

## The effect of *Thiobacillus* spp. and bentonite sulfur application on the seed yield and physiological characteristics of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under different irrigation regimes

DOI: [10.22055/ppd.2024.47066.2174](https://doi.org/10.22055/ppd.2024.47066.2174)

Hamid Alahdadi<sup>1</sup>, Alireza Yadavi<sup>2\*</sup>, Mohsen Movahedi Dehnavi<sup>2</sup> and Hamidreza Balouchi<sup>2</sup>

- 1- M.Sc. Student of Agrotechnology-Crop Physiology, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.
- 2- Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.

### Abstract

**Introduction:** Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) is a multipurpose plant with medicinal and oil applications, primarily cultivated for edible oil and industrial dyes. Water resource limitations in Iran and drought stress negatively affect the growth and performance of this plant. Sulfur, as the fourth most consumed nutrient for plants, plays a vital role in photosynthesis and cell membrane structure. Excessive use of chemical sulfur fertilizers can lead to soil salinity. Therefore, bio-fertilizers have been proposed as a suitable alternative. *Thiobacillus* spp. bacteria help improve plant growth by providing sulfate and enhancing soil properties.

**Materials and methods:** This study was conducted to evaluate the effect of chemical and biological sources of sulfur, including bentonite sulfur and *Thiobacillus* bacteria, on the content of elements (N, P, K, S, Fe and Zn) of aerial organs, some physiological characteristics, and the seed yield of safflower under water stress conditions in the summer of 2023 in the research farm of Yasouj University Faculty of Agriculture located in Dashtrom. The experiment was performed as a split factorial based on a randomized complete block design with three replications. Irrigation regimes at three levels (complete irrigation and interruption of irrigation from the beginning of flowering and the beginning of seed filling) were the main factor, and the combination of bentonite sulfur fertilizer at three levels (0, 150, and 300 kg/ha) and *Thiobacillus* bacteria at two levels (use and non-use) were the secondary factors studied.

**Results and discussion:** Statistical analysis showed that bentonite sulfur fertilizer and the use of *Thiobacillus* bacteria, significantly improved the content of aerial organ elements, physiological traits, and grain yield of safflower under drought stress. Under severe dehydration conditions (cut off irrigation from flowering stage), the highest content of elements of aerial organs, including nitrogen (2.33%), sulfur (0.149%), iron (44 mg/kg), and zinc (25.66 mg/kg), was obtained from the simultaneous application of 300 kg of bentonite sulfur + *Thiobacillus* bacteria. The triple interaction of irrigation regime × bentonite sulfur × *Thiobacillus* was also significant for traits such as total chlorophyll content, carotenoid content, total soluble sugars, and activity of antioxidant enzymes catalase and peroxidase. The highest of these traits in each irrigation regime were observed in

application of 300 kg/ha of bentonite sulfur + Thiobacillus. The content of malondialdehyde increased by cutoff irrigation from the stages of flowering and seed filling, but it decreased with the use of bentonite sulfur and Thiobacillus bacteria. The grain yield was also affected by the application of 300 kg/ha of bentonite sulfur + Thiobacillus under full irrigation and medium stress levels, with an increase of 25.28% and 45.54%, respectively.

**Conclusion:** The findings of this research indicate that the application of water stress, particularly from the flowering stage, was associated with a decrease in physiological traits and seed yield of safflower. The application of 150 kg/ha sulfur-bentonite along with Thiobacillus bacteria, in addition to reducing the use of chemical fertilizers and its negative consequences, led to increased nutrient uptake, improved efficiency of biofertilizer, and enhanced seed yield under water stress conditions.

