

## Effect of Triple Superphosphate Integration with Leonardite on Some Chemical Characteristics and Microbial Population of an Alkaline Sandy Loam Soil and Concentrations of Nitrogen, Phosphorus, and Potassium in Leaves of *Nigella sativa*

Mehsa Abedi<sup>1</sup> , Jalil Shafagh-Kolvangh<sup>2✉</sup> , Arash Hemati<sup>3</sup> 

1- Department of Plant Ecophysiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

E-mail: [mahsaabedi@tabrizu.ac.ir](mailto:mahsaabedi@tabrizu.ac.ir)

2- Corresponding Author, Department of Plant Ecophysiology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. E-mail: [shafagh.jalil@gmail.com](mailto:shafagh.jalil@gmail.com)

3- Department of Soil and Water Research, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of East Azerbaijan Province, Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Tabriz, Iran.

E-mail: [ar\\_hemati@areeo.ac.ir](mailto:ar_hemati@areeo.ac.ir)

**Received:** December 27, 2025

**Revised:** January 27, 2026

**Accepted:** January 28, 2026

**Published:** January 30, 2026

### Extended Abstract

#### Background and Objectives

Improvement of soil productivity and nutrient use efficiency in medicinal plants, especially in light-textured soils, requires integrated nutrient management strategies. Light soils, such as sandy loam, often have low nutrient retention capacity, high nitrogen and potassium leaching potential, and limited microbial activity, leading to reduced soil fertility and plant nutrient uptake. Humic substances, such as leonardite, are recognized for their ability to improve soil chemical and biological properties, enhance microbial activity, and stabilize nutrients. Phosphate fertilizers, particularly triple superphosphate, provide essential phosphorus for plant growth, but their efficiency is often limited by soil fixation and low mobility in light soils. This study aimed to evaluate the effects of leonardite (rich in humic acids) and triple superphosphate on soil chemical and biological properties (total N, available- P and K, organic matter, electrical conductivity, and microbial populations) and nutrient uptake in *Nigella sativa* L. grown in a sandy-loam soil under rainfed conditions.

#### Materials and Methods

The experiment was conducted in the Parchin region, Germe County, Ardabil province, Iran (39°08'47" N, 48°23'60" E). The field trial was established in a randomized complete blocks design with 9 treatments and 3 replications. Treatments included: 1- Control (no fertilizer), 2- Triple superphosphate 50 kg ha<sup>-1</sup> (P50), 3- Triple superphosphate 100 kg ha<sup>-1</sup> (P100), 4- Leonardite 100 kg ha<sup>-1</sup> (H100), 5- Leonardite 200 kg ha<sup>-1</sup> (H200), 6- P50 + H100, 7- P25 + H150, 8- P75 + H50, and 9- P25 + H50. Each experimental plot consisted of 2 m × 2 m, with 25 cm row spacing, 10 cm plant spacing, and a density of 40 plants per m<sup>2</sup>. The soil preparation was done with a chisel plow, and all fertilizers were applied at planting. The trial was conducted under rainfed conditions without irrigation. The soil samples were collected from 0–30 cm depth after harvest. The soil organic carbon was determined using the Walkley–Black method. Total nitrogen of soil and plant samples was measured by the Kjeldahl method. Available phosphorus was extracted by the Olsen method, and available potassium by ammonium acetate. Leaf samples were dried and analyzed for total nitrogen (Kjeldahl), phosphorus (molybdenum–vanadate colorimetry), and potassium (flame photometry). Microbial populations in the rhizosphere and non-rhizosphere soils were counted using standard plating techniques. Data were analyzed using SPSS software, means comparison was performed by Duncan's multiple range test at  $p \leq 0.05$ , and correlation coefficients among traits were also determined.

#### Results

The results of this study indicated that the combined application of leonardite and triple superphosphate significantly influenced the soil chemical and biological properties as well as nutrient uptake in *Nigella sativa*. The highest increase in soil organic matter was observed in the P25H150 (14.1 g/kg) and H200 (13.7 g/kg) treatments, representing 7% and 5% increases compared to the control (13.1 g/kg), respectively. The soil total nitrogen concentration was highest in P25H150 (0.83 g/kg), a 57% increase over the control (0.53 g/kg) and its value in H200 treatment was 0.77 g/kg (45% increase relative to the control). The soil available phosphorus reached its maximum (7 mg/kg) in P50H100 treatment, representing a 63% increase relative to the control (4.3 mg/kg). The effects of treatments were not significant on soil available potassium and electrical conductivity (EC). Rhizosphere and non-rhizosphere microbial populations were highest in P25H150 treatment and lowest in the control. Increases in microbial populations were positively and significantly correlated with soil organic matter and leaf nitrogen concentration. Leaf nitrogen concentration was highest (27.8 mg/g) in P25H150 treatment. Leaf phosphorus concentration (3.77 mg/g) and leaf potassium concentration (25.7 mg/g) peaked in P50H100. Correlation analysis revealed positive and significant relationships between soil organic matter and total soil nitrogen ( $r = 0.59^{**}$ ) as well as rhizosphere microbial population ( $r = 0.62^{**}$ ). Leaf nitrogen concentration was positively correlated with soil nitrogen ( $r = 0.50^{**}$ ), leaf phosphorus ( $r = 0.68^{**}$ ), and leaf potassium ( $r = 0.53^{**}$ ). Leaf potassium concentration and soil available phosphorus positively correlated with microbial populations in rhizosphere and non-rhizosphere. Also, leaf phosphorus concentration showed a strong positive correlation with soil available phosphorus ( $r = 0.75^{**}$ ).

### Conclusions

Overall, integrated application of leonardite and triple superphosphate, particularly at 25 kg P + 150 kg leonardite/ha, significantly improved soil chemical and biological properties and enhanced macronutrient uptake in *Nigella sativa* plant in a sandy-loam soil under rainfed conditions. Also, leonardite alone at 200 kg/ha positively influenced soil fertility and leaf macronutrient concentrations. Enhanced nitrogen, phosphorus, and potassium concentrations in leaves, together with improved soil organic matter and microbial populations, demonstrated the effectiveness of the combined organic–mineral strategies in promoting nutrient stability and bioavailability. These findings highlight that optimized applications of leonardite and triple superphosphate can serve as an efficient approach for sustainable soil fertility management and improving productivity of medicinal plants, especially in low-organic matter soils and semi-arid regions.

**Keywords:** Chemical fertilizer, Humic acid, Integrated soil fertility management, Medicinal plant, Plant nutrition, Organic fertilizer.

### Author Contributions

Conceptualization and methodology, M.A. & J.S.K.; Performing experiments and measurements, M.A.; formal analysis and data curation, M.A. & J.S.K.; writing-original draft preparation, M.A., writing- review and editing, M.A. & J.S.K.; supervision, J.S.K.; project administration, J.S.K.; All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

### Data Availability Statement

Data is available on reasonable request from the authors.

### Acknowledgements

This paper is published as a part of a Ph.D. thesis supported by the Vice Chancellor for Research and Technology of the University of Tabriz, Tabriz, Iran. The authors are thankful to the University of Tabriz for financial supports.

### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

### Ethical considerations

The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

**Cite this article:** Abedi, M., Shafagh-Kolvagh, J., & Hemati, A. (2026). Effect of triple superphosphate integration with leonardite on some chemical characteristics and microbial population of an alkaline sandy loam soil and concentrations of nitrogen, phosphorus, and potassium in leaves of *Nigella sativa*. *Journal of Soil and Plant Science*, 36(1), 19-41.

<https://doi.org/10.22034/sps.2026.70938.1029>

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.



Copyright © 2026 The Authors.  
Publisher: The University of Tabriz





مقاله پژوهشی

## اثر تلفیق تریپل سوپرفسفات با لئوناردیت بر برخی ویژگی‌های شیمیایی و جمعیت میکروبی یک خاک لوم شنی قلیایی و غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ سیاهدانه

مهسا عابدی<sup>۱</sup>، جلیل شفق کلوانق<sup>۲</sup>، آرش همتی<sup>۳</sup>

۱- گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: [mahsaabedi@tabrizu.ac.ir](mailto:mahsaabedi@tabrizu.ac.ir)

۲- نویسنده مسئول، گروه اکوفیزیولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. رایانامه: [shafagh@tabrizu.ac.ir](mailto:shafagh@tabrizu.ac.ir)

۳- بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تبریز، ایران. رایانامه: [ar\\_hemati@areeo.ac.ir](mailto:ar_hemati@areeo.ac.ir)

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۱۱/۰۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۰۶

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۱۱/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱۱/۰۸

### چکیده

افزایش حاصلخیزی خاک و کارایی جذب عناصر غذایی در گیاهان دارویی، به‌ویژه در خاک‌های با بافت سبک، نیازمند بهره‌گیری از مدیریت تلفیقی تغذیه گیاهان است. این پژوهش با هدف بررسی اثر کاربرد لئوناردیت، منبع غنی از هیومیک اسید و تریپل سوپرفسفات بر برخی ویژگی‌های شیمیایی خاک، جمعیت میکروبی و غلظت عناصر غذایی برگ سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) در یک خاک لوم شنی انجام شد. این آزمایش در سال زراعی ۱۴۰۰-۱۴۰۱ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در منطقه پرچین شهرستان گرمی، استان اردبیل، در شرایط دیم با ۹ تیمار شامل ۱- شاهد، ۲- تریپل سوپرفسفات ۵۰ کیلوگرم بر هکتار، ۳- تریپل سوپرفسفات ۱۰۰ کیلوگرم بر هکتار، ۴- لئوناردیت ۱۰۰ کیلوگرم بر هکتار، ۵- لئوناردیت ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار، ۶- ۵۰ کیلوگرم تریپل سوپرفسفات + ۱۰۰ کیلوگرم لئوناردیت بر هکتار، ۷- ۲۵ کیلوگرم تریپل سوپرفسفات + ۱۵۰ کیلوگرم لئوناردیت بر هکتار، ۸- ۷۵ کیلوگرم تریپل سوپرفسفات + ۵۰ کیلوگرم لئوناردیت بر هکتار و ۹- ۲۵ کیلوگرم تریپل سوپرفسفات + ۵۰ کیلوگرم لئوناردیت بر هکتار انجام شد. تجزیه واریانس نشان داد که تیمارها بر غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم کل برگ سیاهدانه، غلظت نیتروژن کل و فسفر قابل جذب گیاه در خاک و جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر سیاهدانه و غیرریزوسفر تأثیری معنادار داشتند اما اثر آن‌ها بر EC، کربن آلی و غلظت پتاسیم قابل جذب گیاه در خاک معنادار نبود. بیشترین غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ سیاهدانه و بیشترین جمعیت میکروبی در خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر و بیشترین کربن آلی در تیمار تلفیقی ۲۵ کیلوگرم تریپل سوپرفسفات + ۱۵۰ کیلوگرم لئوناردیت بر هکتار مشاهده شد. این تیمار موجب افزایش معنادار غلظت نیتروژن کل و فسفر قابل جذب گیاه در خاک نسبت به شاهد شد. همبستگی مثبت و معنادار بین غلظت فسفر قابل جذب گیاه در خاک با غلظت این عنصر در برگ گیاه سیاهدانه ( $r = 0.75^{**}$ ) بیانگر انتقال مؤثر فسفر به این گیاه بود. به‌طور کلی، تیمارهای تلفیقی آلی - معدنی با افزایش ماده آلی خاک و فعالیت میکروبی، سبب بهبود حاصلخیزی خاک و افزایش غلظت عناصر غذایی پرمصرف اولیه در خاک و برگ سیاهدانه شدند. این رویکرد می‌تواند در مدیریت خاک‌های قلیایی با بافت سبک به‌عنوان گزینه‌ای کارآمد برای تولید پایدار گیاهان دارویی از جمله سیاهدانه توصیه شود.

**واژه‌های کلیدی:** تغذیه گیاه، کود آلی، کود شیمیایی، گیاه دارویی، مدیریت تلفیقی حاصلخیزی خاک، هیومیک اسید.

استناد به این مقاله: عابدی، م.، شفق کلوانق، ج. و همتی، آ. (۱۴۰۵). اثر تلفیق تریپل سوپرفسفات با لئوناردیت بر برخی ویژگی‌های شیمیایی و جمعیت میکروبی یک خاک لوم شنی قلیایی و غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ سیاهدانه. نشریه دانش خاک و گیاه، ۳۶(۱)، ۴۱-۱۹.

<https://doi.org/10.22034/sps.2026.70938.1029>

## مقدمه

خاک به عنوان یکی از منابع پایه و غیرقابل تجدید در نظام‌های کشاورزی و به‌ویژه در نظام‌های تولید محصولات سالم کشاورزی، نقش کلیدی در پایداری تولید ایفا می‌کند (Jahan *et al.*, 2013). خاک‌های سبک‌بافت با درصد شن بالا، به دلیل ظرفیت نگهداری کم آب و عناصر غذایی، ساختمان فیزیکی نامطلوب و فعالیت میکروبی محدود، با چالش‌هایی در فراهمی عناصر غذایی و کارایی مصرف کود مواجه هستند (Elsayed *et al.*, 2022). در چنین شرایطی، استفاده از مدیریت تلفیقی تغذیه گیاه که ترکیب منابع آلی و معدنی را به کار می‌گیرد، می‌تواند بهبود قابل توجهی در زیست‌فراهمی عناصر غذایی و پایداری زیستی-تغذیه‌ای حاصل نماید (Vanlauwe *et al.*, 2015).

فسفر یکی از عناصر ضروری برای رشد و تکامل گیاهان است که نیاز گیاه به آن در مرحله زایشی به‌طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. از این رو، مدیریت بهینه مصرف کود فسفر برای تأمین نیاز گیاه در مراحل حساس رشد، ضروری است (Lopes, 1996). این عنصر در ذخیره‌سازی و انتقال انرژی در فرایندهای رشد و نمو گیاهان، نقشی کلیدی ایفا می‌کند (Hopkins & Ellsworth, 2003). ناکافی بودن جذب فسفر به وسیله ریشه گیاه، یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاه به شمار می‌رود (Takahashi & Katoh, 2023). در اغلب خاک‌های ایران که دارای بافت آهکی و pH نامناسب هستند، کمبود فسفر پدیده‌ای شایع است؛ به طوری که بخش قابل توجهی از کود فسفر محلول در این خاک‌ها به شکل‌های نامحلول و غیرقابل جذب برای گیاه تبدیل می‌شود (Najafi & Towfighi, 2011; Marsac *et al.*, 2021). بر اساس گزارش‌ها، به دلیل تثبیت فسفر در خاک، تنها حدود ۱۵ تا ۳۰ درصد از فسفر مصرفی به وسیله گیاه جذب شده و بقیه آن در خاک تجمع یافته و از دسترس گیاه خارج می‌گردد (Liu *et al.*, 2023).

لئوناردیت به عنوان یک منبع آلی پایدار و غنی از هیومیک اسید، اثرهای مثبتی بر بهبود ساختمان خاک، افزایش ظرفیت تبادل کاتیونی، تحریک رشد ریشه گیاه و ارتقای فعالیت میکروبی خاک دارد (Pikuła, 2024). هیومیک اسید مشتق شده از لئوناردیت، با بهبود ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک و فراهم‌سازی بستر مناسب‌تر برای رشد ریزجانداران مفید، به‌طور غیرمستقیم می‌تواند فعالیت زیستی خاک را افزایش داده و آزادسازی عناصر غذایی به‌ویژه فسفر را تسهیل نماید (Liu *et al.*, 2023). این ترکیب آلی، از طریق شکستن پیوندهای Ca-P در خاک‌های قلیایی و پیوندهای Al-P یا Fe-P در خاک‌های اسیدی، قادر است فسفر تثبیت شده را به شکل قابل جذب برای گیاه آزاد کند؛ فرایندی که می‌تواند منجر به افزایش کارایی کودهای فسفوری و بهبود عملکرد گیاه در خاک‌های اصلاح شده با مواد آلی گردد (Marsac *et al.*, 2021). افزون بر این، ترکیب لئوناردیت با کودهای فسفوری اثرهای هم‌افزایی قابل توجهی در بهبود زیست‌فراهمی فسفر و تحریک جمعیت میکروبی مفید خاک ایجاد کرده و در نتیجه پایداری تغذیه‌ای گیاه را افزایش می‌دهد (El-Sayed *et al.*, 2014; Kaya *et al.*, 2020).

سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) گیاهی دولپه‌ای، علفی و یکساله از خانواده آلاله (*Ranunculaceae*) است که به صورت خودرو در نواحی مختلف جهان پراکنش دارد (Abou El-Leel *et al.*, 2019). علاوه بر پراکنش طبیعی، به دلیل کاربرد گسترده در صنایع داروسازی، این گیاه در بسیاری از مناطق جهان به صورت زراعی نیز کشت می‌شود (Abou El-Leel *et al.*, 2019). سیاهدانه به دلیل داشتن ترکیبات زیست‌فعال متنوع به‌ویژه تیموکینون، از اهمیت دارویی و اقتصادی قابل توجهی برخوردار بوده و تولید پایدار آن در خاک‌های سبک‌بافت، مستلزم مدیریت دقیق تغذیه گیاه و بهبود شرایط زیست‌پذیری خاک است (Ijaz *et al.*, 2017).

بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف بررسی اثرهای کاربرد تلفیقی لئوناردیت و تریپل سوپرفسفات بر ویژگی‌های شیمیایی و زیستی خاک و جذب عناصر غذایی به‌وسیله گیاه سیاهدانه در یک خاک لوم شنی انجام شد. در این مطالعه، غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ، تغییرات این عناصر در خاک، جمعیت میکروبی و قابلیت هدایت الکتریکی (EC) اندازه‌گیری گردید تا نقش هم‌افزایی منابع آلی و معدنی در بهبود پایداری زیستی-تغذیه‌ای در نظام خاک-گیاه ارزیابی شود.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در منطقه پرچین (با مختصات جغرافیایی ۳۹ درجه و ۰۸ دقیقه و ۴۷ ثانیه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۲۳ دقیقه و ۶۰ ثانیه طول شرقی)، شهرستان گرمی و با همکاری دانشگاه تبریز انجام شد. ارتفاع محل اجرای آزمایش از سطح دریا حدود ۷۹۹ متر است. آب و هوای این منطقه مدیترانه‌ای، گرم و نیمه‌خشک با تابستانی گرم و مرطوب و زمستانی معتدل و ملایم می‌باشد. منطقه آزمایش تقریباً از نقاط پربارش استان اردبیل بوده و بر اساس داده‌های اقلیمی متوسط بارندگی سالانه این منطقه بالای ۵۰۰ میلی‌متر است که بیشترین حجم بارش در فصل زمستان و بهار رخ می‌دهد و با پیشرفت به سمت تابستان کاهش می‌یابد. در سال اجرای آزمایش نیز ۵۰۰ میلی‌متر بارندگی ثبت شد. در دوره مورد مطالعه (اواخر اسفند ۱۴۰۰ تا اواخر تیر ۱۴۰۱)، بارندگی‌ها در طول فصل رشد به صورت چند نوبت بارش متناوب در اواخر زمستان و بهار بود و با گرم‌تر شدن هوا در خرداد و تیر، شدت و فراوانی نوبت‌های بارش کاهش یافت. دمای محیط در طول دوره رشد محصول از حدود ۷ تا ۱۰ درجه سلسیوس در اوایل فصل رشد (اواخر زمستان-فروردین) به حدود ۲۵ تا ۲۹ درجه سلسیوس در اواسط تا اواخر تابستان افزایش یافت.

آزمایش مزرعه‌ای این تحقیق با ۹ تیمار و سه تکرار، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در اواسط اسفند ماه ۱۴۰۰ به مدت یک سال زراعی انجام شد. عوامل آزمایش شامل لئوناردیت (منبع غنی از هیومیک اسید) و کود تریپل سوپرفسفات از شرکت قیزیل توپراق سهند تهیه شد. تیمارهای آزمایشی شامل ۱- شاهد بدون کود (شاهد)، ۲- تریپل سوپرفسفات ۵۰ کیلوگرم بر هکتار (P50)، ۳- تریپل سوپرفسفات ۱۰۰ کیلوگرم بر هکتار (P100)، ۴- لئوناردیت (منبع غنی از هیومیک اسید) ۱۰۰ کیلوگرم بر هکتار (H100)، ۵- لئوناردیت ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار (H200)، ۶- تریپل سوپرفسفات ۵۰ کیلوگرم + لئوناردیت ۱۰۰ کیلوگرم بر هکتار (P50H100)، ۷- تریپل سوپرفسفات ۲۵ کیلوگرم + لئوناردیت ۱۵۰ کیلوگرم بر هکتار (P25H150)، ۸- تریپل سوپرفسفات ۷۵ کیلوگرم + لئوناردیت ۵۰ کیلوگرم بر هکتار (P75H50) و ۹- تریپل سوپرفسفات ۲۵ کیلوگرم + لئوناردیت ۵۰ کیلوگرم بر هکتار (P25H50) بودند.

برخی ویژگی‌های خاک لوم شنی مورد مطالعه که از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متر نمونه‌برداری شده بود، در جدول ۱ ارائه شده است. بافت خاک به روش هیدرومتری (Gee & Or, 2002)، کربن آلی خاک به روش والکی - بلک (Page et al., 1982)، جرم مخصوص ظاهری به روش سیلندر (Blake & Hartge, 1986)، رطوبت اشباع خاک با روش (Gardner (1986) و pH و EC خاک در سوسپانسیون خاک-آب (۱:۵) (Page et al., 1982)، نیتروژن کل خاک به روش کج‌دال، فسفر قابل‌جذب گیاه در خاک به روش اولسن، پتاسیم قابل جذب گیاه در خاک به روش عصاره‌گیری با آمونیوم استات یک مولار (Page et al., 1982)، مس، منگنز، آهن و روی با عصاره‌گیر DTPA

(Lindsay & Norvell, 1987) تعیین شدند. غلظت پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر و آهن، روی، مس و منگنز با دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری گردیدند (Page et al., 1982; Ryan et al., 2001).

ویژگی‌های لئوناردیت استفاده شده در جدول ۲ آورده شده است. هر واحد آزمایشی به ابعاد ۲×۲ متر مربع در نظر گرفته شد و فاصله بین ردیف‌ها، ۲۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی هر ردیف ۱۰ سانتی‌متر با تراکم ۴۰ بوته در متر مربع بود. آماده‌سازی بستر کشت با گاوآهن قلمی و به صورت شخم نیمه‌عمیق انجام شد و کلیه تیمارهای آزمایشی همراه با کاشت به خاک اضافه شدند. کلیه واحدهای آزمایشی به صورت دیم و بدون آبیاری بودند. بعد از اتمام کار و برداشت گیاهان نمونه‌هایی از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی متری خاک تهیه و صفات مورد نظر اندازه‌گیری شدند. ماده آلی خاک به روش والکی و بلک و بر اساس اندازه‌گیری کربن آلی خاک تعیین شد. برای اندازه‌گیری نیتروژن کل خاک، نمونه‌ها پس از خشک شدن و الک شدن، با استفاده از روش کج‌دال تعیین شدند. در این روش، نمونه‌ها با اسید سولفوسالسیلیک و کاتالیزور (مربک از سلنیم، پتاسیم سولفات و مس سولفات) هضم گردیدند. سپس مقدار نیتروژن کل با استفاده از دستگاه کج‌دال تقطیر و اندازه‌گیری شد (Ryan et al., 2001).

برای بررسی جمعیت میکروبی در خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر، از روش رقت سریالی و شمارش کلونی استفاده شد (Ben-David & Davidson, 2014). نمونه‌برداری در مرحله گل‌دهی گیاه انجام شد. برای جداسازی خاک ریزوسفر، گیاهان با دقت از خاک خارج شده و خاک چسبیده به ریشه‌ها به‌عنوان نمونه ریزوسفر جمع‌آوری گردید. خاک غیرریزوسفر نیز از فاصله ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متری از ریشه و از همان عمق برداشت شد. برای این کار، ۱۰ گرم خاک تازه در ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل سوسپانسیون شد و پس از همگن‌سازی، رقت‌های ده‌دهی (تا ۱۰<sup>-۳</sup>) تهیه گردید. از هر رقت، ۰/۱ میلی‌لیتر بر روی محیط نوترینت آگار<sup>۱</sup> به روش پخش سطحی کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس انکوبه و کلونی‌های تشکیل‌شده شمارش شدند. جمعیت میکروبی به‌صورت واحد تشکیل کلونی در هر گرم خاک خشک (CFU·g<sup>-1</sup> dry soil) محاسبه گردید.



شکل ۱- نمایی از مراحل مختلف رشد سیاهدانه در مزرعه.

نمونه‌های برگ پس از خشک شدن در دمای ۷۰ درجه سلسیوس، آسیاب شدند و غلظت نیتروژن کل آن‌ها با استفاده از روش کج‌دال تعیین شدند. برای تعیین غلظت فسفر و پتاسیم کل، برگ‌ها ابتدا خاکستر شده و سپس خاکستر در هیدروکلریک اسید دو نرمال حل شده و غلظت فسفر با روش رنگ‌سنجی مولیبدو-وانادات با دستگاه اسپکترومتر و غلظت پتاسیم با دستگاه فلیم فتومتر اندازه‌گیری گردید (Ryan et al., 2001). نتایج به دست آمده

<sup>1</sup>-Nutrient agar

تحلیل آماری داده‌ها، پس از انجام آزمون نرمال بودن توزیع داده‌ها، به وسیله نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. همبستگی صفات نیز با استفاده از نرم افزار SPSS بررسی شد. برای ترسیم شکل‌ها و نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

جدول ۱- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه مورد مطالعه.

ماده آلی (%)	رطوبت اشباع (%)	جرم مخصوص ظاهری (g/cm <sup>3</sup> )	رس (%)	سیلت (%)	شن (%)	بافت خاک
1.3	25	1.58	15	18	67	لوم شنی

جدول ۱- ادامه

Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Fe (mg/kg)	K (mg/kg)	P (mg/kg)	N (%)	EC (dS/m)	pH (1:5)
4.3	0.5	0.6	3.2	155	4.4	0.05	0.23	7.2

غلظت نیتروژن خاک به صورت کل، فسفر، پتاسیم، آهن، روی، مس و منگنز صورت قابل جذب گزارش شده‌اند.

جدول ۲- ویژگی‌های شیمیایی لئوناردیت مورد استفاده.

OM (%)	HA <sup>-</sup> (%)	FA <sup>+</sup> (%)	Mn (mg/kg)	Zn (%)	Fe (%)	K (%)	P (%)	N (%)	pH (1:5)
49	25	1	30	0.01	0.04	0.7	0.3	0.7	6.5

غلظت کلیه عناصر گزارش شده در جدول، شامل نیتروژن، فسفر، پتاسیم، آهن، روی و منگنز به صورت کل اندازه‌گیری و ارائه شده‌اند.

## نتایج و بحث

در جدول ۳، نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت عناصر غذایی و در جدول ۴، نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مختلف بر برخی ویژگی‌های خاک ارائه شده است.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مختلف بر عناصر غذایی.

میانگین مربعات						درجه آزادی	منبع تغییر
پتاسیم فراهم خاک	فسفر فراهم خاک	نیتروژن کل خاک	پتاسیم کل برگ	فسفر کل برگ	نیتروژن کل برگ		
ns ۹/۹۲۶	۲/۴۲۶**	۰/۰۰۰**	۰/۱۰۳**	۰/۰۰۴**	۰/۰۲۷**	۸	تیمار
ns ۵/۴۸۱	۱/۵۹۳**	۰/۰۰۰۰۳۳۳۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۲۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۲	تکرار
۱۲/۹۴۰	۰/۲۱۸	۰/۰۰۰۰۵۴۱۷	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰	۰/۰۰۷	۱۶	خطا
۲/۳۲	۸/۰۲	۱۱/۰۴	۳/۷۹	۵/۴۹	۳/۱		ضریب تغییرات (%)

\*\*، تفاوت معنادار در سطح احتمال خطای یک درصد، <sup>ns</sup>، عدم تفاوت معنادار.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مختلف بر برخی ویژگی‌های خاک.

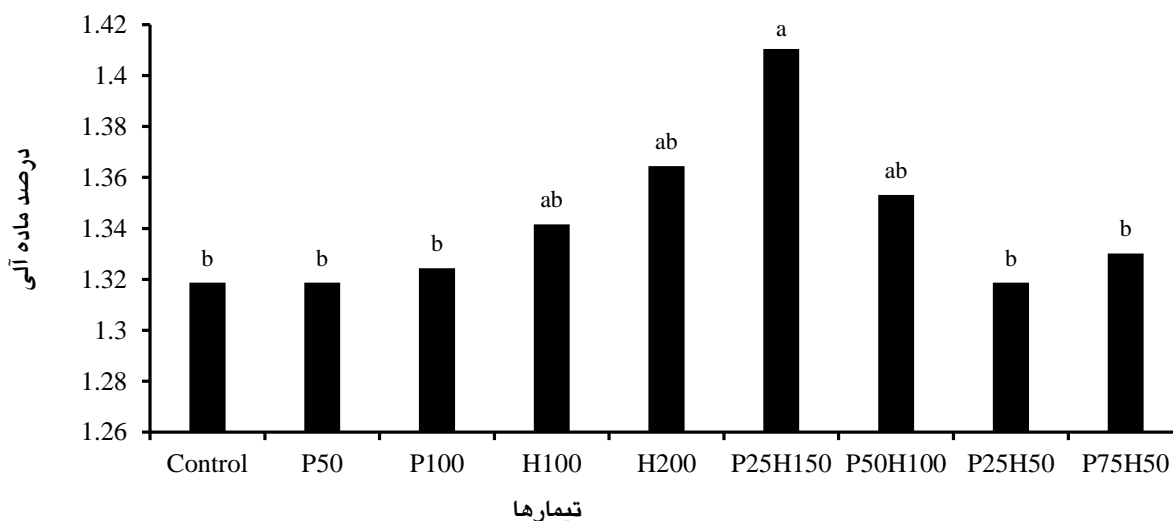
منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			ضریب تغییرات (%)
		EC خاک	جمعیت میکروبی خاک	جمعیت میکروبی خاک	
تیمار	۸	۰/۰۰۰۰۰۴۸ <sup>ns</sup>	۷۶۹/۹۱۷ <sup>**</sup>	۲۴۰/۵۳۷ <sup>**</sup>	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>
تکرار	۲	۰/۰۰۰۰۰۳۲ <sup>ns</sup>	۰/۴۴۴ <sup>ns</sup>	۵/۵۹۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲ <sup>ns</sup>
خطا	۱۶	۰/۰۰۰۰۱۹۶	۳۴/۷۷۸	۱۵/۲۱۸	۰/۰۰۲
		۰/۵۶	۸/۳۱	۶/۹۶	۳/۰۴

<sup>\*\*</sup>، تفاوت معنادار در سطح احتمال خطای یک درصد، <sup>ns</sup>، عدم تفاوت معنادار.

### مقدار ماده آلی خاک

نتایج این پژوهش نشان داد که تیمارهای مختلف لئوناردیت و تریپل سوپرفسفات از نظر آماری بر مقدار ماده آلی خاک تأثیر معناداری نداشتند (جدول ۴) اما روند افزایشی قابل توجهی در تیمارهای حاوی لئوناردیت مشاهده شد. مقدار ماده آلی در تیمارهای P25H150 و H200 به ترتیب ۱/۴۱ (۷ درصد افزایش) و ۱/۳۷ (۵ درصد افزایش) ثبت شد، در حالی که مقدار آن در تیمار شاهد ۱/۳۱ درصد بود (شکل ۱). حتی افزایش‌های محدود در مقدار ماده آلی خاک در طول یک فصل زراعی، می‌تواند تأثیر مثبت قابل توجهی بر پارامترهای فیزیکی-شیمیایی و پایداری خاک داشته باشد. لئوناردیت به عنوان منبع غنی از اسیدهای هیومیک، ساختار کربنی پایدار و آروماتیک دارد و از جمله منابعی است که به تدریج می‌تواند پایداری کربن خاک را حفظ کرده و ظرفیت نگهداری عناصر غذایی را افزایش دهد (Tiwari et al., 2023; Kandra et al., 2024).

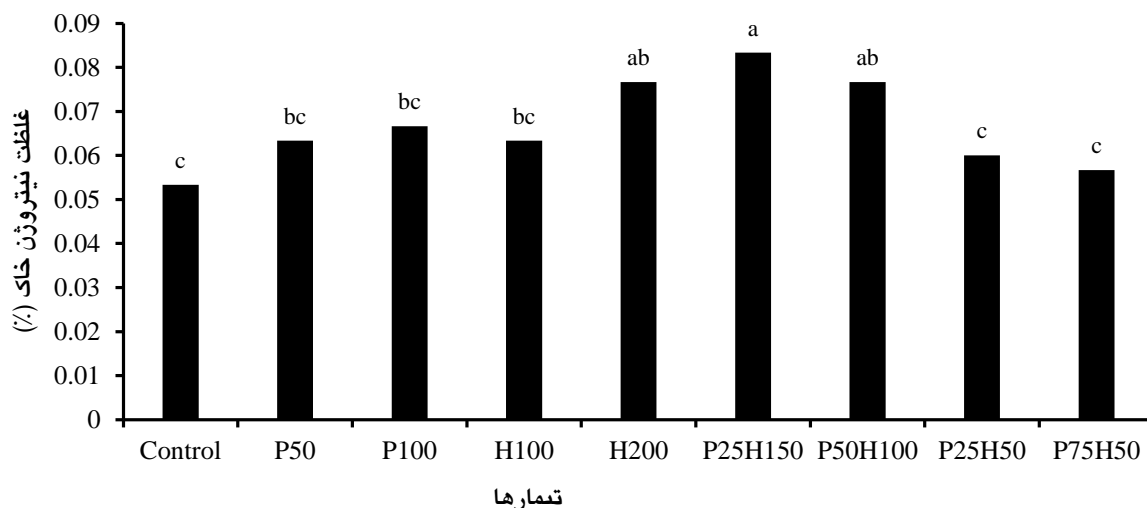
به نظر می‌رسد استفاده همزمان لئوناردیت به میزان ۱۵۰ کیلوگرم بر هکتار و فسفر به میزان ۲۵ کیلوگرم بر هکتار اثر هم‌افزایی داشته و موجب افزایش ماده آلی خاک با افزایش رشد ریشه و ترشحات آن (به عنوان منبع ماده آلی) شده است (Amadou et al., 2021). همچنین، در تیمارهای P100 و P50 که تریپل سوپرفسفات استفاده شده بود، افزایش رشد ریشه گیاهان می‌تواند عامل افزایش ماده آلی و کربن آلی در این تیمارها باشد (Amadou et al., 2021). همبستگی مثبت و معنادار ماده آلی خاک با برخی صفات کلیدی، از جمله نیتروژن کل خاک ( $r=0.59^{**}$ ) و جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر ( $r=0.62^{**}$ ) (جدول ۵)، بیانگر نقش عملکردی آن در بهبود شرایط فیزیکی-شیمیایی و زیستی خاک است. در مجموع، با وجود آن که ماده آلی خاک تحت تأثیر تیمارها تفاوت آماری معناداری نشان نداد، اما روند افزایشی آن، همراه با همبستگی‌های معنادار با صفات حاصلخیزی و میکروبی، نقش محوری آن را در بهبود عملکرد تغذیه‌ای و زیستی خاک اثبات می‌کند.



