



Evaluation of the efficiency of liquid organic fertilizers enriched with different iron sources on maize (*Zea mays* L.) growth and post-harvest soil enzymatic activity

Asma Ahmadvand¹ | Ahmad Golchin² | Mehdi Jafari Asl³ | Setareh Amanifar⁴

1- Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan. Zanjan, Iran.

E-mail: Asma.a9344@gmail.com

2- Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan. Zanjan, Iran.

E-mail: Agolchin2011@yahoo.com

3. Farhikhtegan Zarnam Industrial Research Group, Alborz Province, Hashtgerd City, Iran.

E-mail: Mahdijafariasl@gmail.com

5. Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan. Zanjan, Iran.

E-mail: Amanifar@znu.ac.ir

Article Info

Article type: Research Article

Article history:

Received: Nov. 29, 2025

Revised: Jan. 6, 2026

Accepted: Jan. 10, 2026

Published online: Feb. 2026

Keywords:

**Corn,
Enzyme activity,
Fe-EDTA,
Fe-EDDHA,
Fe-DTPA.**

ABSTRACT

A greenhouse experiment was conducted using a completely randomized factorial design with three replications to evaluate the effects of different levels of amino acid-rich soluble organic fertilizers enriched with various iron sources on maize growth and soil enzymatic activity in calcareous soils. Fertilizer type was considered as the first factor at eight levels, and fertilizer application rate as the second factor at two levels. The treatments included: control (C); 3% iron-containing ferrous sulfate solution (S); organic fertilizer without iron enrichment (O); separate application of organic fertilizer without iron and 3% ferrous sulfate (OS); organic fertilizer enriched with 3% iron from ferrous sulfate (A); organic fertilizer enriched with 1.5% iron from Fe-EDTA and 1.5% from ferrous sulfate (AE); organic fertilizer enriched with 1.5% iron from Fe-DTPA and 1.5% from ferrous sulfate (AD); and organic fertilizer enriched with 1.5% iron from Fe-EDDHA and 1.5% from ferrous sulfate (AH). These fertilizers were applied via fertigation at two levels, 50 and 100 L ha⁻¹, corresponding to 0.08 and 0.16 g per 3 kg of soil, respectively. The results showed that all fertilizer treatments increased fresh and dry weights of shoots and roots, plant height, and soil enzymatic activity compared to the control. The AH treatment at 100 L ha⁻¹ (AH100) exhibited the highest yield, increasing dry shoot and root weights and plant height by 34%, 31%, and 36.9%, respectively, compared to the control, as well as enhancing alkaline phosphatase, catalase, and urease activities by 23.2%, 22.3%, and 21.5%, respectively. Application of the organic fertilizer containing Fe-EDDHA significantly improved maize growth and physiological status, which was attributed to enhanced iron nutrition, chlorophyll content, and soil biological activity.

Cite this article: Ahmadvand, A., Golchin, A., Jafari Asl, M., & Amanifar, S. (2026). Synthesis and Evaluation of Enriched Liquid Organic Fertilizers Using Different Iron Sources: Effects on Growth and Yield of Maize (*Zea mays* L.), *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 56 (12), 3489-3508. <https://doi.org/10.22059/ijswr.2026.406875.670059>

© The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijswr.2026.406875.670059>



EXTENDED ABSTRACT

Introduction

During the wet-milling process of maize in grain refineries, a by-product rich in organic matter, known as corn steep liquor is generated. Through enzymatic and fermentative hydrolysis, corn steep liquor can release bioactive compounds that act as signaling molecules and plant growth stimulators, making it a promising raw material for the production of soluble organic fertilizers. Moreover, considering the widespread iron (Fe) deficiency in neutral and alkaline soils, developing iron-enriched fertilizers that are both effective in correcting this deficiency and more environmentally compatible is regarded as an important strategy in iron nutrition management. Accordingly, this study was conducted with the aim of producing soluble organic fertilizers enriched with different iron chelates and evaluating their effects on maize growth and soil enzyme activity under calcareous soil conditions.

Material and Methods

A factorial greenhouse experiment with two factors—fertilizer type and application rate—was conducted in a completely randomized design using fertigation, with three replications under controlled conditions, in the greenhouse of the Farhikhtegan Zarnam Industrial–Research Group during the winter of 2024. The experimental treatments included: control without fertilizer (C); ferrous sulfate solution containing 3% iron (S); unenriched liquid organic fertilizer (O); separate application of unenriched liquid organic fertilizer and ferrous sulfate solution containing 3% iron (OS); liquid organic fertilizer enriched with 3% iron from ferrous sulfate (A); liquid organic fertilizer enriched with 1.5% iron from Fe-EDTA chelate and 1.5% iron from ferrous sulfate (AE); liquid organic fertilizer enriched with 1.5% iron from Fe-DTPA chelate and 1.5% iron from ferrous sulfate (AD); and liquid organic fertilizer enriched with 1.5% iron from Fe-EDDHA chelate and 1.5% iron from ferrous sulfate (AH). The fertilizer treatments were applied at two levels (50 and 100 L ha⁻¹) in two separate stages during the growth period of hybrid maize 703 planted in 3-kg pots.

Results and Discussion

The results showed that the different fertilizer treatments had a significant effect on maize growth characteristics, yield, and microbial activity. The greatest plant height (119.63 cm), as well as the highest fresh and dry biomass of shoots and roots, were observed in the AH100 and AH50 treatments, respectively. Root length and leaf number increased by 32% and 20% compared with the control. Total chlorophyll increased by 28.8%, and carotenoids increased by 17.6% relative to the control. In contrast, the control treatment recorded the lowest values in all measurements. Regarding iron content, the highest Fe concentration was recorded in treatment (E) (117.37 µg g⁻¹ dry matter). In addition, urease and alkaline phosphatase activities in the soil increased by 23.2% and 21.5%, respectively, in the AH₁₀₀ treatment compared with the control. The combination of liquid organic fertilizer with Fe-EDDHA chelate enhanced nutrient uptake—especially iron—due to its rich content of iron, organic nitrogen, amino acids, carbohydrates, and its microbial-stimulating properties. As a result, plant growth and yield were considerably improved.

Conclusions

The results of this study indicated that application of organic fertilizer containing Fe-EDDHA significantly improved the growth and physiological traits of maize. This fertilizer increased plant height, fresh and dry weights of shoots and roots, chlorophyll content, and soil enzyme activities, including urease, phosphatase, and catalase. The greatest positive effect was observed in the AH₁₀₀ treatment (100 L ha⁻¹, equivalent to 0.16 g per 3 kg of soil), highlighting the effective role of chelated iron in plant nutrition, chlorophyll enhancement, and photosynthetic efficiency. In addition, due to its content of organic matter and amino acids, this fertilizer may improve the physical, chemical, and biological properties of soil, including stimulating beneficial microbial activity. These components may also enhance plant nitrogen nutrition and growth stability by supplying organic nitrogen and improving its uptake efficiency. Furthermore, under greenhouse conditions, application of 100 L ha⁻¹ (0.16 g per 3 kg of soil) of Fe-EDDHA-containing organic fertilizer improved iron nutrition in calcareous soils. However, due to the pot-based nature of the experiment, the results reflect plant responses under controlled conditions and cannot be directly extrapolated to field conditions. Therefore, definitive recommendations regarding this treatment require field experiments to evaluate the persistence and effectiveness of its effects under real production conditions.

Author Contributions

Conceptualization, A. A. and A. G.; methodology, A. A. and A. G.; software, A. A.; validation, A. A. and A. G.; formal analysis, A. A. and A. G.; investigation, A. A. and A. G.; resources, A. A. and A. G.; data curation, A. A. and A.G.; writing—original draft preparation, A. A.; writing—review and editing, A. G.;

visualization, A. A.; supervision, A. G.; project administration, A. G., M. J. A. A. S.; funding acquisition, A. A., A. G., and M. J. A.

All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Data Availability Statement

The data supporting the findings of this study are available in the manuscript. If the study did not report any data, you might add “Not applicable” here.

Acknowledgements

The authors would like to thank Zanzan Universities, Farhikhtegan Zarnam Research Industrial Group and Iranian Company for Maize Development for providing all the needed facilities.

Ethical considerations

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

Conflict of interest

The author declares no conflict of interest.

ارزیابی کارایی کودهای آلی مایع غنی شده با منابع مختلف آهن بر رشد گیاه ذرت (*Zea mays* L.) و فعالیت آنزیمی خاک پس از برداشت

اسما احمدوند^۱ | احمد گلچین^۲ | مهدی جعفری اصل^۳ | ستاره امانی فر^۴

۱. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: Asma.a9344@gmail.com

۲. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: Agolchin2011@yahoo.com

۳. گروه صنعتی پژوهشی فرهیختگان زرنام، استان البرز، شهر هشتگرد، ایران. رایانامه: Mahdijafarisl@gmail.com

۴. گروه علوم و مهندسی خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: Amanifar@znu.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف کودهای آلی محلول غنی از اسیدهای آمینه که با منابع مختلفی از آهن غنی شده بودند بر رشد گیاه ذرت و فعالیت آنزیمی در خاک‌های آهکی، آزمایشی در قالب طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه‌ای اجرا شد. نوع کود به عنوان فاکتور اول در هشت سطح و سطوح مصرف کود به عنوان فاکتور دوم در دو سطح در نظر گرفته شد. تیمارها شامل شاهد (C)، محلول سولفات فرو حاوی ۳ درصد آهن (S)، کود آلی غنی نشده با آهن (O)، مصرف جداگانه کود آلی غنی نشده و سولفات فرو حاوی ۳ درصد آهن (OS)، کود آلی غنی شده با ۳ درصد آهن از منبع سولفات فرو (A)، کود آلی غنی شده با ۱/۵ درصد آهن از منبع Fe-EDTA و ۱/۵ درصد از منبع سولفات فرو (AE)، کود آلی غنی شده با ۱/۵ درصد آهن از منبع Fe-DTPA و ۱/۵ درصد از منبع سولفات فرو (AD)، و کود آلی غنی شده با ۱/۵ درصد آهن از منبع Fe-EDDHA و ۱/۵ درصد از محلول سولفات فرو (AH) بود. این کودها در سطوح ۵۰ و ۱۰۰ لیتر در هکتار که به ترتیب معادل ۰/۰۸ و ۰/۱۶ گرم در ۳ کیلوگرم خاک بود در دو نوبت به صورت کودآبیاری مصرف شدند. نتایج نشان داد که همه تیمارهای کودی موجب افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، ارتفاع گیاه و فعالیت آنزیمی نسبت به شاهد شدند. تیمار AH با سطح مصرف ۱۰۰ لیتر در هکتار (AH100) بهترین عملکرد را داشت و باعث افزایش به ترتیب ۳۴، ۳۱ و ۳۶/۹ درصدی وزن خشک اندام هوایی، ریشه و ارتفاع نسبت به شاهد و نیز افزایش ۲۳/۲، ۲۲/۳ و ۲۱/۵ درصدی در فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز قلیایی، کاتالاز و اوره‌آز گردید. مصرف کود آلی حاوی کلات Fe-EDDHA موجب بهبود معنی‌دار رشد و وضعیت فیزیولوژیکی ذرت شد. این بهبود به افزایش تغذیه آهن، محتوای کلروفیل و فعالیت زیستی خاک نسبت داده می‌شود.

استناد: احمدوند، اسما؛ گلچین، احمد؛ جعفری اصل، م و امانی فر، ستاره (۱۴۰۴). ارزیابی کارایی کودهای آلی مایع غنی شده با منابع مختلف آهن بر رشد گیاه ذرت (*Zea mays* L.) و فعالیت آنزیمی خاک پس از برداشت. مجله تحقیقات آب و خاک ایران، ۵۶ (۱۲)، ۳۴۸۹-۳۸۰۵.



<https://doi.org/10.22059/ijswr.2026.406875.670059>

© نویسندگان.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijswr.2026.406875.670059>

مقدمه

در فرآیند آسیب مرطوب ذرت در پالایشگاه‌های غلات، مایعی غنی از مواد آلی به نام خیساب ذرت تولید می‌شود که در صورت تخلیه مستقیم، می‌تواند موجب آلودگی‌های زیست‌محیطی گردد (Garcia-Sanchez et al., 2024). این ماده پس از فرآیندهای هیدرولیز تخمیری و آنزیمی به ترکیبی ارزشمند حاوی اسیدهای آمینه آزاد، اسیدهای آلی، پلی‌ساکاریدها و عناصر غذایی ضروری تبدیل می‌شود (Zahedifar et al., 2025). ترکیبات موجود در خیساب ذرت با تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه و تحریک مسیرهای رشدی، قابلیت استفاده به عنوان پایه‌ای برای تولید کودهای آلی محلول و اصلاح‌کننده‌های خاک را دارند و می‌توانند موجب بهبود رشد و عملکرد گیاه شوند (Obayori et al., 2015).

