



Evaluating the Efficacy of Biological and Organic Fertilizers in Increasing Soybean Yield

Sima Javidi¹, Mehdi Azizi², Saeed Reza Yaghoobi^{3*}

¹MSc Graduate in Agronomy, Lecturer in Samangan Agriculture Faculty, Technical and Vocational University, Mashhad, Iran.

²Assistant Professor and Faculty Member, Plant & Seed Improvement Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Mashhad, Iran.

³Assistant Professor and Faculty Member, Faculty of Agricultural Science, Technical and Vocational University, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO

Article Type:

Original Research

Received: 01.23.2023

Revised: 03.09.2023

Accepted: 05.23.2023

Keyword:

Rhizobium
Humic Acid
Sustainable Agriculture
Nitrogen
Symbiosis

*Corresponding Author:

Saeed Reza Yaghoobi

Email: Sr-yaghoobi@tvu.ac.ir

ABSTRACT

In order to evaluating the efficacy of biological and organic fertilizers in increasing soybean yield, an experiment was conducted in the research field of Bojnord Azad Islamic University in 2019 as randomized complete block design in split plots arrangement with three replications. The main plot included Hobbit and L17 soybean cultivars. The sub plot included six levels of fertilizer arrangement as soybean seed inoculation with Rhizobium (*Bradyrhizobium japonicum*) biofertilizer, nitrogen fertilizer (Urea, N 45%) application as basal-dressing plus top-dressing, soybean seed inoculation with Rhizobium biofertilizer plus nitrogen fertilizer application as basal-dressing plus top-dressing, seed treatment of humic acid plus top-dressing application of humic acid, seed treatment of humic acid plus application of basal-dressing nitrogen and top-dressing of humic acid. The results showed that except in the control treatment, the hundred seeds weight of soybean in the Hobbit cultivar was not significantly affected by fertilizer treatments. The highest grain yield of Hobbit and L17 cultivars obtained were 5767 and 5600 kg ha⁻¹, respectively when seed treatment of humic acid plus basal-dressing nitrogen and top-dressing of humic acid in the flowering stage of soybean was applied. However, in cultivar L17, there was no significant difference between all fertilizer treatments in grain yield except in the control. The highest biological yield of soybean obtained was 1.73 kg m⁻² when soybean seeds were inoculated with rhizobium and nitrogen fertilizer applied as basal-dressing and top-dressing. According to the results, the application of humic acid as seed treatment and top-dressing plus basal nitrogen fertilizer application or rhizobium inoculation plus nitrogen fertilizer basal-dressing and top-dressing application induced proper grain yield in Hobbit and L17 cultivars of soybean.



EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Soybean, an annual legume (*Fabaceae*), has the ability of symbiosis with rhizobium, which provides a large amount of required nitrogen for growth in a process named nitrogen fixation. Today, rhizobium inoculation of soybean seeds is a suitable method to reduce application of chemical fertilizers. Humic substances are the decayed remains of plant or animal waste production in nature. Humic acid, one of the components of humic substances, improves the physical, chemical and biological properties of the soil and increases the quality and quantity of crop yield. Humic acid commercially is produced in Leonardite alkaline extraction process. Previous research has shown that humic substance application in Legume crop increases the number and weight of nodules, the nitrogen levels of plant tissues, nitrogenase enzyme activity and content of leghemoglobin. Humic substances may increase the exudation of organic acids from the root, and induce plant interactions with beneficial micro-organisms and rhizosphere enrichment. The current study was conducted to compare the efficacy of biofertilizers containing *B. japonicum* and organic fertilizer such as humic acid along with nitrogen fertilizer in increasing soybean yield.

Methodology

This experiment was carried out at the Bojnord Islamic Azad University in 2019. After tillage, furrows with widths of 50 cm were made. The experiment was conducted in RCBD as split plots arrangement with three replications. The main plot included Hobbit and L17 cultivars of soybean. The sub plot included six levels of fertilizer arrangement as soybean seed inoculation with Rhizobium (*Bradyrhizobium japonicum*) biofertilizer, nitrogen fertilizer (Urea, N 45%) application as basal-dressing plus top-dressing in soybean flowering stage, soybean seed inoculation with Rhizobium biofertilizer plus nitrogen fertilizer application as basal-dressing plus top-dressing in soybean flowering stage, seed treatment of humic acid plus top-dressing application of humic acid in soybean flowering stage, seed treatment of humic acid plus application of basal-dressing nitrogen and top-dressing of humic acid in soybean flowering stage. In the top-dressing nitrogen fertilizer application, 20 kg ha⁻¹ Urea (N 45%) was applied when the seed rhizobium inoculation was carried out. The 120 kg ha⁻¹ Urea was applied when no seed rhizobium inoculation was carried out. Humic acid (Humax 12%, JH Biotech Inc., USA) as top-dressing was applied in 1.3 lit ha⁻¹ with irrigation water. Humic acid in 1.25 liters per 100 kg of seeds were used as soybean seed treatment. For soybean seeds rhizobium inoculation, *Bradyrhizobium japonicum* was used in 300 g ha⁻¹. During harvest, the plants inside all plots in two m² areas were removed and transported to the laboratory. Yield and yield component were measured. The data was analyzed by SAS 9.4 software.

Results and discussion

The highest yield of soybeans in the L17 cultivar was observed for 5600 kg ha⁻¹ when seed treatment of humic acid plus top-dressing application of humic acid in soybean flowering stage was carried out but there was no significant difference between fertilizer

treatments except the control. In the Hobbit cultivar, the highest grain yield was obtained in 5767 and 5152 kg ha⁻¹ when seed treatment of humic acid plus top-dressing application of humic acid and nitrogen fertilizer application as basal plus top-dressing were carried out, respectively. The highest biological yield obtained in soybean L17 cultivar were 1.63 and 1.73 kg m⁻² when nitrogen application as basal plus top-dressing and rhizobium inoculation of seed plus nitrogen application as basal plus top-dressing were carried out, respectively. The present research emphasized that humic acid application improves crop growth and development by increasing the absorption of water and nutrients by root growth improvement, and reduces the negative effects of soil salinity. In addition, seed inoculation with rhizobium also provided access to sufficient nitrogen and high yield in soybean due to the increase in rhizobium population and activity.

The application of natural fertilizers to increase soil fertility and improve plant growth and development have been goals of agricultural researchers to ensure sustainable agriculture. In the present experiment, the inoculation of soybean seeds with rhizobium in addition to the application of 20 kg of nitrogen fertilizer as basal dressing and top dressing obtained the highest grain yield in L17 cultivar. Although the application of nitrogen fertilizer in 120 kg ha⁻¹ obtained a high grain yield, seed rhizobium inoculation reduced the need for nitrogen fertilizer. A similar trend was observed in L17 biological yield. Similar results have been reported by Zufo et al. and Prozenski *et al.*. In the Hobbit cultivar, seed rhizobium inoculation with the nitrogen fertilizer application obtained a high grain yield but was not effective in biological yield. The application of humic acid in addition to nitrogen fertilizer resulted in the highest yield of soybeans in both cultivars. The results of several studies have shown that use of humic acid increased the absorption of water and nutrients by improving the conditions of root growth, and reduced the negative effects of soil salinity. Seed rhizobium inoculation also caused high yield in soybean due to the increase in rhizobium population and activity.

Conclusion

According to the results, the application of humic acid as seed treatment and top-dressing plus basal nitrogen fertilizer application or rhizobium inoculation plus nitrogen fertilizer basal-dressing and top-dressing application induced proper grain yield in Hobbit and L17 cultivars of soybean.