شکل ۲- تأثیر تیمارهای مختلف بر مقدار ماده آلی خاک پس از برداشت گیاهان سیاهدانه. P، فسفر، H، لئوناردیت، مقادیر جلوی P و H بیانگر مقدار مصرف شده از این دو منبع کودی بر حسب کیلوگرم بر هکتار است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک تفاوت معناداری با یکدیگر با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

### غلظت نیتروژن کل خاک

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر تیمارهای مورد استفاده بر نیتروژن خاک در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۳). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، بیشترین نیتروژن خاک در تیمار P25H150 با ۰/۰۸۳ درصد (۵۷ درصد افزایش) و کمترین مقدار در تیمار شاهد با ۰/۰۵۳ درصد بود. تیمارهای H200 و P50H100 هر دو با ۰/۰۷۷ درصد (۴۵ درصد افزایش)، تفاوت معناداری با تیمار P25H150 نداشتند و دارای بیشترین نیتروژن خاک زیر کشت سیاهدانه بودند (شکل ۲). در خاک‌های با بافت سبک، مانند خاک این پژوهش، توان نگهداری نیتروژن، به‌ویژه در شکل نیتراتی آن، بسیار کم است و خطر آبشویی نیترات وجود دارد. از این رو، افزایش معنادار نیتروژن کل در تیمارهای حاوی لئوناردیت می‌تواند به نقش هیومیک اسید در کاهش هدررفت نیتروژن و بهبود نگهداری آن در خاک نسبت داده شود (Liu et al., 2010; Swify et al., 2023).

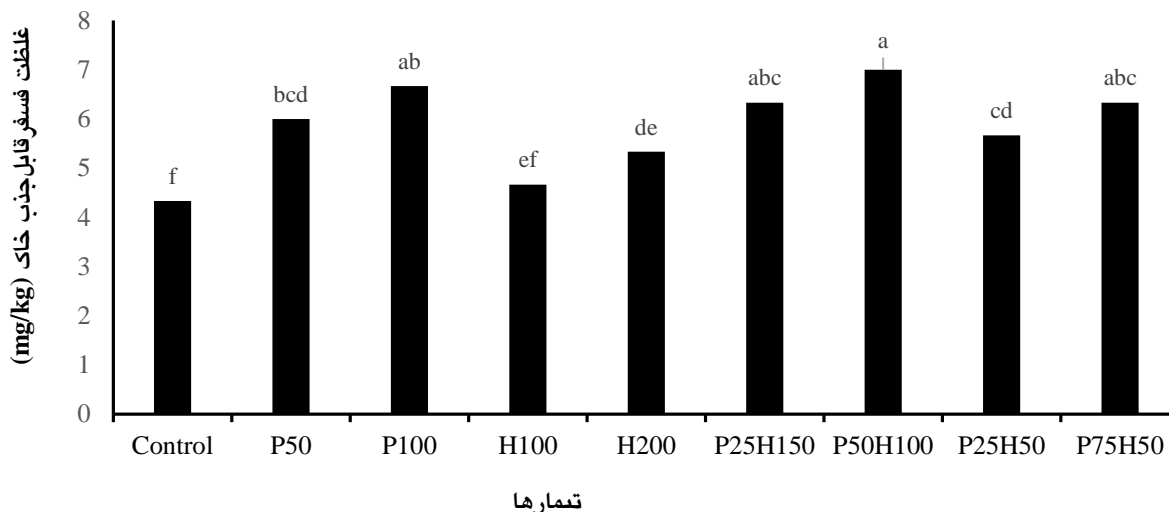


شکل ۳- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت نیترژن کل خاک پس از برداشت گیاهان سیاهدانه. P، فسفر، H، لئوناردیت، مقادیر جلوی P و H بیانگر مقدار مصرف شده از این دو منبع کودی بر حسب کیلوگرم بر هکتار است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک تفاوت معناداری با یکدیگر با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

### غلظت فسفر قابل جذب گیاه در خاک

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر تیمارهای مختلف بر مقدار فسفر قابل جذب گیاه در خاک در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۳). بیشترین مقدار فسفر در تیمار P50H100 با ۷ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۶۳ درصد افزایش) اندازه‌گیری شد، در حالی که مقدار آن در تیمار شاهد ۴/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (شکل ۳). افزایش فسفر قابل جذب گیاه در خاک پس از مصرف کود مونوکلسیم فسفات (تریپل سوپرفسفات) به وسیله سایر پژوهشگران نیز گزارش شده است (Najafi & Towfighi, 2011; Najafi & Towfighi, 2014). این روند بیانگر آن است که کاربرد هم‌زمان منابع آلی و معدنی فسفر، نسبت به استفاده منفرد، کارایی بالاتری در افزایش فسفر در دسترس خاک دارد.

مواد هیومیکی و کودهای فسفوری از طریق رقابت بر سر مکان‌های جذب و در نتیجه کاهش تثبیت فسفر در خاک، می‌توانند در افزایش کارایی مصرف کود فسفر و کاهش مصرف کودهای فسفر در نتیجه کاهش اثرهای زیست‌محیطی مؤثر باشند (Sepehr & Zebardast., 2013). لئوناردیت به‌عنوان منبع غنی از اسیدهای هیومیک، با کالیتر کردن یون‌های دو و سه ظرفیتی نظیر  $Ca^{2+}$ ،  $Fe^{3+}$  و  $Al^{3+}$ ، توانایی کاهش تثبیت فسفر را دارد. همچنین، ترکیبات هیومیکی موجود در آن می‌توانند از طریق کاهش pH موضعی در ناحیه ریزوسفر و تشکیل کمپلکس‌های آلی-فسفوری، انحلال فسفر تثبیت‌شده را افزایش دهند (Rosolem et al., 2024; Ge et al., 2020). تحریک رشد ریزجانداران با توانایی تولید آنزیم فسفاتاز، از طریق فراهمی کربن آلی و شرایط زیستی مناسب، نقش مهمی در آزادسازی فسفر آلی دارد (Chen et al., 2023). بنابراین، افزایش فسفر قابل جذب در تیمارهای حاوی لئوناردیت نتیجه‌ای از برهم‌کنش‌های شیمیایی و بیولوژیکی در سطح خاک می‌تواند باشد. همبستگی مثبت و معنادار بین فسفر خاک و جمعیت میکروبی خاک غیرریزوسفر ( $r=0.45^*$ ) و خاک ریزوسفر ( $r=0.39^*$ ) در این تحقیق، نشان‌دهنده نقش فعالیت زیستی خاک در فراهمی فسفر است (جدول ۵).



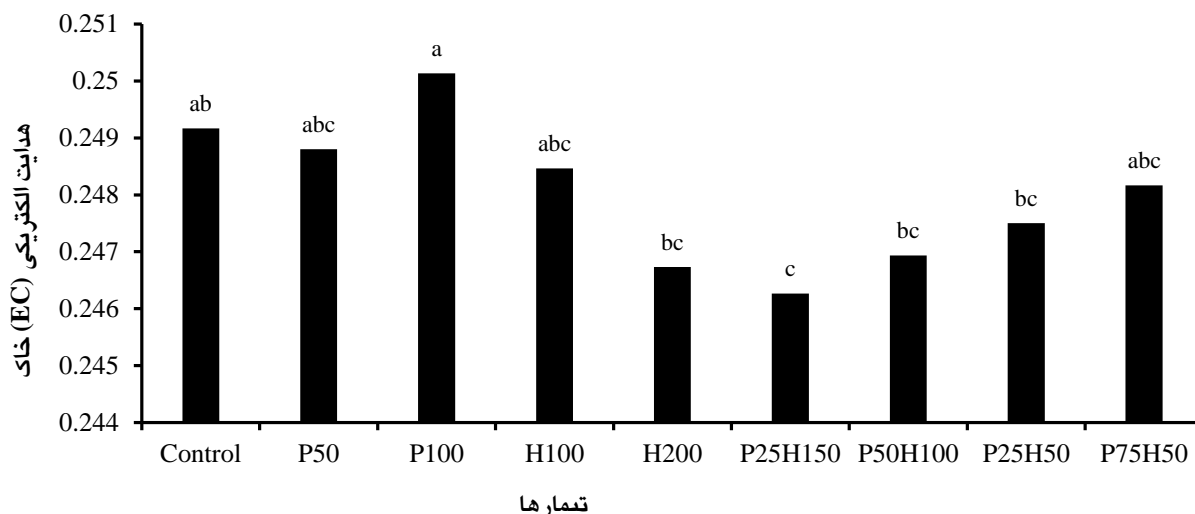
شکل ۴- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت فسفر قابل جذب گیاه در خاک پس از برداشت گیاهان سیاهدانه. P، فسفر، H، لئوناردیت، مقادیر جلوی P و H بیانگر مقدار مصرف شده از این دو منبع کودی بر حسب کیلوگرم بر هکتار است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک تفاوت معناداری با یکدیگر با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

### غلظت پتاسیم قابل جذب گیاه در خاک

در این پژوهش، اثر تیمارهای مختلف لئوناردیت و تریپل سوپرفسفات بر پتاسیم قابل جذب خاک از نظر آماری معنادار نشد (جدول ۳).

### قابلیت هدایت الکتریکی خاک

بررسی نتایج این پژوهش نشان داد که تیمارهای مختلف لئوناردیت و تریپل سوپرفسفات بر قابلیت هدایت الکتریکی (EC) خاک تأثیری معنادار نداشتند (جدول ۳). اگرچه مقدار EC در برخی تیمارهای تلفیقی به صورت عددی اندکی کاهش یافت، اما تفاوت بین تیمارها از نظر آماری معنادار نبود. مقدار EC در تیمارها بین ۰/۲۴۶ تا ۰/۲۵۰ دسی‌زیمنس بر متر متغیر بود (شکل ۵)، که همگی در محدوده‌ای بسیار پایین‌تر از آستانه آسیب شوری برای گیاهان زراعی و دارویی قرار داشتند (Machado & Serralheiro, 2017).



شکل ۵- تأثیر تیمارهای مختلف بر EC محلول خاک پس از برداشت گیاهان سیاهدانه. P، فسفر، H، لئوناردیت، مقادیر جلوی P و H بیانگر مقدار مصرف شده از این دو منبع کودی بر حسب کیلوگرم بر هکتار است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک تفاوت معناداری با یکدیگر با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

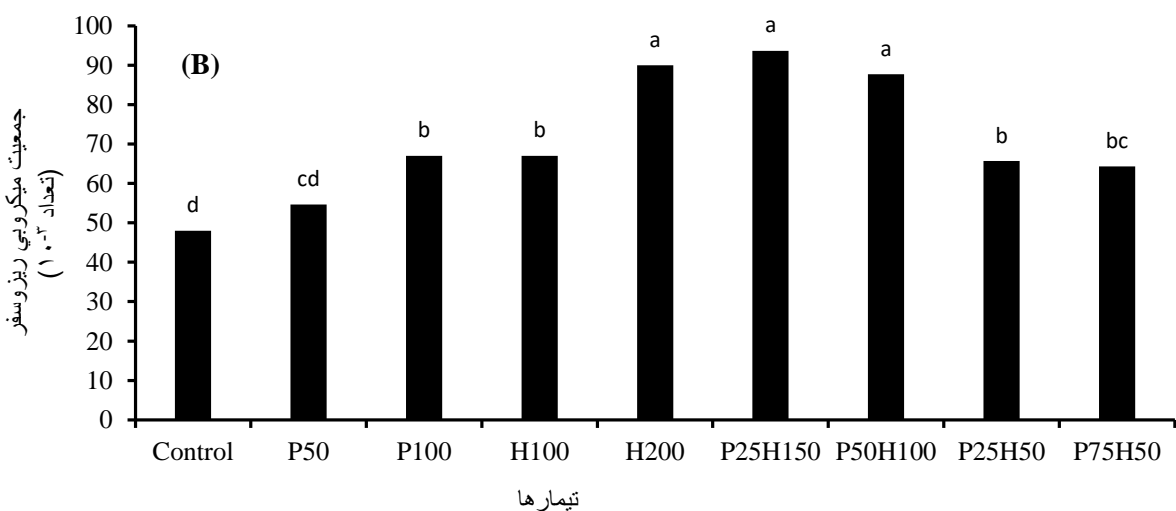
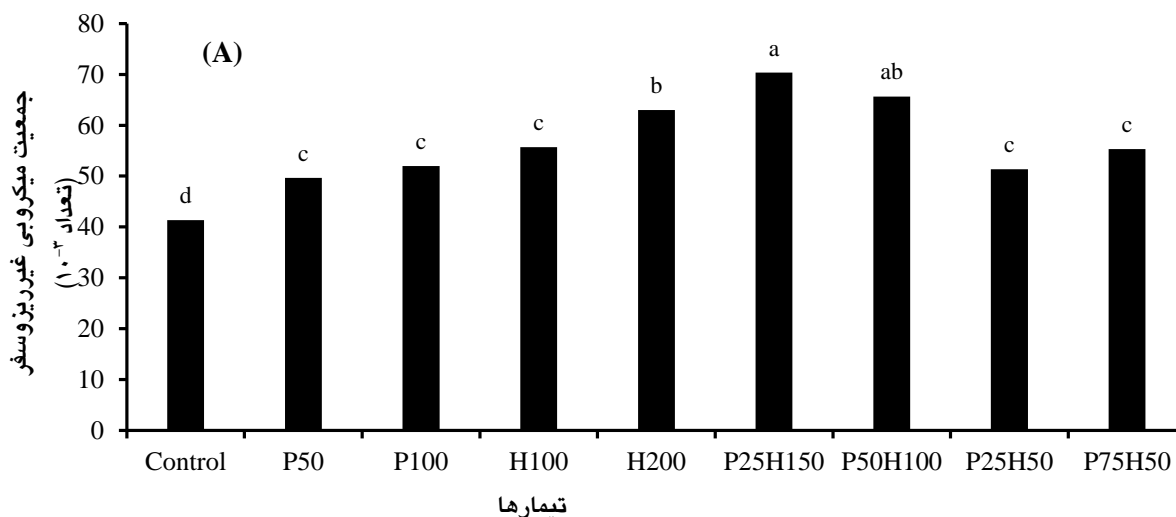
با توجه به عدم افزایش معنادار EC در تیمارهای مورد استفاده، به نظر می‌رسد استفاده از کود فسفوری همراه با لئوناردیت، نه تنها موجب تجمع املاح محلول نشده، بلکه احتمالاً به دلیل افزایش جذب عناصر، از تجمع آن‌ها در محلول خاک جلوگیری کرده است. از سوی دیگر، همبستگی بین EC خاک با برخی صفات گیاهی و زیستی نیز اهمیت دارد. در این تحقیق، EC با جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر ( $r=-0.59^{**}$ ) و خاک غیرریزوسفر ( $r=-0.52^{**}$ ) رابطه منفی و معنادار داشت که نشان می‌دهد حتی در دامنه‌های پایین، افزایش جزئی EC می‌تواند بر زیست‌توده میکروبی تأثیر بازدارنده داشته باشد (جدول ۵). طبق نتایج پژوهشی، در خاک‌های نسبتاً شور، جمعیت و فعالیت ریزجانداران کاهش می‌یابد، حتی اگر میزان شوری از آستانه‌های بحرانی بالاتر نباشد (Haj-Amor et al., 2022). همچنین، EC محلول خاک همبستگی‌های منفی و معنادار با نیتروژن کل خاک ( $r=-0.53^{**}$ )، پتاسیم کل برگ ( $r=-0.40^{**}$ )، و ماده آلی ( $r=-0.43^{**}$ ) داشت (جدول ۵). در مجموع، اگرچه EC تحت تأثیر تیمارها افزایش معناداری نداشت، اما بررسی تغییرات عددی آن در کنار همبستگی‌های معنادار با برخی صفات، اطلاعات مهمی درباره رفتار نظام خاک-گیاه در برابر ترکیب منابع آلی و معدنی ارائه می‌دهد.

### جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر تیمارها بر جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار P25H150 بیشترین جمعیت میکروبی را در خاک ریزوسفر و غیرریزوسفر به ترتیب با  $93/7$  و  $70/3$  ( $CFU \times 10^{-4} \cdot g^{-1}$  خاک) و تیمار شاهد کمترین مقادیر به ترتیب  $48$  و  $41/3$  ( $CFU \times 10^{-4} \cdot g^{-1}$  خاک) را داشت (شکل ۶). این نتایج نشان‌دهنده پاسخ مثبت زیست‌توده میکروبی به تلفیق منبع آلی (لئوناردیت) با منبع فسفر معدنی است، که با فراهم‌سازی محیط مناسب رشد، شرایط بهینه‌ای برای فعالیت زیستی در خاک فراهم کرده‌اند. ناحیه ریزوسفر به دلیل وجود ترشحات ریشه و ترکیبات آلی قابل تجزیه، معمولاً دارای جمعیت میکروبی بالاتری نسبت به خاک غیرریزوسفر است (et al., 2022).

(Meier). در این پژوهش نیز، تفاوت بین دو ناحیه از نظر جمعیت میکروبی به‌وضوح مشاهده شد و تیمارهای حاوی لئوناردیت توانستند این تفاوت را تقویت کنند.

هیومیک اسید موجود در لئوناردیت به‌عنوان منبع کربنی پایدار، شرایط مناسبی را برای تکثیر ریزجانداران فراهم کرده است (Akimbekov *et al.*, 2020). هیومیک اسید با دارا بودن گروه‌های عاملی فعال (مانند گروه‌های کربوکسیل و فنول)، از طریق فرایندهای تبادل یونی و تجزیه شیمیایی، سبب آزادسازی اسیدهای آلی در ناحیه ریزوسفر می‌شود. این اسیدهای آلی به‌عنوان منابع کربنی در دسترس، بستر مناسبی برای تغذیه و رشد باکتری‌های وابسته به سیستم ریشه فراهم کرده و موجب افزایش جمعیت میکروبی می‌شوند (Li *et al.*, 2019). افزایش جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر در تیمارهای تلفیقی، همچنین می‌تواند با افزایش ریشه‌زایی گیاه و توسعه ناحیه ریزوسفر در ارتباط باشد؛ چرا که هیومیک اسید به‌دلیل ساختار آروماتیک و پایداری نسبی در برابر تجزیه زیستی، با القای ریشه‌زایی جانبی و توسعه ریشه‌های موئین، می‌تواند شرایط مناسبی برای افزایش چسبندگی، بقا و تراکم ریزجانداران در سطح ریشه فراهم کند (Olivares *et al.*, 2017).



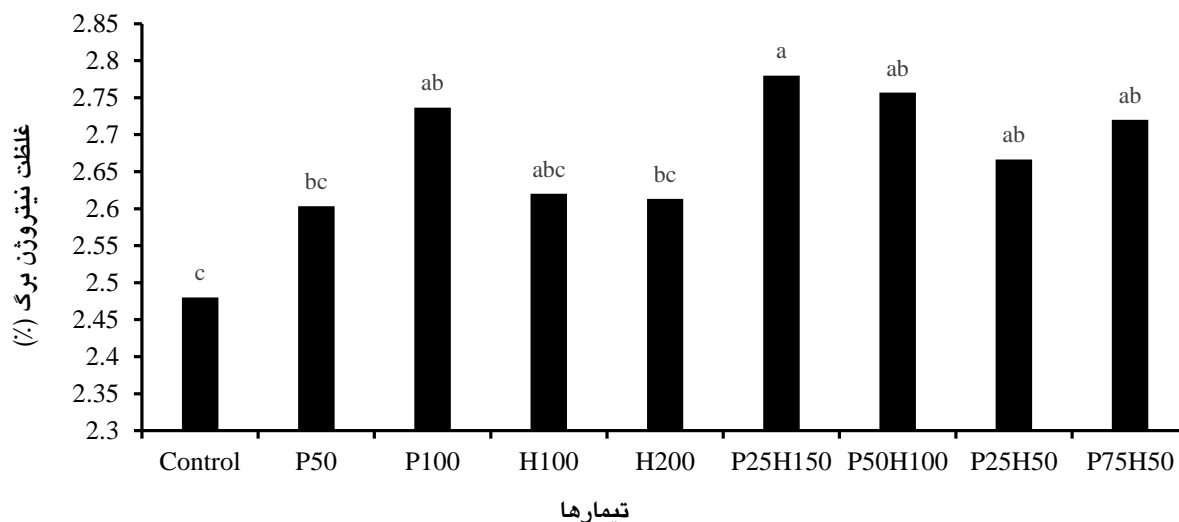
شکل ۶- تأثیر تیمارهای مختلف بر جمعیت میکروبی خاک غیر ریزوسفر (A) و خاک ریزوسفر (B) پس از برداشت گیاهان سیاهدانه. P، فسفر، H، لئوناردیت، مقادیر جلوی P و H بیانگر مقدار مصرف شده از این دو منبع کودی بر حسب کیلوگرم بر هکتار است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک تفاوت معناداری با یکدیگر با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر همبستگی‌های مثبت و معنادار با ماده آلی خاک ( $r=0.52^{**}$ ) و غلظت نیتروژن کل برگ ( $r=0.53^{**}$ ) داشت که نشان‌دهنده بهبود شرایط کربنی خاک و تغذیه نیتروژنی گیاه، هم‌زمان با افزایش زیست‌توده میکروبی بود. در مقابل، رابطه منفی و معنادار بین جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر و EC خاک ( $r=-0.59^{**}$ ) نشان می‌دهد که حتی در محدوده‌های پایین هدایت الکتریکی، افزایش جزئی نمکهای محلول می‌تواند اثر بازدارنده بر رشد ریزجانداران داشته باشد (جدول ۵). این حساسیت زیستی به شرایط شیمیایی، اهمیت کنترل شوری خاک در نظام‌های مدیریت تغذیه‌ای را برجسته می‌سازد (Zhang et al., 2019). همچنین، جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر همبستگی‌های مثبت و معناداری با نیتروژن کل خاک ( $r=0.81^{**}$ )، پتاسیم کل برگ ( $r=0.72^{**}$ )، فسفر کل برگ ( $r=0.60^{**}$ ) و فسفر قابل‌جذب گیاه در خاک ( $r=0.39^{**}$ ) داشت (جدول ۵). نتایج برخی پژوهش‌ها نشان می‌دهد که استفاده از منابع آلی مانند لئوناردیت می‌تواند فعالیت میکروبی را به‌صورت مستقیم از طریق تغذیه و غیرمستقیم از طریق بهبود شرایط فیزیکی و شیمیایی خاک افزایش دهد (Haj-Amor et al., 2022). به‌طور کلی، تیمارهای حاوی لئوناردیت، به‌ویژه در تلفیق با سطوح پایین فسفر، بیشترین تأثیر را بر ارتقای جمعیت میکروبی خاک در هر دو ناحیه ریشه‌ای داشته‌اند.

### غلظت نیتروژن برگ

طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر تیمارها بر غلظت نیتروژن برگ سیاهدانه در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۳). بیشترین غلظت نیتروژن برگ در تیمار P25H150 با  $2/78$  درصد (۱۲ درصد افزایش) و کمترین آن در تیمار شاهد با  $2/48$  درصد بود. بعد از تیمار P25H150، تیمارهای P50H100 (۱۱ درصد افزایش)، P100 (۱۰ درصد افزایش)، P75H50 (۹/۷ درصد افزایش) و P25H50 (۸ درصد افزایش) به‌ترتیب با  $2/76$ ،  $2/74$ ،  $2/72$  و  $2/67$  درصد دارای درصد نیتروژن برگ بیشتری بودند و تفاوت معناداری با یکدیگر نداشتند (شکل ۷).