آهن (Fe) یکی از عناصر کم‌مصرف ضروری برای رشد گیاهان است که در خاک‌های خنثی و قلیایی عمدتاً به شکل نامحلول وجود دارد (Molnar et al., 2023). این عنصر نقش کلیدی در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز و تنفس ایفا می‌کند (Rengel et al., 2022) و افزایش pH خاک موجب کاهش شدید حلالیت و قابلیت دسترسی آن برای گیاه می‌شود (Tsai & Schmidt, 2020). کمبود آهن با بروز کلروز، کاهش کلروفیل و افت رشد گیاه همراه است (Riaz & Guerinot, 2021). گیاهان برای جذب آهن از ریزوسفر از دو سازوکار اصلی استفاده می‌کنند؛ گیاهان دولپه‌ای از استراتژی I (مبتنی بر کاهش pH در سطح ریشه و احیای Fe^{3+} به Fe^{2+}) و غلات از استراتژی II (مبتنی بر کلات‌سازی با فیتوسیدروفورها) بهره می‌برند (Ning et al., 2023).

برای رفع کمبود آهن، روش‌های مختلفی از جمله استفاده از کودهای آهن به کار گرفته شده است. در میان آن‌ها، محلول پاشی کلات‌های مصنوعی آهن مانند Fe-EDTA و Fe-DTPA و مصرف خاکی Fe-EDDHA بیشترین کارایی را در خاک‌های آهکی دارند، اما هزینه‌ی بالا و پایداری زیاد آن‌ها می‌تواند به آلودگی محیط‌زیست منجر شود (Puglisi et al., 2021; Zuluaga et al., 2023). با این حال کلات Fe-EDDHA رایج‌ترین و مؤثرترین کود آهن مورد استفاده برای رفع کمبود آهن است (Álvarez-Fernández et al., 2005). در مقابل، عوامل کلات‌کننده‌ی طبیعی مانند اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، اسیدهای هیومیک و فولویک، لیگنوسولفونات‌ها و پلی‌فسفات‌ها، به دلیل پایداری مناسب در محدوده‌ی وسیع pH و سمیت کمتر، جایگزین‌های مؤثرتری هستند.

کودهای آمینوکلات حاصل از ترکیب عناصر ریزمغذی فلزی و اسیدهای آمینه، به عنوان نسل جدیدی از کودهای تغذیه‌ای، قابلیت بالایی در بهبود جذب آهن دارند (Syam et al., 2021; Areche et al., 2023). این ترکیبات با کاهش رقابت یونی، افزایش زیست‌فراهمی آهن، و کاهش آلودگی فلزات سنگین، ضمن بهبود کیفیت خاک، کارایی جذب عناصر را نیز افزایش می‌دهند. نتایج پژوهش‌ها نشان داده است که مصرف کودهای آمینوکلاتی نسبت به Fe-EDTA عملکرد بالاتری در رشد گیاه و بهبود وضعیت تغذیه‌ای دارد. برای نمونه، Adzikro و همکاران (۲۰۲۵) گزارش کردند که استفاده از ۶ میلی‌لیتر در لیتر کود مایع اسیدآمینه موجب افزایش معنی‌دار رشد ذرت شد، و Álvarez-Fernández و همکاران (۲۰۰۵) نیز نشان دادند که کاربرد کلات Fe-EDDHA برای بهبود کامل کمبود آهن در سه محصول (آفتاب‌گردان، گل‌ابی و هلو کافی بود. همچنین Jalali (2021) گزارش کرد که استفاده از کودهای آهن - اسیدآمینه در سویا موجب افزایش معنی‌دار عملکرد زیستی، کلروفیل کل و جذب عناصر نسبت به تیمار Fe-EDTA گردید.

با وجود شواهد گسترده درباره کارایی کودهای آمینوکلات، اغلب مطالعات پیشین در محیط‌های کنترل‌شده یا محلول‌های غذایی انجام شده و اطلاعات محدودی درباره عملکرد این ترکیبات در خاک‌های آهکی و تأثیر آن‌ها بر شاخص‌های زیستی خاک، از جمله فعالیت آنزیمی در خاک پس از برداشت، در دسترس است. علاوه بر این، مطالعات مقایسه‌ای هم‌زمان منابع مختلف آهن شامل Fe-EDTA، Fe-DTPA و Fe-EDDHA در ترکیب با کودهای آلی مایع غنی از اسیدهای آمینه در شرایط خاکی محدود بوده و نتایج جامعی ارائه نکرده‌اند. بنابراین، این مطالعه با هدف ارزیابی و مقایسه اثرات انواع کودهای آلی مایع غنی‌شده با منابع مختلف آهن و سطوح کاربرد متفاوت آن‌ها بر رشد رویشی ذرت و فعالیت آنزیمی خاک پس از برداشت در یک خاک آهکی انجام گرفت. فرض بر این است که استفاده از کودهای آلی محلول غنی‌شده با منابع مختلف آهن، به‌ویژه Fe-EDDHA، می‌تواند سبب افزایش معنی‌دار رشد گیاه، بهبود ویژگی‌های حاصل‌خیزی و ارتقای فعالیت آنزیم‌های خاک در مقایسه با منابع متداول سولفات‌فرو و Fe-EDTA شود.

مواد و روش‌ها

سنتز کودها

در این پژوهش، ماده آلی محلول پایه که برای تهیه کودها مورد استفاده قرار گرفت، از پروتئین‌های گیاهی هیدرولیزشده حاصل از فرآوری



ذرت به دست آمد. این ماده که به صورت مایعی غلیظ وجود داشت، سرشار از اسیدهای آمینه آزاد (حدود ۲۵ درصد)، اسیدهای آلی و سایر ترکیبات مغذی بود (جدول ۱). ترکیب مذکور به عنوان محلول آلی اولیه برای ساخت کودهای مختلف پس از غنی سازی با منابع مختلف آهن مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱. مشخصات (وزنی/وزنی) مایع حاصل از فرآوری ذرت.

مقدار	ترکیب
۲۵	آمینواسید کل (%)
۶	آمینواسید آزاد (%)
۳	نیتروژن کل (N) (%)
۲/۵	فسفر قابل جذب (P_2O_5) (%)
۲	پتاسیم محلول در آب (K_2O) (%)
۳۰	ماده آلی (OM) (%)
۱۳	اسیدهای آلی (%)
۱۱	کربن آلی (OC) (%)
۱۰۰۰	آهن (Fe) (mg/kg)
۵۰۰	روی (Zn) (mg/kg)
۶۰۰	منگنز (Mn) (mg/kg)
۵۰۰	کلسیم (CaO) (mg/kg)
۵۰۰۰	منیزیم (MgO) (mg/kg)
۶۰۰	سیلیسیم (mg/kg)
۳	پلی ساکارید (%)
۳/۵	pH

برای تولید کودهای آلی مایع غنی از آهن، مقدار معینی از سولفات فرو ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) به ماده آلی محلول پایه افزوده شد، به طوری که غلظت کل آهن در محلول نهایی حدود سه درصد باشد. مخلوط حاصل در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد و در pH حدود ۵، به مدت دو ساعت به هم زده شد تا بخشی از اسیدهای آمینه با یون های Fe^{2+} واکنش داده و کمپلکس های فلزی-آلی تشکیل شود. نتایج کروماتوگرافی نشان داد که کمتر از یک درصد از کل آهن موجود به صورت آمینوکلات درآمده و بخش عمده آهن به صورت ترکیبات آلی-معدنی ساده تر یا کمپلکس های ناپایدار در محلول حضور دارد. پس از سرد شدن محلول تا دمای محیط، نمونه ها در ظروف شیشه ای تیره و به دور از نور نگهداری شدند (Hsu, 1996).

به منظور افزایش پایداری و قابلیت جذب آهن، سه نوع کلات مصنوعی شامل Fe-EDTA، Fe-DTPA و Fe-EDDHA به طور جداگانه سنتز گردید. در هر مورد، لیگاند مربوطه (EDTA، DTPA یا EDDHA) در آب مقطر حل شد و محلول سولفات فرو به آرامی و تحت به هم زدن مداوم به آن افزوده گردید. واکنش ها در دمای ۶۰ تا ۷۰ درجه سانتی گراد و در محدوده ی pH کنترل شده انجام گرفت تا از تشکیل رسوب جلوگیری و کمپلکس پایدار آهن حاصل شود. در سنتز کلات Fe-EDDHA، پی اچ نهایی روی حدود ۸/۵ تنظیم گردید تا ایزومر پایدارتر ارتو-ارتو غالب گردد. در مرحله ی نهایی، ماده آلی محلول پایه که حاوی آهن کمپلکس شده بود، با هر یک از کلات های مصنوعی تهیه شده ترکیب گردید، به طوری که در هر ترکیب، غلظت کل آهن سه درصد بود و نیمی از آن به صورت آهن کمپلکس شده با ماده آلی و نیمی دیگر از یکی از کلات های مصنوعی تأمین می شد. مخلوط ها در دمای محیط به آرامی و به مدت یک ساعت به هم زده شدند تا آهن به صورت یکنواخت در فاز آلی توزیع شود. مقدار pH نهایی نیز در محدوده ی ۵ تا ۸/۵ تنظیم گردید تا پایداری ترکیب حفظ شود. در نتیجه، چهار نوع کود آلی مایع غنی شده با آهن تولید گردید که عبارت بودند از: کود A، حاوی سه درصد آهن کمپلکس شده با ماده آلی؛ کود AE، حاوی ۱/۵ درصد آهن از منبع Fe-EDTA و ۱/۵ درصد آهن کمپلکس شده با ماده آلی؛ کود AD، حاوی ۱/۵ درصد آهن از منبع Fe-DTPA و ۱/۵ درصد آهن کمپلکس شده با ماده آلی؛ و کود AH، حاوی ۱/۵ درصد آهن از منبع Fe-EDDHA و ۱/۵ درصد آهن کمپلکس شده با ماده آلی. تمامی نمونه ها تا زمان انجام آزمایش های گلخانه ای در ظروف شیشه ای قهوه ای رنگ و در دمای اتاق نگهداری شدند تا از بروز تغییرات احتمالی در ترکیب و اکسیداسیون آهن جلوگیری شود.

تجزیه کروماتوگرافی (HPLC) کودهای ساخته شده

برای شناسایی و تعیین مقدار کل کلات‌های آهن در کودهای تولیدشده، از روش کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC) استفاده شد. کروماتوگرافی، روشی عمومی برای جداسازی اجزای یک مخلوط است که بر پایه توزیع فیزیکی اجزا بین دو فاز ساکن و متحرک انجام می‌شود. در این روش، فاز ساکن (SP) معمولاً یک جامد یا مایع متصل به بستر ثابت است و فاز متحرک (MP) می‌تواند مایع یا گاز باشد که به‌صورت پیوسته در میان فاز ساکن جریان دارد. نمونه‌های کود مایع با نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر رقیق و از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شدند. تجزیه با دستگاه HPLC فاز معکوس و ستون C18 (۴/۶ × ۲۵۰ میلی‌متر، اندازه ذرات ۵ میکرون) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سرعت جریان فاز متحرک برابر با ۱ میلی‌لیتر در دقیقه و زمان اجرای هر نمونه حدود ۱۰ دقیقه بود. از هر نمونه، ۲۰ میکرولیتر با استفاده از سرنگ هامیلتون به دستگاه تزریق و کروماتوگرام مربوطه ثبت گردید. هر اندازه‌گیری سه بار تکرار شد تا دقت داده‌ها تضمین شود. برای تجزیه کمی، از روش منحنی استاندارد خارجی استفاده گردید. بدین منظور، استانداردهای خالص از کلات‌های مختلف آهن در غلظت‌های متفاوت تهیه و به دستگاه تزریق شدند. سپس منحنی استاندارد (سطح زیر پیک بر حسب غلظت) در نرم‌افزار Excel ترسیم شد. بر اساس زمان بازداری، نوع کلات موجود در نمونه شناسایی و با استفاده از سطح زیر پیک و منحنی‌های کالیبراسیون، غلظت هر کلات در نمونه محاسبه گردید (Lucena et al., 1996).