**Keywords:** Biofertilizer, Cut off irrigation, Grain yield, MDA, Shoot elements

## تأثیر باکتری تیوباسیلوس و گوگرد بنتونیت‌دار بر عملکرد دانه و خصوصیات فیزیولوژیک گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) تحت رژیم‌های مختلف آبیاری

حمید اله‌دادی<sup>۱</sup>، علیرضا یدوی\*<sup>۲</sup>، محسن موحدی دهنوی<sup>۲</sup>، حمیدرضا بلوچی<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد آگروتکنولوژی-فیزیولوژی گیاهان زراعی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

۲- استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج، ایران

### چکیده

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.)، گیاهی چندمنظوره با کاربردهای دارویی و روغنی است که عمدتاً برای تولید روغن خوراکی و رنگ‌های صنعتی کشت می‌شود. محدودیت منابع آب در ایران و تنش خشکی بر رشد و عملکرد این گیاه تأثیر منفی دارد. گوگرد به عنوان چهارمین عنصر پرمصرف گیاهی، در فتوسنتز و ساختارهای غشای سلولی نقش حیاتی دارد. استفاده بیش از حد از کودهای شیمیایی گوگردی می‌تواند به شوری خاک منجر شود. بنابراین، کودهای زیستی به عنوان جایگزینی مناسب مطرح شده‌اند. باکتری‌های تیوباسیلوس (*Thiobacillus* spp.) با تأمین سولفات و بهبود خصوصیات خاک، به رشد بهتر گیاه کمک می‌کنند. این مطالعه جهت ارزیابی اثر منابع شیمیایی و زیستی گوگردی شامل گوگرد بنتونیت‌دار و باکتری تیوباسیلوس بر محتوای عناصر اندام هوایی، برخی خصوصیات فیزیولوژیک و عملکرد دانه گلرنگ تحت شرایط تنش کم‌آبی در تابستان ۱۴۰۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج واقع در دشتروم اجرا گردید. آزمایش به صورت اسپلیت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. رژیم‌های آبیاری در سه سطح (آبیاری کامل و قطع آبیاری از مراحل شروع گلدهی و شروع پر شدن دانه) به عنوان عامل اصلی و ترکیب کود گوگرد بنتونیت‌دار در سه سطح (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار) و باکتری تیوباسیلوس در دو سطح (کاربرد و عدم کاربرد) به عنوان عوامل فرعی مورد بررسی قرار گرفتند.

تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که با افزایش سطوح کود گوگرد بنتونیت‌دار و کاربرد باکتری تیوباسیلوس، محتوای عناصر اندام هوایی، صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه که متاثر از سطوح تنش خشکی واقع شدند، به طور معنی‌داری بهبود یافته است. تحت شرایط تنش شدید کم آبی بیشترین محتوای عناصر اندام هوایی شامل نیتروژن (۲/۳۳ درصد)، گوگرد (۰/۱۴۹ درصد)، آهن (۴۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و روی (۲۵/۶۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از تیمار کاربرد همزمان ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد بنتونیت‌دار + باکتری تیوباسیلوس حاصل شد. همچنین اثر متقابل سه‌گانه رژیم آبیاری × گوگرد بنتونیت‌دار × تیوباسیلوس بر صفات محتوای کلروفیل کل، محتوای کاروتنوئید، فندهای محلول کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز معنی‌دار شد. بیشترین مقدار صفات مذکور در هر یک از رژیم‌های آبیاری با کاربرد همزمان ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد بنتونیت‌دار + باکتری تیوباسیلوس مشاهده شد. محتوای مالون دی‌آلدئید نیز با قطع آبیاری از مراحل گلدهی و پر شدن دانه افزایش یافت ولی با کاربرد گوگرد بنتونیت‌دار و باکتری تیوباسیلوس کاهش یافت. عملکرد دانه نیز متاثر از کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد بنتونیت‌دار + تیوباسیلوس در سطوح آبیاری کامل و تنش متوسط به ترتیب با افزایش ۲۵/۲۸ و ۴۵/۵۴ درصدی همراه شد. یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که اعمال قطع آبیاری به ویژه از مرحله گلدهی با کاهش صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه گل‌رنگ همراه بوده و کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد بنتونیت‌دار به همراه باکتری تیوباسیلوس علاوه بر کاهش مصرف کود شیمیایی و در نتیجه پیامدهای منفی ناشی از آن، منجر به افزایش جذب عناصر غذایی، ارتقای کارایی کود زیستی و بهبود عملکرد دانه در شرایط تنش کم آبی شده است.