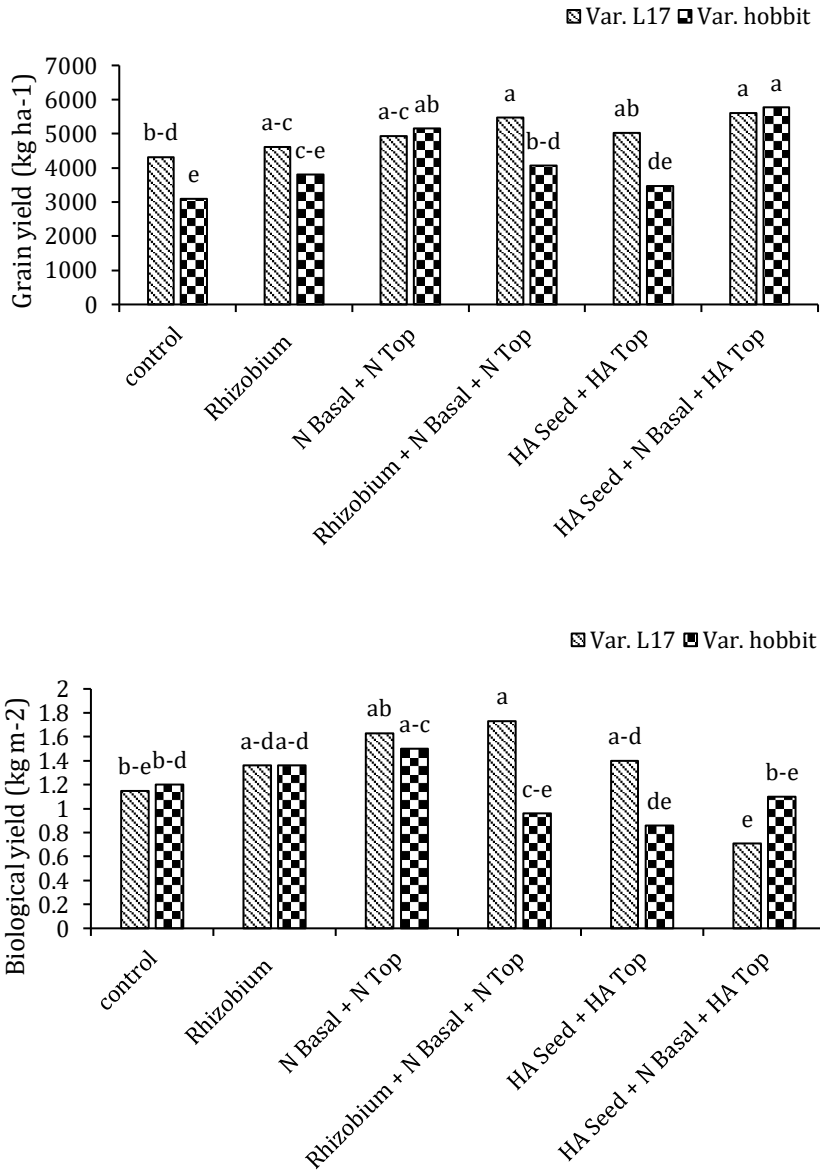


Figure 1. Effect of fertilizer and soybean cultivar interaction on grain and biological yield. Control: no fertilizer application; Rhizobium: seed inoculation with rhizobium; N Basal+ N Top: basal-dressing and top-dressing nitrogen fertilizer application; Rhizobium+ N Basal+ N Top: Rhizobium seed inoculation plus basal-dressing and top-dressing nitrogen fertilizer application; HA Seed + HA Top: seed treatment with humic acid plus top-dressing of humic acid; HA Seed + N Basal + HA Top: Seed treatment of humic acid plus nitrogen basal-dressing plus humic acid top-dressing application. Different letters indicate significant differences at the 5% level based on Duncan's multiple range test.

ارزیابی کارایی کودهای بیولوژیک و ارگانیک در افزایش عملکرد سویا

سیما جاویدی^۱، مهدی عزیزی^۲، سعیدرضا یعقوبی^{۳*}

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد زراعت و مدرس آموزشکده کشاورزی سمنگان، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، خراسان شمالی، مشهد، ایران.
- ۲- استادیار و عضو هیات علمی، گروه تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، مشهد، ایران.
- ۳- استادیار و عضو هیات علمی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه فنی و حرفه‌ای، تهران، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

دریافت مقاله: ۱۴۰۱/۱۱/۰۳

بازنگری مقاله: ۱۴۰۱/۱۲/۱۸

پذیرش مقاله: ۱۴۰۲/۰۳/۰۲

کلید واژگان:

ریزوبیوم
اسید هیومیک
کشاورزی پایدار
نیتروژن
همزیستی

*نویسنده مسئول: سعیدرضا یعقوبی

پست الکترونیکی:

Sr-yaghoobi@tvu.ac.ir

با هدف ارزیابی کارایی کودهای بیولوژیک و ارگانیک در افزایش عملکرد سویا، آزمایشی در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد بجنورد در سال ۱۳۹۹ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به‌صورت کرت‌های خرد شده در سه تکرار اجرا شد. عامل اصلی دو رقم سویا شامل هابیت و L۱۷ بود. عامل فرعی شامل شش سطح ترکیب کودی، شاهد بدون کاربرد کود، تلقیح بذور سویا با باکتری ریزوبیوم، کود نیتروژن پایه به‌علاوه نیتروژن سرک، تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به‌علاوه کود نیتروژن پایه به‌علاوه نیتروژن سرک، بذرمال اسید هیومیک به‌علاوه کاربرد سرک اسید هیومیک، بذرمال اسید هیومیک به‌علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک بودند. نتایج نشان داد در رقم هابیت وزن صد دانه سویا به جز تیمار شاهد بین تمامی تیمارهای کودی از نظر آماری تفاوت معنی داری نداشت. بالاترین عملکرد دانه رقم‌های هابیت و L۱۷ سویا در تیمار بذرمال اسید هیومیک به‌علاوه نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدهی سویا به ترتیب ۵۷۶۷ و ۵۶۰۰ کیلوگرم در هکتار به‌دست آمد. هر چند عملکرد دانه در رقم L۱۷ در سایر تیمارهای کودی به جز شاهد تفاوت معنی داری با هم نداشتند. بالاترین عملکرد بیولوژیک در رقم L۱۷ نیز در تیمار تلقیح بذر با ریزوبیوم به‌علاوه نیتروژن پایه و سرک در مرحله گلدهی به مقدار ۱/۷۳ کیلوگرم در مترمربع به‌دست آمد. طبق نتایج این آزمایش کاربرد اسید هیومیک به‌صورت بذرمال و سرک به همراه کود نیتروژن پایه یا تلقیح ریزوبیوم به همراه کود نیتروژن پایه و سرک عملکرد مناسبی را در سویا در پی داشت.