تهیه، آماده‌سازی و تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک

نمونه خاک مورد استفاده از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری یک زمین کشاورزی واقع در شهرستان مهستان استان البرز برداشت شد. پس از هوا خشک شدن، بخش مورد نیاز از خاک از الک دو میلی‌متری عبور داده شد و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی اولیه آن با استفاده از روش‌های استاندارد تعیین و در جدول ۲ نشان داده شده است.

جدول ۲ - برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده برای کشت

منبع	مقدار (واحد)	ویژگی
Gee and Boder, 2002	۳۰ %	رس
	۴۵ %	سیلت
	۲۵ %	شن
Thomas, 1996	لومی‌رسی	کلاس بافت
	۷/۹۳	pH
	۱۱/۴	کربنات کلسیم معادل
Loeppert and Suarez, 1996	۰/۲۵ dS m ⁻¹	هدایت الکتریکی (EC)
Rhoades, 1996		
Nelson and Sommers, 1996	۱/۰۱	ماده آلی
Bremner, 1996	۷۱۰ mg kg ⁻¹	نیترژن کل
Olsen et al., 1954	۱۱/۱۲ mg kg ⁻¹	فسفر
	۲۸۶ mg kg ⁻¹	پتاسیم
	۸/۰۲ mg kg ⁻¹	آهن
Lindsay and Norvell, 1954	۱/۶۷ mg kg ⁻¹	روی
	۲/۲۳ mg kg ⁻¹	مس

آزمایش گلخانه‌ای

آزمایش گلخانه‌ای بصورت فاکتوریل با دو فاکتور نوع و سطح کود مصرفی، در قالب طرح کاملاً تصادفی و بصورت کودآبیاری، با سه تکرار در شرایط کنترل‌شده، در گلخانه گروه صنعتی-پژوهشی فرهیختگان زرنام در زمستان ۱۴۰۳ انجام شد. تاریخ کاشت ۳۰ دی و تاریخ برداشت

^۱High-Performance Liquid Chromatography^۲Stationary phase^۳Mobile phase



۲۰ فروردین بود. نمونه‌های سه کیلوگرمی از خاک تهیه شده در گلدان‌های پلاستیکی با ارتفاع ۱۷ سانتی‌متر و قطر دهانه ۱۸/۵ سانتی‌متری ریخته شدند و پنج بذر ذرت هیبرید ۷۰۳ (شرکت توسعه کشت ذرت) در هر گلدان کاشته شد که پس از استقرار، تعداد بوته‌ها به دو عدد کاهش یافت. تیمارهای آزمایشی شامل شاهد، فاقد کود (C)، محلول سولفات فرو با سه درصد آهن (S)، کود آلی مایع غنی نشده (O)، مصرف جداگانه کود آلی مایع غنی نشده و محلول سولفات فرو حاوی سه درصد آهن (OS)، کود آلی مایع غنی شده با ۳ درصد آهن از منبع سولفات فرو (A)، کود آلی مایع غنی شده با ۱/۵ درصد آهن از منبع کلات Fe-EDTA و ۱/۵ درصد آهن از منبع سولفات فرو (AE)، کود آلی مایع غنی شده با ۱/۵ درصد آهن از منبع کلات Fe-DTPA و ۱/۵ درصد آهن از منبع سولفات فرو (AD)، و کود آلی مایع غنی شده با ۱/۵ درصد آهن از منبع کلات Fe-EDDHA و ۱/۵ درصد آهن از منبع سولفات فرو آهن بودند. تمامی تیمارهای کودی در دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ لیتر در هکتار که به ترتیب معادل ۰/۰۸ و ۰/۱۶ گرم در ۳ کیلوگرم خاک بود (به منظور کاهش خطای حجم‌سنجی و تسهیل کاربرد، محلول ذخیره‌ای با رقت ۱۰۰ تهیه شد؛ به طوری که هر ۰/۰۸ و ۰/۱۶ میلی‌لیتر ماده‌ی مؤثر در ۸ و ۱۶ میلی‌لیتر محلول نهایی توزیع شد) طی دو مرحله در طول دوره رشد گیاه اعمال شدند.

اندازه‌گیری ویژگی‌های رشد گیاه و فعالیت آنزیم‌های خاک

در پایان فصل رشد، ابتدا ارتفاع گیاهان با استفاده از متر اندازه‌گیری شد. سپس اندام‌های هوایی از محل طوقه جدا گردیده و پس از خرد شدن، وزن تر آن‌ها با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۱ گرم تعیین شد. بخش ریشه نیز پس از برداشت، ابتدا با آب معمولی و سپس با آب مقطر شسته شد. پس از خشک کردن سطحی رطوبت اضافی با پارچه خشک، وزن تر ریشه‌ها با ترازوی حساس اندازه‌گیری گردید. اندام‌های هوایی و ریشه در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت در آون خشک شدند و پس از خشک شدن، وزن خشک آن‌ها با ترازوی دیجیتالی تعیین گردید.

به منظور اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید)، از روش Lightenthaler (1987) استفاده شد. بدین منظور، مقدار ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد در هاون چینی به‌خوبی ساییده شد. محلول حاصل پس از صاف شدن، به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۳۶۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت. سپس شدت جذب محلول در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶/۸ و ۶۶۳/۲ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV-1800, Shimadzu, Japan) قرائت گردید. غلظت رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ طبق روابط زیر محاسبه شد:

$$\text{Chla} = (12.5 \times A_{663.2} - 2.79 \times A_{646.8}) \times (V / (m \times 1000)) \quad \text{رابطه ۱)}$$

$$\text{Chlb} = (21.5 \times A_{646.8} - 5.1 \times A_{663.2}) \times (V / (m \times 1000)) \quad \text{رابطه ۲)}$$

$$\text{Total chlorophyll} = \text{Chla} + \text{Chlb} \quad \text{رابطه ۳)}$$

$$\text{Carotenoids} = [(1000 \times A_{470} - 1.82 \times \text{Chla} - 85.02 \times \text{Chlb}) / 198] \times (V / (m \times 1000)) \quad \text{رابطه ۴)}$$

در روابط فوق، m وزن بافت تازه (گرم)، V حجم حلال استون ۸۰ درصد (میلی‌لیتر) و A میزان جذب قرائت‌شده توسط اسپکتروفتومتر در طول موج‌های مربوطه است.

به منظور بررسی وضعیت زیستی خاک تحت تیمارهای مختلف، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، اوره‌آز و فسفاتاز (اسیدی و قلیایی) اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز (EC 1.11.1.6) به روش (Johnson and Temple, 1964) تعیین گردید. برای این منظور، دو گرم خاک هواخشک با ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و سپس پنج میلی‌لیتر محلول آب اکسیژنه ۳۰ درصد به آن افزوده گردید. محلول حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه شیکر تکان داده شد. پس از آن پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۳ نرمال اضافه و مخلوط از کاغذ صافی عبور داده شد. محلول صاف‌شده با محلول پتاسیم پرمنگنات ۰/۱ نرمال تیتر گردید و حجم مصرفی پرمنگنات به‌عنوان شاخص فعالیت آنزیم کاتالاز ثبت شد.

فعالیت آنزیم اوره‌آز (EC 3.5.1.5) با استفاده از روش تقطیر طبق Ali Asgharzad (2006) اندازه‌گیری گردید. بدین ترتیب، به پنج گرم خاک تازه، ۹ میلی‌لیتر بافر تریس و یک میلی‌لیتر محلول اوره افزوده شد. نمونه‌ها به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس ۳۵ میلی‌لیتر محلول کلرید پتاسیم اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه هم‌زده شد و حجم نهایی محلول با آب مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از صاف کردن، ۲۰ میلی‌لیتر از عصاره حاصل برای تقطیر استفاده گردید. به محلول ۰/۲ گرم اکسید منگنز اضافه شد و نیتروژن آمونیومی حاصل بر روی شناساگر اسید بوریک تقطیر گردید. پس از تغییر رنگ از ارغوانی به سبز، مقدار نیتروژن آمونیومی

در محصولات تقطیر با اسید سولفوریک تیترا شد. فعالیت آنزیم اوره‌آز بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\text{Urease activity} = (\text{ml} \times 0.07 \times 50 \times 1000 \times 100) / (20 \times 5 \times \% \text{dm}) \quad (\text{رابطه ۵})$$

که در آن:

ml = حجم اسید سولفوریک مصرفی (میلی‌لیتر)، ۰/۰۷ = فاکتور تبدیل (هر میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۲/۵ میلی‌مولار معادل ۰/۰۷ میلی‌گرم نیتروژن است)، ۵۰ = حجم عصاره (میلی‌لیتر)، ۱۰۰۰ = فاکتور تبدیل، ۲۰ = حجم عصاره مورد استفاده (میلی‌لیتر)، ۵ = وزن اولیه خاک (گرم)، %dm = درصد ماده خشک خاک

فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی (EC 3.1.3.2) و قلیایی (EC 3.1.3.1) به روش گزارش شده توسط Tabatabai (1982) اندازه‌گیری شد. در این روش، یک گرم خاک با محلول بافری حاوی پارانیتروفنیل فسفات مخلوط و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. در اثر فعالیت آنزیم، پارانیتروفنیل آزاد گردید و پس از افزودن محلول سدیم هیدروکسید، رنگی شد. شدت رنگ که متناسب با میزان فعالیت فسفاتاز است، در طول موج ۴۰۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت گردید.

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات رشد گیاه و فعالیت آنزیم‌های خاک با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد و نمودارهای مربوط با نرم‌افزار Excel ترسیم گردیدند.

نتایج و بحث

کروماتوگرافی

بررسی کروماتوگرام کود آمینوکلات مایع (شکل ۱-۱) نشان داد که هیچ پیک جدید یا مجزایی نسبت به پیک استاندارد مشاهده نشد که بتوان آن را به‌طور قطعی به تشکیل یک کمپلکس اسیدآمین-آهن نسبت داد. بنابراین، تحت شرایط کروماتوگرافی به‌کاررفته، شواهد مستقلی از تشکیل کلات قابل ارائه نبود. با این حال، امکان تشکیل کلات‌های با غلظت پایین یا هم‌محل با اجزای آلی غالب وجود دارد که در این کروماتوگرام قابل تشخیص نبوده‌اند. در کروماتوگرام مربوط به کود AE (شکل ۱-۲)، یک پیک مشاهده شد که زمان بازداری آن با پیک استاندارد Fe-EDTA منطبق بود؛ در نتیجه، تشکیل کلات Fe-EDTA در این نمونه تأیید گردید و با توجه به سطح زیر پیک، مقدار آن برابر با ۰/۷۲ درصد محاسبه شد (جدول ۳). مقایسه پیک نمونه کود AD با استاندارد Fe-DTPA (شکل ۱-۳) نشان داد که پیک اصلی نمونه در زمان بازداری استاندارد Fe-DTPA ظاهر شده است؛ بنابراین، کلات Fe-DTPA در این نمونه تشکیل گردیده است. از سوی دیگر، پیک‌های مشاهده‌شده در نمونه کود AH دارای زمان بازداری و شکل مشابه با استاندارد Fe-EDDHA بودند (شکل ۱-۴) که بیانگر تشکیل کلات Fe-EDDHA در این کود است؛ مقدار آن نیز بر اساس سطح زیر پیک تعیین شد (جدول ۳).

جدول ۳. درصد آهن کلات شده بدست آمده از سطح زیر گراف در کروماتوگرام‌ها

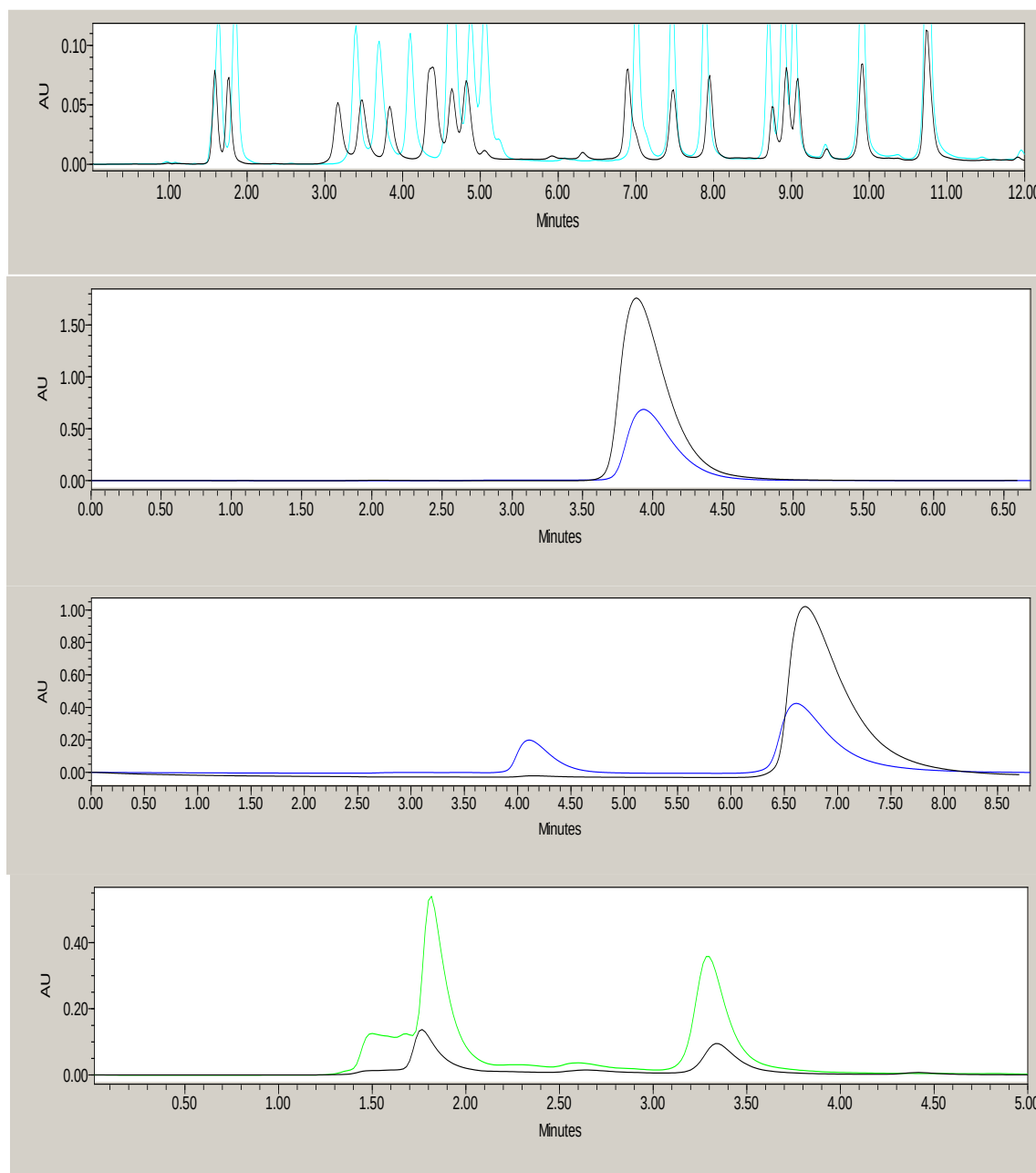
نوع کلات	آهن کلات شده (%)
Fe-EDTA	0.72
Fe-DTPA	1.73
Fe-EDDHA	2.56

غلظت آهن

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار کودهای آلی و سطوح مختلف مصرف کود بر غلظت آهن در خاک و اندام‌های هوایی گیاه ذرت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، اما اثر متقابل نوع کود آلی و سطح مصرف آن بر اندام‌های هوایی گیاه ذرت در سطح پنج درصد معنی‌دار بود در حالی که بر غلظت آهن در خاک معنی‌دار نبود (جدول ۴). بالاترین غلظت آهن در خاک برای تیمارهای AH₁₀₀ و AH₅₀ با افزایش به ترتیب ۵۷/۷ و ۴۵/۶ درصد نسبت به شاهد به دست آمد (شکل ۲). همچنین بیشترین غلظت آهن در اندام هوایی مربوط به تیمارهای AH₁₀₀، AH₅₀ و AD₁₀₀ بود که به‌ترتیب ۵۴/۳، ۳۸/۹ و ۲۷/۸ درصد نسبت به شاهد افزایش داشتند. در مورد تیمار AH₁₀₀، بیشترین افزایش مقدار آهن در مقایسه با شاهد در سطح ۱۰۰ (لیتر در هکتار) بود که با تجمع بیشتر زیست توده نیز مطابقت دارد. این نتایج با نتایج Schenkeveld et al (2008) مطابقت دارد که بیان کردند افزایش مشهود در عملکرد و ارزش غذایی آهن گیاه، مفید بودن کاربرد Fe-EDDHA در خاک‌های آهکی را تأیید می‌کند. پژوهشی دیگر نشان داد تیمار Fe-EDDHA مقدار آهن بافت گیاه را (تا ۵۰ درصد)



افزایش داد (Schenkeveld et al., 2008). همچنین Sida-Arreola و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند که غلظت‌های بالای کلات آهن (Fe-EDDHA)، غلظت آهن بالاتری در لوبیا دارند و افزایش ۸ و ۲۸ درصدی را نسبت به شاهد نشان می‌دهند. این افزایش جذب آهن با استفاده از Fe-EDDHA به دلیل پایداری کلات در خاک‌های آهکی، حفظ آهن در فرم قابل جذب و کاهش رقابت با سایر کاتیون‌ها است، که در نهایت دسترسی ریشه به آهن و غلظت آهن بافت گیاه را افزایش می‌دهد.

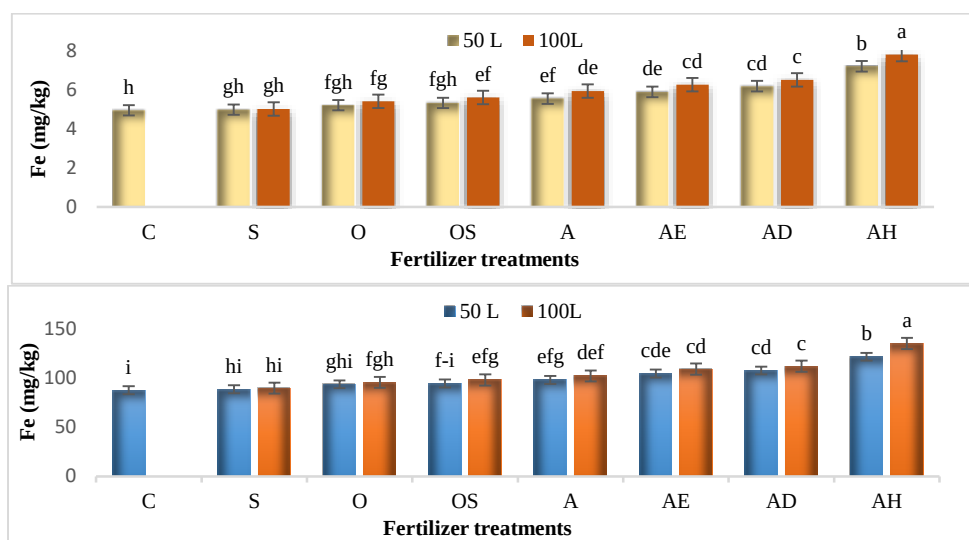


شکل ۱: کروماتوگرام‌های (A) آمینوکلات آهن + گراف استاندارد اسیدهای آمینه (گراف سیاه)، (B) تیمار AE + گراف استاندارد کلات Fe-EDTA (گراف آبی)، (C) کود AD + گراف استاندارد کلات Fe-DTPA (گراف آبی)، (D) کود AH + گراف استاندارد کلات Fe-EDDHA (گراف سیاه).

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کود، سطوح کودی و اثر متقابل آنان بر غلظت آهن در خاک و گیاه ذرت.

منابع تغییرات	درجه آزادی	غلظت آهن در خاک	غلظت آهن در اندام هوایی
نوع کود	۷	۴/۲۹**	۱۰۵۹/۵۹**
سطوح کودی	۱	۰/۸۹**	۲۰۴/۷۶**
اثر متقابل نوع کود و سطوح کودی	۷	۰/۰۵۸ ^{ns}	۲۵/۲۷*
خطا	۳۲	۰/۰۸	۲۱/۹۰
ضریب تغییرات (%)		۴/۸	۴/۶

* و ** معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار



شکل ۲- اثر تیمارها و سطوح کودی بر غلظت آهن در خاک (A) و اندام هوایی (B) گیاه ذرت. حروف متفاوت در سطح ۵ درصد با آزمون LSD معنی-دار هستند.

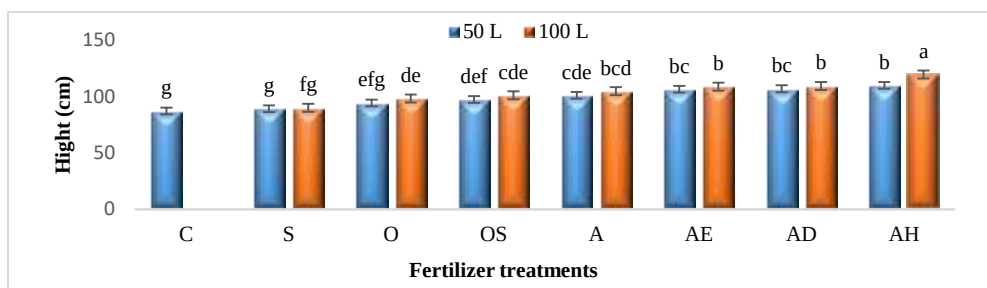
ارتفاع گیاه

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش (جدول ۵) نشان داد که ارتفاع بوته در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد به ترتیب تحت تأثیر نوع کود آلی و سطح مصرف کود قرار داشت، در حالی که اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نبود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که استفاده از تمامی تیمارهای کودی، در هر دو سطح ۵۰ و ۱۰۰ لیتر در هکتار، موجب افزایش ارتفاع ذرت نسبت به تیمار شاهد شد؛ هرچند برخی از این افزایش‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبودند. بیش‌ترین ارتفاع بوته مربوط به تیمار AH₁₀₀ با مقدار ۱۱۹/۶۳ سانتی‌متر بود که نسبت به شاهد (۸۷/۴ سانتی‌متر) حدود ۳۶/۹ درصد افزایش نشان داد. به‌طور کلی، نتایج (شکل ۳) بیانگر آن است که استفاده از کودهای آلی بهبود قابل توجهی در رشد و ارتفاع گیاه ایجاد کرد. این امر به نقش آهن در تحریک تقسیم سلولی مرستمی و طولیل شدن میان‌گره‌ها نسبت داده می‌شود؛ چراکه آهن در تشکیل سیتوکروم‌ها و کلروفیل در کلروپلاست نقش اساسی دارد و مستقیماً در فرآیند فتوسنتز و رشد انعکاس می‌یابد (Al-Zubaidi et al., 2021). علاوه بر این، استفاده از خیساب ذرت موجب تحریک و تنظیم فعالیت‌های هورمونی می‌شود؛ زیرا افزایش سطوح جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها -هورمون‌هایی که در تقسیم و طولیل شدن سلولی نقش دارند- منجر به بهبود فرآیندهای تبادل گاز و در نتیجه افزایش رشد گیاه می‌گردد (Blazquez et al., 2020).

