Vol 25, No. 4, Winter 2023

University of Tehran Press

Journal of Crops Improvement

Online ISSN: 2345-6957

Homepage: https://jci.ut.ac.ir/

Evaluation of Growth of Corn in the Vegetative Stage Under Contaminanted Soil Conditions by Applaying Sulfur-Containing Compounds and Thiobacillus Bacteria

Hamzeh Mirzaie[1]✉ | Farid Shekari[2] | Reza Fotovat[3] | Mohammad AmirDelavar[4]

1. Corresponding Author, Department of Plant Production and Genetic, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran. E-Mail: h.mirzaie@znu.ac.ir
2. Department of Plant Production and Genetic, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran. E-Mail: shekari@znu.ac.ir
3. Department of Plant Production and Genetic, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran. E-Mail: r_fotovat@znu.ac.ir
4. Department of agrology group, Faculty of agriculture. Zanjan University. Zanjan. Iran. E-Mail: amir-delavar@znu.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received 18 February 2023
Received in revised form
3 September 2023
Accepted 18 September 2023
Published online 13 December 2023

Keywords:
Biosulfur
Enzymes
Lead and zinc stress
Leaf surface

ABSTRACT

Objective: Investigating the effect of various sources of sulfurous compounds along with the inoculation of *Thiobacillus* bacteria on corn plants under stress conditions of lead and zinc metals, Factorial experiment of randomized complete blocks design was carried out in the Agricultural Research Greenhouse of Zanjan University in 2021.

Methods: The treatments include elemental sulfur (0.75, 1.25 and 2 g/kg soil), biosulfur (1, 2 and 3 g/kg soil) and potassium sulfate (0.5, 1 and 1.5 g/kg soil).

Results: The results showed traits were significant in the vegetative growth stage in all applied treatments. The treatments increased the amount of chlorophyll, enzymes compared to the control. Then decreased the leaf temperature, increasing the length of leaf cells. Also, it increases the leaf area and leaf production rate in plants. This increase was higher in sulfur treatment with bacteria. But the treatments of 2 grams of elemental sulfur and 1.5 grams of potassium sulfate caused stress in the plant and reduced the amount of traits compared to the control. Also, the plants in contaminated soil were stressed and the amount of the mentioned traits also decreased.With the application of treatments, the amount of carotenoid, total protein and peroxidase traits increased, which reduced the stress in plants and increased the amount of traits and growth indicators compared to control in contaminated soil.

Conclusion: Biosulfur treatment, compared to other applied treatments, by activating the enzymatic and non-enzymatic defense system of the plant, causes the plant to tolerate stress and improve plant growth.

Cite this article: Mirzaie, H., Shekari, F., Fotovat, R., & AmirDelavar, M. (2023). Evaluation of Growth of Corn in the Vegetative Stage Under Contaminanted Soil Conditions by Applaying Sulfur-Containing Compounds and Thiobacillus Bacteria. *Journal of Crops Improvement*, 25 (4), 1045-1061.
DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2023.355626.2794

© The Authors.
Publisher: The University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2023.355626.2794

انتشارات دانشگاه تهران

به زراعی کشاورزی

شاپا الکترونیکی: ۶۹۵۷-۲۳۴۵

Homepage: https://jci.ut.ac.ir/

ارزیابی رشد ذرت در مرحله رویشی تحت شرایط خاک آلوده با تیمار ترکیبات گوگرددار و باکتری *تیوباسیلوس*

حمزه میرزائی[۱] ✉ | فرید شکاری[۲] | رضا فتوت[۳] | محمد امیردلاور[۴]

۱. نویسنده مسئول، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: h.mirzaie@znu.ac.ir

۲. گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: shekari@znu.ac.ir

۳. گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: r_fotovat@znu.ac.ir

۴. گروه خاک‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران. رایانامه: amir-delavar@znu.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۲۹
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۶/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۷
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۹/۲۲

کلیدواژه‌ها:
آنزیم
بیوگوگرد
تنش سرب و روی
سطح برگ

چکیده

هدف: به‌منظور بررسی اثر منابع مختلف ترکیبات گوگردار بهمراه تلقیح باکتری *تیوباسیلوس* بر گیاه ذرت در شرایط تنش فلزات سرب و روی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل طرح بلوک‌های کامل تصادفی در گلخانه تحقیقاتی کشاورزی دانشگاه زنجان در سال ۱۴۰۰ اجرا گردید.

روش پژوهش: تیمارهای گوگرد شامل گوگرد عنصری (۰/۷۵، ۱/۲۵ و ۲ گرم برکیلوگرم خاک)، بیوگوگرد (۱، ۲ و ۳ گرم برکیلوگرم خاک) و سولفات‌پتاسیم (۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم برکیلوگرم) بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که صفات مورفولوژیک، آناتومیک و فیزیولوژیک در مرحله رشد رویشی در تمام تیمارهای اعمال‌شده معنی‌دار شدند. اعمال تیمارها موجب افزایش میزان کلروفیل، فلورسانس و آنزیم‌ها نسبت به شاهد گردید. این افزایش باعث کاهش دمای برگ، افزایش طول سلول‌های برگ و در نتیجه سطح برگ و سرعت برگ‌دهی را افزایش داد. در تیمار گوگرد به‌همراه باکتری این افزایش بیش‌تر بود. اما تیمارهای گوگرد عنصری ۲ گرم و سولفات‌پتاسیم ۱/۵ گرم در گیاه تنش ایجاد کردند و موجب کاهش میزان صفات نسبت به شاهد شدند. هم‌چنین گیاهان در خاک آلوده دچار تنش شدند و میزان صفات ذکرشده نیز کاهش یافتند. اما اعمال تیمارها میزان صفات کاروتنوئید، پروتئین کل و پروکسیداز افزایش داد که موجب کاهش تنش در گیاهان شدند و در نتیجه آن میزان صفات و شاخص‌های رشدی در گیاه نسبت به شاهد در خاک آلوده افزایش یافتند.

نتیجه‌گیری: می‌توان نتیجه گرفت که تیمار گوگرد همراه باکتری در مقایسه با دیگر تیمارها موجب فعال شدن سیستم دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی و متحمل شدن گیاه به تنش گردید. نهایتا رشد گیاه بهبود می‌یابد.

استناد: میرزائی، حمزه؛ شکاری، فرید؛ فتوت، رضا و امیردلاور، محمد (۱۴۰۲). ارزیابی رشد ذرت در مرحله رویشی تحت شرایط خاک آلوده با تیمار ترکیبات گوگرددار و باکتری *تیوباسیلوس*. *به‌زراعی کشاورزی*، ۲۵ (۴)، ۱۰۶۱-۱۰۴۵. DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2023.355626.2794

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

۱. مقدمه

ذرت (*Zea mays* L.) یکی از مهم‌ترین غلات در جهان به‌دلیل پتانسیل تولید بالا و قابلیت تطابق و سازگاری با محیط‌های مختلف و دارای ارزش غذایی بالای بذور این گیاه می‌باشد (Sofy *et al*., 2020). با حساسیت این گیاه نسبت به تنش فلزات سنگین، رشد و عملکردش تحت شرایط تنش فلزات سنگین کاهش می‌یابد (Rivas-San & Plasencia, 2011; Sofy *et al*., 2020). شبیه دیگر بخش‌های جهان، نواحی از ایران مانند زنجان به فلزات سنگین آلوده هستند و می‌توانند موجب کاهش رشد، تولید زیست‌توده و نیز کیفیت محصول را به‌وسیله متأثرکردن ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژی گیاهان کاهش دهند.

مشکل آلودگی به فلزات سنگین در زمین‌های کشاورزی و تولیدات آن‌ها، که در نواحی نزدیک شهرها و مناطق صنعتی در حال افزایش می‌باشد، باعث نگرانی خطر مصرف غذای آلوده برای سلامتی انسان شده است (Amari *et al*., 2017). افزایش مقدار فلزات سنگین در خاک منجر به جذب بیش‌تر این فلزات به‌وسیله گیاهان می‌شود، که می‌تواند رشد، فتوسنتز، زیست‌توده، عملکرد و کیفیت تغذیه‌ای در گیاهان را کاهش دهند (Ramzani *et al*., 2016). هم‌چنین افزایش مقدار فلزات سنگین در بافت‌های گیاه متابولیسم سلول را متأثر می‌کند (Arshad *et al*., 2017). تعدادی فلزات سنگین مانند کبالت، مس، روی و کروم عناصر ضروری هستند و تعداد دیگر مانند سرب، کادمیوم و جیوه غیر ضرور برای گیاهان می‌باشند (Adrees *et al*., 2015; Pinto *et al*., 2015). گزارش شده که فلزات سنگین اندازه و شکل کلروپلاست، فتوسنتز و نسبت تعرق و ساختمان بافت را تغییر می‌دهند و هم‌چنین باعث پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به عملکرد روزنه‌ها و تعادل آب سلول‌ها را متأثر می‌کنند (Arif *et al*., 2016; Riyazuddin *et al*., 2022). سرب فلز سمی برای گیاهان و در غلظت بالای ۷۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک موجب خسارت می‌شود که به‌آسانی به‌وسیله سیستم ریشه‌ای جذب می‌شود و از فعالیت تعدادی از آنزیم‌ها به‌دلیل شباهت ساختاری یونی با کلسیم جلوگیری می‌کند (Amari *et al*., 2017). تیمار بـا سرب سبب تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و آسیب به ساختار ترکیبات آلی می‌شود (Hu *et al*., 2007). تحت شرایط تنش، برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالازها وتعداد زیادی از پراکسیدازها از جمله گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز فعال می‌شود (Prasad, 1997).

روی در غلظت‌های پایین به‌عنوان یک عنصر ضروری و محرک رشد گیاه می‌باشد. به هرحال، تجمع روی در خاک و بافت گیاهی، بسته به گونه گیاهی موجب تخریب در رشدونمو می‌شود (Arif *et al*., 2016; Yahaghi *et al*., 2019). تجمع بالای روی (بالای ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) در سیتوسول سلول‌های گیاه موجب کاهش در رشد و توسعه مناسب گیاهان به‌وسیله اختلال در تقسیم و طویل‌شدن سلول، بازداری فرایند فتوسنتز و افزایش پروکسیداسیون لیپیدها می‌شود (Jain *et al*., 2010; Arif *et al*., 2016; MacFarlane & Burchett, 2002; Santos *et al*., 2019). فلزات سنگین نیز موجب اثرات منفی روی تعرق، جذب آب، سنتز پروتئین، پایداری غشا و تعادل هورمونی در گیاهان می‌گردند (Amari *et al*., 2017).