**کلید واژه‌ها:** عملکرد دانه، عناصر اندام هوایی، قطع آبیاری، کود زیستی، مالون دی‌آلدئید

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در آفتابگردان (Heidari *et al.*, 2015) مطرح شده است. همچنین افزایش عملکرد دانه روغنی گلرنگ متأثر از سطوح گوگرد توسط Moradi and Pasari (2022) نیز گزارش شده است

با اینکه کاربرد کودهای شیمیایی، حاصلخیزی خاک را در پی دارند، این کودها قادر به تامین همه نیازهای غذایی گیاه نیستند و به همین سبب جهت فراهمی عناصر ریزمغذی استفاده از کودهای زیستی رواج یافته است. باکتری‌های جنس تیوباسیلوس (*Thiobacillus spp.*) مهم‌ترین اکسیدکنندگان گوگرد در خاک‌ها هستند. این باکتری‌ها ضمن تأمین سولفات مورد نیاز گیاه، با کاهش pH خاک در اطراف ریشه‌ها باعث افزایش حلالیت عناصر ریز مغذی و بهبود خصوصیات رشد گیاه می‌شوند (Mortazavi and Kochaki, 2021). در همین رابطه Soleymani *et al.* (2017) در کلزا ابراز داشتند اعمال تیمار بذرمال تیوباسیلوس تحت قطع آبیاری از مرحله گلدهی، از نظر عملکرد دانه با تیمار آبیاری کامل در یک گروه آماری جای گرفتند. علاوه بر این کاربرد توام گوگرد + بیوسولفور عملکرد دانه گلرنگ را نیز با افزایش ۲۸/۴۹ درصدی همراه نمود (Moradi and Pasari, 2022).

با توجه به اهمیت گلرنگ به عنوان یک گیاه دانه روغنی مهم و ارزشمند و از سوی دیگر صدمات ناشی از وقوع تنش خشکی بر ساختار سلولی، متابولیت‌های اولیه و سامانه‌های فتوسنتزی این گیاه، گزینش روش‌هایی که افزایش تحمل گلرنگ را در پی داشته باشد حائز اهمیت است. براین اساس تحقیق حاضر به جهت بررسی برخی صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه گیاه گلرنگ با کاربرد منابع شیمیایی و زیستی گوگردی تحت سطوح رژیم آبیاری اجرا گردید.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت اسپلینت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه یاسوج واقع در دشت روم با مختصات جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۱ دقیقه طول

گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) یکی از قدیمی‌ترین محصولات زراعی است که به عنوان محصول دانه روغنی در مناطق نیمه‌خشک و معتدل جهان کشت می‌شود. گلرنگ به دلیل کیفیت روغن و توانایی رشد در شرایط تنش شدید (درجه حرارت بالا، خشکی و شوری) مورد توجه قرار گرفته است (Aminian *et al.*, 2019)، بنابراین، در مناطقی که با محدودیت‌های آب و هوایی مواجه هستند، کشت می‌شود (Arab *et al.*, 2016).

وقوع تنش خشکی موجب جلوگیری از توسعه رشد سلولی ناشی از کاهش فشار آماز، همین‌طور کاهش پتانسیل فشاری یاخته‌ها به سبب توقف رشد، کاهش تقسیم یاخته‌ها و عدم فراهمی فرآورده‌های فتوسنتزی مورد نیاز برای رشد می‌شود (Wijewardana *et al.*, 2019). در مطالعات پژوهشگران بر گیاه گلرنگ متأثر از سطوح شدید قطع آبیاری نشان داده شده است که میزان غلظت کلروفیل a، b و کاراتنوئید به ترتیب به مقدار ۳۳، ۳۸ و ۲۷ درصد (Sargazi *et al.*, 2023) و عملکرد دانه به میزان ۳۲/۳ درصد (Mosavi *et al.*, 2020) کاهش یافته و در مواجهه با این شرایط مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز به ترتیب ۲۹۲/۸۶ و ۳۴/۵ درصد (Pashang *et al.*, 2023) افزایش یافته است.