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس اثر کود، سطوح کودی و اثر متقابل آنان بر برخی ویژگی‌های رشدی ذرت

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع بوته	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
نوع کود	۷	۵۴۳/۲۴**	۱۵۲۲/۱۰**	۲۰/۶۵**	۱۰۷/۹۸**	۱/۲۵**
سطوح کودی	۱	۱۳۲*	۳۹۰/۸۸**	۱۱/۱۶**	۳۴/۸۲*	۰/۳۷**
اثر متقابل نوع کود و سطوح کودی	۷	۱۲/۱۶ ^{ns}	۱۷/۲۸ ^{ns}	۰/۵۵ ^{ns}	۲/۳۳ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}
خطا	۳۲	۲۱/۹۳	۲۸/۵۷	۰/۴۴	۵/۳۸	۰/۰۴
ضریب تغییرات (%)		۴/۶	۳/۲	۳/۲	۴/۵	۳/۷

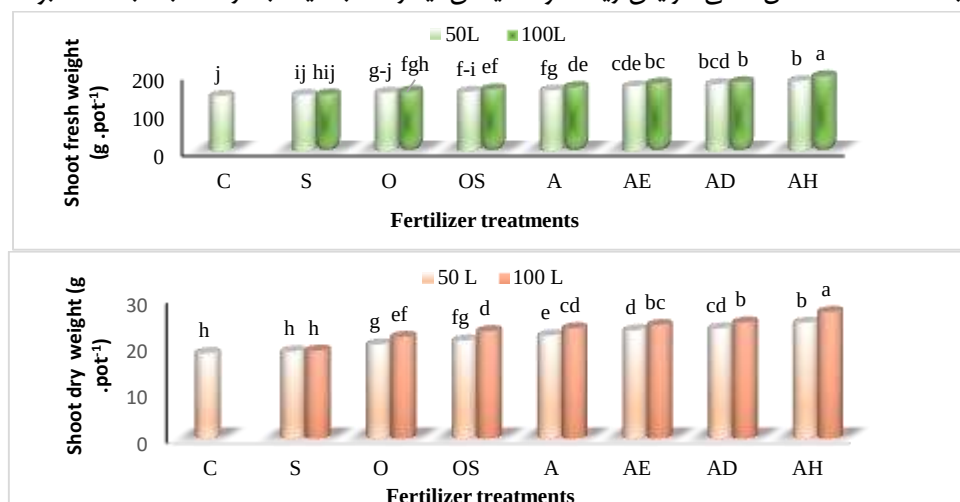
* و ** معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار



شکل ۳- اثر تیمارها و سطوح کودی بر ارتفاع (سانتی متر) گیاه ذرت. حروف متفاوت در سطح ۵ درصد با آزمون LSD معنی دار هستند.

وزن تر و خشک اندام هوایی

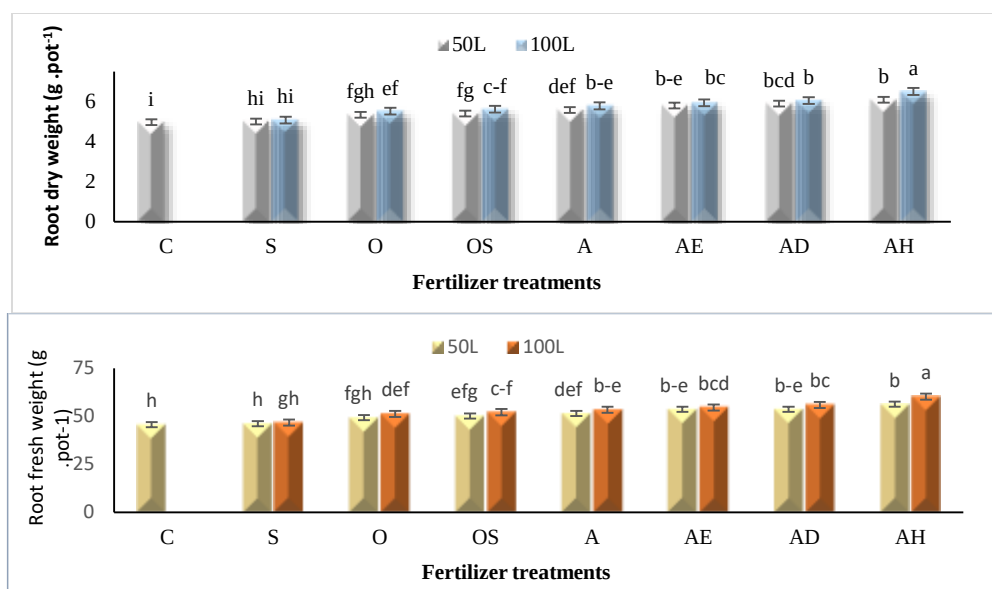
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمار کودهای آلی و سطوح مختلف مصرف کود بر وزن تر و خشک اندام‌های هوایی در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود، اما اثر متقابل نوع کود آلی و سطح مصرف آن بر این شاخص‌ها معنی دار نبود (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین‌ها (شکل ۴) نشان داد که تمامی تیمارهای کودی در مقایسه با شاهد (C) سبب افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی گیاه ذرت شدند، هرچند برخی از این افزایش‌ها از نظر آماری معنی دار نبودند. بیش‌ترین وزن تر اندام هوایی به‌ترتیب در تیمارهای AH₁₀₀، AH₅₀ و AD₁₀₀ مشاهده شد که به‌ترتیب مقادیر ۱۹۹/۲۶، ۱۸۶/۲۵ و ۱۸۳/۴۵ گرم در گلدان را داشتند و نسبت به تیمار شاهد به میزان ۳۵/۸، ۲۶/۹ و ۲۵ درصد افزایش نشان دادند. این افزایش را می‌توان به نقش آهن در بهبود فعالیت آنزیم‌ها و ترکیبات فیزیولوژیکی مؤثر بر تقسیم سلولی و طولی شدن اندام‌های گیاهی نسبت داد. این یافته با نتایج Sure و همکاران (۲۰۱۲) هم‌راستا است. همچنین، Abdo و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که حضور اسیدهای آمینه در کودهای آلی با تحریک مسیرهای متابولیکی و بهبود فعالیت‌های فیزیولوژیکی گیاه، رشد و عملکرد گیاه ذرت را به‌طور مؤثری افزایش می‌دهد. نتایج مقایسه میانگین‌ها برای وزن خشک گیاه (شکل ۴) نیز نشان داد که افزایش سطح کودی از ۵۰ به ۱۰۰ لیتر در هکتار منجر به افزایش وزن خشک اندام هوایی شد، هرچند برخی از این تفاوت‌ها معنی دار نبودند. بیش‌ترین وزن خشک مربوط به تیمارهای AH₁₀₀، AH₅₀ و AD₁₀₀ بود که به‌ترتیب ۳۴، ۲۵/۲ و ۲۴/۹ درصد بیشتر از تیمار شاهد بودند. این نتایج با یافته‌های Schenkeveld و همکاران (۲۰۰۸) مشابه است که بیان کردند کلات Fe-EDDHA عملکرد سویا را تا ۳۰ درصد افزایش داد. در پژوهشی دیگر Hershkovitz و همکاران (۲۰۲۵) بیان کردند Fe-EDDHA به‌طور مداوم منجر به افزایش وزن خشک سویا نسبت به Fe-EDTA در تمام سطوح pH شد. علت این امر را می‌توان در نقش آهن در افزایش سرعت فتوسنتز، افزایش جذب مواد معدنی و بهبود سنتز ترکیبات آلی دانست که نهایتاً به افزایش ماده خشک گیاه منجر می‌شود. علاوه بر این، کاربرد مواد آلی موجب افزایش دسترسی به عناصر غذایی در خاک، بهبود ویژگی‌های فیزیکی و زیستی خاک و ارتقای رشد و عملکرد گیاه گردیده است. همچنین، Alalaf و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که اسیدهای آمینه موجود در کودهای آلی نیتروژنی، ترکیبات طبیعی تنظیم‌کننده رشد هستند که می‌توانند پاسخ گیاه به کود را افزایش دهند. به‌طور مشابه، Cho و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که مصرف خیساب ذرت از طریق ریشه یا اندام هوایی، موجب تحریک فرایندهای متابولیسم کربن، افزایش تبادل گاز، بهبود راندمان مصرف آب و در نتیجه تولید زیست‌توده بیشتر در گیاه می‌شود. افزایش متابولیسم C و جذب CO₂ احتمالاً عامل اصلی افزایش زیست‌توده گیاهان تیمار شده با خیساب ذرت نسبت به شاهد بوده است.



شکل ۴- اثر تیمارها و سطوح کودی بر وزن تر (A) و خشک (B) اندام هوایی (گرم در گلدان) گیاه ذرت. حروف متفاوت در سطح ۵ درصد با آزمون LSD معنی دار هستند.

وزن تر و خشک ریشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر نوع کود و سطوح مصرف آن بر وزن تر و خشک ریشه در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود، در حالی که اثر متقابل آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۵). مقایسه میانگین‌ها (شکل ۵) نشان داد که بیشترین وزن تر ریشه مربوط به تیمارهای AH_{100} ، AH_{50} و AD_{100} بود که به ترتیب ۳۲، ۲۳/۳ و ۲۲/۶ درصد نسبت به شاهد افزایش داشتند. بیشترین مقادیر وزن خشک ریشه نیز در تیمارهای AH_{100} ، AH_{50} و AD_{100} مشاهده شد که به ترتیب ۳۱، ۲۲/۶ و ۲۱/۷ درصد بالاتر از شاهد بودند. این نتایج با یافته‌های Jalali (۲۰۲۱) همخوانی داشت که گزارش کرد کاربرد کلات آهن-اسیدآمین، عملکرد ماده خشک ریشه و اندام هوایی را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. همچنین Alalaf و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که استفاده از کودهای اسید آمینه در نهالستان‌های گریپ‌فروت با بهبود جذب عناصر غذایی و تقویت سیستم ریشه، رشد رویشی را افزایش می‌دهد. افزایش رشد ریشه احتمالاً ناشی از توانایی کودهای آلی در تأمین سریع‌تر عناصر غذایی محلول و تحریک تولید محرک‌های زیستی است که در نهایت موجب بهبود رشد کلی گیاه می‌شود (Ji et al., 2017). از سوی دیگر، آهن کلاته با شرکت در سنتز کلروفیل و پروتئین‌های حاوی آهن دخیل در واکنش‌های انتقال الکترون فتوسنتزی، راندمان فتوسنتز و رشد گیاه را افزایش داده است (Al-Zubaidi et al., 2021).



شکل ۵- اثر تیمارها و سطوح کودی بر وزن تر (A) و خشک (B) ریشه (گرم در گلدان) گیاه ذرت. حروف متفاوت در سطح ۵ درصد با آزمون LSD معنی‌دار هستند.

کلروفیل a

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر نوع کود و سطوح کودی بر مقدار کلروفیل a به ترتیب در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود، در حالی که اثر متقابل نوع کود و سطح مصرف آن معنی‌دار نبود (جدول ۶). مقایسه میانگین‌ها (شکل ۶) نشان داد که هر دو سطح کودی (۵۰ و ۱۰۰ لیتر در هکتار) موجب افزایش مقدار کلروفیل a در مقایسه با شاهد شدند، اگرچه این افزایش در برخی تیمارها از نظر آماری معنی‌دار نبود. بیشترین مقادیر کلروفیل a در تیمارهای AH_{100} و AD_{100} به میزان به ترتیب ۱/۷۹ و ۱/۶۴ میلی گرم بر گرم مشاهده شد که نسبت به شاهد به ترتیب ۲۹/۹ و ۱۸/۸ درصد افزایش معنی‌دار داشتند. این افزایش به نقش اساسی آهن در ساختار کلروفیل و فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه نسبت داده می‌شود. جذب بیشتر آهن از طریق مصرف کودهای حاوی اسیدآمین و کلات‌های آهن (بویژه Fe-EDDHA) موجب تحریک سنتز کلروفیل و افزایش فعالیت فتوسنتزی برگ‌ها می‌شود. همچنین، Tadros و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که کاربرد کودهای اسیدآمین غلظت کلروفیل a و b را در برگ‌های ذرت به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد. در پژوهشی نشان داده شد بیشترین میزان کلروفیل در گیاه کاهو با کاربرد همزمان کلات Fe-EDDHA (۲ گرم در لیتر) و هومات پتاسیم (۶ گرم در لیتر) بصورت محلول‌پاشی بود (Mohammed & Kanimarani, 2020).



