., Dursun, A., Turan, M., & Erdinç, C. (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.
50. Zhang L., M. Gao, L. Zhang, B. Li, M. Han, A. Kumar and M. Ashraf. 2013. Role of exogenous glycinebetaine and humic acid in mitigating drought stress-induced adverse effects in Malus robusta seedlings. Turkish Journal of Botany. 37: 920-929.
51. Kuwatsuka, S., Watanabe, A., Itoh, K., & Arai, S. 1992. Comparison of two methods of preparation of humic and fulvic acids, IHSS method and NAGOYA method. Soil Science and Plant Nutrition. 38(1): 23-30.

52. Francioso O, Sanchez-Cortes S, Tugnoli V, Ciavatta C and Gessa C, 1998. Characterization of peat fulvic acid fractions by means of FT-IR, SERS, and 1H, 13C NMR spectroscopy. Appl Spectrosc 52(2): 270–277.
53. Martı´nez, G.A., Traina, S.J., Logan, T.J., 1998. Characterization of proton affinity reactions in polyelectrolytes: discrete vs. continuous distribution of site approach. Journal of Colloid and Interface Science. 199, 53-62
54. Deshmukh, A. P., Y. Chen, J. Tarchitzky, B. Chefetz and P. G. Hatcher. 2002. Structural characterization of soil organic matter and humic acids in particle-size fractions of an agricultural soil.Soil Science Society of America Journal Abbreviation. 66: 129-141.
55. Barancikova, G., Senesi, N., Brunetti, G. 1997. Chemical and spectroscopic characterization of Humic Acids isolated from different Slovak soil. Geoderma. 78: 251–266.
56. Maxwell, S. (2001). Agricultural issues in food security. Food Security in Sub-Saharan Africa, 32-66.
57. Arancon, N. Q., Lee, S., Edwards, C. A., & Atiyeh, R. 2003. Effects of humic acids derived from cattle, food and paper-waste vermicomposts on growth of greenhouse plants: the 7th international symposium on earthworm ecology· Cardiff· Wales· 2002. Pedobiologia 47(5-6): 741-744.
58. Atiyeh, R.M., Lee, S., and Edwards, C.A. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. Bioresource Technology. 84: 7-14.
59. Abedi, T. and Pakniat, H. 2000. Changes in antioxidant enzymes in response to the drought in ten varieties of Canola. Journal of Genetics and Plant Breeding, 46:27- 34.
60. Bau, H. M., Villaume, C. H., & Mejean, L. 2000. Effects of soybean (Glycine max) germination on biologically active components, nutritional values of seeds, and biological characteristics in rats. Food/Nahrung.44(1): 2-6.
61. McLean, E. O. 1982. Soil pH and lime requirement. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties. 199-224.
62. Carter, M.R., and Gregorich, E.G. 2008. Soil Sampling and Methods Analysis. 2nd Edition. Canadian Society of Soil Science Publisher. 823.
63. Bouyoucos, C.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle- size analysis of soil. Agron Jornal. 54: 466-465.
64. Lebron, I., Suarez, D. L., and Yoshida, T. 2002. Gypsum effect on the aggregate size and geometry of three sodic soils under reclamation. Soil Science Society of America Journal. 66
65. Bremner, J. M., and Mulvaney, C. S. 1982. Nitrogen-total. Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties, (methodsofsoilan2). 595-624.
66. : 92-98.
67. Helmke P.H., and Spark D.L. 1996. Potassium, P 551-574. In: D.L. Sparks and A.L. Page (Eds.), Methods of Soil Analysis. SSSA, Inc. ASA, Inc. Madison, WI
68. Lguirati, A., Baddi, G. A., El Mousadik, A., Gilard, V., Revel, J. C., & Hafidi, M. 2005. Analysis of humic acids from aerated and non-aerated urban landfill composts. International Biodeterioration and Biodegradation. 56(1): 8-16.
69. Hemati, A., Alikhani, H.A., Bagheri Marandi, G., Mohammadi, L., 2012. Assessment the possibility of humic acid extraction from vermicompost with Urea. International Journal of Agriculture. 2: 705-709.

Comparison of the Characteristics and Effects of Commercial and Extracted Humic Acid from Cattle and Sheep Manures on Soybean Growth

S. Hosseini[1], M. Hejazi-Mehrizi, M. Sarcheshmehpour, and M. Fekri

MSc Student, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman;
E-mail: hosseini.s1989@gmail.com[2]
Associate Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman;
E-mail: mhejazi@uk.ac.ir
Associate Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman;
E-mail: msarcheshmeh@uk.ac.ir
Professor, Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman; E-mail: mfekri@uk.ac.ir

Received: April, 2022, and Accepted: August, 2022

Abstract

Extraction of humic substances from animal manures can be considered as one of the optimal management solutions for these wastes. This research aimed to identify the characteristics of humic acid from two sources of cattle and sheep manure at two levels of 100 mg and 200 mg and compare their effects with commercial humic acid on the growth of soybeans in a completely random design in greenhouse conditions. Based on the spectrophotometric ratio, E3/E5, the lowest molecular weight was related to humic acid extracted from sheep manure. The infrared spectroscopy results indicated the presence of phenolic hydroxyl, carboxyl, and aromatic ring functional groups in extracted and commercial humic acid. Phenolic OH was abundant in humic acid extracted from sheep manure, and the peak related to aromatic and aliphatic ring was removed in commercial humic acid. The results showed that humic acids extracted from sheep manure in the amount of 200 mg caused 62% increase in the fresh weight of the shoot, 48% in fresh weight of the root; and cattle manure in the amount of 200 mg increased the height of the shoot by 31%. But, the use of commercial humic acid could not influence the mentioned traits. Based on the results of this study, sheep manure can be considered a suitable source for extracting humic acid; and its application to soybean can be recommendable due to its effect on growth indicators, at the rate of 100 mg.

Keywords: Sustainable agriculture, Spectroscopic ratios, Infrared spectroscopy, Humus

[1]. Corresponding author: Department of Soil Science and Engineering, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran