



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

Hamzeh Mirzaie¹ | Farid Shekari² | Reza Fotovat³ | Mohammad AmirDelavar⁴

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 Contaminated Soil Conditions by Applying Sulfur-Containing Compounds and Thiobacillus Bacteria. *Journal of Crops Improvement*, 25 (4), 1053-1069. DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2023.355626.2794>





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

چکیده

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

هدف: به منظور بررسی اثر منابع مختلف ترکیبات گوگردار به همراه تلقیح باکتری تیوباسیلوس بر گیاه ذرت در شرایط تنش فلزات سرب و روی، آزمایشی به صورت 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 بر کیلوگرم خاک)، بیوگوگرد (۱، ۲ و ۳ گرم بر کیلوگرم خاک) و سولفات پتاسیم (۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم) بود.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که صفات مورفولوژیک، آناتومیک و فیزیولوژیک در مرحله رشد رویشی در تمام تیمارهای اعمال شده 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 به همراه باکتری این افزایش بیش‌تر بود. اما تیمارهای گوگرد عنصری ۲ گرم و سولفات پتاسیم 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 ذکر شده 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. نهایتاً رشد گیاه بهبود می‌یابد.

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

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. به زراعی کشاورزی، ۲۵ (۴)، ۱۰۶۹-۱۰۵۳. DOI: <https://doi.org/10.22059/jci.2023.355626.2794>



۱. مقدمه

ذرت (*Zea mays* L.) یکی از مهم‌ترین غلات در جهان به دلیل 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 به وسیله متأثر کردن 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 به وسیله 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 به آسانی به وسیله سیستم ریشه‌ای جذب می‌شود و از فعالیت تعدادی از آنزیم‌ها به دلیل شباهت ساختاری یونی با کلسیم جلوگیری می‌کند (Amari *et al.*, 2017). تیمار با 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 و تعداد زیادی از پراکسیدازها از جمله گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز فعال می‌شود (Prasad, 1997).

روی در غلظت‌های پایین به عنوان یک عنصر ضروری و محرک رشد گیاه می‌باشد. به هر حال، 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 به وسیله اختلال در تقسیم و طول‌شدن 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. پیشینه 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 روند کاهشی بود. سرب در غلظت‌های بالاتر از ۳۰ میکروگرم بر گرم 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 تغذیه‌ای ضروری برای سیستم، متیونین، القای گلوکاتینون، 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 می‌کند، 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 اسیدی کردن 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 گلوکاتینون، 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 کادمیم از طریق ممانعت از انتقال کادمیم 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 گلوکاتینون 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^۱، باکتری گرم منفی، اسیدی‌دوست و شیمولیتوتروف^۲ است که توانایی تبدیل انرژی برای رشد از اکسیداسیون فرس (Fe²⁺) به یون فریک (Fe³⁺) 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 افزایش 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. Chemolithotroph

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 در نظر گرفتن 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 (۲۲-۲۸ درجه سانتی‌گراد) با رطوبت ۶۰-۵۰ درصد، ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی با روشنایی طبیعی (۱۲۰۰۰-۱۰۰۰۰ لوکس) و نور مصنوعی (۹۰۰۰-۱۰۰۰۰ 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، ۱/۲۵ و ۲ گرم بر کیلوگرم خاک)، بیوگوگرد شامل گوگرد عنصری به‌همراه باکتری تیویاسیلوس (در سه سطح ۱، ۲ و ۳ گرم بر کیلوگرم خاک) و سولفات پتاسیم (در سه سطح ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم 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

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

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 سبز کردن 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 مورد ارزیابی شامل میزان دمای برگ ۱ با دماسنج نوری (GM-320) اندازه‌گیری شد. میزان فلورسانس کلروفیلی (کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم ۲ (fv/fm)) با استفاده از دستگاه فلورومتر (opti-sciences, OS-30, U.S.A.) به‌دست آمد (Genty *et al.*, 1989). سرعت برگ‌دهی^۱، برحسب ظهور تعداد برگ در واحد زمان (روز) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد (Warrington & Kanemasu, 1983).