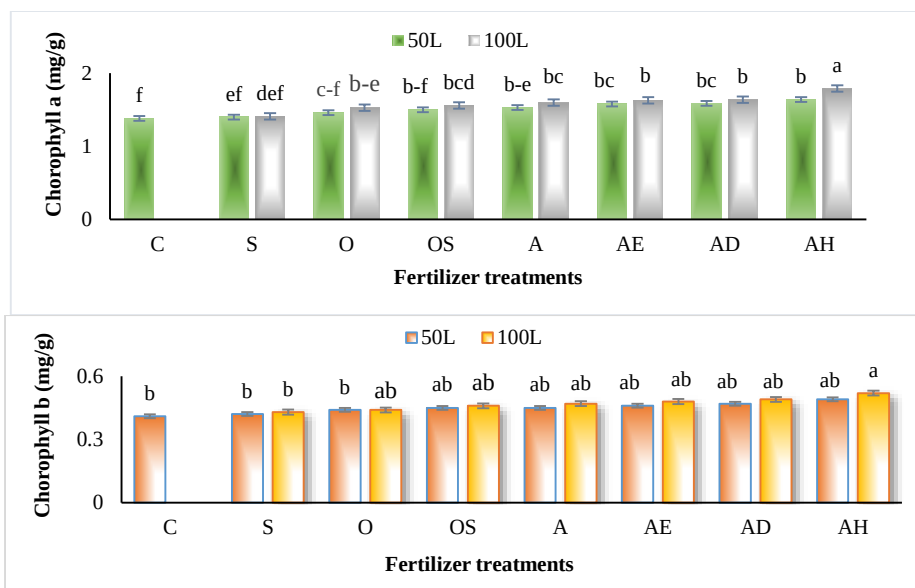
جدول ۶- نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کود، سطوح کودی و اثر متقابل آنان بر میزان کلروفیل و کارتنوئید گیاه ذرت.

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید
نوع کود	۷	* / ۰.۰۷**	* / ۰.۰۵*	* / ۰.۱۲**	* / ۰.۰۴**
سطوح کودی	۱	* / ۰.۰۴*	* / ۰.۰۳ ^{ns}	* / ۰.۰۶**	* / ۰.۰۱ ^{ns}
اثر متقابل نوع کود و سطوح کودی	۷	* / ۰.۰۳ ^{ns}	/ ۰.۰۰۲ ^{ns}	* / ۰.۰۰۵ ^{ns}	* / ۰.۰۰۰۷ ^{ns}
خطا	۳۲	* / ۰.۰۰۸	* / ۰.۰۰۲	* / ۰.۰۰۷	* / ۰.۰۰۰۴
ضریب تغییرات (%)		۵/۷	۱۰	۴/۳	۳/۹

* و ** معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد و ^{ns} غیر معنی دار

کلروفیل b

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تنها اثر نوع کود بر کلروفیل b در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود و اثر سطوح کودی و اثر متقابل آن‌ها معنی دار تشخیص داده نشد (جدول ۶). نتایج نشان داد استفاده از تیمارهای کودی باعث افزایش مقدار کلروفیل b شد، هرچند تفاوت بین تیمارها معنی دار نبود. بیشترین مقدار کلروفیل b در تیمار AH₁₀₀ مشاهده شد که ۲۵/۳ درصد بیشتر از شاهد بود (شکل ۶). آهن نقش کلیدی در سنتز کلروفیل، واکنش‌های اکسایش و کاهش، فعالیت آنزیم‌های تنفسی و سنتز سیتوکروم‌ها و فرودوکسین‌ها دارد که در متابولیسم کربن گیاه مؤثرند. این عنصر با فعال‌سازی آنزیم‌های درگیر در تنفس و انتقال الکترون، در تشکیل پروتئین‌های گیاهی و فرایندهای حیاتی گیاه نیز نقش مهمی ایفا می‌کند (Al-Zubaidi et al., 2021). در همین راستا، Algethami و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که استفاده از بیوپلازما غنی شده با آهن در کشت ذرت، محتوای کلروفیل a و b را به ترتیب ۴۳/۲ و ۸۸/۴ درصد نسبت به شاهد افزایش داد.



شکل ۶- اثر تیمارها و سطوح کودی بر کلروفیل a (A) و b (B) اندام هوایی (میلی گرم بر گرم) گیاه ذرت. حروف متفاوت در سطح ۵ درصد با آزمون LSD معنی دار هستند.

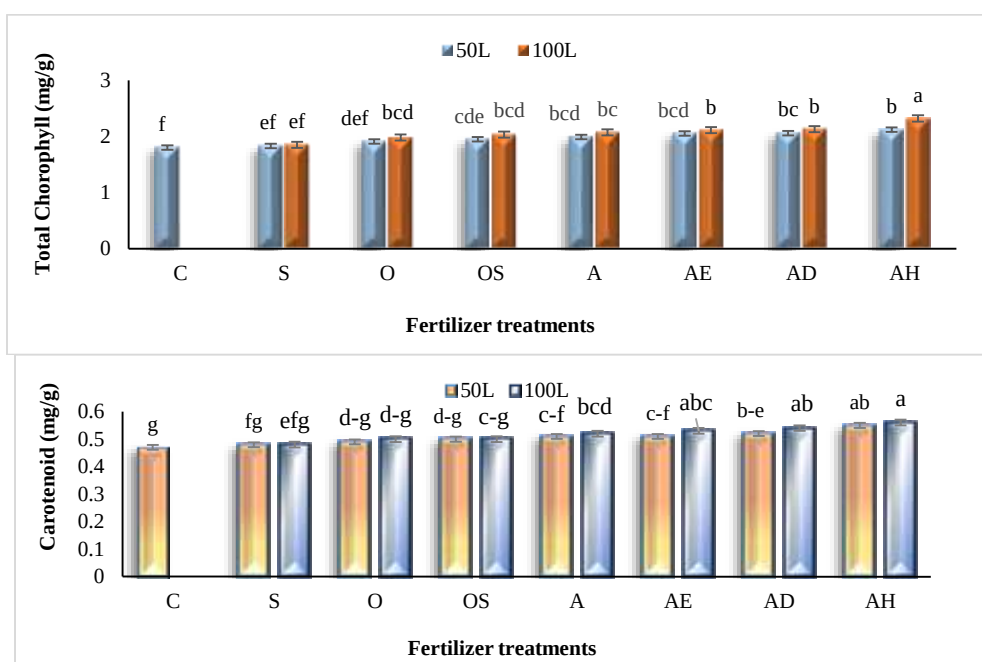
کلروفیل کل

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر نوع کود و سطوح کودی بر مقدار کلروفیل کل در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود، اما اثر متقابل آن‌ها معنی دار تشخیص داده نشد (جدول ۶). مقایسه میانگین‌ها (شکل ۷) نشان داد که سطح مصرف ۱۰۰ لیتر در هکتار، نسبت به ۵۰ لیتر در هکتار، افزایش بیشتری در مقدار کلروفیل کل ایجاد کرد، هرچند در برخی تیمارها این افزایش معنی دار نبود. بیشترین مقادیر کلروفیل کل مربوط به تیمارهای AH₁₀₀، AD₁₀₀ و AH₅₀ بود که به ترتیب ۲۸/۸، ۱۸/۳ و ۱۸/۲ درصد نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان دادند. این نتایج با یافته‌های Noroozlo و همکاران (۲۰۱۹) همخوانی دارد که بیان کردند کاربرد اسیدهای آمینه گلیسین و گلوتامین موجب

بهبود عملکرد، افزایش محتوای کلروفیل برگ و ویتامین C در گیاه کاهو می‌شود. همچنین گزارش شده که استفاده از آهن-اسیدآمین در مقایسه با Fe-EDTA محتوای کلروفیل کل، وزن هزار دانه و عملکرد دانه سویا را به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد (Jalali, 2021).

کاروتنوئید

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۶)، اثر نوع کود بر محتوای کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، در حالی که اثر سطوح کودی و اثر متقابل نوع کود و سطوح مصرف آن بر میزان کاروتنوئید گیاه ذرت تشخیص داده نشد. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تمامی تیمارهای کودی نسبت به شاهد موجب افزایش محتوای کاروتنوئید در برگ‌های ذرت شدند، هرچند میزان این افزایش در همه تیمارها معنی‌دار نبود. بیشترین مقدار کاروتنوئید به ترتیب در تیمارهای AH₁₀₀ و AH₅₀ مشاهده شد که نسبت به شاهد به ترتیب ۱۷/۶ و ۱۴/۸ درصد افزایش نشان دادند (شکل ۷). افزایش کاروتنوئید در این تیمارها احتمالاً ناشی از نقش آهن در بهبود وضعیت فیزیولوژیکی و کاهش تنش اکسیداتیو گیاه است. آهن به‌عنوان یک کوفاکتور در ساختار آنزیم‌های هموپروتئینی نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز عمل می‌کند (Atik, 2013) و موجب کاهش گونه‌های فعال اکسیژن در سلول‌ها و در نتیجه افزایش کارایی فتوسنتز می‌شود. از سوی دیگر، بین مقدار کلروفیل و کاروتنوئید رابطه‌ای مستقیم وجود دارد؛ زیرا کاروتنوئیدها در محافظت از کلروفیل در برابر تخریب نوری و اکسیداتیو به‌ویژه در شرایط شدت بالای نور نقش اساسی دارند (Ebrahimi et al., 2014). بنابراین، افزایش غلظت کاروتنوئیدها در گیاهان تیمار شده با کودهای آلی آهن‌دار را می‌توان به بهبود تعادل فیزیولوژیکی و عملکرد فتوسنتزی گیاه نسبت داد.



شکل ۷- اثر تیمارها و سطوح کودی بر کلروفیل کل (A) و کاروتنوئید (B) اندام هوایی (میلی گرم بر گرم) گیاه ذرت. حروف متفاوت در سطح ۵ درصد با آزمون LSD معنی‌دار هستند.

فعالیت‌های آنزیمی خاک

کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نوع کود و سطوح مصرف آن به ترتیب در سطح احتمال یک و پنج درصد تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز داشتند (جدول ۷). بیشترین فعالیت این آنزیم در تیمارهای AH₁₀₀، AD₁₀₀، AE₁₀₀ و AH₅₀ مشاهده شد که به ترتیب ۲۲/۳، ۱۴/۹، ۱۴/۴ و ۱۳/۳ درصد بیش از تیمار شاهد بودند (شکل ۸). این نتایج با یافته‌های Yadav و همکاران (۲۰۱۸) همخوانی دارد. افزایش فعالیت کاتالاز در این تیمارها احتمالاً ناشی از ترکیب غنی کودهای آلی شامل پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی (نظیر لاکتیک اسید)، عناصر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و آهن و همچنین pH اسیدی و میزان بالای ماده آلی است که محیطی مطلوب برای فعالیت میکروبی و فرایندهای معدنی‌سازی در خاک فراهم می‌سازد (Navarro-Morillo et al., 2023).

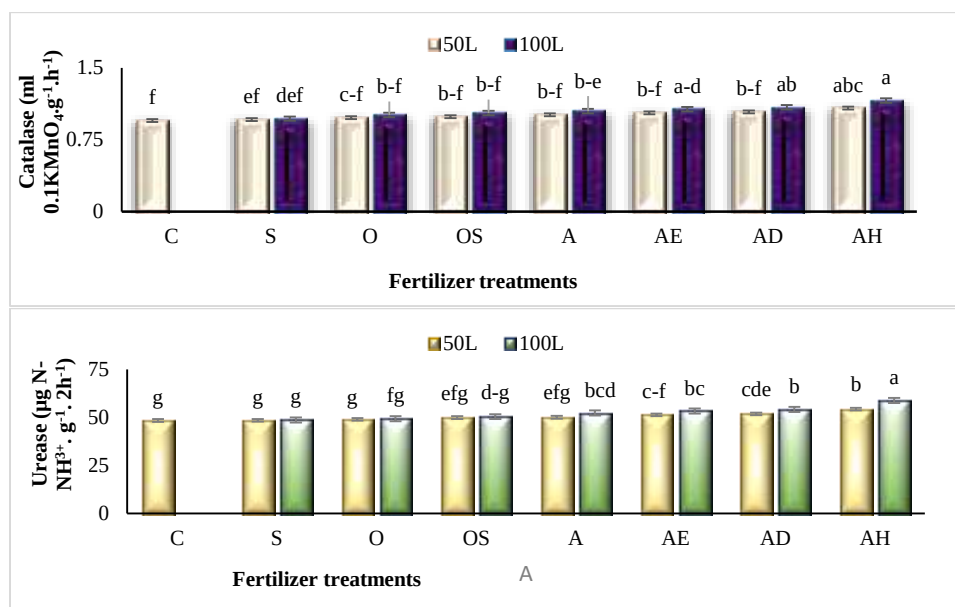
جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس اثر نوع کود، سطوح کودی و اثر متقابل آنان بر فعالیت برخی از آنزیم‌های خاک.