در خاک‌های سبک‌بافت که احتمال آبشویی نترات بالا بوده و تغذیه نیتروژنی گیاه اغلب ناپایدار است، نقش مواد آلی مانند لئوناردیت در حفظ و تثبیت نیتروژن مهم است (Mirzaei Varoei et al., 2023; Mirzaei Varoei et al., 2024). لئوناردیت به عنوان منبع غنی از هیومیک اسید با فراهم‌سازی بستر کربنی فعال، کاهش pH کلیت کردن نیتروژن و بهبود فعالیت میکروبی، موجب افزایش نیتروژن قابل‌جذب برای گیاه می‌گردد (El-Sayed et al., 2014; Sun et al., 2020). هیومیک اسید به‌دلیل نقش محرک، هورمونی و کلیت‌کنندگی، موجب افزایش غلظت نیتروژن برگ می‌شود (Khaled & Fawy, 2011). علاوه بر این، وجود نیتروژن در ساختار هیومیک اسید نیز باعث شده است که غلظت نیتروژن برگ افزایش یابد. همچنین بالابودن میزان نیتروژن را چنین می‌توان توجیه کرد که هیومیک اسید با تحریک جذب  $NO_3^-$  از راه افزایش بیان پروتئین حامل نیتروژن در سطح غشای سلولی و همچنین تغییر در میزان کاتیون‌ها جذب نیتروژن را افزایش می‌دهد. همچنین، می‌توان اثر هورمونی شبیه جیبرلین هیومیک اسید را در افزایش جذب نیتروژن دخیل دانست (Khaled & Fawy, 2011). همبستگی مثبت و معنادار نیتروژن خاک با نیتروژن برگ ( $r=0.50^{**}$ ) بیانگر آن است که افزایش فراهمی نیتروژن به‌وسیله لئوناردیت در خاک مستقیماً منجر به افزایش جذب آن به‌وسیله گیاه شده است (جدول ۵). همچنین، غلظت نیتروژن برگ همبستگی‌های مثبت و معنادار با پتاسیم برگ ( $r=0.53^{**}$ )، فسفر برگ ( $r=0.68^{**}$ )، پتاسیم خاک ( $r=0.63^{**}$ ) و فسفر خاک ( $r=0.57^{**}$ ) داشت که نشان‌دهنده تعامل تغذیه‌ای عناصر غذایی پرمصرف در گیاه است (جدول ۵).



شکل ۷- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت نیتروژن برگ گیاه. P، فسفر، H، لئوناردیت، مقادیر جلوی P و H بیانگر مقدار مصرف شده از این دو منبع کودی بر حسب کیلوگرم بر هکتار است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک تفاوت معناداری با یکدیگر با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که افزودن اسیدهای هیومیک به خاک می‌تواند جذب نیتروژن به وسیله گیاه را بهبود بخشد؛ این مزیت عمدتاً از طریق تأثیر مثبت هیومیک اسید بر فعالیت میکروبی خاک، کاهش هدررفت نیتروژن، و بهبود شرایط شیمیایی و فیزیکی خاک حاصل می‌شود (Lu *et al.*, 2022; Mirzaei Varoei *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2024). نیتروژن برگ همبستگی‌های مثبت و معنادار با جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر ( $r=0.53^{**}$ ) و غیرریزوسفر ( $r=0.57^{**}$ ) داشت (جدول ۵). افزایش همزمان نیتروژن خاک، نیتروژن برگ و جمعیت میکروبی نشان‌دهنده پویایی مؤثر چرخه نیتروژن در خاک و انتقال موفق آن به گیاه است. چنین روندی در بافت لوم شنی که معمولاً دچار ناپایداری تغذیه‌ای است، اهمیت کاربرد اصلاح‌گرهای آلی را دوچندان می‌سازد. مطالعات مشابه نیز نقش مواد آلی مانند لئوناردیت را در تقویت چرخه نیتروژن، افزایش زیست‌توده میکروبی و تثبیت تغذیه‌ای در خاک‌های با بافت سبک تأیید کرده‌اند (Sun *et al.*, 2020; Akimbekov *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2024).

### غلظت فسفر برگ

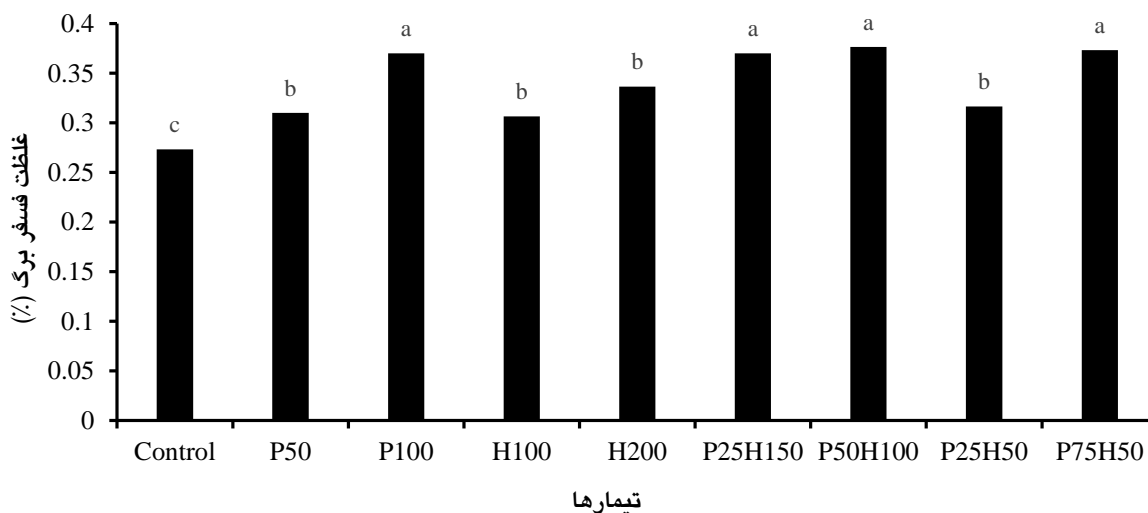
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر تیمارهای مورد استفاده بر غلظت فسفر برگ در سطح احتمال ۱ درصد معنادار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین غلظت فسفر برگ در تیمار P50H100 (۳۸ درصد افزایش) با ۰/۳۷ درصد و کمترین غلظت فسفر برگ در تیمار شاهد با ۲/۴۸ درصد بود. تیمارهای P100 (۳۶ درصد افزایش) و P25H150 (۳۶ درصد افزایش) هر دو با ۰/۳۷ درصد داری بیشترین غلظت فسفر برگ سیاهدانه بودند و با تیمار P50H100 تفاوت معناداری نداشتند (شکل ۸).

در خاک‌های با بافت سبک که دارای ظرفیت پایین جذب و نگهداری عناصر هستند، فسفر به دلیل تحرک کم و تمایل بالا به تثبیت، معمولاً با محدودیت جذب مواجه است. همچنین، فسفر در چنین خاک‌هایی به سرعت از ناحیه ریشه دور می‌شود و جذب آن دشوارتر می‌شود. در این شرایط، کاربرد منابع آلی مانند لئوناردیت می‌تواند با تعدیل

موضعی pH و کالیتر کردن یون‌های مزاحم (مانند  $Ca^{2+}$ )، جذب فسفر را تسهیل کند (Turan *et al.*, 2011; Kaya *et al.*, 2020; El-Kholy & Mohamed, 2025). هیومیک اسید از طریق ترکیب و ایجاد کمپلکس با آنزیم فسفاتاز موجب افزایش جذب فسفر در گیاه می‌شود (Yuan *et al.*, 2022). افزایش جذب فسفر را می‌توان به توسعه ریشه، ترشح اسیدهای آلی و یا ترشح یون پروتون داخل ریزوسفر، مرتبط دانست؛ علاوه بر این، می‌تواند به دلیل پاسخ به کود فسفر باشد (Yuan *et al.*, 2022).

طبق نتایج پژوهشی بر روی گیاه گلرنگ، کاربرد کود تریپل سوپرفسفات و لئوناردیت منجر به افزایش غلظت عناصر غذایی برگ این گیاه شد. افزایش غلظت فسفر برگ در این پژوهش به‌طور قابل‌توجهی مشاهده گردید، که نشان‌دهنده اثر مثبت کودهای فسفاتی و مواد هومیکی بر جذب فسفر است (Abedi *et al.*, 2024). در این تحقیق، افزایش معنادار فسفر برگ در تیمارهای تلفیقی، حاصل عملکرد دوگانه مواد آلی و معدنی بود. به نظر می‌رسد تریپل سوپرفسفات منبع فسفر را فراهم کرده و لئوناردیت نیز از طریق کاهش تثبیت فسفر و افزایش رشد ریشه‌ها، جذب آن را تقویت کرده است.

همبستگی مثبت و معنادار بین فسفر خاک و فسفر برگ ( $r=0.75^{**}$ ) نشان داد که افزایش فسفر قابل‌جذب خاک در تیمارهای آلی-معدنی، مستقیماً به افزایش انتقال آن به بافت هوایی منجر شده است. همچنین، غلظت فسفر برگ همبستگی‌های معنادار با غلظت نیتروژن برگ ( $r=0.70^{**}$ )، پتاسیم برگ ( $r=0.80^{**}$ )، جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر ( $r=0.60^{**}$ ) و جمعیت میکروبی خاک غیرریزوسفر ( $r=0.62^{**}$ ) داشت. این همبستگی‌ها نشان‌دهنده تعامل تغذیه‌ای بین عناصر غذایی پرمصرف گیاه در شرایطی است که محیط ریشه به‌لحاظ شیمیایی و زیستی در وضعیت مساعدی قرار دارد. به نظر می‌رسد، حضور لئوناردیت با افزایش جمعیت میکروبی، و تقویت ریشه‌ها، جذب ترکیبی عناصر را تسهیل کرده است. به‌کارگیری اسیدهای هیومیک می‌تواند قابلیت دسترسی و جذب فسفر را در گیاهان به‌ویژه در خاک‌های سبک‌بافت افزایش دهد (Xiong *et al.*, 2023). در زیره سیاه استفاده از منابع فسفوری همراه با مواد آلی مانند هیومیک اسید سبب بهبود عملکرد و جذب عناصر غذایی از جمله فسفر گزارش شده است (Nassif *et al.*, 2023; Hafez *et al.*, 2024). نتایج مطالعه حاضر نیز مؤید آن است که در خاک لوم شنی، تلفیق لئوناردیت و منابع فسفوری معدنی، راهبردی مؤثر برای ارتقاء تغذیه فسفر در سیاهدانه محسوب می‌شود.