رابطه (۱) کل روزهای بعد از جوانه‌زنی / (تعداد روزهای بعد از جوانه‌زنی / تعداد برگ) = سرعت برگ‌دهی
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 اسپکتروفوتومتر (مدل JENWAY6305) صورت گرفت (Lichtenthaler & Wellburn, 1985). مقدار آب نسبی برگ^۲، با استفاده از ۰/۵ گرم برگ محاسبه شد (Xu *et al.*, 2005). محتوای پروتئین کل با روش برادفورد (برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر) (Bradford, 1976)، سنجش کاتالاز با اندازه‌گیری سرعت شروع ناپدیدشدن پراکسیداز هیدروژن با استفاده از روش ایبی (برحسب میکرومول پراکسید هیدروژن 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 میکرومول NADH مصرف‌شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) (Nakano & Asada, 1981) ارزیابی گردید. تعداد و طول سلول‌های روزنه در پشت و روی برگ^۳، با میکروسکوپ نوری با درشت‌نمایی ۴۰ و قطر آوند مرکزی^۴، سلول‌های اسفنجی برگ^۵ و ضخامت برگ^۶ نیز با میکروسکوپ نوری برحسب میکرومتر مورد بررسی قرار گرفتند و هم‌چنین سطح برگ^۷ 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^۸ انجام شد. برای رسم جدول‌ها از نرم‌افزار Excel 2003 استفاده گردید.

۴. یافته‌های پژوهشی

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

1. Leaf temperature
2. Leaf rate
3. RWC
4. adxial & abaxial 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 ۲۶/۳ و ۹/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تازه برگ و فلورسانس کلروفیل با میزان ۰/۷۳ شاخص جنتی افزایش نشان دادند. که تیمار گوگرد همراه با کتری 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 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	۰/۰۰۰۰۰۳۸۶۴ ns	۲/۲۶۱ ns	۱/۰۶۱۱ **	۳۱/۹۹۹ ns	۰ ns	۱/۲۸۳ ns	۰/۰۲۲ ns	۳/۸۷۱ ns	۱۶/۸۴۳ ns
خاک	۱	۰/۰۰۳ ns	۰/۰۰۰۰۰۸۲۶۶ *	۰/۰۰۰۰۰۱۱۱۴ ns	۱۸۸/۱۴۱ **	۱/۴۰۸ *	۱۰۹۸۷۷۸ **	۰/۰۰۲ ns	۳۳/۷۱۵ **	۰/۳۰۱ ns	۳۳/۶۱۲ *	۲۰۵۹۵۳ **
تیمار	۹	۰/۰۰۸۵ ns	۰/۰۰۰۰۰۲۰۷۹ ns	*	۱۷/۴۵۹ **	۲/۸۵۶ **	۱۳۲/۱۱۲ **	۰/۰۰۹ **	۴۷/۰۹۶ **	۰/۶۵ **	۱۰/۱۶۶ **	۱۱۴۵۳۸۶ **
خاک × تیمار	۹	۰/۰۰۷۸ ns	۰/۰۰۰۰۰۳۳۳۳ ns	۰ ns	۳/۸۶۸ ns	۲/۶۳۴ **	۱۹۹/۶۵۵ **	۰/۰۱۲ **	۴/۷۴ **	۰/۷۵ **	۲۳/۴۰۷ **	۱۶۱۵۱۶ **
خطا	۳۸	۰	۰/۰۰۰۰۰۱۳۱۹	۰	۶/۸۳۴	۰/۳۲۳	۱۱/۶۸	۰/۰۰۲	۱	۰/۱۴۸	۴/۸۶۲	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 با کتری 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 سلول روزنه پشت برگ	طول سلول‌های روزنه	تعداد سلول‌های روزنه پشت برگ	تعداد سلول‌های روزنه روی برگ	تعداد سلول‌های روزنه
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	۳۰۳۷/۴۳۶ **	۲۷/۵۹ ns
خاک	۱	۰/۰۷۵ **	۲۰۶۸۷۳/۴۹۶ **	۴۲۱/۳۵ **	۱۴۲۱/۰۶۷ **	۳۳/۷۵ **	۷/۷۸۷ **	۸/۴۱۹ *	۱۰/۹۷۳۶ ns	۳۰۳۷/۴۳۶ **	۳۰۳۷/۴۳۶ **	۳۰۳۷/۴۳۶ **
تیمار	۹	۰/۰۲۲ **	۳۲۵۷۲/۲۶۷ **	۳۰/۴۱۷ **	۷۳۶/۸۹۶ **	۱۳/۷۸۷ **	۲۹/۶۳۶ **	۲۷/۹۴۳ **	۲۷/۲۷۴ *	۷۷/۹۷ *	۷۷/۹۷ *	۷۷/۹۷ *
خاک × تیمار	۹	۰/۰۱۶ **	۱۴۵۳۳/۲۴ **	۱۴/۸۳۱ **	۱۸۵/۴۳۷ **	۳/۱۹۴ **	۵/۶۲۹ **	۲۳/۶۱۲ **	۵۵/۰۷۶ ns	۸۱/۲۶ *	۸۱/۲۶ *	۸۱/۲۶ *
خطا	۳۸	۰/۰	۵۹۶/۱۸۵	۱/۱۳۳	۱۹/۵۴۳	۰/۷۰۴	۱/۵۴۴	۲۳/۲۸۴	۲۸/۶۲۲	۲۶/۲۴۲	۲۶/۲۴۲	۲۶/۲۴۲
ضریب تغییرات (درصد)	-	۲۰/۵	۳۳	۲۲/۲	۳۵	۲۰/۹	۹/۹	۸	۲۳/۲	۲۱/۸	۲۱/۸	۲۱/۸