منابع تغییرات	درجه آزادی	کاتالاز	اوره آز	آلکالین فسفاتاز	اسیدفسفاتاز
نوع کود	۷	۰/۰۲**	۴۵/۳۵**	۸۴۶/۳۵**	۶۵/۲۷**
سطوح کودی	۱	۰/۰۱*	۲۶/۸۹**	۷۶۹/۷۸**	۴۹/۷۹**
اثر متقابل نوع کود و سطوح کودی	۷	۰/۰۰۰۸ ^{ns}	۳/۶۵ ^{ns}	۴۸/۶۷**	۲/۲۸ ^{ns}
خطا	۳۲	۰/۰۰۴	۱/۷۱	۵/۳۹	۳/۳۴
ضریب تغییرات (%)		۶/۱	۲/۵	۱/۱	۲/۳

* و ** معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و ^{ns} غیرمعنی‌دار

اوره آز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر نوع کود و سطح مصرف آن بر فعالیت آنزیم اوره‌آز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، در حالی که اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نشد (جدول ۷). نتایج مقایسه میانگین نشان داد تیمارهای AH₁₀₀ و AH₅₀ بیشترین فعالیت اوره‌آز را داشتن



شکل ۸- اثر تیمارها و سطوح کودی بر فعالیت آنزیم کاتالاز (A) و اوره‌آز (B) در خاک. حروف متفاوت در سطح ۵ درصد با آزمون LSD معنی‌دار هستند.

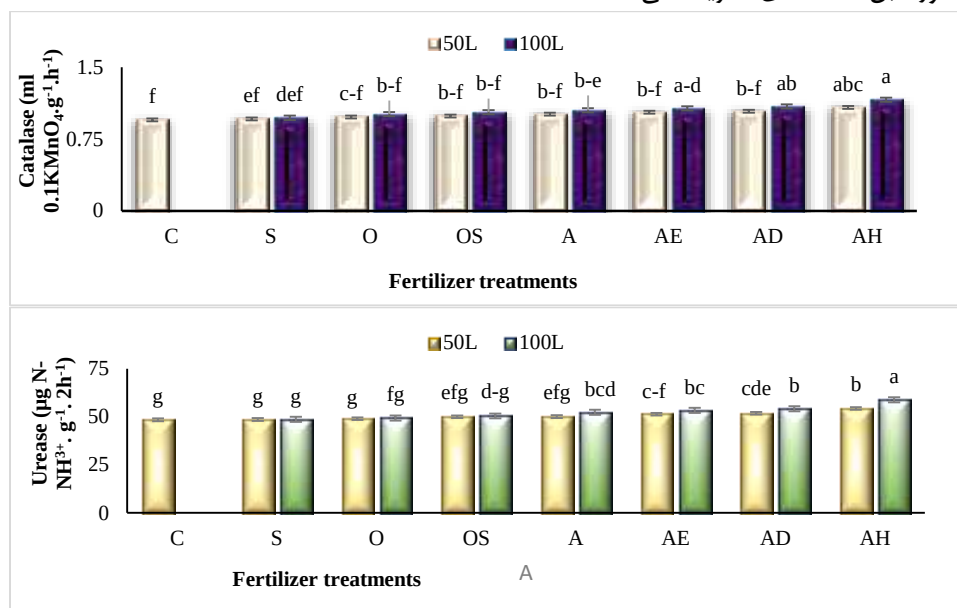
آلکالین فسفاتاز

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۷) نشان داد که نوع کود، سطوح مصرف و اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تیمار AH₁₀₀ بالاترین فعالیت را داشت و نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۹)، به طوری که میزان فعالیت آنزیم را ۲۳/۲ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. کاربرد کلات‌های اسید آمینه موجب بهبود سریع ویژگی‌های میکروبی خاک می‌شود، زیرا این ترکیبات به عنوان منابع زیست‌تخریب‌پذیر کربن و نیتروژن، رشد و تنوع میکروبی را تحریک کرده و در نتیجه فعالیت آنزیم‌های دخیل در چرخه فسفر را افزایش می‌دهند (Niharika et al., 2025).

اسید فسفاتاز

فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز نیز در سطح احتمال یک درصد به طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع و سطوح مصرف کود قرار گرفت (جدول ۷). با افزایش میزان مصرف کود، فعالیت این آنزیم افزایش یافت؛ به طوری که بیشترین مقدار در تیمارهای AH₁₀₀ و AH₅₀ به ترتیب با مقادیر ۸۷/۹۶ و ۸۳/۸۹ $\mu\text{g NP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ مشاهده شد که نسبت به شاهد ۱۶/۱ و ۱۰/۸ درصد افزایش داشتند (شکل ۹). افزایش فعالیت اسید فسفاتاز احتمالاً ناشی از نقش آهن به عنوان کوفاکتور ضروری در ساختار و عملکرد آنزیم‌های اکسیدوردوکنازی مانند اسید فسفاتاز، کاتالاز

و پراکسیداز است. آهن با شرکت در ساختار پروتئین‌های هم‌دار و Fe-S، واکنش‌های اکسیداسیون و احیا را تسهیل کرده و در نتیجه کارایی آنزیمی را بهبود می‌بخشد (Yadav et al., 2018). علاوه بر این، افزودن کودهای آلی سبب افزایش ماده آلی، بهبود فعالیت میکروبی و افزایش تولید آنزیم‌های خاک می‌شود که در نهایت رشد و عملکرد گیاه را ارتقا می‌دهد (Zhang et al., 2019). د که به ترتیب ۲۱/۵ و ۱۲/۲ درصد بیشتر از شاهد بودند (شکل ۸). آنزیم اوره‌آز نقش کلیدی در چرخه نیتروژن دارد و با تجزیه ترکیبات آلی نیتروژن‌دار، نیتروژن را به اشکال قابل جذب برای گیاه و میکروارگانیسم‌ها تبدیل می‌کند (Wang et al., 2023). Algethami و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که کاربرد بیوجار غنی از آهن موجب افزایش چشمگیر فعالیت آنزیم‌های اوره‌آز، کاتالاز و فسفاتاز اسیدی به ترتیب به میزان ۴۸/۴، ۷۴/۴ و ۱۱۷/۳ درصد شد. همچنین Abujabhah و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند که افزایش کربن آلی، نیتروژن کل و پتاسیم تبدیلی در خاک، فعالیت اوره‌آز را به طور قابل ملاحظه‌ای تحریک می‌کند.



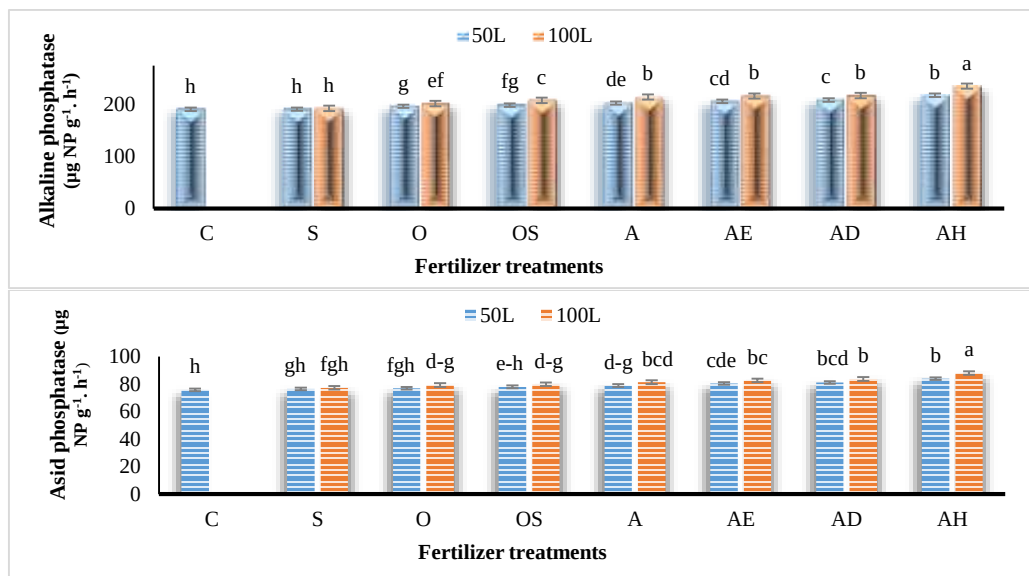
شکل ۸- اثر تیمارها و سطوح کودی بر فعالیت آنزیم کاتالاز (A) و اوره‌آز (B) در خاک. حروف متفاوت در سطح ۵ درصد با آزمون LSD معنی‌دار هستند.

آلکالین فسفاتاز

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۷) نشان داد که نوع کود، سطوح مصرف و اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تیمار AH₁₀₀ بالاترین فعالیت را داشت و نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۹)، به‌طوری‌که میزان فعالیت آنزیم را ۲۳/۲ درصد نسبت به شاهد افزایش داد. کاربرد کلات‌های اسید آمینه موجب بهبود سریع ویژگی‌های میکروبی خاک می‌شود، زیرا این ترکیبات به‌عنوان منابع زیست‌تخریب‌پذیر کربن و نیتروژن، رشد و تنوع میکروبی را تحریک کرده و در نتیجه فعالیت آنزیم‌های دخیل در چرخه فسفر را افزایش می‌دهند (Niharika et al., 2025).

اسید فسفاتاز

فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز نیز در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر نوع و سطوح مصرف کود قرار گرفت (جدول ۷). با افزایش میزان مصرف کود، فعالیت این آنزیم افزایش یافت؛ به‌طوری‌که بیشترین مقدار در تیمارهای AH₅₀ و AH₁₀₀ به ترتیب با مقادیر ۸۷/۹۶ و ۸۳/۸۹ $\mu\text{g NP g}^{-1} \text{h}^{-1}$ مشاهده شد که نسبت به شاهد ۱۶/۱ و ۱۰/۸ درصد افزایش داشتند (شکل ۹). افزایش فعالیت اسید فسفاتاز احتمالاً ناشی از نقش آهن به‌عنوان کوفاکتور ضروری در ساختار و عملکرد آنزیم‌های اکسیدودوکتازی مانند اسید فسفاتاز، کاتالاز و پراکسیداز است. آهن با شرکت در ساختار پروتئین‌های هم‌دار و Fe-S، واکنش‌های اکسیداسیون و احیا را تسهیل کرده و در نتیجه کارایی آنزیمی را بهبود می‌بخشد (Yadav et al., 2018). علاوه بر این، افزودن کودهای آلی سبب افزایش ماده آلی، بهبود فعالیت میکروبی و افزایش تولید آنزیم‌های خاک می‌شود که در نهایت رشد و عملکرد گیاه را ارتقا می‌دهد (Zhang et al., 2019).



شکل ۹- اثر تیمارها و سطوح کودی بر فعالیت آنزیم آلکالین (A) و اسید (B) فسفاتاز در خاک. حروف متفاوت در سطح ۵ درصد با آزمون LSD معنی دار هستند.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که مصرف کود آلی حاوی کلات Fe-EDDHA به طور معنی داری موجب بهبود صفات رشدی و فیزیولوژیکی گیاه ذرت شد. استفاده از این کود باعث افزایش ارتفاع گیاه، وزن تر و خشک اندامهای هوایی و ریشه، محتوای کلروفیل و فعالیت آنزیمهای خاک از جمله اوره آز، فسفاتاز و کاتالاز گردید. بیشترین اثر مثبت در تیمار AH₁₀₀ (که ۱۰۰ لیتر کود در هکتار معادل ۰/۱۶ گرم در ۳ کیلوگرم خاک اعمال شد) مشاهده شد که بیانگر نقش مؤثر آهن کلات شده در تغذیه گیاه، افزایش محتوای کلروفیل و ارتقای کارایی فتوسنتز است. علاوه بر این، با توجه به ترکیب این کود که حاوی مواد آلی و اسیدهای آمینه است، می تواند به بهبود ویژگی های فیزیکی، شیمیایی و زیستی خاک از جمله تحریک فعالیت میکروارگانیسم های مفید کمک کند. همچنین این ترکیبات احتمالاً از طریق تأمین نیتروژن آلی و افزایش کارایی جذب آن، موجب بهبود تغذیه نیتروژنی گیاه و پایداری رشد می شوند. نتایج این پژوهش در شرایط آزمایش گلدانی همچنین نشان داد که کاربرد ۱۰۰ لیتر در هکتار (معادل ۰/۱۶ گرم در ۳ کیلوگرم خاک) کود آلی حاوی Fe-EDDHA موجب بهبود وضعیت تغذیه ای آهن در خاک های آهنکی گردید. با این حال، به دلیل ماهیت گلدانی آزمایش، نتایج حاضر بیانگر پاسخ گیاه در شرایط کنترل شده بوده و تعمیم آن به شرایط مزرعه ای مستقیماً امکان پذیر نیست. از این رو، ارائه توصیه قطعی در خصوص این تیمار مستلزم انجام آزمایش های مزرعه ای به منظور ارزیابی پایداری اثرات و کارایی آن در شرایط واقعی تولید می باشد.