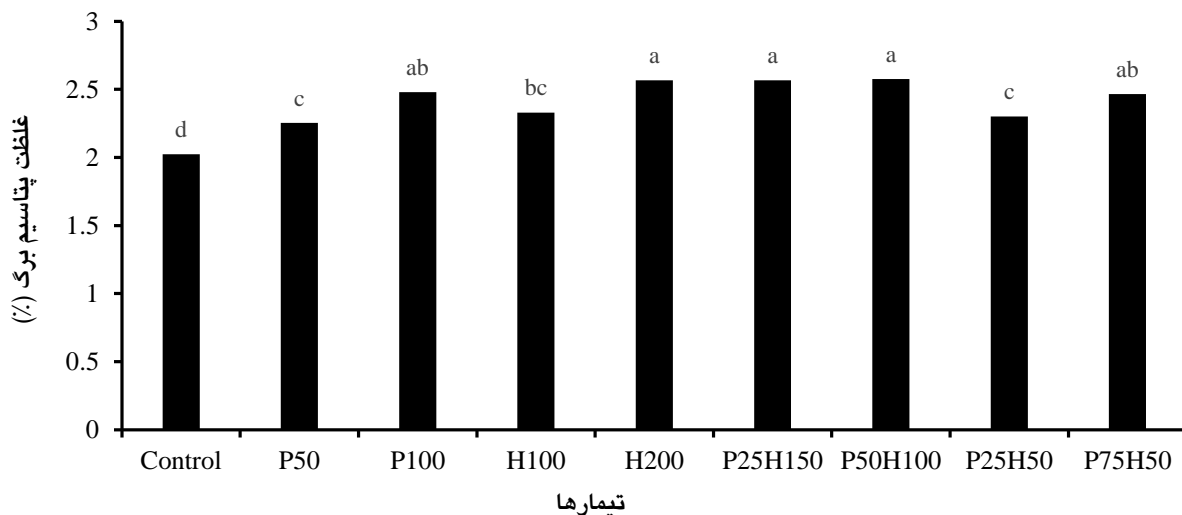


شکل ۸- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت فسفر برگ گیاه. P، فسفر، H، لئوناردیت، مقادیر جلوی P و H بیانگر مقدار مصرف شده از این دو منبع کودی بر حسب کیلوگرم بر هکتار است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک تفاوت معناداری با یکدیگر با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

### غلظت پتاسیم برگ

طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تأثیر تیمارهای مورد استفاده بر غلظت پتاسیم گیاه سیاهدانه در سطح احتمال یک درصد معنادار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین غلظت پتاسیم برگ سیاهدانه در تیمارهای H200، P25H150 و P50H100 به ترتیب ۲/۵۶۷ (۲۶/۹ درصد افزایش)، ۲/۵۷۷ (۲۶/۹ درصد افزایش) و ۲/۵۶۷ (۲۷ درصد افزایش) درصد و کمترین غلظت پتاسیم برگ در تیمار شاهد ۲/۰۲۳ درصد بود (شکل ۹). افزایش غلظت پتاسیم برگ گیاه سیاهدانه در خاک لوم شنی، نشان‌دهنده عملکرد موفق تیمارهای اصلاحی در تسهیل جذب این عنصر است. لئوناردیت با افزایش ظرفیت نگهداری کاتیون‌ها در خاک، پتاسیم را در بخش قابل‌تبادل حفظ می‌کند، از شسته شدن آن جلوگیری کرده و قابلیت جذب پتاسیم به وسیله گیاه را بهبود می‌بخشد (Rosolem et al., 2018). هیومیک اسید با اسیدی کردن خاک سبب تسهیل در انحلال پتاسیم شده و میزان دسترسی به عناصر غذایی را افزایش می‌دهد (Sanchez-Sanchez et al., 2002).

پتاسیم برگ همبستگی‌های معناداری با جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر ( $r=0.72^{**}$ ) و غیرریزوسفر ( $r=0.75^{**}$ ) و EC محلول خاک ( $r=0.40^*$ ) داشت (جدول ۵). لئوناردیت با تحریک رشد ریشه، افزایش تماس ریشه با ذرات خاک، و تحریک زیست‌توده میکروبی، بستر مناسبی برای جذب عناصر غذایی از جمله پتاسیم فراهم می‌کند (Yang et al., 2021). همبستگی‌های مثبت و معنادار غلظت پتاسیم برگ با غلظت نیتروژن برگ ( $r=0.50^{**}$ )، غلظت فسفر برگ ( $r=0.80^{**}$ ) و فسفر قابل جذب گیاه در خاک ( $r=0.62^{**}$ ) نیز تأییدی بر عملکرد تغذیه‌ای همزمان این عناصر است (جدول ۵). این همبستگی‌ها حاکی از آن هستند که تیمارهای مؤثر، علاوه بر تأمین پتاسیم، شرایط جذب هماهنگ سایر عناصر غذایی پرمصرف را نیز فراهم کرده‌اند.



شکل ۹- تأثیر تیمارهای مختلف بر غلظت پتاسیم برگ گیاه. P، فسفر، H، لئوناردیت، مقادیر جلوی P و H بیانگر مقدار مصرف شده از این دو منبع کودی بر حسب کیلوگرم بر هکتار است. میانگین‌های دارای حداقل یک حرف لاتین مشترک تفاوت معناداری با یکدیگر با آزمون دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

جدول ۵- ضرایب همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده.

درصد ماده آلی (۱)	جمعیت میکروبی خاک ریزوسفر (۲)	جمعیت میکروبی غیر ریزوسفر (۳)	EC (۴)	پتاسیم فراهم خاک (۵)	فسفر فراهم خاک (۶)	نیترژن کل خاک (۷)	پتاسیم کل برگ (۸)	فسفر کل برگ (۹)	نیترژن کل برگ (۱۰)
۱									
۲	۰/۰۹۴**	۱							
۳	۰/۰۲۱**	۰/۹۱۱**	۱						
۴	-۰/۴۲۶*	-۰/۰۹۰**	-۰/۰۲۸**	۱					
۵	۰/۳۰۰ <sup>ns</sup>	۰/۳۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۳۲۷ <sup>ns</sup>	-۰/۳۰۵ <sup>ns</sup>	۱				
۶	۰/۰۶۱ <sup>ns</sup>	۰/۳۹۳*	۰/۴۴۵*	-۰/۲۳۶ <sup>ns</sup>	-۰/۲۱۹ <sup>ns</sup>	۱			
۷	۰/۶۱۶**	۰/۸۰۶**	۰/۶۹۹**	-۰/۰۳۱**	۰/۲۹۵ <sup>ns</sup>	۰/۳۴۷ <sup>ns</sup>	۱		
۸	۰/۳۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۷۲۱**	۰/۷۵۳**	-۰/۳۹۹*	۰/۲۲۶ <sup>ns</sup>	۰/۶۱۹**	۰/۰۹۶**	۱	
۹	۰/۳۲۶ <sup>ns</sup>	۰/۰۹۶**	۰/۶۲۲**	-۰/۲۷۰ <sup>ns</sup>	۰/۱۹۶ <sup>ns</sup>	۰/۷۴۹**	۰/۰۱۶**	۰/۷۹۷**	۱
۱۰	۰/۲۳۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۳۳**	۰/۰۷۲**	-۰/۲۸۰ <sup>ns</sup>	۰/۶۲۷**	۰/۰۶۶**	۰/۰۰۰**	۰/۰۲۹**	۰/۶۷۹**

\* و \*\* به ترتیب وجود تفاوت معنادار در سطح احتمال خطای پنج و یک درصد، ns عدم وجود تفاوت معنادار می‌باشد.

## نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد توأم تریپل سوپرفسفات و لئوناردیت، به‌ویژه در سطح ۲۵ کیلوگرم فسفر و ۱۵۰ کیلوگرم لئوناردیت بر هکتار، به‌طور قابل‌توجهی موجب بهبود ویژگی‌های شیمیایی و زیستی خاک لوم شنی و افزایش جذب عناصر غذایی در گیاه دارویی سیاهدانه شد. همچنین، لئوناردیت به‌تنهایی در سطح ۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار نیز سبب بهبود شرایط خاک و افزایش غلظت عناصر غذایی شد. افزایش غلظت نیتروژن، فسفر و پتاسیم برگ سیاهدانه، همراه با بهبود مقادیر نیتروژن کل، فسفر قابل‌جذب گیاه در خاک و ماده آلی خاک، و افزایش جمعیت میکروبی، نشان‌دهنده تأثیر مثبت این ترکیب کودی یا لئوناردیت به‌تنهایی بر پایداری تغذیه‌ای و بهینه‌سازی جذب عناصر در گیاه بود. این نتایج حاکی از آن است که استفاده از لئوناردیت و تریپل سوپرفسفات در مقادیر بهینه می‌تواند به‌عنوان رویکردی مؤثر برای بهبود حاصلخیزی خاک و افزایش کارایی تغذیه‌ای گیاه دارویی سیاهدانه و گیاهان دارویی مشابه، به‌ویژه در خاک‌های با مواد آلی کم و در مناطق مشابه، توصیه گردد.

## سپاسگزاری

نویسندگان از مساعدت و همکاری شرکت قیزیل توپراق سهند و آقای مهندس یاسر طالبی برای کلیه زحمات و حمایت‌هایشان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

## شفاف‌سازی استفاده از هوش مصنوعی

در مراحل مختلف این پژوهش اعم از ایده‌پردازی، طراحی، جمع‌آوری و تحلیل داده‌ها، نگارش متن و ویرایش یا ترجمه از ابزارهای هوش مصنوعی استفاده نشده است.

## منابع مورد استفاده

### References

- Abedi, M., Shafagh-Kolvanagh, J., Zehtab Salmasi, S. & hemati, A. (2024). Effect of phosphate and humic fertilizers on quantitative, qualitative and nutritional indicators of safflower plant leaves. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 34(2), 213-226. (In Persian with English abstract)  
<https://doi.org/10.22034/saps.2023.55579.3007>
- Abou El-Leel, O.F., Maraiei, R. W. & Aly, A.A.E.H. (2019). Studying the response of *Nigella sativa* plants to different fertilizers. *Fascicula Biologie*, 26(1), 14–20.
- Akimbekov, N., Qiao, X., Digel, I., Abdieva, G., Ualieva, P. & Zhubanova, A. (2020). The effect of leonardite-derived amendments on soil microbiome structure and potato yield. *Agriculture*, 10(5), 147. <https://doi.org/10.3390/agriculture10050147>
- Amadou, I., Houben, D. & Faucon, M.P. (2021). Unravelling the Role of Rhizosphere Microbiome and Root Traits in Organic Phosphorus Mobilization for Sustainable Phosphorus Fertilization. A Review. *Agronomy*, 11(11): 2267.  
<https://doi.org/10.3390/agronomy11112267>
- Ben-David, A., & Davidson, C. E. (2014). Estimation method for serial dilution experiments. *Journal of Microbiological Methods*, 107, 214–221.  
<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2014.08.023>
- Blake, G.R. & Hartge, K.H. (1986). Bulk density. pp. 363–382. In: Klute, A. (Ed.), *Methods of soil analysis, Part 1: Physical and mineralogical methods* (2nd ed.). American

- Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, WI, USA.  
<https://doi.org/10.1002/gea.3340050110>
- Chen, S., Wang, L., Zhang, S., Li, N., Wei, X., Wei, Y., Wei, L., Li, J., Huang, S., Chen, Q., Zhang, T. & Bolan, N.S. (2023). Soil organic carbon stability mediate soil phosphorus in greenhouse vegetable soil by shifting phoD-harboring bacterial communities and keystone taxa. *Science of the Total Environment*, 873, 162400.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162400>
- El-Kholy, A.S.M. & Mohamed, E. (2025). Impact of humic acid and phosphorus levels on yield and phosphorus use efficiency in faba bean cultivated under sandy soil conditions. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 52(1), 21–36.  
<https://doi.org/10.21608/zjar.2025.416477>
- Elsayed, S.A., Mussa, E.S.E., Khalifa, D.M. & Ghazal, M.F. (2022). Improvement of sandy soil fertility by applying some organic amendments and plant growth-promoting bacteria and their reflection on crop productivity. *Middle East Journal of Agriculture Research*, 11(4), 1376-1398. <https://doi.org/10.36632/mejar/2022.11.4.93>
- El-Sayed, S.A.A., Hellal, F.A. & Mohamed, K.A.S. (2014). Effect of humic acid and phosphate sources on nutrient uptake and yield of plants (in calcareous soils). *European International Journal of Science and Technology*, 3(9), 168-177.
- Gardner, W.H. (1986). Water content. Pp. 493–544. In: *Methods of soil analysis, Part 1: Physical and mineralogical methods* (2nd ed.). American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, WI, USA.  
<https://doi.org/10.2136/sssabookser5.1.2ed.c21>
- Ge, X., Wang, L., Zhang, W. & Putnis, C.V. (2020). Molecular understanding of humic acid-limited phosphate precipitation and transformation. *Environmental Science & Technology*, 54(1), 207–215. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b05145>
- Gee, G.W., & Or, D. (2002). Particle size analysis. Pp. 201–214. In: Dane J.H. and Topp G.C. (Eds), *Methods of soil analysis. Part 4. Physical methods*. SSSA Book Series No. 5, Madison, WI, USA. <https://doi.org/10.2136/sssabookser5.4.c12>
- Hafez, Y.A.M., Kenawy, A.G.M. & Shehata, A.M. (2024). The effect of microbial inoculants, humic acid and phosphorus on the production and quality characteristics of *Nigella sativa* plants. *Journal of Plant Production*, 15(7), 409–415.  
<https://doi.org/10.21608/jpp.2024.302606.1353>
- Haj-Amor, Z., Araya, T., Kim, D.G., Bouri, S., Lee, J., Ghiloufi, W., Yang, Y., Kang, H., Jhariya, M.K., Banerjee, A. & Lal, R. (2022). Soil salinity and its associated effects on soil microorganisms, greenhouse gas emissions, crop yield, biodiversity and desertification: A review. *Science of the Total Environment*, 843, 156946.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022>
- Hopkins, B. & Ellsworth, J. (2003). Phosphorus nutrition in potato production. *Idaho Potato Conference*, 22-23. Idaho University, USA.
- Ijaz, H., Tulain, U.R., Qureshi, J., Danish, Z., Musayab, S., Akhtar, M.F., Saleem, A., Khan, K. K., Zaman, M., Waheed, I., Khan, I.A. & Abdel-Daim, M.M. (2017). *Nigella sativa* (Prophetic Medicine): A Review. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30(1), 229-234.
- Jahan, M., Sohrabi, R., Doae, F. & Amiri, M.B. (2013). Effect of hydrogel in soil and foliar application of acid humic on some agro ecological characteristic of bean in Mashhad. *Journal of Agroecology*, 2, 71-90.
- Kandra, B., Tall, A., Vitková, J., Procházka, M. & Šurda, P. (2024). Effect of humic amendment on selected hydrophysical properties of sandy and clayey soils. *Water*, 16(10), 1338. <https://doi.org/10.3390/w16101338>