تیمار: گوگرد عنصری، گوگرد همراه با کتری و سولفات پتاسیم; *, ** و ns به‌ترتیب نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار.

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر ترکیبات گوگرد بر گیاه ذرت تحت فلزات سنگین

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

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

ادامه جدول ۴. مقایسه میانگین اثر ترکیبات گوگرد بر گیاه ذرت تحت فلزات سنگین

کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل b/a	کاروتنوئید	فلورسانس کلروفیلی	محتوای آب برگ (درصد)	دمای برگ (سانتی‌گراد)	تیمار	خاک
(میلی‌گرم بر گرم)	(میلی‌گرم بر گرم)		(میلی‌گرم بر گرم)				(گرم بر کیلوگرم خاک)	
۲۶۳ cd	۹۴۷۴ def	۲/۷۸ abcd	۵/۷۷ efg	۰/۷۳۳ cde	۸۹۴۰۳ cde	۲۴۲ cd		شاهد بدون تیمار
۲۷/۷۵ cd	۱۱/۵۹ cde	۲/۴۱ cde	۵/۷۷ efg	۰/۷۵۱ bcde	۸۹۲۵ de	۲۴/۲۷ bcd		شاهد (بیوگوگرد) ۱
۳۱/۸۴ c	۱۴/۹۳ bc	۲/۱۳ cdef	۱۰/۸۵ b	۰/۸۲۹ ab	۸۹۲۴ cde	۲۳/۷۶ cd		شاهد (بیوگوگرد) ۲
۶۴/۸۴ a	۲۵۰۴۹ a	۲/۵۸ bcd	۱۲/۶۷ a	۰/۸۶۳ a	۹۱/۵۳ abcde	۲۲/۱۸ e		شاهد (بیوگوگرد) ۳
۲۵۰۸ cd	۱۰/۷۸ cdef	۲/۲۵ cdef	۶/۲۴ ef	۰/۷۳۹ cde	۸۱/۴۶ f	۲۴/۱۲ cd	۰/۷۵	شاهد (گوگرد عنصری) ۰/۷۵
۲۷/۱۵ cd	۱۱/۹۲ cd	۲/۲۷ cdef	۸/۴۹ cd	۰/۷۹۲ abcde	۸۳/۰۸ f	۲۴/۱۵ cd	۱/۲۵	شاهد (گوگرد عنصری) ۱/۲۵
۱۹/۹۸ def	۷/۰۲۴ f	۲/۸۵ abc	۵/۱۸ fghi	۰/۶۳۷ f	۷۳/۱۸ g	۲۶/۶۲ a	۲	شاهد (گوگرد عنصری) ۲
۲۳/۱۷ cde	۱۰/۲۵ def	۲/۲۶ cdef	۵/۹ efg	۰/۷۴۸ bcde	۸۶/۶۹ ef	۲۴/۱۷ cd	۰/۵	شاهد (سولفات پتاسیم) ۰/۵
۲۷/۳۸ cd	۱۱/۹۲ cd	۲/۳۰ cdef	۸/۷۷ c	۰/۷۸۷ abcde	۹۰/۷۶ bcde	۲۲/۷۱ d	۱	شاهد (سولفات پتاسیم) ۱
۱۸/۳۱ def	۶/۳۴ f	۲/۸۱ abcd	۴/۶۱ ghi	۰/۶۴۱ f	۷۰/۴۸ g	۲۶/۵۹ a	۱/۵	شاهد (سولفات پتاسیم) ۱/۵
۱۱/۱ f	۷/۵۷ ef	۱/۸۱ ef	۱/۷۳ j	۰/۷۳۴ cde	۷۲/۳ g	۲۵/۳۷ b		آلوده بدون تیمار
۲۵/۵۴ cd	۱۲/۱۸ cd	۲/۰۸ def	۵/۷۷ efg	۰/۷۱۷ def	۹۶/۱۷ ab	۲۴/۶۷ bcd		آلوده (بیوگوگرد) ۱
۵۰/۵۵ b	۱۶/۲۲۱ b	۳/۱۷ ab	۱۰/۲۱ b	۰/۷۲۶ cde	۹۶/۴۲ ab	۲۴/۴۲ bcd		آلوده (بیوگوگرد) ۲
۵۶/۷۶ ab	۱۶/۳۷۶ b	۳/۴۶ a	۱۲/۳ a	۰/۷۷۴ bcde	۹۵/۱۸ abcd	۲۴/۵۱ bcd		آلوده (بیوگوگرد) ۳
۱۴/۰۸ ef	۷/۱۳ f	۲/۲۱ cdef	۳/۶ i	۰/۷۳۹ cde	۹۷/۵۱ a	۲۴/۵۲ bcd	۰/۷۵	آلوده (گوگرد عنصری) ۰/۷۵
۳۱/۱۴ c	۱۲/۲۴ cd	۲/۵۴ bcde	۷/۱۵ de	۰/۷۶۶ bcde	۹۵/۹۱ abc	۲۴/۸۹ bc	۱/۲۵	آلوده (گوگرد عنصری) ۱/۲۵
۲۰/۹۸ de	۷/۵۸۷ ef	۲/۷۸ abcd	۵/۴۷ fgh	۰/۷۱۱ def	۹۴/۸۲ abcd	۲۴/۴۹ bcd	۲	آلوده (گوگرد عنصری) ۲
۱۰/۸۸ f	۶/۳۴۹ f	۱/۶ f	۴ hi	۰/۷۱۳ def	۹۵/۷۹ abcd	۲۴/۶۵ bcd	۰/۵	آلوده (سولفات پتاسیم) ۰/۵
۱۴/۵۳ ef	۶/۹۲۵ f	۲/۰۷ def	۴/۱۹ hi	۰/۷۳۳ cde	۹۲/۷۵ abcde	۲۴/۵۱ bcd	۱	آلوده (سولفات پتاسیم) ۱
۱۹/۲ def	۱۱/۷۴۸ cd	۱/۶۴ f	۵ fghi	۰/۷۱۵ def	۹۳/۹۲ abcd	۲۴/۷۹ bcd	۱/۵	آلوده (سولفات پتاسیم) ۱/۵

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 بیش تر 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 اعمال شده با مقدار ۹۱/۵ درصد بیش ترین 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 به دلیل بستن روزه‌ها 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 کم ترین میزان دمای برگ به ترتیب ۲۴/۴ و ۲۲/۱۸ سانتی‌گراد و بیش ترین 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 اندازه‌گیری شده در همین تیمار مانند کاتالاز، آسکوربات‌پروکسیداز و پروکسیداز نسبت به شاهد تا ۲۰ درصد کاهش نشان دادند. از طرفی تیمارهای گوگرد عنصری و سولفات‌پتاسیم به ترتیب 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 اندازه‌گیری شده 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 به دست آمده مشابه می‌باشد (Lou et al., 2017) (جدول ۴). میزان کاروتنوئید اندازه‌گیری شده 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 روزه‌ای 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 بیش تر 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 اندازه‌گیری شده در پشت و روی برگ به ترتیب ۳۴/۲ و ۷۴/۴ می‌باشند و نسبت به شاهد که به ترتیب 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	۱ (بیوگوگرد)	۰/۴۴۹ d	۴۲۱/۸ a	۲۳/۲۳ c	۹۸ def
شاهد	۲ (بیوگوگرد)	۰/۵۴۵ b	۴۲۴/۵ a	۲۵/۲۳ b	۱۰۶/۳۳ bc
شاهد	۳ (بیوگوگرد)	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	۱۰۲/۳۳ cd
شاهد	گوگرد عنصری (۲)	۰/۳۲۳ h	۲۰۹/۴۳ efg	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	۱ (بیوگوگرد)	۰/۳۷۸ g	۲۷۸/۵۸ cd	۱۷ ghi	۹۴ fg
آلوده	۲ (بیوگوگرد)	۰/۳۹۷ fg	۳۶۱/۷ b	۱۸ gh	۱۰۲/۳۳ cde
آلوده	۳ (بیوگوگرد)	۰/۴۱۹ def	۴۲۱/۸ a	۲۱ de	۱۱۱/۶۶ b
آلوده	گوگرد عنصری (۰/۷۵)	۰/۳۹۲ fg	۲۳۷/۵ def	۱۵/۳۳ zjk	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 روی برگ (میکرومتر)	طول سلول روزنه پشت برگ (میکرومتر)	تعداد سلول روزنه پشت برگ (تعداد در میلی‌متر مربع سطح برگ)	تعداد سلول روزنه روی برگ (تعداد در میلی‌متر مربع سطح برگ)
شاهد	بدون تیمار	۱۷/۲۳ efg	۳۱/۸ ghi	۳۱/۸ cdef	۳۹/۸ abcd	۸۳/۹۱ ab
شاهد	۱ (بیوگوگرد)	۱۸/۶۶ bcde	۳۲/۵ fghi	۳۲/۸ cde	۳۸/۹ bcd	۸۵/۱۷ ab
شاهد	۲ (بیوگوگرد)	۱۹/۳۳ bc	۳۵/۶ bc	۳۴/۵ bc	۴۱/۹ abcd	۸۶/۴۷ a
شاهد	۳ (بیوگوگرد)	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	۱ (بیوگوگرد)	۱۸ cdef	۳۱/۲ hi	۳۶/۸ ab	۴۱/۲ abcd	۶۸/۱۷ cde
آلوده	۲ (بیوگوگرد)	۱۸/۶۶ bcde	۳۵/۴ bcd	۲۹/۳ f	۴۸/۵ ab	۷۴/۴۷ cd
آلوده	۳ (بیوگوگرد)	۲۰ b	۳۸/۹ a	۳۱/۲ def	۴۶/۱ abc	۶۵/۳۸ de
آلوده	گوگرد عنصری (۰/۷۵)	۱۶ gh	۳۲/۷ efg	۳۱/۲ def	۴۵/۱ abcd	۶۸/۱۷ cde
آلوده	گوگرد عنصری (۱/۲۵)	۱۵/۶۶ h	۳۴/۱ bedefg	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 حالی که 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 اعمال شده 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 اعمال شده 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