مقدمه

سویا به عنوان میزبان باکتری‌های گروه ریزوبیوم می‌تواند تا بیش از پنجاه درصد از نیاز نیتروژن خود را از طریق تثبیت نیتروژن در همزیستی با این باکتری‌ها به‌دست آورد [۱؛ ۲]. گونه‌های کلیدی باکتری که به صورت هم‌زیست با ریشه سویا در تثبیت نیتروژن نقش دارند *Bradyrhizobium japonicum* و *Bradyrhizobium elkanii* هستند [۳]. تلقیح سویا به‌صورت بذرمال کردن بذور سویا قبل از کاشت روش مناسبی از استفاده از این توانایی باشد و نیاز به مصرف کودهای نیتروژن‌دار را تا حدی زیادی مرتفع می‌سازد [۴]. نتایج تحقیقات نشان داده تلقیح بذر سویا حتی در مزارعی با سابقه کشت سویا و خاک‌های با جمعیت بالای این باکتری‌ها نیز توانسته است عملکرد دانه سویا را بیش از ۱۰ درصد افزایش دهد [۵].

مواد هیومیکی^۱ بقایای مواد گیاهی و جانوری تجزیه شده هستند [۶]. مواد هیومیکی به اسیدهای هیومیک^۲، اسیدهای فولویک^۳ و هومین^۴ طبقه بندی می‌شوند که اسید هیومیک و اسید فولویک به دلیل احتلال بالا کاربرد فراوانی یافته‌اند [۷]. کاربرد اسید هیومیک در خاک باعث بهبود خواص فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی خاک شده و افزایش عملکرد کیفی و کمی محصول را در پی دارد [۸]. امروزه مواد هیومیکی به صورت تجاری از زغال سنگ قهوه‌ای و مواد آلی تولید می‌شوند [۹]. نتایج یک تحقیق نشان داد که کاربرد اسید هیومیک استخراج شده از کود گوسفندی و گاوی باعث افزایش رشد رویشی سویا مانند ارتفاع، وزن خشک اندام هوایی و حجم ریشه شد هر چند کاربرد اسید هیومیک تجاری تأثیری بر رشد رویشی سویا نداشت [۱۰]. نتایج آزمایشی نشان داد کاربرد کود فسفر همراه با اسید هیومیک باعث افزایش جذب فسفر در رقم هایولا ۵۰ کلزا گردید [۱۱]. در تحقیقی دیگر کاربرد پنج تا پانزده لیتر اسید هیومیک در هکتار باعث افزایش وزن تر و خشک کلاله و وزن بنه زعفران گردید ولی بر تعداد گل زعفران تأثیری نداشت [۱۲].

یکی از اثرات مهم کاربرد مواد هیومیکی، تأثیر مثبت آنها بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها می‌باشد چرا که حضور مواد هیومیکی باعث بهبود کارایی میکروارگانیسم‌های مفید خاک به‌واسطه بهبود متابولیسم سلولی و رشد آنها می‌گردد [۱۳]. این مورد بویژه در میکروارگانیسم‌های همزیست مانند ریزوبیوم نیز صدق می‌کند [۱۴]. مواد هیومیکی باعث حفاظت باکتری‌های ریزوبیوم در کنار بذر شده و در محیط خاک نیز باعث بهبود ارتباط بین باکتری ریزوبیوم و ریشه می‌گردد [۱۵]. با توجه به این موارد، کاربرد مواد هیومیکی می‌تواند گزینه بسیار امیدوارکننده‌ای برای کاهش وابستگی به کودهای شیمیایی و ایجاد کشاورزی پایدار خواهند بود [۱۶]. تا کنون تحقیقات متعددی درباره تأثیر کاربرد مواد هیومیکی بر فعالیت میکروارگانیسم‌ها و همچنین تقابل آنها با گیاه در مورد میکروارگانیسم‌هایی مانند *Azotobacter chroococcum* [۱۷]، *Mycobacterium avium* [۱۸]، *Bacillus subtilis* [۱۹]، *Bradyrhizobium liaoningense* [۱۴]، *Sinorhizobium meliloti* [۲۰] و *Bradyrhizobium sp* [۱۶] صورت گرفته است. نتایج یک تحقیق نشان داد کاربرد مواد هیومیکی در گیاهان تیره لگومینوز باعث افزایش تعداد و وزن گره‌ها، سطوح نیتروژن اندام گیاهی، افزایش فعالیت آنزیم نیتروژناز^۵ و محتوای لگ‌هموگلوبین^۶ می‌شود. مواد هیومیکی در گیاهان غیر لگومینوز نیز باعث افزایش انشعاب ریشه و ایجاد نقاط بیشتر برای ورود باکتری و در نتیجه کلونیزه شدن بافت گیاه می‌گردد. همچنین باعث افزایش جریان کربن از ریشه‌ها به خاک و تحریک میکروارگانیسم‌ها و حرکت آنها به سمت ریزوسفر^۷ می‌شود [۲۱]. نتایج تحقیقی دیگر نشان داد هرچند کاربرد ریزوبیوم عملکرد دانه سویا را بین ۱۰ تا ۲۴ درصد افزایش داد ولی کاربرد

¹ Humic substances

² Humic acid

³ Fulvic acid

⁴ Humin

⁵ nitrogenase

⁶ leghemoglobin

⁷ Rhizosphere

توأم مواد هیومیکی به واسطه بهبود گره‌زایی و افزایش فعالیت آنها و تجمع مواد خشک گردید باعث افزایش بیشتر عملکرد دانه گردید [۲۲]. همچنین در تحقیقی دیگر کاربرد پتاسیم هیومات باعث افزایش بیشتر در گره‌زایی، وزن خشک و محتوای نیتروژن در ریشه و ساقه‌ها نسبت به شاهد گردید [۱۵]. هر چند تا کنون مطالعاتی در مورد کارایی میکروارگانیسیم‌هایی مانند ریزوبیوم یا مواد هیومیکی بر عملکرد گیاه زراعی به طور جداگانه صورت گرفته [۱۶; ۲۳] ولی تأثیرات آنها به صورت مقایسه‌ای مورد بررسی قرار نگرفته است. تحقیق حاضر با هدف مقایسه کارایی کود بیولوژیک حاوی ریزوبیوم و اسید هیومیک در کنار کود نیتروژن در افزایش عملکرد سویا صورت گرفت.

روش‌شناسی

این آزمایش در سال زراعی ۱۳۹۹ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی بجنورد انجام شد. قبل از انجام آزمایش خاک مزرعه مورد آزمایش قرار گرفت (جدول ۱). پس از انجام عملیات خاک‌ورزی، جوی و پشته به عرض ۵۰ سانتی متر ساخته شد.

جدول ۱. نتیجه آزمون خاک مزرعه آزمایشی.

هدایت الکتریکی ds m ⁻¹	اسیدیته pH خاک	مواد خنثی شونده (%)	ازت کل (%)	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)	شن (%)	سیلت (%)	رس (%)	کربن آلی (%)
۲۰۲	۸	۳۵	۰۰۰۸۹	۲۱	۴۳۰	۲۸	۵۰	۲۲	۱۰۶۲

آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به صورت کرت‌های خرد شده در سه تکرار اجرا شد. عامل اصلی دو رقم سویا شامل هابیت و L۱۷ بود. عامل فرعی شامل شش سطح ترکیب کودی، ۱- شاهد بدون کاربرد کود، ۲- تلقیح بذور سویا با کود حاوی باکتری ریزوبیوم، ۳- کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گله‌ی سویا (R۲)، ۴- تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به علاوه کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گله‌ی سویا (R۲)، ۵- بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد سرک اسید هیومیک در مرحله گله‌ی سویا (R۲)، ۶- بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گله‌ی سویا (R۲) بودند. در تیمار کود سرک، کود اوره در مرحله گله‌ی در تیمارهای تلقیح با ریزوبیوم مقدار ۲۰ و در سایر تیمارها ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار استفاده گردید. اسید هیومیک (Humax ۱۲%, JH Biotech Inc., USA) سرک به مقدار ۱/۳ لیتر در هکتار همراه با آب آبیاری انجام شد. برای تیمار بذرمال سویا ۱/۲۵ لیتر اسید هیومیک در ۱۰۰ کیلوگرم بذر استفاده گردید. برای تیمار بذر با ریزوبیوم از باکتری *Bradyrhizobium japonicum* به میزان ۳۰۰ گرم برای یک هکتار استفاده شد.