گوگرد چهارمین عنصر غذایی پرمصرف گیاهان است که گاهی نیاز به آن بیشتر از فسفر نیز عنوان شده است (Rostami *et al.*, 2022). گوگرد در ترکیباتی از جمله اسیدهای آمینه، کلروپلاست‌ها، سولفاتیدها، ویتامین‌ها، کوآنزیم‌ها، خوشه‌های آهن-گوگرد، اسید لیپوئیک، تیامین، کوآنزیم A و غیره شرکت دارد (Kopriva *et al.*, 2019) بنابراین نقش مهمی در فتوسنتز و تشکیل ساختارهای غشای سلولی گیاهان دارد (Malcheska *et al.*, 2017). تاثیر مثبت کاربرد گوگرد بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در سویا (Liu *et al.*, 2016)، افزایش جذب عناصر فسفر، پتاسیم و گوگرد در کنجد (Mondal, 2016)، پایداری غشای سلولی و فعالیت

شرقی و ۳۰ درجه و ۳۴ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۲۰۹۲ متری از سطح دریا در نیمه خرداد سال ۱۴۰۱ اجرا شد. میانگین دمای سالیانه آن ۱۶ درجه سانتی‌گراد و میانگین بارش سالیانه آن ۳۰۰ میلی‌متر می‌باشد. سطوح رژیم آبیاری به عنوان فاکتور اصلی در سه سطح (آبیاری کامل منظور از آبیاری کامل چیه (شاهد)، قطع آبیاری از مرحله گلدهی و قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه) و تیمارهای کود گوگرد بنتونیت‌دار در سه سطح (صفر، ۱۵۰ و ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار) و باکتری اکسیدکننده گوگردی تیوباسیلوس (*Thiobacillus spp.*) در دو سطح (عدم کاربرد و کاربرد) به عنوان فاکتور فرعی در نظر گرفته شد. کود گوگرد بنتونیت‌دار از شرکت کیمیا اکسیر شرق واقع در مشهد و باکتری تیوباسیلوس نیز از موسسه تحقیقات آب و خاک کرج تهیه گردیدند.

پس از انجام عملیات شخم و دیسک، فرآیند ایجاد جوی و پشته‌های مورد نظر جهت طرح‌ریزی کرت‌های آزمایشی توسط فاروئر انجام شد. هر کرت شامل ۴ خط کاشت با طول ۳/۵ متر و به فاصله ردیف‌های ۵۰ سانتی متری شکل گرفت. فاصله بین کرت‌های فرعی نیم متر، فاصله بین کرت‌های اصلی ۱ متر و فاصله بین بلوک‌های آزمایشی ۲ متر در نظر گرفته شد. پیش از انجام عملیات کاشت از عمق ۳۰ سانتی‌متری خاک نمونه‌برداری انجام گرفت و بر اساس نتایج حاصل از آزمون خاک (جدول ۱)، نیتروژن مورد نیاز به واسطه کود اوره (۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) و در دو مرحله (یک سوم قبل از کاشت و دو سوم قبل از شروع مرحله گلدهی) و همچنین میزان فسفر لازم، به مقدار ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار از منبع سوپر فسفات تریپل با خاک آزمایشی مخلوط گردیدند.

کود گوگرد بنتونیت‌دار به عنوان یکی از عوامل آزمایش، قبل از کاشت در دو طرف هر پشته اعمال شد. بذره‌های رقم فرامان (مناسب مناطق دیم و معتدل سرد، زودرس با تیپ رشد بینابین و بدون خار) از شرکت توسعه کشت دانه‌های روغنی واقع در اصفهان تهیه شد. بذرها پس از عمل تلقیح با باکتری تیوباسیلوس (با شمارش CFU/g<sup>۱۰۸</sup>) در نیمه خرداد ماه سال ۱۴۰۱ با رعایت فاصله ۵ سانتی

متری از یکدیگر روی پشته‌های کاشت و در عمق ۳ تا ۴ سانتی‌متری مایه‌زنی شدند. در مرحله دو تا چهار برگی عملیات تنک کردن با حفظ قوی‌ترین بوته انجام شد. آبیاری به صورت قطره‌ای و به کمک نوارهای تیپ با فاصله قطره‌چکان‌های ۱۰ سانتی‌متری در وسط پشته‌ها انجام شد. حجم آب آبیاری برای هر کرت نیز با استفاده از کنتور حجمی محاسبه گردید. در مرحله دو تا چهار برگی مجدداً سوسپانسیون باکتری تیوباسیلوس به صورت محلول‌پاشی در خاک پای بوته‌ها اعمال شد. در اواسط پر شدن دانه‌ها نمونه‌گیری از اندام هوایی گلرنگ جهت اندازه‌گیری محتوای عناصر صورت گرفت.

عصاره مورد نیاز برای اندازه‌گیری محتوای عناصر فسفر، پتاسیم، آهن و روی اندام هوایی، به روش هضم خشک تهیه شد. اندازه‌گیری فسفر به روش کالریمتری (رنگ زرد مولیبدات-وانادات) به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (Lambda EZ 210) در طول موج ۴۲۰ نانومتر (Emami, 1996) و اندازه‌گیری پتاسیم به روش نشر شعله‌ای و با دستگاه فلیم فتومتر (Patterson et al., 1984) انجام شد. محتوای آهن و روی نیز توسط دستگاه جذب اتمی محاسبه گردید. محتوای نیتروژن اندام هوایی با کج‌لدال طی سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون به دست آمد. اندازه‌گیری گوگرد به روش هضم اسیدی (با اسید نیتریک ۶۵ درصد) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۳۰ نانومتر انجام گرفت (Maff, 1986).

به جهت اندازه‌گیری رنگدانه‌های فتوسنتزی و خصوصیات فیزیولوژیک نیز همزمان با نمونه‌گیری جهت عناصر بخشی از برگهای گیاهان به این منظور اختصاص داده شد. با تهیه عصاره آنزیمی، میزان جذب در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر (Lambda EZ 210) خوانده شد. مقدار غلظت کلروفیل‌ها با توجه به روش Arnon (1949) و مقدار کاروتنوئید به روش Lichtenthaler (1987) به دست آمدند. برای اندازه‌گیری قندهای محلول میزان جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر با اسپکتروفتومتر قرائت شد

برداشت نهایی گلرنگ در مهر ماه، پس از حذف اثر حاشیه‌ای از مساحت ۲/۵ متر مربع عملکرد دانه محاسبه شد. در پایان تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1، مقایسه میانگین اثرات اصلی بر اساس آزمون LSD و مقایسه میانگین اثرات متقابل با رویه L.S.Means انجام شد.

(Irigoyen *et al.*, 1992). میزان مالون دی‌آلدهید نیز در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر محاسبه شد (Heath and Packer, 1968) به منظور سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با تهیه عصاره آنزیمی، فعالیت کاتالاز از روش Aebi (1984) در طول موج ۲۴۰ نانومتر و سنجش فعالیت پراکسیداز از روش MacAdam *et al.* (1992) در طول موج ۴۷۰ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد.

**Table 1-** Physical and chemical characteristics of the soil where the experiment was carried out

Soil texture (%)	Organic carbon (%)	Zn (ppm)	Fe (ppm)	K (ppm)	P (ppm)	N (%)	pH
Silty loam	1.70	0.92	5.12	408	17.1	0.17	7.61

دادند اعمال تنش در کلزا محدودیت جذب و تحرک عناصر مغذی خاک را به جهت اثرگذاری بر روند رشد ریشه به دنبال داشته است و به همین سبب بیشترین و کم‌ترین محتوای نیتروژن به‌میزان ۴/۰۶۶ و ۳/۶۴۱ درصد به ترتیب از تیمار آبیاری کامل و قطع آبیاری از ۳۰ درصد خورجین‌دهی مشاهده شد.

در پژوهش حاضر کاربرد کود گوگرد بنتونیت‌دار و باکتری تیوباسیلوس موجب افزایش محتوای نیتروژن اندام هوایی گلرنگ، شده است. در این رابطه می‌توان بیان داشت اعمال منابع زیستی و شیمیایی گوگرد به‌واسطه اسید سولفوریک تولید شده، منجر به کاهش pH خاک می‌شود. در نتیجه به دنبال توسعه ریشه و دسترسی بیشتر به عناصر موجود در خاک، روند جذب محتوای نیتروژن اندام هوایی گلرنگ نیز افزایش یافته است. در این رابطه Motalebifard and Nourgholipour (2021) بیان نمودند استفاده از گوگرد عامل افزایش غلظت نیتروژن برگ از منبع ۲۰۰ کیلوگرم گوگرد پودری غنی شده با باکتری تیوباسیلوس بوده است.