REFERENCES

- Abdo, A. I., El-Sobky, E. S. E., & Zhang, J. (2022). Optimizing maize yields using growth stimulants under the strategy of replacing chemicals with biological fertilizers. *Frontiers in Plant Science*, 13, 1069624.
- Abujabhah, I. S., Bound, S. A., Doyle, R., & Bowman, J. P. (2016). Effects of biochar and compost amendments on soil physico-chemical properties and the total community within a temperate agricultural soil. *Applied soil ecology*, 98, 243-253.
- Adzikro, M. H., Laila, A., Farmawaty, A. A., & Sulistyorini, E. (2025). Effects of NPK, Amino Acid Liquid Organic Fertilizer on Maize (*Zea mays* L.) Growth and Yield. *Jurnal Agroekoteknologi Terapan (Applied Agroecotechnology Journal)*, 6(1), 65-73.
- Alalaf, A. H., Alalam, A. T. S., & Al-Zebari, S. M. K. (2022). The effect of spraying amino acid fertilizer on the growth characteristics and mineral content of pomelo (*Citrus grandis*. L) seedlings. *Iranian Journal of Ichthyology*, 9, 123-126.
- Algethami, J. S., Irshad, M. K., Javed, W., Alhamami, M. A., & Ibrahim, M. (2023). Iron-modified biochar improves plant physiology, soil nutritional status and mitigates Pb and Cd-hazard in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Plant Science*, 14, 1221434.
- Ali Asgharzad, N. (2006). Laboratory methods in soil biology. p 540. *Tabriz: Tabriz University Press*.
- Álvarez-Fernández, A., García-Marco, S., & Lucena, J. J. (2005). Evaluation of synthetic iron (III)-chelates

- (EDDHA/Fe³⁺, EDDHMA/Fe³⁺ and the novel EDDHSA/Fe³⁺) to correct iron chlorosis. *European Journal of Agronomy*, 22(2), 119-130.
- Al-Zubaidi, M. S. K., Bader, B. R., Abood, M. A., Hamdi, G. J., & Al-Afraji, H. R. J. (2021). The effect of adding solid and chelated liquid iron on the growth and yield of broad bean. *Journal of Agricultural Science*, 188-194.
- Areche, F., Aguilar, S. V., More Lopez, J. M., Castañeda Chirre, E. T., Sumarriva-Bustinza, L. A., Pacovilca-Alejo, O. V., Camposano Cordova, Y.F., Montesinos, C. C., Quincho Astete, J. A., Quispe-Vidalon, D., & Salas-Contreras, W. H. (2023). Recent and historical developments in chelated fertilizers as plant nutritional sources, their usage efficiency, and application methods. *Brazilian Journal of Biology*, 83, e271055.
- Atik, A. (2013). Effects of planting density and treatment with vermicompost on the morphological characteristics of oriental beech (*Fagus orientalis* Lipsky.). *Compost Science & Utilization*, 21(2), 87-98.
- Blazquez, M. A., Nelson, D. C., & Weijers, D. (2020). Evolution of plant hormone response pathways. *Annual Review of Plant Biology*, 71(1), 327-353.
- Bremner, J. (1996). Nitrogen total. Methods of Soil Analysis. In: D. L. Sparks et al. (Eds). Method of Soil Analysis. Part 3. pp. 1085-1121. Chemical Methods. *American Society of Agronomy and Soil Science Society of America. Madison. WI. USA*.
- Cho, M. H., Park, H. L., & Hahn, T. R. (2015). Engineering leaf carbon metabolism to improve plant productivity. *Plant Biotechnology Reports*, 9(1), 1-10.
- Ebrahimi, M., Khajepour, M. R., Naderi, A., & Nassiri, B. M. (2014). Physiological responses of sunflower to water stress under different levels of zinc fertilizer. *International Journal of Plant Production*, 8(4).
- Garcia-Sanchez, F., Camara-Zapata, J. M., & Navarro-Morillo, I. (2024). Use of Corn Steep Liquor as a Biostimulant in Agriculture. *Horticulturae*, 10(4), 315.
- Gee, G. W., & Boder, D. (2002). Particle-size analysis. In: Dane, J. H. and G. C. Topp. (Eds.). Methods of Soil Analysis. Part 4- Physical Methods. Agronomy Monograph. No 9. *American Society of Agronomy and Soil Science Society of America. Madison. WI, PP. 255-293*.
- Hershkovitz, J. A., Dey, M. G., Heins, R., & Bugbee, B. (2025). Fertigation with Fe-EDTA, Fe-DTPA, and Fe-EDDHA Chelates to Prevent Iron Chlorosis of Sensitive Species in High-pH Soilless Media. *HortScience*, 60(3), 404-410.
- Hsu, H. J. (1996). *U.S. Patent No. 5,504,055*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Jalali, M. (2020). Effect of iron-amino acid chelates on antioxidant capacity and nutritional value of soybean. *Journal of Plant Productions*, 43(4), 477-486.
- Ji, R., Dong, G., Shi, W., & Min, J. (2017). Effects of Liquid Organic Fertilizers on Plant Growth and Rhizosphere Soil Characteristics of Chrysanthemum. *Sustainability*, 9(5), 841.
- Johnson, J. L., & Temple, K. L. (1964). Some variables affecting the measurement of "catalase activity" in soil. *Soil Science Society of America Journal*, 28(2), 207-209.
- Lightenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*, 148, 350-382.
- 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.
- Loeppert, R. H., & Suarez, D. L. (1996). Carbonate and gypsum. *Methods of soil analysis: Part 3 chemical methods*, 5, 437-474.
- Lucena, J. J., Barak, P., & Hernández-Apaolaza, L. (1996). Isocratic ion-pair high-performance liquid chromatographic method for the determination of various iron (III) chelates. *Journal of Chromatography A*, 727(2), 253-264.
- Mohammed, S., & Kanimarani, S. A. (2020). Humic acid and iron chelate foliar application influence on growth and quality of two lettuce cultivars (*Lactuca sativa* L.).
- Molnar, Z., Solomon, W., Mutum, L., & Janda, T. (2023). Understanding the mechanisms of Fe deficiency in the rhizosphere to promote plant resilience. *Plants*, 12(10), 1945.
- Navarro-Morillo, I., Navarro-Perez, V., Perez-Millan, R., Navarro-León, E., Blasco, B., Cámara-Zapata, J. M., & Garcia-Sanchez, F. (2023). Effects of root and foliar application of corn steep liquor on pepper plants: a physiological, nutritional, and morphological study. *Horticulturae*, 9(2), 221.
- Nelson, D. W. & Sommers, L. E. (1996). Total carbon, organic carbon and organic matter. In: D. L. Sparks et al., (Eds.). Methods of Soil Analysis. Part III. 3rd Ed. *Soil Science Society of America Inc. American Society of Agronomy Madison. WI. PP. 61-1010*.
- Niharika, P., Mahendran, P. P., Prabhakaran, J., Gurusamy, A., Prasanthrajan, M., Chandrakumar, K., &



- Yuvaraj, M. Amino acid-chelated micronutrients: A new frontier in crop nutrition and abiotic stress mitigation.
- Ning, X., Lin, M., Huang, G., Mao, J., Gao, Z., & Wang, X. (2023). Research progress on iron absorption, transport, and molecular regulation strategy in plants. *Frontiers in plant science*, 14, 1190768.
- Noroozlo, Y. A., Sour, M. K., & Delshad, M. (2019). Stimulation effects of foliar applied glycine and glutamine amino acids on lettuce growth. *Open Agriculture*, 4(1).
- Obayori, O. S., Salam, L. B., Anifowoshe, W. T., Odunewu, Z. M., Amosu, O. E., & Ofulue, B. E. (2015). Enhanced degradation of petroleum hydrocarbons in corn-steep-liquor-treated soil microcosm. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 24(7), 731-743.
- Olsen, S. R. (1954). Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate (No. 939). US Department of Agriculture.
- Puglisi, I., Brida, S., Stoleru, V., Torino, V., Sellitto, V. M., & Baglieri, A. (2021). Application of novel microorganism-based formulations as alternative to the use of iron chelates in strawberry cultivation. *Agriculture*, 11(3), 217.
- Rengel, Z., Cakmak, I., & White, P. J. (Eds.). (2022). *Marschner's mineral nutrition of plants*. Academic press.
- Rhoades, J. D. (1996). Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. *Methods of soil analysis: Part 3 Chemical methods*, 5, 417-435.
- Riaz, N., & Gueriot, M. L. (2021). All together now: regulation of the iron deficiency response. *Journal of Experimental Botany*, 72(6), 2045-2055.
- Schenkeveld, W. D. C., Dijcker, R., Reichwein, A. M., Temminghoff, E. J. M., & Van Riemsdijk, W. H. (2008). The effectiveness of soil-applied FeEDDHA treatments in preventing iron chlorosis in soybean as a function of the o, o-FeEDDHA content. *Plant and Soil*, 303(1), 161-176.
- Sida-Areola J. P., Sanchez-Chavez E., Avila-Quezada G. D., Zamudio-Flores P. B., & Acosta M. C. (2015). Iron biofortification and its impact on antioxidant system, yield and biomass in common bean. *Plant, Soil and Environment* 61(12):573-576.
- Sure, S., Arooie, H., Sharifzade, K., & Dalirimoghadam, R. (2012). Responses of productivity and quality of cucumber to application of the two bio-fertilizers (humic acid and nitroxin) in fall planting.
- Syam, N., Hidrawati, Sabahannur, S., & Nurdin, A. (2021). Effects of Trichoderma and foliar fertilizer on the vegetative growth of black pepper (*Piper nigrum* L.) seedlings. *International Journal of Agronomy*, (1), 9953239.
- Tabatabai, M. A. (1982). Soil enzymes. *Methods of soil analysis: Part 2 chemical and microbiological properties*, 9, 903-947.
- Tadros, M. J., Omari, H. J., & Turk, M. A. (2019). The morphological, physiological and biochemical responses of sweet corn to foliar application of amino acids biostimulants sprayed at three growth stages. *Australian Journal of Crop Science*, 13(3), 412-417.
- Thomas, G. W. (1996). Soil pH and Soil Acidity. In: D. L. Sparks et al. (Eds). *Methods of Soil Analysis*. Part3. 3rd Ed. *Am. Soc. Agron. Madison. WI. PP. 475-490*.
- Tsai, H. H., & Schmidt, W. (2020). pH-dependent transcriptional profile changes in iron-deficient Arabidopsis roots. *BMC genomics*, 21(1), 694.
- Wang, Z., Wang, K., Jiang, Q., Liu, C., Shan, J., & Teng, H. (2023). Mutual feeding mechanism of carbon, nitrogen and enzyme activity in Northeast China black soil under snow cover change. *Applied Soil Ecology*, 190, 104991.
- Yadav, V., Sharma, Y. K. and Singh, H. (2018). Iron impact assessment in maize: Growth, biomass, pigments and related enzymes. *Research in environment and life sciences*, 11(02) 63-68.
- Zahedifar, M., Moosavi A. A., Gavili, E., & Ershadi, A. (2025). Tomato fruit quality and nutrient dynamics under water deficit conditions: The influence of an organic fertilizer. *PLoS ONE*, 20(1), e0310916.
- Zhang, J., Bei, S., Li, B., Zhang, J., Christie, P., & Li, X. (2019). Organic fertilizer, but not heavy liming, enhances banana biomass, increases soil organic carbon and modifies soil microbiota. *Applied soil ecology*, 136, 67-79.
- Zuluaga, M. Y. A., Cardarelli, M., Roupheal, Y., Cesco, S., Pii, Y., & Colla, G. (2023). Iron nutrition in agriculture: From synthetic chelates to biochelates. *Scientia Horticulturae*, 312, 111833.