بذور پس از اعمال تیمار بذرمال به فاصله پنج سانتی متر روی ردیف به تعداد سه عدد در کرت‌های آزمایشی به ابعاد سه در شش متر کاشته شد که پس از سبز شدن برای ایجاد تراکم مناسب تنک گردیدند. آبیاری و سایر عملیات‌های داشت طبق عرف منطقه انجام گردید. در زمان رسیدگی دانه، بوته‌ها از هر کرت با در نظرگیری اثر حاشیه در سطح دو متر مربع کف بر شده و به آزمایشگاه انتقال یافت. تعداد پنج بوته به طور تصادفی انتخاب و فاصله اولین گره تا سطح و اجزای عملکرد اندازه‌گیری شد. در نهایت نیز عملکرد دانه و بیولوژیک اندازه‌گیری گردید. داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS ۹.۴ تجزیه واریانس شده و مقایسه میانگین به روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح پنج درصد انجام شد.

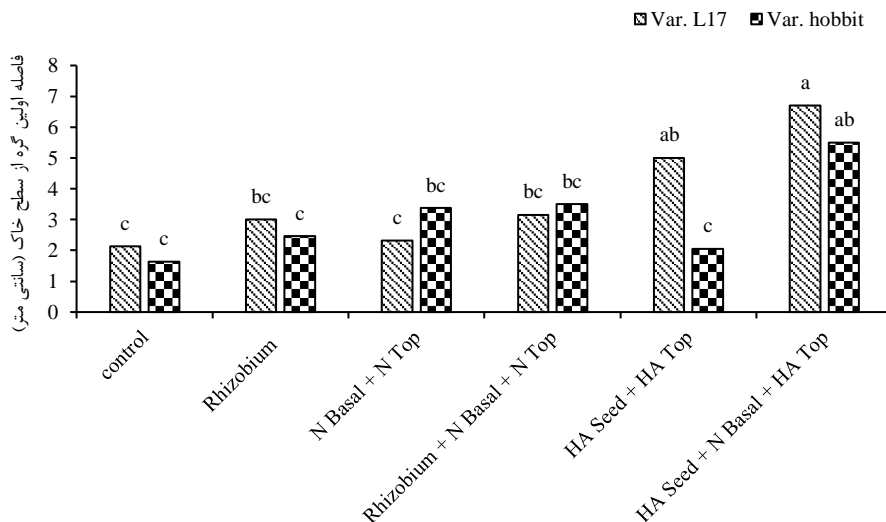
نتایج و بحث

نتایج آزمایش نشان داد برهم کنش کود و رقم تأثیر معنی داری بر وزن صد دانه، عملکرد دانه و بیولوژیک ($P < 0.05$) و فاصله اولین گره ساقه سویا از سطح خاک ($P < 0.01$) داشت. سایر صفات تحت تأثیر برهم کنش کود و رقم سویا قرار نگرفت. اثرات اصلی کود نیز بر وزن صد دانه، عملکرد دانه و بیولوژیک ($P < 0.01$) و فاصله اولین گره ساقه سویا از سطح خاک ($P < 0.05$) از نظر آماری معنی دار گردید (جدول ۲).

جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر کود و رقم بر صفات سویا.

منابع تغییر	درجه آزادی	تعداد ساقه‌های فرعی	فاصله اولین گره از سطح	تعداد گره در گیاه	تعداد غلاف در گره	تعداد دانه در غلاف	وزن صد دانه	عملکرد دانه	عملکرد بیولوژیک
بلوک	۲	۰.۱۲ ^{NS}	۰.۶۸ ^{NS}	۸۵.۶۳ ^{**}	۶.۱۵ ^{NS}	۶.۹۹ ^{NS}	۱.۰۹ ^{NS}	۰.۷۶ ^{NS}	۰.۳۸ ^{NS}
رقم	۱	۴.۸۲ ^{NS}	۶.۰۸ ^{NS}	۶.۳۶ ^{NS}	۰.۰۱ ^{NS}	۸.۳۸ ^{NS}	۸.۸۶ ^{NS}	۷.۲۸ ^{NS}	۰.۶۸ ^{NS}
اشتباه آزمایشی (a)	۲	۲.۱۹	۲.۱۵	۰.۰۸	۰.۲۵	۰.۵۲	۰.۷۴	۲.۱۴	۴.۰۵
کود	۵	۱.۵۲ ^{NS}	۳.۱۷ [*]	۰.۸۵ ^{NS}	۲.۱۶ ^{NS}	۱ ^{NS}	۴.۶۲ ^{**}	۸.۵۹ ^{**}	۳.۵۴ ^{**}
رقم × کود	۵	۱.۰۶ ^{NS}	۴.۱۵ ^{**}	۱.۲۹ ^{NS}	۰.۳۷ ^{NS}	۱.۱۵ ^{NS}	۳.۴۴ [*]	۲.۷۲ [*]	۲.۹۷ [*]
اشتباه آزمایشی (b)	۲۰	۱.۳۲۴	۰.۹۳۸	۰.۷۲۳	۱.۵۳۶	۱.۷۶۲	۱.۰۹۱	۰.۹۵۳	۰.۸۵۸
ضریب تغییرات	-	۲۲.۳	۲۵	۱۷.۱	۲۴.۳	۸.۴	۷.۰۱	۱۲.۶	۲۳.۸

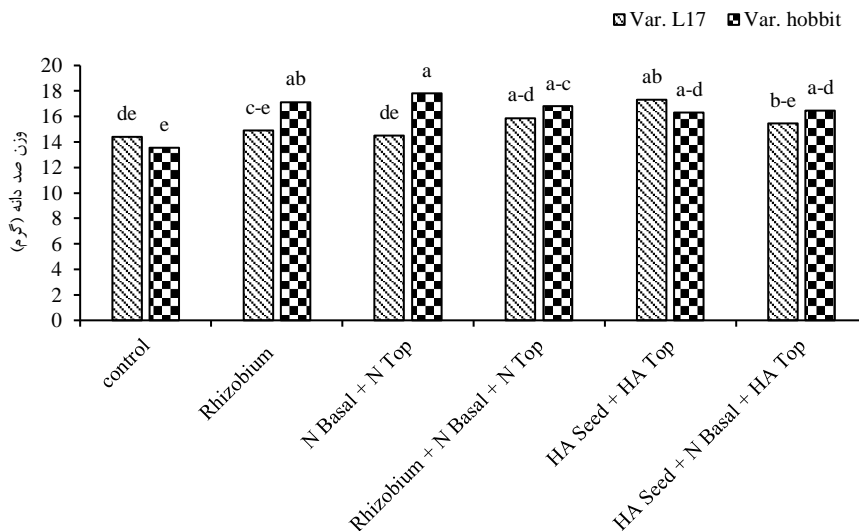
بالترین فاصله اولین گره ساقه سویا از سطح خاک در تیمار بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدهی سویا (R_2) در هر دو رقم هایت و L_{17} و همچنین تیمار بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد سرک اسید هیومیک در مرحله گلدهی سویا (R_2) در رقم L_{17} به ترتیب به مقدار ۵/۵، ۶/۷ و ۵ سانتی متر مشاهده گردید. کمترین فاصله اولین گره ساقه سویا از سطح خاک در رقم هایت در تمامی تیمارهای کودی به جز تیمار بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدهی سویا (R_2) به دست آمد. در رقم L_{17} نیز کمترین مقادیر در تیمارهای شاهد بدون کاربرد کود، تلقیح بذر سویا با کود حاوی ریزوبیوم، کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی سویا (R_2) و تیمار تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به علاوه کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی سویا (R_2) به ترتیب در مقادیر ۲/۱۴، ۳، ۲/۳ و ۳/۱۶ سانتی متر به دست آمد که از نظر آماری تفاوتی با هم نداشتند (شکل ۱).