میلی گرم 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 فیزیولوژیک 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 مورفولوژیک 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 ناپایداری غشای سلولی می‌شود و در نهایت منجر به تخریب کلروفیل و کاهش سنتز کلروفیل و کاروتنوئید می‌گردند، که نخستین واکنش فیزیولوژیک گیاهان به شرایط نامساعد محیطی غیرفعال شدن 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 اعمال شده تا ۱۵ درصد کاهش نشان داد. فلزات سنگین با تغییر ساختار غشای کلروپلاست و تخریب مرکز واکنش فتوسیستم ۲، 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 جذب شده از آنتن‌ها به مرکز واکنش مانند غیرفعال شدن بخشی از مرکز واکنش فتوسیستم ۲ و افزایش پراکنش انرژی نورانی جذب شده به صورت گرما نیز می‌تواند باعث افزایش دمای برگ شود (Muller *et al.*, 2001; Schreiber *et al.*, 1997; Yamane, 1998). تعداد و طول سلول‌های روزنه‌ای برگ، قطر آوند مرکزی و قطر سلول اسفنجی برگ، ضخامت و سطح برگ و سرعت برگ‌دهی گیاه به عنوان صفات مورفولوژیک در حضور فلزات سنگین و متأثر از اختلال در صفات فیزیولوژیک، کاهش یافتند. ROS‌های تولید شده در نتیجه تنش، موجب انواع آثار مضر در سلول‌های گیاهی مانند آسیب به غشای سلولی، تخریب دستگاه فتوسنتزی و ممانعت از فعالیت‌های فتوسنتزی، جلوگیری از تولید ATP و آسیب به DNA می‌گردد (Reddy *et al.*, 2005; Ruley *et al.*, 2004)، 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 گلوکوتایون-آسکوربات، مهلر و گزانتوفیل به وجود می‌آورند که مانع از تولید انواع اکسیژن فعال می‌شود و یا آن‌ها را به طور 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 بالا بودن پروتئین کل احتمالاً به این دلیل باشد (Sanita & Gabrielli., 1999; Srivastava *et al.*, 2004). اما آنزیم‌های مذکور نیز در

شرایط تنش به عنوان جاروب کننده اکسیدان ها در گیاه سنتز می شوند (Knight & Knight, 2001). میزان آنزیم های اندازه گیری شده در این آزمایش در حضور فلزات سنگین نسبت به شاهد کاهش نشان داد شاید به این دلیل باشد که گیاه از دیگر آنزیم ها جهت جاروب اکسیدان های تولید شده استفاده می کند.

گوگرد به عنوان چهارمین عنصر ضروری برای گیاهان و با حالت اسیدزا بودن در خاک باعث افزایش حلالیت عناصر غذایی میکرو در خاک و قابل دسترس شدن عناصر برای گیاهان می شود. گوگرد در غلظت های پایین در تشکیل پروتئین ها، افزایش محتوای کلروفیل برگ، افزایش شاخص سطح برگ و در نهایت تولید ماده خشک را افزایش می دهد. در این آزمایش سولفات پتاسیم و گوگرد عنصری در غلظت های کم با بهبود شرایط صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک بررسی شده موجب بهتر شدن وضعیت رشدی گیاه گردیدند. باکتری تیوباسیلوس موجود در خاک باعث افزایش سرعت اکسایش در خاک می شود، باکتری همراه با گوگرد عنصری، اکسایش این عنصر را افزایش می دهد و با تولید اسید محلول سولفید، موجب افزایش انحلال عناصر غذایی مفید در خاک می شود. در این آزمایش نیز گوگرد همراه باکتری تیوباسیلوس موجب افزایش میزان شاخص های فیزیولوژیک و مورفولوژیک مورد بررسی در گیاه شد. در نتیجه باعث بهبود رشد گیاه بهتر از تیمارهای گوگرد عنصری و سولفات پتاسیم گردید.