۲. پیشینهٔ پژوهش

نخستین واکنش فیزیولوژیکی گیاهان به شرایط نامساعد محیطی غیرفعال‌شدن یا کاهش شدید فعالیت دستگاه فتوسنتزکننده است که توسط برخی پژوهش‌گران گزارش شده است (Baker, 2008; Allakhverdiev, 2000). صارمی و همکاران (۱۳۹۰) در بیان نتایج پژوهش‌های خود گزارش کردند که با افزایش سطح کادمیم، میزان فلورسانس کلروفیل در گیاه گندم تحت تنش فلزات سنگین، دارای رونـد کاهشی بود. سرب در غلظت‌های بالاتر از ۳۰ میکروگرم برگرم در

برگ منجر به کاهش سنتز کلروفیل و کاهش رشد رویشی می‌شود (Ruley *et al*., 2004). هم‌چنین El-Jamal & Salwa (2003) بیان نمودند که افزایش غلظت کادمیم باعث کاهش جذب آب، کاهش ساخت رنگدانه‌های فتوسنتزی، کربوهیدرات‌ها و قندهای محلول می‌شود و در نتیجه آن باعث کاهش ارتفاع گیاه گوجه‌فرنگی، تعداد برگ‌ها و وزن خشک بوته می‌شود (El-Jamal & Salwa, 2003; Pallas *et al*., 1967; Seregin & Ivanov, 2001). نتایج پژوهش‌ها نشان داد که فلزات سنگین با کاهش قابلیت دسترسی و جذب آهن در آپوپلاست ریشه، جذب به درون سلول‌های ریشه و انتقال به بخش هوایی محدود می‌کنند و سبب می‌شوند آهن کم‌تری در اختیار برگ‌ها قرار گیرد (Fodor, 2006).

گوگرد به‌عنوان چهارمین عنصر مهم معرفی شده است و به‌لحاظ تغذیه‌ای به اندازه فسفر و هم‌چنین در تشکیل پروتئین‌های گیاهی به اندازه نیتروژن در گیاهان نقش دارد (Mukherjee & Singh, 2002; Kacar & Katkat, 2007). گوگرد یک عنصر تغذیه‌ایی ضروری برای سیستئن، متیونین، القای گلوتاتیون، کوآنزیم A، ساختار پلی‌ساکاریدها، ویتامین‌ها، لیپیدها، سنتز کلروفیل و کوفاکتورها می‌باشد. افزایش معنی‌دار در ارتفاع بوته کلزا، تولید ماده خشک، شاخه، محتوای کلروفیل برگ و شاخص سطح برگ در نتیجه کاربرد ۶۱ کیلوگرم در هکتار گوگرد است (Kumar *et al*., 2004).

از دیگر اثرات نمک فلزات سنگین در خاک که جذب مواد غذایی در خاک را توسط گیاه متأثر می‌کنند، pH بالا می‌باشد. تحت این شرایط نامساعد خاک مانند pH بالا، کاهش اسیدیته خاک (حتی به‌طور موضعی) یکی از روش‌های مؤثر مقابله بر کمبود عناصر ضروری و ریز مغذی‌ها در خاک به شمار می‌رود. استفاده از گوگرد به‌عنوان فراوان‌ترین و ارزان‌ترین ماده اسیدزا، نه‌تنها به‌عنوان عنصر غذایی موردنیاز بلکه بیش‌تر به‌دلیل اثرات جانبی مفید این عنصر در اسیدی‌کردن موضعی خاک، افزایش قابلیت انحلال سایر عناصر و تنظیم pH خاک شناخته می‌شود. بنابراین بهبود رشد با کاربرد گوگرد، به‌علت افزایش حلالیت مواد غذایی و غلبه بر کمبود تغذیه به‌ویژه در خاک‌های قلیایی و آهکی می‌باشد (Gupta & St Mehla, 1980; Neilsen *et al*., 1993). در یک آزمایش گلدانی، کاربرد گوگرد موجب کاهش pH خاک و افزایش دسترسی عناصر کم مصرف و در نتیجه افزایش عملکرد ماده خشک گیاه شد (Soliman *et al*., 1992).

از طرفی گوگرد نقش اساسی در تحمل به تنش‌ها در گیاهان دارد. نقش گوگرد در افزایش توان سیستم دفاعی به این دلیل است که گوگرد بخشی از ترکیبات متعدد دفاعی نظیر گلوتاتیون، فیتوکلاتین‌ها، گلیکوزینولات‌ها و ویتامین‌ها است (Rausch & Wachter, 2005). برای مثال، گوگرد می‌تواند به‌هم‌ریختگی به‌وجودآمده در غشا از حمله پاتوژن‌ها را کاهش دهد. هم‌چنین، گوگرد نقش مثبتی در گیاهچه‌های خردل در مقابل سمیت کادمیوم از طریق ممانعت از انتقال کادمیوم از ریشه به بخش‌های هوایی داشته است (Anjum *et al*., 2008; Kruse *et al*., 2012). در حقیقت نقش محافظتی گوگرد در کاهش خطر فلزات سنگین مرتبط با مشارکت و تنظیم در بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز گلوتاتیون و پلی‌کلاتین‌ها می‌باشد که وضعیت اکسیداتیو را تنظیم می‌کنند و فلزات را در واکوئل کلاته می‌کنند (Gill & Tuteja, 2011; Bashir *et al*., 2015; Rathore *et al*., 2015).

باکتری *تیوباسیلوس*[1]، باکتری گرم منفی، اسیدی‌دوست و شیمولیتوتروف[2] است که توانایی تبدیل انرژی برای رشد از اکسیداسیون فروس (Fe^{2+}) به یون فریک (Fe^{3+}) و عنصر گوگرد یا احیای ترکیبات غیرآلی گوگرد به سولفات با استفاده از اکسیژن به‌عنوان پذیرنده الکترون می‌باشد (Kelly & Wood, 2000). تلقیح گوگرد با باکتری تیوباسیلوس سبب افزیش سرعت اکسایش گوگرد و تعدیل pH خاک می‌گردد (Tisdal *et al*., 1984). این توانایی به‌ویژه برای انحلال عناصر غذایی مفید بوده، زیرا این باکتری توانایی اکسید عنصر سولفید و تولید اسید محلول سولفید را دارد. هم‌چنین گوگرد

1. Thiobacillus
2. Chemiolithotroph

همراه باکتری میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و اسمولیت‌ها را در شرایط تنش بالا می‌برند که باعث افزایش تحمل در گیاهان تحت تنش می‌شوند (Gong *et al*., 2003; Guo *et al*., 2006).

در ویژگی‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژی با کاربرد ترکیبات گوگرددار در غلظت‌های مختلف و به‌همراه باکتری بر گیاهان در شرایط مزرعه و خاک آلوده به فلزات سنگین ممکن است تغییر ایجاد شود، که مقاومت به گیاهان در مقابل تنش‌ها را القا کند. با درنظرگرفتن اهمیت ذرت به‌منظور تولید علوفه، در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف ترکیبات گوگرددار به‌همراه باکتری بر رشد، فتوسنتز و ویژگی‌های آناتومیکی و فیزیولوژیکی در گیاه ذرت تحت شرایط خاک آلوده به عناصر سنگین روی و سرب و هم‌چنین امکان کاهش خطر سمیت این عناصر و افزایش رشد نسبت به شاهد در مرحله رشد رویشی بررسی شد.

۳. روش‌شناسی پژوهش

آزمایش در شرایط گلخانه‌ای به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی تحت شرایط دمایی کنترل شده (۲۸–۲۲ درجه سانتی‌گراد) با رطوبت ۶۰–۵۰ درصد، ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی با روشنایی طبیعی (۱۲۰۰۰–۱۰۰۰۰ لوکس) و نور مصنوعی (۱۰۰۰۰–۹۰۰۰ لوکس) در گلخانه دانشگاه زنجان در سال ۱۴۰۰ اجرا شد. آزمایش روی گیاهان ذرت رقم سینگل کراس ۷۰۴ (تهیه‌شده از بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر) اجرا گردید. بعد از تجزیه خاک آلوده جمع‌آوری‌شده از اطراف کارخانه سرب و روی زنجان و تعیین میزان عناصر خاک به‌ویژه فلزات سنگین سرب و روی (جدول ۱) و اضافه‌نمودن ماسه به خاک به‌میزان یک سوم، و هم‌چنین اختلاط خاک‌های موردنظر با تیمارهای مربوطه، خاک گلدان‌ها جهت کشت آماده گردیدند. تیمارهای گوگرد شامل گوگرد عنصری (در سه سطح ۰/۷۵، ۱/۲۵ و ۲ گرم بر کیلوگرم خاک)، بیوگوگرد شامل گوگردعنصری به‌همراه باکتری *تیوباسیلوس* (در سه سطح ۱، ۲ و ۳ گرم بر کیلوگرم خاک) و سولفات‌پتاسیم (در سه سطح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلو گرم خاک) بود. هم‌چنین، شاهد بدون اعمال تیمارها و هم‌چنین خاک آلوده بدون تیمار در نظر گرفته شد.

جدول ۱. خصوصیات شیمیایی خاک‌های استفاده شده در آزمایش

خصوصیات	مقدار	واحد
شن	۳۲	درصد
سیلت	۲۹	درصد
کلی	۳۹	درصد
بافت	لوم رسی	—
تبادل کاتیونی	۴	دسی‌زیمنس بر متر
شاخص واکنش	۸	—
نیتروژن کل	۱/۰	درصد
فسفر قابل‌دسترس	۳۶	میلی‌گرم بر کیلوگرم
پتاسیم قابل‌دسترس	۲۸۷	میلی‌گرم بر کیلوگرم
سولفور	۱۰	میلی‌گرم بر کیلوگرم
روی	۶۰۰	میلی‌گرم بر کیلوگرم
سرب	۱۵۰	میلی‌گرم بر کیلوگرم

سپس بذور در گلدان‌هایی با ارتفاع ۲۰ و قطر ۱۵ سانتی‌متر کشت شدند. در هر گلدان هشت بذر در عمق سه تا چهار سانتی‌متری قرار داده و پس از سبزکردن و استقرار، چهار بوته در هر گلدان نگهداری شد. نمونه‌برداری از گیاهان بعد از

۳۰ روز از اعمال تیمارها در مرحله رشد رویشی (در مرحله هفت برگی قبل از ساقه‌رفتن) جهت اندازه‌گیری صفات صورت گرفت.

صفت‌های موردارزیابی شامل میزان دمای برگ۱ با دماسنج نوری (GM-320) اندازه‌گیری شد. میزان فلورسانس کلروفیلی (کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم۲ (fv/fm)) با استفاده از دستگاه فلورومتر (opti–sciences, OS-30, U.S.A.) به‌دست آمد (Genty *et al*., 1989). سرعت برگ‌دهی[۲]، برحسب ظهور تعداد برگ در واحد زمان (روز) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Warrington & Kanemasu, 1983).

رابطه ۱) سرعت برگ‌دهی = ∑(تعداد برگ / تعداد روزهای بعداز جوانه‌زنی / کل روزهای بعداز جوانه‌زنی)

اندازه‌گیری میزان کلروفیل a و b و کاروتنوئید برگ با استفاده از نیم‌گرم نمونه برگی و ۱۰ میلی‌لیتر استون با جذب در طول موج ۶۴۵، ۶۶۲ و ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل JENWAY6305) صورت گرفت (Lichtenthaler & Wellburn, 1985). مقدار آب نسبی برگ[۳]، با استفاده از ۰/۵ گرم برگ محاسبه شد (Xu *et al*., 2005). محتوای پروتئین کل با روش برادفورد (برحسب میلی‌گرم در گرم وزن‌تر) (Bradford, 1976)، سنجش کاتالاز با اندازه‌گیری سرعت شروع ناپدیدشدن پراکسیداز هیدروژن با استفاده از روش ابی (برحسب میکرومول پراکسیدهیدروژن تجزیه‌شده در دقیقه در هر میلی‌گرم پروتئین) (Aebi H, 1984) سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز با استفاده از روش چانس مهلی (برحسب میکرومول تتراگایاکول مصرف شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) (Chance & Maehly, 1955) و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با روش ارائه‌شده توسط ناکانو و آساد (برحسب مایکرومول NADH مصرف‌شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) (Nakano & Asada, 1981) ارزیابی گردید. تعداد و طول سلول‌های روزنه درپشت و روی برگ[۴]، با میکروسکوپ نوری با درشت‌نمایی ۴۰ و قطر آوند مرکزی[۵]، سلول‌های اسفنجی برگ[۶] و ضخامت برگ[۷] نیز با میکروسکوپ نوری برحسب میکرومتر موردبررسی قرار گرفتند و هم‌چنین سطح برگ[۸] با خط‌کش اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین داده‌های آماری نیز با آزمون چند دامنه‌ای دانکن[۹] انجام شد. برای رسم جدول‌ها از نرم‌افزار Excel 2003 استفاده گردید.

۴. یافته‌های پژوهش

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که مقدار صفات موردبررسی با اعمال تیمارها معنی‌دار شدند (جدول‌های ۲ و ۳). نتایج مقایسات میانگین داده‌ها نیز نشان داد که صفات موردارزیابی در شرایط خاک مزرعه تحت تیمار بیوگوگرد نسبت به دیگر تیمارهای گوگرد عنصری و سولفات‌پتاسیم و هم‌چنین شاهد افزایش نشان دادند، اما در غلظت ۲ گرم گوگرد عنصری و ۱/۵ گرم سولفات‌پتاسیم باعث کاهش شدید و تنش در گیاه شد. در شرایط خاک آلوده صفات موردبررسی در تیمار بیوگوگرد افزایش یافت و در دیگر تیمارهای گوگرد عنصری در غلظت ۲ گرم و سولفات‌پتاسیم در غلظت ۱/۵ گرم و نیز خاک آلوده به فلزات بدون تیمار در صفات موردبررسی کاهش شدید نشان دادند (جدول‌های ۴ و ۵).

1. Leaf temperature
2. Leaf rate
3. RWC
4. adxcial & abaxcial stomata celles noumber & length
5. Central vessel diameter
6. Sponge Cell Diameter
7. Leaf Thickness
8. Leaf Area
9. Duncan's multiple range test

میزان شاخص‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a و b و هم‌چنین میزان فلورسانس کلروفیلی با اعمال تیمارها در خاک مزرعه و هم‌چنین در حضور فلزات سنگین نسبت به شاهد به‌ترتیب ۲۶/۳و ۹/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ و فلورسانس کلروفیل با میزان ۰/۷۳ شاخص جنتی افزایش نشان دادند. که تیمار گوگرد همراه باکتری تیوباسیلوس در سطح ۳ گرم بر کیلوگرم خاک بیش‌ترین میزان در کلروفیل a به میزان ۶۴/۸، کلروفیل b به‌میزان ۲۵/۰۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ و فلورسانس کلروفیلی به‌میزان ۰/۸۶ نسبت به دیگر تیمارها نشان داد، اما این میزان در تیمارهای گوگرد عنصری ۲ گرم و سولفات پتاسیم ۱/۵ گرم در کلروفیل a به‌ترتیب با میزان ۱۹/۹ و ۱۸/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ و کلروفیل b به‌ترتیب ۷/۰۲ و ۶/۷۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ و فلورسانس کلروفیلی نیز به‌ترتیب ۰/۶۳ و ۰/۶۴ نسبت به دیگر تیمارها و شاهد کاهش داشتند (جدول ۴). گیاهان تحت تنش با کاهش تولید مواد غذایی از میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی برگ نیز کاسته شد که در نتیجه آن میزان فلورسانس کلروفیلی نیز کاهش می‌یابد که با نتایج دیگر پژوهش‌گران همخوانی دارد (Kumar *et al*., 2004; El-Jamal & Salwa, 2003; Pallas *et al*., 1967; Seregin & Ivanov, 2001; Ruley *et al*., 2004).

جدول ۲. آنالیز واریانس اثر ترکیبات گوگرد روی ذرت تحت تنش عناصر سنگین

		میانگین مربعات										
منبع تغییرات	درجه آزادی	پروکسیداز	آسکوربات پروکسیداز	کاتالاز	کل پروتئین	دمای برگ	محتوای آب برگ	فلورسانس کلروفیلی	کاروتنوئید	کلروفیل a/b	کلروفیل b	کلروفیل a
تکرار	۲	۰/۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۰۰۱۸۶ ns	۰/۰۰۰۰۳۸۶۴ ns	۲/۲۶۱ ns	۱۰/۶۱۱ **	۳۱/۹۹۹ ns	۰ ns	۱/۲۸۳ ns	۰/۰۲۲ ns	۳/۸۷۱ ns	۱۶/۸۴۳ ns
خاک	۱	۰/۰۰۳ ns	۰/۰۰۰۰۰۸۲۶۶ *	۰/۰۰۰۰۱۱۱۴ ns	۱۸۸/۱۴۱ **	۱/۴۰۸ *	۱۰۹۸/۷۷۸ **	۰/۰۰۲ ns	۳۲/۷۱۵ **	۰/۳۰۱ ns	۳۳/۶۱۲ *	۲۰۵/۹۵۳ **
تیمار	۹	۰/۰۸۵ ns	۰/۰۰۰۰۰۲۰۷۹ ns	۰ *	۱۷/۴۵۹ **	۲/۸۵۶ **	۱۳۲/۱۱۲ **	۰/۰۰۹ **	۴۷/۰۹۶ **	۰/۶۵ **	۱۰۱/۶۶ **	۱۱۴۵/۳۸۶ **
خاک× تیمار	۹	۰/۰۷۸ ns	۰/۰۰۰۰۰۲۳۲۳ ns	۰ ns	۳/۸۶۸ ns	۲/۶۳۴ **	۱۹۹/۶۵۵ **	۰/۰۱۲ **	۴/۷۴ **	۰/۷۷۵ **	۲۲/۴۰۷ **	۱۶۱/۵۱۶ **
خطا	۳۸	۰	۰/۰۰۰۰۰۱۳۱۹	۰	۶/۸۳۴	۰/۳۲۳	۱۱/۶۸	۰/۰۰۲	۱	۰/۱۴۸	۴/۷۶۲	۲۶/۵۳۷
ضریب تغییرات (درصد)	-	۱۵/۷	۵۷/۲	۴۹	۳۹	۶/۲	۵/۵	۱۴	۲۵	۱۳/۵	۲۳/۷	۲۶/۴

تیمار: گوگرد عنصری، گوگرد همراه باکتری و سولفات پتاسیم؛ *، ** و ns: به‌ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار.

جدول ۳. آنالیز واریانس اثر ترکیبات گوگرد روی ذرت تحت تنش عناصر سنگین

		میانگین مربعات								
منبع تغییرات	درجه آزادی	سرعت برگ‌دهی	سطح برگ	قطر آوند مرکزی	ضخامت برگ	قطر سلول‌های اسفنجی	طول سلول روزنه روی برگ	طول سلول‌های روزنه پشت برگ	تعداد سلول‌های روزنه پشت برگ	تعداد سلول‌های روزنه رویی برگ
تکرار	۲	۰ ns	۱۷۴۴/۱۲۹ ns	۰/۴۶۷ ns	۶۰/۰۱۷ ns	۰/۶۱۷ ns	۱/۸۲۲ ns	۶/۱۱۵ ns	۱/۸۰۲ ns	۲۷/۵۹ ns
خاک	۱	۰/۰۷۵ **	۲۰۶۸۷۳/۴۹۶ **	۴۲۱/۳۵ **	۱۴۲۱/۰۶۷ **	۳۳/۷۵ **	۷/۷۸۷ **	۸/۴۱۹ *	۱۰۹/۷۳۶ ns	۳۰۲۷/۴۳۶ **
تیمار	۹	۰/۰۲۲ **	۳۲۵۷۲/۲۶۷ **	۳۰/۴۱۷ **	۷۳۶/۸۹۶ **	۱۳/۷۸۷ **	۲۹/۶۳۶ **	۲۷/۹۴۳ **	۷۷/۲۷۴ *	۷۷/۹۷ *
خاک× تیمار	۹	۰/۰۱۶ **	۱۴۵۳۳/۲۴ **	۱۴/۸۳۱ **	۱۸۵/۴۳۷ **	۳/۱۹۴ **	۵/۶۲۹ **	۲۳/۶۱۲ **	۵۵/۰۷۶ ns	۸۱/۲۶ *
خطا	۳۸	۰/۰	۵۹۶/۱۸۵	۱/۱۳۳	۱۹/۵۴۳	۰/۷۰۴	۱/۵۴۴	۲/۳۸۴	۳۸/۶۲۲	۲۶/۲۴۲
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۰/۵	۳۳	۲۲/۲	۳۵	۲۰/۹	۹/۹	۸	۲۳/۲	۲۱/۸

تیمار: گوگرد عنصری، گوگرد همراه باکتری و سولفات پتاسیم؛ *، ** و ns: به‌ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار.

جدول ٤. مقایسه میانگین اثر ترکیبات گوگرد بر گیاه ذرت تحت فلزات سنگین

خاک	تیمار (گرم بر کیلوگرم خاک)	پروکسیداز (میکرومول تتراگایاکول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین)	آسکوربات پروکسیداز NADH (میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین)	کاتالاز (میکرومول پروکسیدهیدروژن بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین)
شاهد	بدون تیمار	۰/۳۹۷۵ b	۰/۰۰۰۹ b	۰/۰۱۹۸ ab
شاهد	(بیوگوگرد) ۱	۰/۳۶۸۵ b	۰/۰۰۰۸ b	۰/۰۲۱۸ ab
شاهد	(بیوگوگرد) ۲	۰/۳۹۴۱ b	۰/۰۰۰۸ b	۰/۰۱۸ ab
شاهد	(بیوگوگرد) ۳	۰/۳۵۱۱ b	۰/۰۰۰۷ b	۰/۰۱۳۳ b
شاهد	(گوگرد عنصری) ۰/۷۵	۰/۳۸۰۳ b	۰/۰۰۰۷ b	۰/۰۱۶۱ b
شاهد	(گوگرد عنصری) ۱/۲۵	۰/۳۴۷۷ b	۰/۰۰۰۸ b	۰/۰۱۷۸ ab
شاهد	(گوگرد عنصری) ۲	۰/۱۶۶۹ b	۰/۰۰۱۳ b	۰/۰۲۰۱ ab
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۰/۵	۰/۳۹۷ b	۰/۰۰۰۸ b	۰/۰۱۷۸ ab
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۱	۰/۳۹۲۱ b	۰/۰۰۰۷ b	۰/۰۱۵۷ b
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۱/۵	۰/۱۸۱۳ b	۰/۰۰۱۹ b	۰/۰۲۷ ab
آلوده	بدون تیمار	۰/۲۲۳۵ b	۰/۰۰۰۶ b	۰/۰۱۶۴ b
آلوده	(بیوگوگرد) ۱	۰/۵۰۷۴ ab	۰/۰۰۰۶ b	۰/۰۴۱۸ a
آلوده	(بیوگوگرد) ۲	۰/۲۶۵۲ b	۰/۰۰۲۲ b	۰/۰۳۱۲ ab
آلوده	(بیوگوگرد) ۳	۰/۸۶۱۱ a	۰/۰۰۰۶ b	۰/۰۹۸ b
آلوده	(گوگرد عنصری) ۰/۷۵	۰/۲۴۰۳ b	۰/۰۰۴۳ a	۰/۰۱۱۴ b
آلوده	(گوگرد عنصری) ۱/۲۵	۰/۱۷۵۹ b	۰/۰۰۲۲ b	۰/۰۱۱۴ b
آلوده	(گوگرد عنصری) ۲	۰/۳۱۶۹ b	۰/۰۰۱۱ b	۰/۰۱۲۷ b
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۰/۵	۰/۳۲۰۴ b	۰/۰۰۰۹ b	۰/۰۱۲۷ b
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۱	۰/۱۳۸۸ b	۰/۰۰۲۲ b	۰/۰۱۵ b
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۱/۵	۰/۱۸۲۳ b	۰/۰۰۱۹ b	۰/۰۳۳۵ a

حروف نشان‌دهنده تفاوت بین تیمارها می‌باشد. نیکوتین آدنین دی نوکلئوتید هیدروژن= NADH

ادامه جدول ٤. مقایسه میانگین اثر ترکیبات گوگرد بر گیاه ذرت تحت فلزات سنگین

خاک	تیمار (گرم بر کیلوگرم خاک)	دمای برگ (سانتی‌گراد)	محتوای آب برگ (درصد)	فلورسانس کلروفیلی	کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل b/a	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم)
شاهد	بدون تیمار	۲۴/۲ cd	۸۹/۴۰۳ cde	۰/۷۳۳ cde	۵/۷۷ efg	۲/۷۸ abcd	۹/۴۷۴ def	۲۶/۳ cd
شاهد	(بیوگوگرد) ۱	۲۴/۲۷ bcd	۸۹/۲۵ de	۰/ ۷۵۱ bcde	۵/۷۷ efg	۲/۴۱ cde	۱۱/۵۹ cde	۲۷/۷۵ cd
شاهد	(بیوگوگرد) ۲	۲۳/۷۶ cd	۸۹/۲۴ cde	۰/۸۲۹ ab	۱۰/۸۵ b	۲/۱۳ cdef	۱۴/۹۳ bc	۳۱/۸۴ c
شاهد	(بیوگوگرد) ۳	۲۲/۱۸ e	۹۱/۵۳ abcde	۰/۸۶۳ a	۱۲/۶۷ a	۲/۵۸ bcd	۲۵/۰۴۹ a	۶۴/۸۴ a
شاهد	(گوگرد عنصری) ۰/۷۵	۲۴/۱۲ cd	۸۱/۴۶ f	۰/۷۳۹ cde	۶/۲۴ ef	۲/۳۵ cdef	۱۰/۷۸ cdef	۲۵/۰۸ cd
شاهد	(گوگرد عنصری) ۱/۲۵	۲۴/۱۵ cd	۸۳/۰۸ f	۰/۷۹۲ abcde	۸/۴۹ cd	۲/۲۷ cdef	۱۱/۹۲ cd	۲۷/۱۵ cd
شاهد	(گوگرد عنصری) ۲	۲۶/۶۲ a	۷۳/۱۸ g	۰/۶۳۷ f	۵/۱۸ fghi	۲/۸۸۵ abc	۷/۰۲۴ f	۱۹/۹۸ def
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۰/۵	۲۴/۱۷ cd	۸۶/۶۹ ef	۰/۷۴۸ bcde	۵/۹ efg	۲/۲۶ cdef	۱۰/۲۵ def	۲۳/۱۷ cde
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۱	۲۳/۷۱ d	۹۰/۷۶ bcde	۰/۷۸۷ abcde	۸/۷۷ c	۲/۳۰ cdef	۱۱/۹۲ cd	۲۷/۳۸ cd
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۱/۵	۲۶/۵۹ a	۷۰/۴۸ g	۰/۶۴۱ f	۴/۶۱ ghi	۲/۸۱ abcd	۶/۷۴۹ f	۱۸/۳۱ def
آلوده	بدون تیمار	۲۵/۳۷ b	۷۲/۳ g	۰/۷۳۴ cde	۱/۷۳ j	۱/۸۱ ef	۷/۵۷ ef	۱۱/۱ f
آلوده	(بیوگوگرد) ۱	۲۴/۶۷ bcd	۹۶/۱۷ ab	۰/۷۱۷ def	۵/۷۷ efg	۲/۰۸ def	۱۲/۱۸ cd	۲۵/۵۴ cd
آلوده	(بیوگوگرد) ۲	۲۴/۴۳ bcd	۹۶/۴۲ ab	۰/۷۲۶ cde	۱۰/۲۱ b	۳/۱۷ ab	۱۶/۲۲۱ b	۵۰/۵۵ b
آلوده	(بیوگوگرد) ۳	۲۴/۵۱ bcd	۹۵/۱۸ abcd	۰/۷۷۴ bcde	۱۲/۳ a	۳/۴۶ a	۱۶/۳۷۶ b	۵۶/۷۶ ab
آلوده	(گوگرد عنصری) ۰/۷۵	۲۴/۵۲ bcd	۹۷/۵۱ a	۰/۷۲۹ cde	۳/۶ i	۲/۲۱ cdef	۷/۱۳ f	۱۴/۰۸ ef
آلوده	(گوگرد عنصری) ۱/۲۵	۲۴/۸۹ bc	۹۵/۹۱ abc	۰/۷۶۶ bcde	۷/۱۵ de	۲/۵۴ bcde	۱۲/۲۴ cd	۳۱/۱۴ c
آلوده	(گوگرد عنصری) ۲	۲۴/۴۹ bcd	۹۴/۸۲ abcd	۰/۷۱۱ def	۵/۴۷ fgh	۲/۷۸ abcd	۷/۵۸۷ ef	۲۰/۹۸ de
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۰/۵	۲۴/۶۵ bcd	۹۵/۷۹ abcd	۰/۷۱۳ def	۴ hi	۱/۶ f	۶/۷۴۹ f	۱۰/۸۸ f
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۱	۲۴/۵۱ bcd	۹۲/۷۵ abcde	۰/۷۳۳ cde	۴/۱۹ hi	۲/۰۷ def	۶/۹۲۵ f	۱۴/۵۳ ef
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۱/۵	۲۴/۷۹ bcd	۹۳/۹۲ abcd	۰/۷۱۵ def	۵ fghi	۱/۶۴ f	۱۱/۷۴۸ cd	۱۹/۲ def

حروف نشان‌دهنده تفاوت بین تیمارها می‌باشد. نیکوتین آدنین دی نوکلئوتید هیدروژن= NADH

در حضور فلزات سنگین میزان فلورسانس کلروفیلی و کلروفیل a و b نسبت به شاهد کاهش یافتند، اما با اعمال تیمارها میزان این صفات نسبت به تیمار خاک آلوده و شاهد افزایش یافت. در تیمار گوگرد همراه با باکتری این افزایش بیش‌تر بود (جدول ۴). مقدار RWC در تیمار گوگرد با باکتری تیوباسیلوس در مقدار ۳ گرم بر کیلوگرم خاک مزرعه با بهبود شرایط رشد گیاه نسبت به شاهد و دیگر تیمارهای اعمال‌شده با مقدار ۹۱/۵ درصد بیش‌ترین مقدار را داشت. اما در خاک آلوده در تیمار گوگرد عنصری ۰/۷۵ گرم بر کیلوگرم خاک نسبت به شاهد با مقدار ۹۷/۵ درصد بالاترین مقدار را نشان داد، اما این افزایش احتمالاً به‌دلیل بستن روزنه‌ها و در نتیجه حفظ آب که گیاه تحت تنش قرار دارد، باشد. اما در تیمار گوگرد همراه باکتری تیوباسیلوس سطح ۲ گرم بر کیلوگرم در خاک آلوده نیز سطح RWC بالایی نسبت به شاهد و دیگر تیمارها اعمال شد بر گیاهان تحت تنش نشان داد (جدول ۴). میزان دمای برگ با محتوای آب برگ رابطه معکوس دارد با کاهش مقدار آب برگ، دمای برگ افزایش نشان داد. در گیاهان تحت سمیت فلزات دمای برگ بالایی داشتند اما با اعمال تیمار و بهبود شرایط گیاه این مقدار کاهش نشان داد و به شرایط دمایی نرمال گیاهان بدون تنش رسید. که در تیمار گوگرد همراه باکتری تیوباسیلوس سطح ۲ گرم بر کیلوگرم خاک آلوده به فلزات و در خاک مزرعه نیز در سطح ۳ گرم بر کیلوگرم خاک کم‌ترین میزان دمای برگ به‌ترتیب ۲۴/۴ و ۲۲/۱۸ سانتی‌گراد و بیش‌ترین مقدار آب نسبت به دیگر تیمارها نشان دادند (جدول ۴). مقدار پروتئین کل با اعمال تیمار گوگرد همراه باکتری تیوباسیلوس در شرایط خاک مزرعه نسبت به شاهد و دیگر تیمارهای اعمال شده تا ۸۰ درصد افزایش یافت، اما آنزیم‌های اندازه‌گیری‌شده در همین تیمار مانند کاتالاز، آسکوربات‌پروکسیداز و پروکسیداز نسبت به شاهد تا ۲۰ درصد کاهش نشان دادند. از طرفی تیمارهای گوگرد عنصری و سولفات‌پتاسیم به‌ترتیب در سطوح ۲ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم خاک مقدار پروتئین کل، آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات‌پروکسیداز نسبت به شاهد افزایش یافتند اما میزان پروکسیداز کاهش یافت (جدول ۴). تحت شرایط خاک آلوده نیز مقدار پروتئین کل با ۸/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ نسبت به شاهد افزایش یافت اما میزان آنزیم‌های اندازه‌گیری‌شده نسبت به شاهد افزایشی نداشتند. با اعمال تیمارها مقدار پروتئین کل و آنزیم پروکسیداز نسبت به شاهد و تیمار خاک آلوده تا ۱۵۰ درصد افزایش نشان دادند. اما آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات‌پروکسیداز نسبت به شاهد و خاک آلوده کاهش یافتند. نتایج پژوهش‌های Lou *et al.* (2017) نیز با نتایج به‌دست‌آمده مشابه می‌باشد (Lou *et al*., 2017) (جدول ۴). میزان کاروتنوئید اندازه‌گیری‌شده در خاک آلوده ۱/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ نسبت به شاهد ۵/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ کاهش یافت اما با اعمال تیمارها این میزان در تمام تیمارهای گوگرد همراه باکتری هم در خاک مزرعه و هم در خاک آلوده نسبت به شاهد تا دو برابر افزایش نشان داد، اما در تیمار گوگرد عنصری و سولفات‌پتاسیم با افزایش غلظت تیمارها میزان کاروتنوئید کاهش یافت. پژوهش‌گران دیگر گزارش کرده‌اند که گوگرد همراه باکتری میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و اسمولیت‌ها را در شرایط تنش بالا می‌برند که باعث افزایش تحمل در گیاهان تحت تنش می‌شوند (Gong *et al*., 2003; Guo *et al*., 2006) (جدول ۴).

تعداد سلول‌های روزنه‌ای پشت و روی برگ تحت شرایط تیمارها نسبت به شاهد تا ۱۰ درصد افزایش نشان دادند که در تیمارهای گوگرد همراه با باکتری تیوباسیلوس این افزایش تعداد بیش‌تر بود، اما در تیمارهای گوگرد عنصری و سولفات‌پتاسیم با افزایش غلظت تعداد این سلول‌ها نسبت به شاهد کاهش نشان دادند (جدول ۵).

از طرفی در خاک آلوده به فلزات سنگین تعداد سلول‌های اندازه‌گیری‌شده در پشت و روی برگ به‌ترتیب ۳۴/۲ و ۷۴/۴ می‌باشند و نسبت به شاهد که به‌ترتیب ۳۹/۸۵ و ۸۳/۹۱ می‌باشد، کاهش یافتند. با اعمال تیمارها تحت شرایط خاک آلوده تعداد سلول‌های روی برگ تنها در تیمار گوگرد عنصری سطح ۲ گرم نسبت به تیمار خاک آلوده، افزایش در دو واحد نشان داد، اما در سلول‌های پشت برگ هم در تیمار گوگرد همراه با باکتری تیوباسیلوس و هم در تیمار سولفات‌پتاسیم غلظت ۰/۵ گرم در کیلوگرم خاک نسبت به خاک آلوده تا ۳۰ درصد افزایش یافت (جدول ۵).

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر ترکیبات گوگرد بر گیاه ذرت تحت فلزات سنگین

خاک	تیمار (گرم بر کیلوگرم خاک)	سرعت برگ‌دهی (تعداد برگ در روز)	سطح برگ (سانتی‌متر مربع)	قطر آوند مرکزی (میکرومتر)	ضخامت برگ (میکرومتر)
شاهد	بدون تیمار	۰/۴۱۳ ef	۴۱۶/۲۳ a	۲۰ ef	۹۴/۳۳ efg
شاهد	(بیوگوگرد) ۱	۰/۴۴۹ d	۴۲۱/۸ a	۲۳/۳۳ c	۹۸ def
شاهد	(بیوگوگرد) ۲	۰/۵۴۵ b	۴۲۴/۵ a	۲۵/۳۳ b	۱۰۶/۳۳ bc
شاهد	(بیوگوگرد) ۳	۰/۷۰۹ a	۴۶۲/۶ a	۲۹ a	۱۲۲/۶۶ a
شاهد	(گوگرد عنصری) ۰/۷۵	۰/۴۴۷ d	۴۱۹/۱ a	۲۱/۳۳ de	۹۶/۳۳ def
شاهد	(گوگرد عنصری) ۱/۲۵	۰/۴۸۹ c	۴۲۰/۶ a	۲۲/۳۳ cd	۱۰۳/۳۳ cd
شاهد	(گوگرد عنصری) ۲	۰/۳۲۳ h	۲۰۹/۴۳ efgh	۱۸ gh	۷۶/۳۳ i
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۰/۵	۰/۴۴۲ de	۴۱۸/۳۶ a	۲۲/۶ cd	۹۶/۳۳ def
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۱	۰/۴۹۶ c	۴۲۰/۷۶ a	۲۲/۶ cd	۱۰۴/۳۳ bcd
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۱/۵	۰/۳۱۹ h	۱۹۰/۰۶ gh	۱۷/۶۶ gh	۷۸/۳۳ hi
آلوده	بدون تیمار	۰/۳۷۴ g	۱۶۴/۸۸ h	۱۷/۶۶ gh	۸۵ h
آلوده	(بیوگوگرد) ۱	۰/۳۷۸ g	۲۷۸/۵۸ cd	۱۷ ghi	۹۴ fg
آلوده	(بیوگوگرد) ۲	۰/۳۹۷ fg	۳۶۱/۷ b	۱۸ gh	۱۰۲/۳۳ cde
آلوده	(بیوگوگرد) ۳	۰/۴۱۹ def	۴۲۱/۸ a	۲۱ de	۱۱۱/۶۶ b
آلوده	(گوگرد عنصری) ۰/۷۵	۰/۳۹۲ fg	۲۳۷/۵ def	۱۵/۳۳ ijk	۷۹/۶۶ hi
آلوده	(گوگرد عنصری) ۱/۲۵	۰/۳۹۸ fg	۳۰۴/۰۸ c	۱۶ hijk	۸۰/۶۶ hi
آلوده	(گوگرد عنصری) ۲	۰/۳۸۸ fg	۲۴۵/۱۵ de	۱۶/۶ ghij	۸۱ hi
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۰/۵	۰/۳۹۳ fg	۲۲۱/۶۳ efg	۱۴/۳۳ k	۷۸/۶۶ hi
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۱	۰/۳۸۷ fg	۱۹۸/۸۵ fgh	۱۵ jk	۷۹/۳۳ hi
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۱/۵	۰/۳۹۸ fg	۱۹۴/۹۸ fgh	۱۸/۳۳ fg	۸۶/۶۶ gh

حروف نشان‌دهنده تفاوت بین تیمارها می‌باشد.

ادامه جدول ۵. مقایسه میانگین اثر ترکیبات گوگرد بر گیاه ذرت تحت فلزات سنگین

خاک	تیمار (گرم بر کیلوگرم خاک)	قطر سلول‌های اسفنجی (میکرومتر)	طول سلول روزنه رویی برگ (میکرومتر)	طول سلول روزنه پشت برگ (میکرومتر)	تعداد سلول روزنه پشت برگ (تعداد در میلی‌مترمربع سطح برگ)	تعداد سلول روزنه رویی برگ (تعداد در میلی‌مترمربع سطح برگ)
شاهد	بدون تیمار	۱۷/۳۳ efg	۳۱/۸ ghi	۳۱/۸ cdef	۳۹/۸ abcd	۸۳/۹۱ ab
شاهد	(بیوگوگرد) ۱	۱۸/۶۶ bcde	۳۲/۵ fghi	۳۲/۸ cde	۳۸/۹ bcd	۸۵/۱۷ ab
شاهد	(بیوگوگرد) ۲	۱۹/۳۳ bc	۳۵/۶ bc	۳۴/۵ bc	۴۱/۹ abcd	۸۶/۴۷ a
شاهد	(بیوگوگرد) ۳	۲۲ a	۳۸/۵ a	۳۹/۲ a	۴۲/۸ abcd	۸۷/۰۴ a
شاهد	(گوگرد عنصری) ۰/۷۵	۱۸/۳۳ cde	۳۳/۴ cdefgh	۳۲/۷ cde	۳۷/۵ bcd	۸۴/۸۴ ab
شاهد	(گوگرد عنصری) ۱/۲۵	۱۹ bcd	۳۴/۶ bcdef	۳۳/۷ cd	۳۸/۹ bcd	۸۴/۸۴ ab
شاهد	(گوگرد عنصری) ۲	۱۶ gh	۳۰/۴ h	۳۰/۱ ef	۳۴/۷ cd	۷۲/۳ cd
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۰/۵	۱۷/۶۶ def	۳۲/۳ fghi	۳۱/۳ def	۴۱/۳ abcd	۸۵/۸۴ a
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۱	۱۹/۳۳ bc	۳۳/۵ bcdefgh	۳۳ cde	۴۳/۷ abcd	۸۶/۳۶ a
شاهد	(سولفات پتاسیم) ۱/۵	۱۵/۶۶ h	۳۰/۵ h	۲۹/۲ f	۳۳/۱ d	۷۳/۶۴ cd
آلوده	بدون تیمار	۱۶ gh	۳۳/۱ defgh	۳۱/۲ def	۳۴/۲ cd	۷۴/۴۷ cd
آلوده	(بیوگوگرد) ۱	۱۸ cdef	۳۱/۲ hi	۳۶/۸ ab	۴۱/۲ abcd	۶۸/۱۷ cde
آلوده	(بیوگوگرد) ۲	۱۸/۶۶ bcde	۳۵/۴ bcd	۲۹/۳ f	۴۸/۵ ab	۷۴/۴۷ cd
آلوده	(بیوگوگرد) ۳	۲۰ b	۳۸/۹ a	۳۱/۲ def	۴۶/۱ abc	۶۵/۳۸ de
آلوده	(گوگرد عنصری) ۰/۷۵	۱۶ gh	۳۲/۷ efgh	۳۱/۲ def	۴۵/۱ abcd	۶۸/۱۷ cde
آلوده	(گوگرد عنصری) ۱/۲۵	۱۵/۶۶ h	۳۴/۱ bcdefg	۳۸/۷ a	۳۸/۸ bcd	۶۸/۱۷ cde
آلوده	(گوگرد عنصری) ۲	۱۶ gh	۳۰/۶ h	۳۰ ef	۴۰/۳ abcd	۷۶/۰۴ bc
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۰/۵	۱۵/۶۶ h	۳۵ bcde	۳۱/۲ def	۵۱/۳ a	۶۸/۱۷ cde
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۱	۱۵/۶۶ h	۳۳/۷ bcdefg	۳۰ ef	۳۴/۷ cd	۶۵/۰۳ de
آلوده	(سولفات پتاسیم) ۱/۵	۱۶/۶۶ fgh	۳۵/۸ b	۳۱/۲ def	۳۹/۵ abcd	۶۰/۳۱ e

حروف نشان‌دهنده تفاوت بین تیمارها می‌باشد.

طول سلول‌های روزنه پشت و روی برگ و قطر سلول‌های اسفنجی نیز با اعمال تیمارها نسبت به شاهد افزایش یافت و تنها در تیمار گوگرد همراه باکتری تیوباسیلوس سطح ۳ گرم بر کیلوگرم خاک، با بیش‌ترین افزایش تا ۲۰ درصد نسبت به شاهد بود. تحت شرایط خاک آلوده طول سلول‌های روزنه‌ای پشت و روی برگ به‌ترتیب با طول ۳۱/۲۵ و ۳۳/۱۲ میکرومتر و قطر سلول‌های اسفنجی با ۱۶ میکرومتر نسبت به شاهد کاهش یافتند. اما تحت شرایط خاک آلوده با اعمال تیمارها با کاهش اثرات سمیت فلزات، طول این سلول‌ها افزایش یافتند که این افزایش طول در تیمار گوگرد همراه باکتری تیوباسیلوس در سطح ۳ گرم بر کیلوگرم بیش‌تر بود (جدول ۵). ضخامت برگ و قطر آوند مرکزی در خاک مزرعه تحت تیمارها نسبت به شاهد افزایش نشان دادند که در تیمار گوگرد همراه با باکتری این افزایش بیش‌تر بود. Hasanuzzaman *et al*. (2018) گزارش کردند که محتوای کم گوگرد رشد گیاه را تسهیل می‌کند در حالی‌که محتوای بالای گوگرد مانع جذب نیتروژن توسط گیاه می‌شود که موجب کاهش تولید محصول می‌گردد در این پژوهش نیز در تیمارهای گوگرد عنصری و سولفات‌پتاسیم در غلظت‌های پایین موجب افزایش طول سلول‌ها نسبت به شاهد گردید و از طرفی با افزایش غلظت تیمارها در ضخامت برگ با کاهش ۲۰ درصد و قطر آوند مرکزی با کاهش ۱۰ درصد نسبت به شاهد روبرو شدند (Hasanuzzaman *et al*., 2018). تحت شرایط خاک آلوده ضخامت برگ با ۸۵ میکرومتر و قطر آوند مرکزی با ۱۷/۶ میکرومتر نسبت به شاهد به‌ترتیب با ۹۴/۳ و ۲۰ میکرومتر کاهش یافت. با اعمال تیمارها تنها در تیمار گوگرد همراه باکتری تیوباسیلوس نسبت به تیمار خاک آلوده، ضخامت برگ تا ۲۰ درصد و قطر آوند مرکزی تا ۱۵ درصد افزایش یافت و در دیگر تیمارهای اعمال‌شده افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار خاک آلوده نشان ندادند (جدول ۵). سطح برگ متأثر از اثر تیمارها و خاک آلوده نسبت به شاهد قرار گرفت. سطح برگ تحت تیمار گوگرد همراه باکتری در سطح سه گرم بر کیلوگرم خاک بیش‌ترین افزایش سطح برگ نسبت به شاهد داشت. همان‌طور که ذکر شد تیمارهای گوگرد و سولفات‌پتاسیم در غلظت‌های پایین باعث افزایش رشد می‌شوند در اینجا نیز در سطوح پایین غلظت موجب افزایش سطح برگ نسبت به شاهد شدند و هم‌چنین در سطوح بالا غلظت سطح برگ کاهش یافت (Hasanuzzaman *et al*., 2018). در خاک آلوده نیز سطح برگ کاهش ۳۵ درصدی نسبت به شاهد نشان داد. با اعمال تیمارها، در تیمار سه گرم گوگرد همراه با باکتری تیوباسیلوس بیش‌ترین افزایش سطح برگ با ۴۲۱/۸ سانتی‌مترمربع نسبت به تیمار خاک آلوده با ۱۶۴/۸ سانتی‌مترمربع نشان داد (جدول ۵).

ظهور برگ‌ها بر واحد روز نیز متأثر از اعمال تیمارها قرار گرفت، در تیمار گوگرد همراه باکتری *تیوباسیلوس* در غلظت ۳ گرم بر کیلوگرم خاک بیش‌ترین سرعت برگ‌دهی نسبت به شاهد و دیگر تیمارهای اعمال شده داشت. اما در غلظت‌های بالای گوگرد عنصری و سولفات‌پتاسیم همانند دیگر صفات مذکور سرعت برگ‌دهی نیز نسبت به شاهد و دیگر سطوح تیمار ترکیبات گوگرددار کاهش یافت. Wang & Xu (2013) گزارش کردند که گیاهان متأثر از گوگرد رشد و تجمع ماده خشک بیش‌تری داشتند (Wang & Xu, 2013). تحت شرایط خاک آلوده سرعت برگ‌دهی با کاهش ۱۰ درصدی نسبت به شاهد قرار گرفت. اما با اعمال تیمارها تحت شرایط خاک آلوده میزان سرعت برگ‌دهی در تیمار گوگرد همراه باکتری با ۰/۴۱۹ برگ در روز بیش‌ترین تعداد برگ در روز نسبت به شاهد با ۰/۴۱۳ و تیمار خاک آلوده با ۰/۳۷۴ برگ در روز داشت. اما دیگر تیمارها، گوگرد عنصری و سولفات‌پتاسیم تحت شرایط خاک آلوده در تمام سطوح اعمال‌شده افزایش چشم‌گیری نسبت به تیمار خاک آلوده نداشتند (جدول ۵).

۵. بحث

میزان جذب و تجمع بحرانی فلزات سنگین سرب و روی در گیاهان به‌ترتیب در محدوده ۲۰-۱۰ و ۴۰۰-۱۰۰

میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک می‌باشد که گیاه دچار خسارت و کاهش رشد می‌گردد (Vecera *et al*., 1999; Alloway, 1995). گیاهانی که در حضور فلزات سنگین رشد می‌کنند با جذب این فلزات که غیرضرور هستند صفات فیزیولوژیک را متأثر می‌کنند و در نتیجه آن میزان رشد، عملکرد و کیفیت محصول جهت تغذیه کاهش می‌دهند. صفات فیزیولوژیکی مانند دمای برگ، محتوای آب برگ، فلورسانس کلروفیلی، میزان کلروفیل‌های a و b و کاروتنوئید کاهش می‌یابند و هم‌چنین سیستم دفاعی آنزیمی و غیرآنزیمی گیاه فعال می‌گردد و از طرفی صفات مورفولوژیکی مانند تعداد و طول سلول‌های رو و پشت برگ، قطر آوند مرکزی و سلول‌های اسفنجی برگ، ضخامت و سطح برگ و سرعت برگ‌دهی را متأثر می‌کنند. در این پژوهش نیز در خاک آلوده به فلزات سنگین میزان صفات مورفولوژی و فیزیولوژی مذکور کاهش یافتند. فلزات سنگین با تحریک تشکیل رادیکال‌های آزاد و گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در گیاه سبب تغییراتی در لیپیدهای غشای سلولی می‌شوند که موجب اختلال در ساختار غشای سلولی و ناپایدارشدن غشای سلولی می‌شود و در نهایت منجر به تخریب کلروفیل و کاهش سنتز کلروفیل و کاروتنوئید می‌گردند، که نخستین واکنش فیزیولوژیکی گیاهان به شرایط نامساعد محیطی غیرفعال‌شدن یا کاهش شدید فعالیت دستگاه فتوسنتزکننده می‌باشد که توسط برخی پژوهش‌گران گزارش شده است (Andra *et al*., 2010; Singh *et al*., 2010). فلورسانس کلروفیلی تحت تنش‌های اعمال‌شده تا ۱۵ درصد کاهش نشان داد. فلزات سنگین با تغییر ساختار غشای کلروپلاست و تخریب مرکز واکنش فتوسیستم۲، انتقال الکترون‌ها را متأثر می‌کند، بنابراین واکنش‌های وابسته به نور فتوسنتز را تخریب می‌کند که موجب متأثر شدن کلروفیل فلورسانس می‌گردد (Ventrella *et al*., 2009). دمای برگ نیز در حضور این فلزات متأثر شد و افزایش یافت. تبخیر آب باعث تعدیل در دمای برگ می‌شود، در حضور فلزات سنگین جذب آب توسط گیاه کاهش می‌یابد، روزنه‌ها بسته می‌شوند و نیز تعرق کاهش می‌یابد و در نتیجه آن موجب افزایش دمای برگ می‌گردد (Pallas *et al*., 1967; Seregin & Ivanov, 2001). از طرفی تخریب غشای کلروپلاستی و آسیب رسیدن به انتقال فوتون‌های جذب‌شده از آنتن‌ها به مرکز واکنش مانند غیرفعال‌شدن بخشی از مرکز واکنش فتوسیستم۲ و افزایش پراکنش انرژی نورانی جذب‌شده به‌صورت گرما نیز می‌تواند باعث افزایش دمای برگ شود (Muller *et al*., 2001; Schreiber *et al*., 1998;Yamane, 1997). تعداد و طول سلول‌های روزنه‌ای برگ، قطر آوند مرکزی و قطر سلول اسفنجی برگ، ضخامت و سطح برگ و سرعت برگ‌دهی گیاه به‌عنوان صفات مورفولوژیک در حضور فلزات سنگین و متأثر از اختلال در صفات فیزیولوژیک، کاهش یافتند. ROSهای تولیدشده در نتیجهٔ تنش، موجب انواع آثار مضر در سلول های گیاهی مانند آسیب به غشای سلولی، تخریب دستگاه فتوسنتزی و ممانعت از فعالیت‌های فتوسنتزی، جلوگیری از تولید ATP و آسیب به DNA می‌گردد (Ruley *et al*., 2004; Reddy *et al*., 2005)، در نتیجه آن موجب کاهش رشد و تقسیم سلول‌ها در گیاه و سرعت برگ‌دهی می‌شوند.

سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی در گیاهان مانند میزان پروتئین کل و آنزیم‌های کاتالاز، پروکسیداز، آسکوربات پروکسیداز و سوپراکسید دیسمیوتاز تحت تنش افزایش می‌یابند. بررسی پژوهش‌گران نشان داد که گیاهان در معرض تنش با همکاری آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، چرخه‌های گلوتاتیون–آسکوربات، مهلر و گزانتوفیل به‌وجود می‌آورند که مانع از تولید انواع اکسیژن فعال می‌شود و یا آن‌ها را به‌طور کامل احیا و به آب تبدیل می‌کند (مزارعی و همکاران، ۱۳۹۸; Esfandiari *et al*., 2008). گیاهان در معرض تنش‌های محیطی، پروتئین‌های تنش یا پروتئین‌های شوک حرارتی را سنتز می‌کنند در این آزمایش بالابودن پروتئین کل احتمالاً به این دلیل باشد (Sanita & Gabrielli., 1999; Srivastava *et al*., 2004). اما آنزیم‌های مذکور نیز در

شرایط تنش به‌عنوان جاروب‌کننده اکسیدان‌ها در گیاه سنتز می‌شوند (Knight & Knight, 2001). میزان آنزیم‌های اندازه‌گیری‌شده در این آزمایش در حضور فلزات سنگین نسبت به شاهد کاهش نشان داد شاید به این دلیل باشد که گیاه از دیگر آنزیم‌ها جهت جاروب اکسیدان‌های تولیدشده استفاده می‌کند.