شکل ۱. تأثیر برهم‌کنش دوگانه کود و رقم سویا بر فاصلهٔ اولین گره از سطح خاک. **Control**: شاهد بدون کاربرد کود، **Rhizobium**: تلقیح بذر سویا با کود حاوی ریزوبیوم، **N Basal + N Top**: کود نیتروژن پایه به‌علاوه نیتروژن سرک در مرحلهٔ گلدهی سویا (**R2**)، **Rhizobium + N Basal + N Top**: تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به‌علاوه کود نیتروژن پایه به‌علاوه نیتروژن سرک در مرحلهٔ گلدهی سویا (**R2**)، **HA Seed + HA Top**: بذرمال اسید هیومیک به‌علاوه کاربرد سرک اسید هیومیک در مرحلهٔ گلدهی سویا (**R2**)، **HA Seed + N Basal + HA Top**: بذرمال اسید هیومیک به‌علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحلهٔ گلدهی سویا (**R2**). حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

به جز تیمار شاهد، مقدار وزن صد دانه سویا در رقم هابیت بین تمامی تیمارهای کودی از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت و کم‌ترین وزن صد دانه سویا در رقم هابیت در تیمار شاهد به مقدار ۱۳/۵۶ گرم به‌دست آمد. در رقم L17 بالاترین وزن صد دانه در تیمارهای تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به‌علاوه کود نیتروژن پایه به‌علاوه نیتروژن سرک در مرحلهٔ گلدهی سویا (**R2**) و بذرمال اسید هیومیک به‌علاوه کاربرد سرک اسید هیومیک در مرحلهٔ گلدهی سویا به ترتیب به مقدار ۱۵/۸۸ و ۱۷/۲۹ گرم به‌دست آمد (شکل ۲).

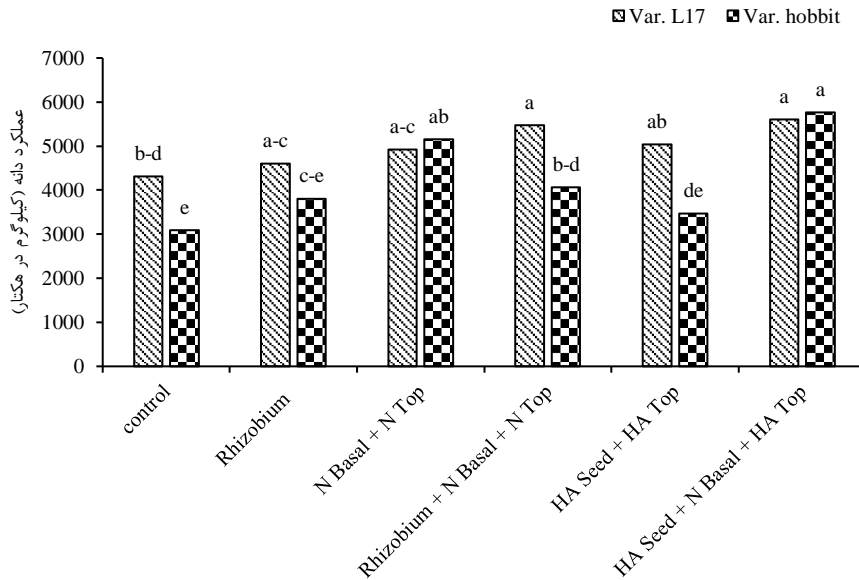
نتایج تحقیقی نشان داد هر چند استفاده از کود نیتروژن باعث افزایش معنی‌دار وزن صد دانه سویا گردید ولی کاربرد توأم کود نیتروژن همراه با تلقیح بذر با ریزوبیوم باعث افزایش بیشتر وزن صد دانه نسبت به شرایط عدم تلقیح بذر شد [۲۴]. در مقابل نتایج آزمایشی نشان داد بیشترین وزن هزار دانه سویا در شرایط تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم در شرایط بدون کاربرد کود نیتروژن به‌دست آمد ولی کاربرد ۳۰ کیلوگرم نیتروژن در هکتار همراه با انجام عمل تلقیح بذر، بالاترین عملکرد دانه را نسبت به شرایط بدون مصرف کود نیتروژن ایجاد کرد [۲۵]. در تحقیقی دیگر در مورد لوبیا چشم بلبلی کاربرد هم‌زمان کود اسید هیومیک و تلقیح بذر با ریزوبیوم باعث افزایش معنی‌دار در وزن دانهٔ لوبیا چشم بلبلی شد [۲۶].



شکل ۲. تأثیر برهم کنش دوگانه کود و رقم سویا بر وزن صد دانه. Control: شاهد بدون کاربرد کود، Rhizobium: تلقیح بذر سویا با کود حاوی ریزوبیوم، N Basal+ N Top: کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدی سویا (R2)، Rhizobium+ N Basal+ N Top: تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به علاوه کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدی سویا (R2)، HA Seed + HA Top: بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد سرک اسید هیومیک در مرحله گلدی سویا (R2)، HA Seed + N Basal + HA Top: بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدی سویا (R2). حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

بالاترین عملکرد دانه سویا در رقم L17 سویا در تیمار بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدی سویا (R2) به مقدار ۵۶۰۰ کیلوگرم در هکتار به دست آمد هر چند تیمارهای تلقیح بذر سویا رقم L17 با تیمارهای کودی حاوی ریزوبیوم، کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدی، تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به علاوه کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدی و تیمار بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد سرک اسید هیومیک در مرحله گلدی نیز به ترتیب با مقادیر ۴۶۰۸، ۴۹۲۳، ۵۴۶۷ و ۵۰۳۳ کیلوگرم در هکتار از نظر آماری تفاوت معنی داری با آن نداشتند. کمترین عملکرد دانه سویا در رقم L17 در شاهد بدون مصرف کود به مقدار ۴۳۰۸ کیلوگرم در هکتار به دست آمد (شکل ۳). در رقم هابیت سویا بالاترین عملکرد دانه در تیمارهای کودی بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدی سویا و تیمار کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدی سویا به ترتیب ۵۷۶۷ و ۵۱۵۲ کیلوگرم در هکتار به دست آمد. کمترین عملکرد دانه در رقم هابیت در تیمارهای کودی شاهد بدون کاربرد کود، تلقیح بذر سویا با کود حاوی ریزوبیوم و تیمار بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد سرک اسید هیومیک در مرحله گلدی به ترتیب در مقادیر ۳۰۸۵، ۳۳۸۰۰ و ۳۴۶۷ کیلوگرم در هکتار به دست آمد (شکل ۳). نتایج یک آزمایش نشان داد بوته‌های سویا به دلیل استفاده از دوز کامل نیتروژن و به دنبال آن دوز بالای اسید هیومیک در رقم ۹ Giza در مقایسه با رقم ۱ Sinai، تعداد غلاف و تعداد