گوگرد نقش محافظتی در برابر تنش ها در گیاهان دارد و باعث افزایش تحمل گیاهان به تنش می شود در حقیقت گوگرد بخشی از ترکیبات متعدد دفاعی نظیر گلوکوتایون و کلاتین ها می باشد. در حضور فلزات سنگین گوگرد با بیان ژن های درگیر در بیوسنتز گلوکوتایون و پلی کلاتین ها موجب بهبود وضعیت اکسیداتیو می شوند و همچنین با کلاته کردن این فلزات در واکوئل باعث کاهش خطر سمیت این فلزات در سلول های گیاهی می شوند. (Kulczycki & Scala, 2020) گزارش کردند که گوگرد نقش اساسی در سمیت زدایی سلولی در گیاهان تحت تنش فلزات سنگین دارد (Kulczycki & Scala, 2020). بررسی محققین نشان داد که اعمال گوگرد، میزان فتوسنتز را به وسیله بیان ژن های پروتئین های استروما و تیلاکوئید افزایش می دهد و جریان استرومایی را نسبت به تنش فلزات سنگین استوار می کند (Asgher *et al.*, 2014; Khan *et al.*, 2015). در این پژوهش نیز صفات فیزیولوژیک و مورفولوژیک اندازه گیری شده نشان دادند که گوگرد عنصری و سولفات پتاسیم در غلظت های کم، گیاه را در حضور فلزات سنگین محافظت می کنند و با کاهش تنش و سمیت در گیاه رشد گیاه را بهبود می بخشند. براساس گزارش پژوهش گران، گوگرد همراه باکتری میزان آنزیم های آنتی اکسیدان و اسمولیت ها را در شرایط تنش بالا می برند که باعث افزایش تحمل در گیاهان تحت تنش می شوند. در این پژوهش نیز گوگرد همراه باکتری تیوباسیلوس مقدار پروتئین کل و آنزیم های کاتالاز، پروکسیداز و آسکوربات پروکسیداز و همچنین کاروتنوئید را در حضور فلزات سنگین بالا برد و باعث کاهش اکسیدان ها در سلول های گیاه شدند. در نتیجه خطر سمیت را در گیاه کاهش می دهند و در نهایت وضعیت رشدی گیاه بهبود می یابد.

۶. نتیجه گیری و پیشنهادها

ترکیبات گوگرددار با اسیدی کردن محلول خاک میزان حلالیت عناصر در خاک افزایش می دهند و موجب جذب عناصر توسط گیاه می شوند. از طرفی گوگرد همراه باکتری، اسیدی شدن خاک را تسریع می کنند و باعث حلالیت و جذب بیش تر عناصر و همچنین بهبود رشد گیاه نسبت به ترکیبات گوگرد دار بدون باکتری می شوند. در حضور فلزات سنگین نیز ترکیبات گوگرددار باعث کاهش خطر سمیت این فلزات در گیاه می شوند. گوگرد همراه باکتری نیز با افزایش فعالیت سیستم دفاعی گیاه موجب سمیت زدایی در سلول های 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 می برد و موجب افزایش بیوماس و عملکرد علفه می گردد.

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، سیدبهرمن (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 مریم‌گلی (*Salvia officinalis L.*) تحت تنش خشکی. *تنش‌های محیطی در علوم زراعی*. ۱۲ (۲)، ۵۳-۵۳۹.

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 cadmium-induced 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. Amsterdam: 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 in Plant Science*, 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 Physiology*, *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., Esfandir, 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 macrophyte *Najas indica* are 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. *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.