## نتایج و بحث

**محتوای نیتروژن اندام هوایی:** نتایج تجزیه واریانس نشان از معنی‌داری اثر متقابل سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس بر درصد نیتروژن اندام هوایی در سطح احتمال خطای یک درصد دارد (جدول ۲). در هر سه سطح رژیم آبیاری (به ترتیب آبیاری کامل، قطع آبیاری از مرحله گلدهی و قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه) بیشترین درصد نیتروژن به ترتیب با میانگین‌های ۴/۲۳، ۲/۳۳ و ۳/۶۱ درصد از تیمار کاربرد همزمان ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + تیوباسیلوس و کم‌ترین آن به ترتیب با میانگین‌های ۲/۳۸، ۱/۱۲ و ۱/۷۱ درصد از تیمار شاهد (عدم کاربرد گوگرد و عدم کاربرد تیوباسیلوس) به دست آمد (جدول ۳). نتایج نشان می‌دهد که افزایش دوره قطع آبیاری موجب کاهش بیشتر نیتروژن اندام هوایی شده است. علت این مسئله را می‌توان در کاهش بیشتر رطوبت خاک و کاهش جذب نیتروژن دانست. تنش خشکی به‌واسطه کاهش تعرق و سیستم انتقال فعال، بر میزان نفوذپذیری غشای سلولی و توانایی جذب ریشه اثر گذاشته و در نتیجه سرعت انتشار مواد غذایی از ریزوسفر به سطح جذب‌کننده ریشه را کاهش داده است. (Gholami *et al.* 2022a) گزارش

**Table 2-** Analysis of variance of the effects of irrigation, sulfur and thiobacillus treatments on some elements concentration in safflower aerial organs.

S.O.V	df	N Shoot	P Shoot	K Shoot	S Shoot	Fe Shoot	Zn Shoot
Replication(R)	2	0.1*	0.001 <sup>ns</sup>	2.52 <sup>ns</sup>	0.0005 <sup>ns</sup>	5.79 <sup>ns</sup>	1.05 <sup>ns</sup>
Irrigation (I)	2	12.23**	0.05**	228.05**	0.3**	3701.05**	839.02**
Error a	4	0.07	0.001	0.43	0.002	9.09	5.57

Sulphur (S)	2	3.5**	0.02**	373.06**	0.01**	385.11**	348.65**
Thiobacillus (T)	1	8.97**	0.04**	15.75*	0.04**	1179.89**	448.35**
T × S	2	0.97**	0.002*	1.21 <sup>ns</sup>	0.003**	3.67 <sup>ns</sup>	3.52 <sup>ns</sup>
S × I	4	0.11**	0.008**	4.46 <sup>ns</sup>	0.001*	18.93*	18.99**
T × I	2	0.20**	0.004*	16.25**	0.006**	25.79*	0.44 <sup>ns</sup>
T × S × I	4	0.11**	0.0001 <sup>ns</sup>	1.72 <sup>ns</sup>	0.003**	15.70*	56.1**
Error b	30	0.024	0.0009	2.26	0.001	6.77	3.64
c.v. (%)		6.52	7.15	6.10	7.33	4.72	7.31

ns, \* and \*\*: Non significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

**Table 3-** Means comparison of triple interaction of irrigation, sulfur and thiobacillus on nitrogen, sulfur, iron and zinc elements in safflower aerial organs.