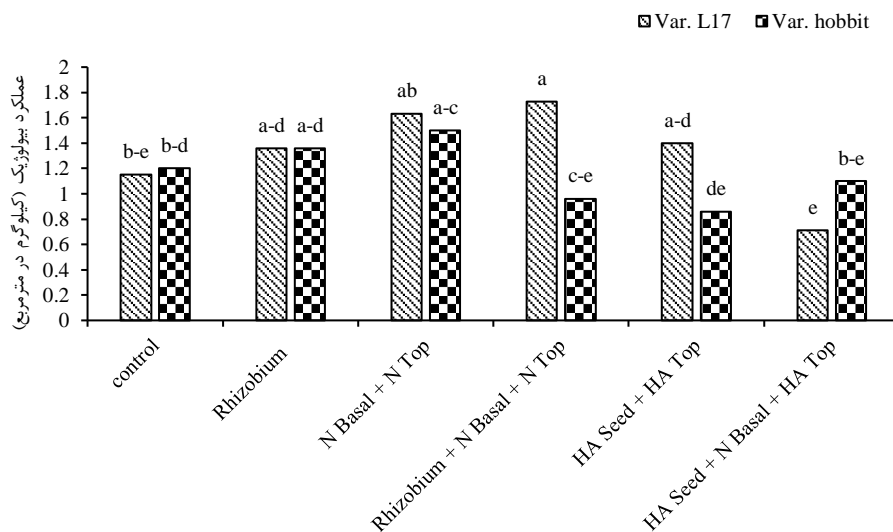
دانه و عملکرد دانه بیشتری را تولید گردید. در این آزمایش تلقیح ریزوبیوم همراه با کاربرد نیتروژن و اسید هیومیک، عملکرد سویا را در مقایسه با شاهد بدون کود و یا کاربرد به تنهایی ریزوبیوم یا نیتروژن یا اسید هیومیک به طور معنی داری در تمامی ارقام سویای مورد آزمایش افزایش داد [۲۷]. در آزمایشی دیگر کاربرد کود زیستی به همراه محلول پاشی با کود اسید هیومیک عملکرد دانه ذرت را نسبت به شاهد بدون کود حتی در شرایط تنش نیز افزایش داد [۲۸].



شکل ۳. تأثیر برهم کنش دوگانه کود و رقم سویا بر عملکرد دانه. Control: شاهد بدون کاربرد کود، Rhizobium: تلقیح بذر سویا با کود حاوی ریزوبیوم، N Basal+ N Top: کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی سویا (R2)، Rhizobium+ N Basal+ N Top: تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به علاوه کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی سویا (R2)، HA Seed + HA Top: بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد سرک اسید هیومیک در مرحله گلدهی سویا (R2)، HA Seed + N Basal + HA Top: بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدهی سویا (R2). حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

بالاترین عملکرد بیولوژیک در رقم L17 سویا در تیمار کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی و تیمار تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به علاوه کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی به ترتیب در مقادیر ۱/۶۳ و ۱/۷۳ کیلوگرم در متر مربع به دست آمد. هر چند تیمار تلقیح بذر سویا با کود حاوی ریزوبیوم و تیمار بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد سرک اسید هیومیک در مرحله گلدهی در مقادیر به ترتیب ۱/۳۶ و ۱/۴ کیلوگرم در مترمربع تفاوت معنی داری با بالاترین عملکرد بیولوژیک در رقم L17 نداشتند. کمترین مقادیر مربوط به تیمار بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدهی سویا بود ۰/۷۱ کیلوگرم در مترمربع بود (شکل ۴). در رقم هایت سویا نیز بالاترین عملکرد بیولوژیک مربوط به تیمار تلقیح بذر سویا با کود حاوی ریزوبیوم و تیمار کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی به ترتیب در مقادیر ۱/۳۶ و ۱/۵ کیلوگرم در متر مربع

بود و کمترین مقدار نیز مربوط به تیمار تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به علاوه کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی و تیمار بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد سرک اسید هیومیک در مرحله گلدهی و تیمار بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدهی سویا در مقادیر ۰/۹۶، ۰/۸۶ و ۱/۱ کیلوگرم در متر مربع بود (شکل ۴). نتایج یک آزمایش نشان داد کاربرد اسید هیومیک و به دنبال آن مصرف کود نیتروژن بیشترین مقادیر را در ارتفاع بوته، وزن خشک اندام هوایی و سطح برگ در حالت رویشی در گیاه سویا ایجاد کرد [۲۷].



شکل ۴. تأثیر برهمکنش دوگانه کود و رقم سویا بر عملکرد بیولوژیک. Control: شاهد بدون کاربرد کود، Rhizobium: تلقیح بذر سویا با کود حاوی ریزوبیوم، N Basal+ N Top: کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی سویا (R2)، Rhizobium+ N Basal+ N Top: تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به علاوه کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی سویا (R2)، HA Seed + HA Top: بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدهی سویا (R2)، HA Seed + N Basal + HA Top: بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدهی سویا (R2). حروف متفاوت در بالای ستون‌ها نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

استفاده از مواد با منشأ طبیعی برای افزایش حاصلخیزی خاک و بهبود رشد گیاه [۲۹] و کاربرد روش‌ها [۳۰] و مواد سازگار با طبیعت [۳۱] برای کاهش صدمات آفات، بیماری و علف‌های هرز جزو اهداف محققین حوزه کشاورزی برای تولید محصول سالم بوده است.

نتایج تحقیقات متعدد نشان داده است که استفاده از اسید هیومیک و کودهای زیستی منجر به افزایش عملکرد و اجزای عملکرد در گیاهان زراعی می‌شود [۲۱؛ ۲۴؛ ۲۶؛ ۲۷؛ ۳۲]. در آزمایش حاضر عملکرد دانه سویا در رقم L17 عکس العمل بیشتری نسبت به رقم هابیت به کاربرد تیمارهای کودی نشان داد. عملکرد دانه سویا در رقم L17 در تمامی تیمارهای کودی به جز با شاهد بدون مصرف کود تفاوت معنی‌داری نداشت ولی بالاترین عملکرد مربوط به تیمار تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به علاوه کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی و تیمار بذرمال اسید هیومیک

به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدهی سویا با مقادیر ۵۴۶۷ و ۵۶۰۰ کیلوگرم در هکتار بود (شکل ۳). در عملکرد بیولوژیک بالاترین مقدار مربوط تیمار تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به علاوه کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی با مقدار ۱/۷۳ کیلوگرم در مترمربع بود (شکل ۴). با توجه به این نتایج به نظر می‌رسد هرچند کاربرد اسید هیومیک، ریزوبیوم و نیتروژن باعث افزایش عملکرد دانه سویا در رقم L۱۷ گردید ولی برای دستیابی به عملکرد بیولوژیک بیشتر وجود نیتروژن چه به واسطه ریزوبیوم و چه کاربرد کود اوره مؤثرتر از اسید هیومیک بود.