گوگرد به‌عنوان چهارمین عنصر ضروری برای گیاهان و با حالت اسیدزا بودن در خاک باعث افزایش حلالیت عناصر غذایی میکرو در خاک و قابل‌دسترس‌شدن عناصر برای گیاهان می‌شود. گوگرد در غلظت‌های پایین در تشکیل پروتئین‌ها، افزایش محتوای کلروفیل برگ، افزایش شاخص سطح برگ و در نهایت تولید ماده خشک را افزایش می‌دهد. در این آزمایش سولفات‌پتاسیم و گوگرد عنصری در غلظت‌های کم با بهبود شرایط صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک بررسی‌شده موجب بهترشدن وضعیت رشدی گیاه گردیدند. باکتری تیوباسیلوس موجود در خاک باعث افزایش سرعت اکسایش در خاک می‌شود، باکتری همراه با گوگرد عنصری، اکسایش این عنصر را افزایش می‌دهد و با تولید اسید محلول سولفید، موجب افزایش انحلال عناصر غذایی مفید در خاک می‌شود. در این آزمایش نیز گوگرد همراه باکتری تیوباسیلوس موجب افزایش میزان شاخص‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک موردبررسی در گیاه شد. در نتیجه باعث بهبود رشد گیاه بهتر از تیمارهای گوگرد عنصری و سولفات‌پتاسیم گردید.

گوگرد نقش محافظتی در برابر تنش‌ها در گیاهان دارد و باعث افزایش تحمل گیاهان به تنش می‌شود در حقیقت گوگرد بخشی از ترکیبات متعدد دفاعی نظیر گلوتاتیون و کلاتین‌ها می‌باشد. در حضور فلزات سنگین گوگرد با بیان ژن‌های درگیر در بیوسنتز گلوتاتیون و پلی‌کلاتین‌ها موجب بهبود وضعیت اکسیداتیو می‌شوند و هم‌چنین با کلاته‌کردن این فلزات در واکوئل باعث کاهش خطر سمیت این فلزات در سلول‌های گیاهی می‌شوند. Kulczycki & Scala (2020) گزارش کردند که گوگرد نقش اساسی در سمیت‌زدایی سلولی در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین دارد (Kulczycki & Scala, 2020). بررسی محققین نشان داد که اعمال گوگرد، میزان فتوسنتز را به‌وسیله بیان ژن‌های پروتئین‌های استروما و تیلاکوئید افزایش می‌دهد و جریان استرومایی را نسبت به تنش فلزات سنگین استوار می‌کند (Asgher *et al*., 2014; Khan *et al*., 2015). در این پژوهش نیز صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک اندازه‌گیری‌شده نشان دادند که گوگرد عنصری و سولفات‌پتاسیم در غلظت‌های کم، گیاه را در حضور فلزات سنگین محافظت می‌کنند و با کاهش تنش و سمیت در گیاه رشد گیاه را بهبود می‌بخشند. براساس گزارش پژوهش‌گران، گوگرد همراه باکتری میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و اسمولیت‌ها را در شرایط تنش بالا می‌برند که باعث افزایش تحمل در گیاهان تحت تنش می‌شوند. در این پژوهش نیز گوگرد همراه باکتری تیوباسیلوس مقدار پروتئین کل و آنزیم‌های کاتالاز، پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز و هم‌چنین کاروتنوئید را در حضور فلزات سنگین بالا برد و باعث کاهش اکسیدانت‌ها در سلول‌های گیاه شدند. در نتیجه خطر سمیت را در گیاه کاهش می‌دهند و در نهایت وضعیت رشدی گیاه بهبود می‌یابد.

۶. نتیجه‌گیری و پیشنهادها

ترکیبات گوگرددار با اسیدی‌کردن محلول خاک میزان حلالیت عناصر در خاک افزایش می‌دهند و موجب جذب عناصر توسط گیاه می‌شوند. از طرفی گوگرد همراه باکتری، اسیدی‌شدن خاک را تسریع می‌کنند و باعث حلالیت و جذب بیش‌تر عناصر و هم‌چنین بهبود رشد گیاه نسبت به ترکیبات گوگرد دار بدون باکتری می‌شوند. در حضور فلزات سنگین نیز ترکیبات گوگرددار باعث کاهش خطر سمیت این فلزات در گیاه می‌شوند. گوگرد همراه باکتری نیز با افزایش فعالیت سیستم دفاعی گیاه موجب سمیت‌زدایی در سلول‌های گیاه و تحمل گیاه نسبت به تنش شد. نتایج نشان داد که گوگرد همراه باکتری نسبت به دیگر ترکیبات گوگردی، رشد و تحمل به تنش را در گیاه بالا می‌برد و موجب افزایش بیوماس و عملکرد علوفه می‌گردد.

۷. تشکر و قدردانی

از زحمات اساتید و کارکنان محترم گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان که در انجام این مهم یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۹. منابع

صارمی‌راد، بابک؛ اسفندیاری، عزت‌اله؛ شکرپور، مجید؛ سفالیان، امید؛ آوانس، آرمن و موسوی، سیدبهمن (۱۳۹۰). تأثیر کادمیوم بر برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گندم در مرحله گیاهچه‌ای. *مجله پژوهش‌ها گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)*. ۲۷ (۱)، ۴۷- ۵۸.

مزارعی، ایوب، موسوی نیک، سید، محسن، قنبری، احمد، فهمیده، لیلا (۱۳۹۸). اثر محلول‌پاشی دی اکسید تیتانیوم بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) تحت تنش خشکی. *تنش‌های محیطی در علوم زراعی*. ۱۲ (۲)، ۵۳۹-۵۵۳.

References

Adrees, M., Ali S., Rizwan, M., Ibrahim, M., Abbas, F., Farid, M., Zia-ur-Rehman, M., Irshad, M. K., & Bharwana, S. A. (2015). The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*, 8148-8162.

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymologist*, *1105*, 121-126.

Allakhverdiev, S. I., Sakamoto, A., Nishiyama, Y., Inaba, M., & Murata, N. (2000). Ionic and osmotic effects of NaCl induced inactivation of Photosystems I and II in *Synechococcus* sp. *Plant Physiology*, *123*(3), 1047-1056. https://doi.org/10.1104/pp.123.3.1047.

Alloway, B. J. (1995). *Heavy metal in soils*. London: Blackie Academic and Profesional Press.

Amari, T., Ghnaya, T., & Abdelly, C. (2017). Nickel, cadmium and lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction. *South African Journal of Botany*, *111*, 99-110. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.011.

Andra, S. S., Datta, R., Sarkar, D., Makris, K. C., Mullens, C. P., Sahi, S. V., & Bach, S. B. H. (2010). Synthesis of phytochelatins in vetiver grass upon lead exposure in the presence of phosphorus. *Plant Soil*, *326*, 171–185.

Anjum, N. A., Umar, S., Ahmad, A., Iqbal, M., & Khan, N. A. (2008). Sulphur protects mustard (*Brassica campestris* L.) from cadmium toxicity by improving leaf ascorbate and glutathione. *Plant Growth Regul*, *54*, 271-279.

Arif, N., Yadav, V., Singh, S., Singh, S., Ahmad, P., Mishra, R. K., Sharma, S., Tripathi, D. K., Dubey, N. K., & Chauhan, D. K. (2016). Influence of high and low levels of plant-beneficial heavy metal ions on plant growth and development. *Frontiers in nvironmental Science*, *4*, 69. https://doi.org/10.3389/fenvs.2016.00069.

Arshad, T., Maqbool, N., Javed, F., Wahid, A., & Arshad, M. U. (2017). Enhancing the defensive mechanism of lead affected barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes by exogenously applied salicylic acid. *Journal of Agricultural Science*, *9*, 139-146.

Asgher, M., Khan, N. A., Khan, M. I. R., Fatma, M., & Masood, A. (2014). Ethylene production is associated with alleviation of cadmiuminduced oxidative stress by sulfur in mustard types differing in ethylene sensitivity. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *106*, 54-61.

Baker, N. R. (2008). Chlorophyll fluorescence: A probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Physiology*, *59*, 89-113.

Bashir, H., Ibrahim, M. M., Bagheri, R., Ahmad, J., Arif, I. A., Baig, M. A., & Qureshi, M. I. (2015). Influence of sulfur and cadmium on antioxidants, phytochelatins and growth in Indian mustard. *AoB Plants*, *12*(7), plv001. doi:10.1093/aobpla/plv001.

Bharwana, S. A. (2015). The effect of excess copper on growth and physiology of important food crops: A review. *Environmental Science and Pollution Research*, *22*, 8148-8162.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry Methods in the Biological Sciences*, *72*, 248-254.

Chance, B., & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymologist*, *11*, 764-755.

El-Jamal, M., & Salwa, A. R. H. (2003). Counteracting the deleterious effects of lead and cadmium on tomato plants by using yeast, garlic and eucalyptus extracts. *Minufiya Journal. Agricultural Research*, *28*(3), 737-755.

Esfandiari, E., Shakiba, M. R., Mahboob, S. A., Alyari, H., & Shahabivand, S. (2008). The Effect of Water Stress on the Antioxidant Content, Protective Enzyme Activities, Proline Content and Lipid Peroxidation in Wheat Seedling. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *11*(15), 1916-1922.

Fodor, F. (2006). Heavy metals competing with iron under conditions involving phytoremediation. In *Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms*. edited by Barton, P. L. L., & Abadía, J. Amesterdam: Springer.

Genty, B., Briantais, J. M., & Baker, N. R. (1989). Relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence, *Biochimica et Biophysica Acta*, *990*, 87-92.

Gill, S. S., & Tuteja, N. (2011). Cadmium stress tolerance in crop plants: probing the role of sulfur. *Plant Signaling & Behavior*, *6*, 215-222.

Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S., & Zhang, C. H. (2003). Effects of silicon on growth of wheat under drought. *Journal Plant Nutrition*, *26*, 1055-1063.

Guo, Z., Ou, W., Lu, S., & Zhong, Q. (2006). Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry*, *44*, 828-836.

Gupta, V. R., & St Mehla, I. S. (1980). Influence of sulphur on the yield and concentration of Cu, Mn. Fe and Mo in berseem (*Trifolium alexandrium*) grown in two different soils. *Plant Soil*, *24*, 227-236.

Hasanuzzaman, M., Fujita, M., Oku, H., Nahar, K., & Hawrylak-Nowak, B. (2018). The Role of Sulfur in Plant Abiotic Stress Tolerance. Molecular Interactions and Defense Mechanisms. In *Plant Nutrients and Abiotic Stress Tolerance*. Singapore: Springer.