- Kaya, C., Şenbayram, M., Akram, N.A., Ashraf, M., Alyemeni, M.N. & Ahmad, P. (2020). Sulfur-enriched leonardite and humic acid soil amendments enhance tolerance to drought and phosphorus deficiency stress in maize. *Scientific Reports*, 10(1), 12613. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62669-6>
- Kaya, C., Şenbayram, M., Akram, N.A., Ashraf, M., Alyemeni, M.N. & Ahmad, P. (2020). Sulfur-enriched leonardite and humic acid soil amendments enhance tolerance to drought and phosphorus deficiency stress in maize (*Zea mays* L.). *Scientific Reports*, 10, 6432. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62669-6>
- Khaled, H. & Fawy, H.A. (2011). Effect of different levels of humic acids on the nutrient content, plant growth, and soil properties under conditions of salinity. *Soil and Water Research*, 6, 21-29. <https://doi.org/10.17221/4/2010-SWR>
- Li, P., Liu, J., Jiang, C., Wu, M., Liu, M. & Li, Z. (2019). Distinct successions of common and rare bacteria in soil under humic acid amendment—A microcosm study. *Frontiers in Microbiology*, 10. <https://10.3389/fmicb.2019.02271>
- Lindsay, W.L., & Norvell, W. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42(3), 421–428. <https://doi.org/10.2136/sssaj1978.03615995004200030009x>
- Liu, F.C., Xing, S.J., Duan, C.H., Du, Z.Y., Ma, H.L. & Ma, B.Y. (2010). Nitrate nitrogen leaching and residue of humic acid fertilizer in field soil. *Huan Jing Ke Xue*, 31(7), 1619–1624.
- Liu, Y., Zhang, K., Zhang, H., Zhou, K., Chang, Y., Zhan, Y., Pan, C., Shi, X., Zuo, H., Li, J. & Wei, Y. (2023). Humic acid and phosphorus fractions transformation regulated by carbon-based materials in composting steered its potential for phosphorus mobilization in soil. *Journal of Environmental Management*, 0301-4797. <https://10.1016/j.jenvman.2022.116553>
- Lopes, A.S. (1996). Soils under Cerrado: A success story in soil management. *International Fertilizer Industry Association*, 10(2), 1-10.
- Lu, Q., Jiao, C., Zuo, J., Guo, Z. & Huang, J. (2022). The impact of humic acid fertilizers on crop yield and nitrogen use efficiency: A meta-analysis. *Agriculture*, 14(12), 2763. <https://doi.org/10.3390/agronomy14122763>
- Machado, R.M.A. & Serralheiro, R.P. (2017). Soil salinity: Effect on vegetable crop growth. Management practices to prevent and mitigate soil salinization. *Horticulturae*, 3(2), 30. <https://doi.org/10.3390/horticulturae3020030>
- Marsac, R., Catrouillet, C., Davranche, M., Bouhnik-Le Coz, M., Briant, N., Janot, N., Otero-Fariña, A., Groenenberg, J., Pédrot, M., & Dia, A. (2021). Modeling rare earth elements binding to humic acids with model VII. *Chemical Geology*, 567, 120099. <https://10.1016/j.chemgeo.2021.120099>
- Marschner, P. (2012). *Marschner's mineral nutrition of higher plants*. Third Edition, Academic Press.
- Meier, I. C., Finér, L., Müller, C. & Rousk, J. (2022). Global magnitude of rhizosphere effects on soil microbial communities and carbon cycling in natural terrestrial ecosystems. *Nature Communications*, 13, 7033. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34411-9>
- Mirzaei Varoei, M., Oustan, S., Reyhanitabar, A., & Najafi, N. (2023). Preparation, characterization and nitrogen availability of nitrohumic acid as a slow-release nitrogen fertilizer. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 69(14), 3345–3361. <https://doi.org/10.1080/03650340.2023.2232678>
- Mirzaei Varoei, M., Oustan, Sh., Reyhanitabar, A. & Najafi, N. (2024). Effect of application of nitrogen-enriched humic acid (NHA) on morphological and physiological

- characteristics of maize (Single Cross 704). *Water and Soil Science*, 34(1), 91–111. (In Persian with English abstract) <https://doi.org/10.22034/ws.2021.49033.2501>
- Najafi, N., & Towfighi, H. (2011). Effects of soil moisture regimes and phosphorus fertilizer on available and inorganic P fractions in some paddy soils, North of Iran. *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 42(2), 257–69. (in Persian with English abstract) <https://doi.org/10.22059/ijswr.2012.29285>
- Najafi, N., & Towfighi, H. (2014). Changes in available phosphorus and inorganic native phosphorus fractions after waterlogging in the paddy soils of north of Iran. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science*, 18(67), 151–163. (in Persian with English abstract) <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.24763594.1393.18.67.24.7>
- Nassif, A.H., Al-Zubaidy, N.A.J. & Abd, R.M. (2023). Improving the growth of black cumin (*Nigella sativa* L.) by humic acid and *Trichoderma harzianum* as biofertilizer. *Modern Phytomorphology*, 17, 37–40. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7939704>
- Olivares, F.L., Busato, J.G., de Paula, A.M., da Silva Lima, L., Aguiar, N. & Canellas, L.P. (2017). Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4, 30. <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0112-x>
- Page, A.L., Miller, R.H. & Keeney, D.R. (1982). *Methods of soil analysis, Part 2: Chemical and microbiological properties*. Second Edition, American Society of Agronomy, Soil Science Society of America, Madison, WI, USA. <https://doi.org/10.1002/jpln.19851480319>
- Pikuła, D. (2024). The use of products from leonardite to improve soil quality in condition of climate change. *Acta Horticulturae et Regiotecturae*, 27(1), 15–22. <https://doi.org/10.2478/ahr-2024-0003>
- Rosolem, C.A., Almeida, D.S., Rocha, K.F. & Bacco, G.H.M. (2018). Potassium fertilisation with humic acid coated KCl in a sandy clay loam tropical soil. *Soil Research*, 56(3), 244–251. <https://doi.org/10.1071/SR17214>
- Rosolem, C.A., Nascimento, C.A.C., Bertolino, K.M. & Picoli, L.B. (2024). Humic acid enhances phosphorus transport in soil and uptake by maize. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 187(2), 401–414. <https://doi.org/10.1002/jpln.202300413>
- Ryan, J., Estefan, G. & Rashid, A. (2001). *Soil and plant analysis laboratory manual*. Second Edition, International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Beirut, Lebanon. <https://hdl.handle.net/20.500.11766/67563>
- Sanchez-Sanchez, A., Sanchez-Anderu, J., Juarez, M., Jorda, J. & Bermudez D. (2002). Humic substances and amino acid improve effectiveness of chelate FeEDDHA in lemons trees. *Journal of Plant Nutrition*, 25(11), 2433-2442. <https://doi.org/10.1081/PLN-120014705>
- Sepehr, I. & Zebardast, V.R. (2013). Effect of humic acid on phosphorus absorption behavior in a calcareous soil. *Water and Soil*, 27(4), 720-731. <https://doi.org/10.22067/jsw.v0i0.28095>
- Sun, Q., Li, X., Zhang, J., Wang, X. & Liu, Y. (2020). Humic acids derived from Leonardite to improve enzymatic activities and bioavailability of nutrients in a calcareous soil. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 13(5), 144–152. <https://doi.org/10.25165/j.ijabe.20201305.5612>
- Swify, S., Mažeika, R. & Volungevičius, J. (2023). Mineral nitrogen release patterns in various soil and texture types and the impact of urea and coated urea potassium humate on barley biomass. *Soil Systems*, 7(4), 102. <https://doi.org/10.3390/soilsystems7040102>

- Takahashi, Y. & Katoh, M. (2023). Root response and phosphorus uptake with enhancement in available phosphorus level in soil in the presence of water-soluble organic matter deriving from organic material. *Journal of Environmental Management*, 322, 116038. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116038>
- Tiwari, J., Ramanathan, A.L., Baudhh, K. & Korstad, J. (2023). Humic substances: Structure, function and benefits for agroecosystems- A review. *Pedosphere*, 33(2), 237–249. <https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2022.07.008>
- Turan, M.A., Aşık, B.B., Katkat, A.V. & Çelik, H. (2011). The effects of soil-applied humic substances on the dry weight and mineral nutrient uptake of maize plants under soil-salinity conditions. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(1), 171–177. <https://doi.org/10.15835/nbha3915812>
- Vanlauwe, B., Descheemaeker, K., Giller, K.E., Huising, J., Merckx, R., Nziguheba, G., Wendt, J. & Zingore, S. (2015). Integrated soil fertility management in sub-Saharan Africa: Unravelling local adaptation. *Soil*, 1(1), 491–508. <https://doi.org/10.5194/soil-1-491-2015>
- Xiong, Q., Wang, S., Lu, X., Xu, Y., Zhang, L., Chen, X. & Ye, X. (2023). The effective combination of humic acid phosphate fertilizer regulating the form transformation of phosphorus and the chemical and microbial mechanism of its phosphorus availability. *Agronomy*, 13(6), 1581. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061581>
- Yang, F., Tang, C. & Antonietti, M. (2021). Natural and artificial humic substances to manage minerals, ions, water, and soil microorganisms. *Chemical Society Reviews Journal*. 50, 6221–6239. <https://doi.org/10.1039/D0CS01363C>
- Yuan, Y., Gai, S., Tang, C., Jin, Y., Cheng, K., Antonietti, M. & Yang, F. (2022). Artificial humic acid improves maize growth and soil phosphorus utilization efficiency. *Applied Soil Ecology*, 179, 104587. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2022.104587>
- Zhang, W., Liu, X., Tang, W. & Zhu, S. (2024). Humic acid urea enhanced productivity and reduced active nitrogen loss in summer maize-winter wheat cropping system: A field lysimeter experiment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 375, 108044. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2024.108044>
- Zhang, W.W., Wang, C., Xue, R. & Wang, L.J. (2019). Effects of salinity on the soil microbial community and soil fertility. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(6), 1360–1368. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(18\)62077-5](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)62077-5)
- Zhou, L., Chu, J., Zhang, Y., Wang, Q., Liu, Y. & Zhao, B. (2024). Impact of a single lignite humic acid application on soil properties and microbial dynamics in Aeolian sandy soils: A fourth-year study in semi-arid Inner Mongolia. *Agronomy*, 14(11), 2581. <https://doi.org/10.3390/agronomy14112581>