بالاترین عملکرد دانه رقم هابیت سویا در تیمار بذرمال اسید هیومیک به علاوه کاربرد نیتروژن پایه و اسید هیومیک سرک در مرحله گلدهی سویا و تیمار کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی سویا به ترتیب ۵۷۶۷ و ۵۱۵۲ کیلوگرم در هکتار به دست آمد (شکل ۳) ولی بالاترین عملکرد بیولوژیک در تیمار تلقیح بذر سویا با کود حاوی ریزوبیوم و تیمار کود نیتروژن پایه به علاوه نیتروژن سرک در مرحله گلدهی سویا به ترتیب در مقادیر ۱/۳۶ و ۱/۵ کیلوگرم در مترمربع حاصل شد (شکل ۴). با توجه به این نتایج در رقم هابیت کاربرد کود نیتروژن پایه و سرک باعث دستیابی به حداکثر عملکرد دانه و بیولوژیک گردید. با توجه به نتایج در رقم هابیت مصرف کود نیتروژن نسبت به کاربرد ریزوبیوم و اسید هیومیک اولویت داشته و پاسخ بهتری نشان می‌دهد. هر چند کاربرد مقادیری کود نیتروژن می‌تواند در رشد سویا کمک کننده باشد ولی کاربرد بیش از حد آن باعث کاهش چشمگیر فعالیت باکتری‌های تثبیت کننده نیتروژن می‌شود [۳۳]. در آزمایش حاضر نیز تلقیح بذر سویا با ریزوبیوم به همراه کاربرد ۲۰ کیلوگرم کود نیتروژن به صورت پایه و سرک توانست بالاترین عملکرد دانه را در رقم L۱۷ ایجاد کند. هر چند کاربرد کود نیتروژن به مقدار ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار عملکرد دانه بالایی ایجاد کرد ولی کاربرد ریزوبیوم نیاز به کود نیتروژن را به مقدار چشمگیری کاهش داد. در مورد عملکرد بیولوژیک نیز مشابه چنین روندی در رقم L۱۷ مشاهده گردید. نتایج مشابهی در تحقیقات زوفو و همکاران [۳۳] و پروزنسکی و همکاران [۳۴] گزارش گردیده است. ولی در رقم هابیت تلقیح ریزوبیوم همراه با کاربرد کود نیتروژن هر چند عملکرد دانه بالایی به دست آورد ولی افت عملکرد بیولوژیک را در پی داشت. کاربرد اسید هیومیک به همراه کود نیتروژن بالاترین عملکرد دانه سویا را در هر دو رقم در پی داشت. نتایج مطالعات متعددی نشان داده است کاربرد اسید هیومیک به واسطه بهبود شرایط رشد ریشه باعث افزایش جذب آب و عناصر غذایی، کاهش تأثیرات منفی شوری خاک می‌گردد [۱۰-۱۲]. تلقیح با ریزوبیوم نیز به واسطه افزایش جمعیت و فعالیت آنها باعث ایجاد عملکرد بالا در سویا می‌گردد [۱۳؛ ۲۱؛ ۲۳؛ ۲۶].

نتیجه گیری کلی

برای دستیابی به عملکرد بالا در گیاهان زراعی دارای توانایی همزیستی مانند سویا استفاده از روش تلقیح با باکتری ریزوبیوم، روشی مؤثر می‌باشد. از طرفی دیگر کاربرد اسید هیومیک به واسطه تأثیرات مثبت مستقیم و غیر مستقیم آن بر محیط خاک و ریشه و فعالیت باکتری می‌تواند نتایج بهتری را دربرداشته باشد. نباید از نظر دور داشت که کاربرد کود نیتروژن در مقادیر کم همراه با تلقیح با ریزوبیوم یا اسید هیومیک نیز می‌تواند نقشی مهم در رشد و توسعه گیاه سویا و دستیابی به حداکثر عملکرد داشته باشد. طبق نتایج این آزمایش تلقیح ریزوبیوم به همراه مصرف کود نیتروژن به صورت پایه و سرک و یا بذرمال و مصرف سرک اسید هیومیک به همراه نیتروژن پایه می‌تواند عملکرد دانه بالایی را در سویا به دست آورد.

References

- [1] Kaschuk, G., Nogueira, M. A., De Luca, M. J., & Hungria, M. (2016). Response of determinate and indeterminate soybean cultivars to basal and topdressing N fertilization compared to sole inoculation with Bradyrhizobium. *Field Crops Research*, 195, 21-27. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2016.05.010>
- [2] Moretti, L. G., Crusciol, C. A. C., Kuramae, E. E., Bossolani, J. W., Moreira, A., Costa, N. R., Alves, C. J., Pascoaloto, I. M., Rondina, A. B. L., & Hungria, M. (2020). Effects of growth-promoting bacteria on soybean root activity, plant development, and yield. *Agronomy Journal*, 112(1), 418-428. <https://doi.org/10.1002/agi2.20010>
- [3] Tian, C. F., Zhou, Y. J., Zhang, Y. M., Li, Q. Q., Zhang, Y. Z., Li, D. F., Wang, S., Wang, J., Gilbert, L. B., Li, Y. R., & Chen, W. X. (2012). Comparative genomics of rhizobia nodulating soybean suggests extensive recruitment of lineage-specific genes in adaptations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(22), 8629-8634. <https://doi.org/10.1073/pnas.1120436109>
- [4] Carciochi, W. D., Rosso, L. H. M., Secchi, M. A., Torres, A. R., Naeve, S., Casteel, S. N., Kovács, P., Davidson, D., Purcell, L. C., Archontoulis, S., & Ciampitti, I. A. (2019). Soybean yield, biological N₂ fixation and seed composition responses to additional inoculation in the United States. *Scientific Reports*, 9(1), 19908. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56465-0>
- [5] Moretti, L. G., Lazarini, E., Bossolani, J. W., Parente, T. L., Caioni, S., Araujo, R. S., & Hungria, M. (2018). Can Additional Inoculations Increase Soybean Nodulation and Grain Yield? *Agronomy Journal*, 110(2), 715-721. <https://doi.org/10.2134/agnonj2017.09.0540>
- [6] Hayes, M. H. B., & Swift, R. S. (2020). Chapter One - Vindication of humic substances as a key component of organic matter in soil and water. In D. L. Sparks (Ed.), *Advances in Agronomy*. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2020.05.001>
- [7] De Melo, B. A. G., Motta, F. L., & Santana, M. H. A. (2016). Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Materials Science and Engineering: C*, 62, 967-974. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.12.001>
- [8] Ampong, K., Thilakaranthna, M. S., & Gorim, L. Y. (2022). Understanding the Role of Humic Acids on Crop Performance and Soil Health. *Frontiers in Agronomy*, 4, 1-14. <https://doi.org/10.3389/fagro.2022.848621>
- [9] Yang, F., Tang, C., & Antonietti, M. (2021). Natural and artificial humic substances to manage minerals, ions, water, and soil microorganisms. *Chemical Society Reviews*, 50(10), 6221-6239. <https://doi.org/10.1039/D0CS01363C>
- [10] Hosseini, S., Hejazi-Mehrizi, M., Sarcheshmehpour, M., & Fekri, M. (2022). Comparison of the Characteristics and Effects of Commercial Humic Acid Extracted from Cattle and Sheep Manures on Soybean Growth. *Iranian Journal of Soil Research*, 36(3), 289-304. <https://doi.org/10.22092/ijsr.2022.358279.658>
- [11] Jahandideh, A., Motlagh, M. B., Dordipur, E., & Nasrabadi, R. G. (2019). The effect of humic acid on the availability of phosphorus fertilizer and some physiological traits of rapeseed (canola). *Journal of Water and Soil*, 33(6), 873-884. <https://doi.org/10.2067/jsw.v33i6.77449>
- [12] Ahmadi, F., & Aminifard, M. H. (2018). Effects of foliar spraying humic acid on some morphological characteristics and flower yield of saffron (*Crocus sativus* L.). *Journal of Saffron Research*, 6(1), 17-26. <https://doi.org/10.22077/jsr.2017.540.1021>