Hu, J. Z., Shi, G. X., Xu, Q. S., Wang, X., Yuan, Q. H., & Du, K. H. (2007). Effect of Pb on the active oxygen scavenging enzyme activities and ultra structure in *Potamogeton crispus* leaves. *Russian Journal of Plant Physiology*, *54*, 414-419.

Jain, R., Srivastava, S., Solomon, S., Shrivastava, A. K., & Chandra, A. (2010). Impact of excess zinc on growth parameters, cell division, nutrient accumulation, photosynthetic pigments and oxidative stress of sugarcane (*Saccharum* spp.). *Acta Physiologiae Plantarum*, *32*, 979-986.

Kacar, B., & Katkat, A.V. (2007). *Plant Nutrition*. Ankara: Nobel Press.

Kelly, D. P., & Wood, A. P. (2000). Reclassification of some species of Thiobacillus to the newly designated genera *Acidithiobacillus* gen. nov., Halothiobacillus gen. nov. and *Thermithiobacillus* gen. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *20*, 211-214.

Khan, M. I. R., Nazir, F., Asgher, M., Per, T. S., & Khan, N. A. (2015). Selenium and sulfur influence ethylene formation and alleviate cadmium-induced oxidative stress by improving proline and glutathione production in wheat. *Journal of Plant Physiology*, *173*, 9-18.

Knight, H., & Knight, M. R. (2001). Abiotic stress signaling pathways: specificity and cross-talk, *Trends is Plant Sci*ence, *6*, 262-267.

Kruse, C., Haas, H. F., Jost, R., Reiser, B., Reichelt, M., Wirtz, M., Gershenzon, J., Schnug, E., & Hell, R. (2012). Improved sulfur nutrition provides the basis for enhanced production of sulfur-containing defense compounds in *Arabidopsis thaliana* upon inoculation with *Alternaria brassicicola*. *Journal of Plant Physiology*, *169*, 740-743.

Kumar, S., Gaur, B. L., & Sumeriya, H. K. (2004). Effect of nitrogen, phosphorus and Sulphur levels on growth and oil yield of taramira under rainfed conditions of southern Rajasthan. Haryana. *Indian Journal of Agronomy*, *20(1)*, 6-4.

Lichtenthaler, H. K., & Wellburn, A. R. (1985). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, *11*, 591-592.

Lou, L., Kang, J., Pang, H., Li, Q., Du, X., Wu, W., Chen, J., & Lv, J. (2017). Sulfur Protects Pakchoi (*Brassica chinensis* L.) Seedlings against Cadmium Stress by Regulating Ascorbate-Glutathione Metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*. *18*(8), 1628. https://doi.org/10.3390%2Fijms18081628.

MacFarlane, G. R., & Burchett, M. D. (2002). Toxicity, growth and accumulation relationships of copper, lead and zinc in the grey mangrove *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Marine Environmental Research*, *54*, 65-84.

Mazarie, A., Mousavi-nik, S. M., Ghanbari, A., & Fahmideh, L. (2019). Effect of titanium dioxide spraying on physiological characteristics of sage (*Salvia officinalis* L.) under water stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, *12*(2), 539-559. (In Persian).

Mukherjee, D., & Singh, R. K. (2002). Influence of sulphur, iron and silicon nutrition on growth and yield of irrigated mustard. *Haryana Journal of Agronomy*, *11*(1 & 2), 20-2.

Muller, P., Li, X. P., & Niyogi, K. K. (2001). Non-Photochemical quenching, A Response to excess light energy. *Plant Physiology*, *125*, 1558-1566.

Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts, *Plant & Cell Physiol*ogy, *22*, 867-880.

Neilsen, D., Hogoe Li, K., & Hoyt, P. B. (1993). Oxidation of elemental sulphur and acidulation of calcareous orchard soils in southern British Colombia. *Canadian Journal of Soil Science*, *93*, 103 -116.

Pallas, J. J. E., Michel, B. E., & Harris, D. G. (1967). Photosynthesis, transpiration, leaf temperature, and stomatal activity of cotton plants under varying water potentials. *Plant Physiology*, *42*, 76-88.

Pinto, A., De Varennes, A., Fonseca, R., & Teixeira, D. M. (2015). *Phytoremediation of soils contaminated with heavy metals: Techniques and strategies*. Switzerland: Springer.

Prasad, M. N. V. (1997). Trace metals. In: *Plant Ecophysiology*. New York: Wiley.

Ramzani, P. M. A., Iqbal, M., Kausar, S., Ali, S., Rizwan, M., & Virk, Z. A. (2016). Effect of different amendments on rice (*Oryza sativa* L.) growth, yield, nutrient uptake and grain quality in Ni-contaminated soil. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*, 18585–18595. https://doi.org/10.1007/s11356-016-7038-x.

Rathore, S. S., Shekhawat, K., Kandpal, B. K., Premi, O. P., Singh, S. P., Singh, G. C., & Singh, D. (2015). Sulphur management for increased productivity of Indian mustard: a review. *Annals of Plant and Soil Research*, *17*(1), 1-12.

Rausch, T., & Wachter, A. (2005). Sulfur metabolism: a versatile platform for launching defence operations. *Trends Plant Science*, *10*, 503-509.

Reddy, A. M., Kumar, S. G., Jyothsnakumari, G., Thimmanaik, S., & Sudhakar, C. (2005). Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Verdc. and bengalgram (*Cicer arietinum* L.). *Chemosphere*, *60(1)*, 97-104.

Ritchie, J. T., & NeSmith, D. S. (1991). Temperature and crop development. In: Modeling Plant and Soil Systems. Edited by Hanks, R. J., & Ritchie, J. T. Madison: Wiley. https://doi.org/10.2134/agronmonogr31.c2.

Rivas-San, V. M., & Plasencia, J. (2011). Salicylic acid beyond defence its role in plant growth and development. *Journal of Experimental Botany*, *62*(10), 3321-3338.

Riyazuddin, R., Nisha, N., Ejaz, B., Khan, M. I. R., Kumar, M., Ramteke, P. W., & Gupta, R. (2022). A comprehensive review on the heavy metal toxicity and sequestration in plants. *Biomolecules*, *12*(1), 43.

Ruley, A. T., Nilesh, C. S., & Shivendra, V. S. (2004)**.** Antioxidant defense in a lead accumulating plants, Sesbania dormancies. *Plant Physiology and Biochemistry*, *41*, 899-906.

Sanita, d., Toppi, L., & Gabbrielli, R. (1999). Response to cadmium in higher plants. *Environmental and Experimental Botany*, *41*, 105-130.

Santos, J. O., Andrade, C. A., Dázio de Souza, K. R., Santos, M. O., Brandão, I. R., Alves, J. D., & Santos, I. S. (2019). Impact of zinc stress on biochemical and biophysical parameters in *Coffea arabica* seedlings. *Journal of Crop Science and Biotechnology*, *22*(3), 253-264.

SaremiRad, B., Esfandirie, A. A., ShekarPoor, M., Sofalian, A., Avance, A., & Moosavi, S. B. (2011). Effect of cadmium on some morphology and physiology characteristics of weath in germination stage. *Journal of plant Researches*, *27*(1), 47-58. (In Persian).

Schreiber, U., Bilger, W., Hormann, H., & Neubauer, C. (1998). Chlorophyll fluorescence as a diagnostic tool: basics and some aspects of practical relevance. In: *Photosynthesis: a Comprehensive Treatise*. Edited by Raghavendra, A. S. Cambridge: Cambridge University Press.

Seregin, I. V., & Ivanov, V. B. (2001). Physiological Aspects of Cadmium and Lead Toxic Effects on Higher Plants. *Russian Journal of Plant Physiology, 1608-3407*, *48*(4), 523-544.

Singh, R., Tripathi, R. D., Dwivedi, S., Kumar, A., Trivedi, P. K., & Chakrabarty, D. (2010). Lead bioaccumulation potential of an aquatic macrophyteNajas indicaare related to antioxidant system. *Bio Resource Technology*, *101*, 3025-3032.

Sofy, M. R., Seleiman, M. F., Alhammad, B. A., Alharbi, B. M., & Mohamed, H. I. (2020). Minimizing adverse effects of Pb on maize plants by combined treatment with jasmonic, salicylic acids and proline. *Agronomy*, *10*(5), 699.

Soliman, M. F., Kostandi, S. F., & Beusichem Van, M. L. (1992). Influence of Sulfur and Nitrogen Fertilizer on the Uptake of Iron, Manganese and Zinc by Corn Plants Grown in Calcareous Soil. Commu. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, *23*, 1217-1300.

Srivastava, S., Tripathi, R. D., & Dwivedi, U. N. (2004). Synthesis of phytochelatins and modulation of antioxidants in response to cadmium stress in Cuscuta reflexa – an angiospermic parasite. *Journal of Plant Physiology*, *161*(6), 665-674.

Tisdal, S. L., Nelson, W. L., & Beaton, J. D. (1984). *Soil Fertility and Fertilizers*. New York: McMillon Publishing Company.

Vecera, Z., Mikuska, P., Zdráhal, Z., Docekal, B., Buckovaz, M., Tynova, Z., Parizek, P., Mosna, J., & Marek. J. (1999). Soil and plants sampling procedure and samples treatment. Analysis of phytotoxic and organometallic elements. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. Fertilia partners protocols page. Environmental analytical chemistry Department, Institute of Analytical Chemistry. *Academy of Sciences of the Czech Republic*, *97*, 611. 42.

Ventrella, A., Catucci, L., Piletska, E., Piletsky, S., & Agostiano, A. (2009). Interactions between heavy metals and photosynthetic materials studied by optical techniques. *Ioelectrochemistry*, *77*, 19-25.Wang, G., & Xu, Z. (2013). The effects of biochar on germination and growth of wheat in different saline-alkali soil. *Asian Agricultural Research*, *5*, 116-119.

Warrington, I. J., & Kanemasu, E. T. (1983). Corn growth response to temperature and photoperiod. II: Leaf initiation and leaf appearance rates. *Agronomy Journal*, *75*, 755 -761.

Xu, S., Li, J., Zhang, X., Wei, H., & Cui, L. (2005). Effects of heat acclimation pretreatment on changes of membrane lipid peroxidation, antioxidant metabolites, and ultra structure of chloroplasts in two cool-season Turfgrass species under heat stress. *Environmental and Experimental Botany*, *56*, 274-285.

Yahaghi, Z., Shirvani, M., Nourbakhsh, F., & Pueyo, J. J. (2019). Uptake and effects of lead and zinc on alfalfa (*Medicago sativa* L.) seed germination and seedling growth: Role of plant growth promoting bacteria. *South African Journal of Botany*, *124*, 573-582.

Yamane, Y., Kashino, Y., Koile, H., & Satoh, K. (1997). Increase in the fluorescence F0 level reversible inhibition of Photosystem II reaction center by high-temperature treatments in higher plants. *Photosynthesis Research*, *52*, 57-64.