- [13] Tikhonov, V. V., Yakushev, A. V., Zavgorodnyaya, Y. A., Byzov, B. A., & Demin, V. V. (2010). Effects of humic acids on the growth of bacteria. *Eurasian Soil Science*, 43(3), 305-313. <https://doi.org/10.1134/S1064229310030087>
- [14] Guo Gao, T., Yuan Xu, Y., Jiang, F., Zhen Li, B., Shui Yang, J., Tao Wang, E., & Li Yuan, H. (2015). Nodulation Characterization and Proteomic Profiling of *Bradyrhizobium liaoningense* CCBAU05525 in Response to Water-Soluble Humic Materials. *Scientific Reports*, 5(1), 10836. <https://doi.org/10.1038/srep10836>
- [15] Reis de Andrade da Silva, M. S., De Melo Silveira dos Santos, B., Hidalgo Chávez, D. W., De Oliveira, R., Barbosa Santos, C. H., Oliveira, E. C., & Rigobelo, E. C. (2021). K-humate as an agricultural alternative to increase nodulation of soybeans inoculated with *Bradyrhizobium*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 36, 102129. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102129>
- [16] Da Silva, M. S. R. D. A., Dos Santos, B. D. M. S., Da Silva, C. S. R. D. A., Da Silva, C. S. R. D. A., Antunes, L. F. D. S., Dos Santos, R. M., Santos, C. H. B., & Rigobelo, E. C. (2021). Humic Substances in Combination With Plant Growth-Promoting Bacteria as an Alternative for Sustainable Agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 12, 719653. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.719653>
- [17] Gaur, A. C., & Bhardwaj, K. K. R. (1971). Influence of sodium humate on the crop plants inoculated with bacteria of agricultural importance. *Plant and Soil*, 35(1), 613-621. <https://doi.org/10.1007/BF01372691>
- [18] Kirschner Jr, R. A., Parker, B. C., & Falkinham III, J. O. (1999). Humic and fulvic acids stimulate the growth of *Mycobacterium avium*. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Ecology*, 30(4), 327-332. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1999.tb00660.x>
- [19] Young, C-C., Rekha, P. D., Lai, W-A., & Arun, A. B. (2006). Encapsulation of plant growth-promoting bacteria in alginate beads enriched with humic acid. *Biotechnology and Bioengineering*, 95(1), 76-83. <https://doi.org/10.1002/bit.20957>
- [20] Capstaff, N. M., Morrison, F., Cheema, J., Brett, P., Hill, L., Muñoz-García, J. C., Khimiyak, Y. Z., Domoney, C., & Miller, A. J. (2020). Fulvic acid increases forage legume growth inducing preferential up-regulation of nodulation and signalling-related genes. *Journal of Experimental Botany*, 71(18), 5689-5704. <https://doi.org/10.1093/jxb/eraa283>
- [21] Olivares, F. L., Busato, J. G., De Paula, A. M., Da Silva Lima, L., Aguiar, N. O., & Canellas, L. P. (2017). Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 4(1), 30. <https://doi.org/10.1186/s40538-017-0112-x>
- [22] Til'ba, V. A., & Sinegovskaya, V. T. (2012). Role of symbiotic nitrogen fixation in increasing photosynthetic productivity of soybean. *Russian Agricultural Sciences*, 38(5), 361-363. <https://doi.org/10.3103/S1068367412050199>
- [23] Da Silva, M. S. R. D. A., Huertas Tavares, O. C., Ribeiro, T. G., Da Silva, C. S. R. D. A., Da Silva, C. S. R. D. A., García-Mina, J. M., Baldani, V. L. D., Calderín García, A., Berbara, R. L. L., & Jesus, E. D. C. (2021). Humic acids enrich the plant microbiota with bacterial candidates for the suppression of pathogens. *Applied Soil Ecology*, 168(1), 104146. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.104146>
- [24] Seyedsharifi, R. (2013). The Effects of Seed Inoculation with *Rhizobium* and Nitrogen Application on Yield and some Agronomi Characteristics of Soybean under Ardabil Condition. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 11(4), 618-628. <https://doi.org/10.22067/gsc.v11i4.32688>

- [25] Aboutalebian, M. A., & Malmir, M. (2018). Effect of mycorrhiza and bradyrhizobium on yield and yield components of soybean in different amounts of nitrogen fertilizer. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 48(4), 901-911. <https://doi.org/10.22059/ijfcs.2017.210402.654143>
- [26] Tripura, P., Kumar, S., & Verma, R. (2017). Effect of Potassium Humate and Bio-inoculants on Nutrient Content, Uptake and Quality of Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(2), 1735-1741. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.602.194>
- [27] El-Tahlawy, Y., & Hassanen, S. (2021). Response of Lentil to Crude Humates and Rhizobacteria Inoculation under Calcareous Soils Conditions. *Egyptian Journal of Agronomy*, 43(1), 105-121. <https://doi.org/10.21608/agro.2021.62856.1247>
- [28] Abou Basha, D. M., Hellal, F., & El Sayed, S. (2021). The combined effect of potassium humate and bio-fertilizers on maize productivity and quality under water stress conditions. *Science Archives*, 2(3), 162-170. <https://doi.org/10.47587/SA.2021.2302>
- [29] Yaghoobi, S. R. (2020). Seaweed Extract: Innovation for Organic Agriculture. *Karafan Quarterly Scientific Journal*, 17(2), 23-34. <https://doi.org/10.48301/kssa.2020.119206>
- [30] Sabourifard, H., & Entezari, A. (2022). Effect of Planting Dates and Irrigation Intervals on Quality and Quantity Performance of Nutrifeed Millet. *Karafan Quarterly Scientific Journal*, 18(4), 93-110. <https://doi.org/10.48301/kssa.2021.129330>
- [31] Yaghoobi, S. R., & Lotfi, A. (2022). Effects of Surface Active Agents on Herbicidal Properties of Acetic Acid and Citric Acid Mixture. *Karafan Quarterly Scientific Journal*, 18(4), 159-173. <https://doi.org/10.48301/kssa.2021.303400.1713>
- [32] Khafagy, H., Ahmed, M., & Abdel-Azeem, S. (2019). Impact of Mineral Fertilizers with or without Bio-Fertilizers or Potassium Humate on some Soil Properties, Yield and Quality of Pea Plants Under Salt Affected Soil Conditions. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology*, 10(1), 19-27. <https://doi.org/10.21608/jacb.2019.36785>
- [33] Mario Zuffo, A., Steiner, F., Busch, A., & Zoz, T. (2018). Resposta de cultivares de soja precoce a adubação nitrogenada associada à inoculação com *Bradyrhizobium japonicum*. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 48(4), 436-446. <https://doi.org/10.1590/1983-40632018v4852637>
- [34] Prusiński, J., Baturó-Cieśniewska, A., & Borowska, M. (2020). Response of Soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) to Mineral Nitrogen Fertilization and *Bradyrhizobium japonicum* Seed Inoculation. *Agronomy*, 10(9), 1300. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091300>