Irrigation regime	sulfur fertilizer (kg.ha <sup>-1</sup> )	<i>Thiobacillus</i> spp.	N Shoot (%)	S Shoot (%)	Fe Shoot (mg/kg)	Zn Shoot (mg/kg)
Full irrigation	0	T <sub>0</sub>	2.38 <sup>e</sup>	0.232 <sup>e</sup>	56.85 <sup>c</sup>	25.26 <sup>e</sup>
		T <sub>1</sub>	2.78 <sup>d</sup>	0.242 <sup>c</sup>	71.16 <sup>b</sup>	33.83 <sup>c</sup>
	150	T <sub>0</sub>	2.94 <sup>cd</sup>	0.239 <sup>d</sup>	60.83 <sup>d</sup>	30.83 <sup>d</sup>
		T <sub>1</sub>	3.57 <sup>b</sup>	0.257 <sup>ab</sup>	71.83 <sup>b</sup>	36.66 <sup>c</sup>
	300	T <sub>0</sub>	3.13 <sup>c</sup>	0.254 <sup>b</sup>	68.66 <sup>c</sup>	40.33 <sup>b</sup>
		T <sub>1</sub>	4.23 <sup>a</sup>	0.263 <sup>a</sup>	76.5 <sup>a</sup>	44.66 <sup>a</sup>
Cut off irrigation from the flowering stage	0	T <sub>0</sub>	1.12 <sup>d</sup>	0.109 <sup>f</sup>	25.16 <sup>e</sup>	11.50 <sup>e</sup>
		T <sub>1</sub>	1.45 <sup>c</sup>	0.123 <sup>d</sup>	31.16 <sup>d</sup>	20.16 <sup>c</sup>
	150	T <sub>0</sub>	1.22 <sup>d</sup>	0.115 <sup>e</sup>	33.33 <sup>d</sup>	17.83 <sup>d</sup>
		T <sub>1</sub>	1.99 <sup>b</sup>	0.131 <sup>b</sup>	40.16 <sup>b</sup>	22.50 <sup>b</sup>
	300	T <sub>0</sub>	1.42 <sup>c</sup>	0.127 <sup>c</sup>	36.83 <sup>c</sup>	20.83 <sup>c</sup>
		T <sub>1</sub>	2.33 <sup>a</sup>	0.149 <sup>a</sup>	44.00 <sup>a</sup>	25.66 <sup>a</sup>
Cut off irrigation from the seed filling stage	0	T <sub>0</sub>	1.71 <sup>d</sup>	0.183 <sup>e</sup>	52.83 <sup>e</sup>	17.16 <sup>e</sup>
		T <sub>1</sub>	1.92 <sup>c</sup>	0.205 <sup>d</sup>	64.16 <sup>b</sup>	21.50 <sup>cd</sup>
	150	T <sub>0</sub>	1.86 <sup>cd</sup>	0.209 <sup>d</sup>	56.50 <sup>d</sup>	20.50 <sup>d</sup>
		T <sub>1</sub>	3.13 <sup>b</sup>	0.221 <sup>b</sup>	66.83 <sup>b</sup>	26.16 <sup>b</sup>
	300	T <sub>0</sub>	1.91 <sup>c</sup>	0.215 <sup>c</sup>	61.66 <sup>c</sup>	23.50 <sup>c</sup>
		T <sub>1</sub>	3.61 <sup>a</sup>	0.234 <sup>a</sup>	72.50 <sup>a</sup>	30.16 <sup>a</sup>

In each column, means with common letter don't have a significant difference at the 5% level.

T<sub>0</sub> = Non-application of bacteria, T<sub>1</sub> = application of bacteria

(جدول ۵). همچنین اثر متقابل دوگانه رژیم آبیاری × تیوباسیلوس بیانگر آن است که در آبیاری کامل و قطع آبیاری از مراحل گلدهی و پر شدن دانه، کاربرد تیوباسیلوس به ترتیب با میانگین‌های ۰/۵۲۲، ۰/۳۸۷ و ۰/۴۶۷ درصد بیشترین و تیمار عدم کاربرد تیوباسیلوس با میانگین‌های ۰/۴۳، ۰/۳۵۷ و ۰/۴۱۶ درصد کم‌ترین فسفر اندام هوایی را به خود اختصاص داد (جدول ۶).

فسفر عنصری غیرمتحرک است، به همین دلیل سطوح فسفر آزاد در محدوده تماس خاک با ریشه‌های گیاه معمولاً پایین است. علت آن به پیوندهای مستحکم یون‌های فسفات غیرآلی با کلوئیدهای خاک و تثبیت آن به فرم فسفات آهن یا فسفات آلومینیوم مربوط می‌شود. هم‌راستای این پژوهش (Gholami et al. 2022b) بیان داشتند بیشترین مقدار فسفر اندام هوایی کلزا (۰/۴۹۵ درصد) در آبیاری کامل و

**محتوای فسفر اندام هوایی:** اثر متقابل گوگرد × رژیم آبیاری در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل گوگرد × تیوباسیلوس، و تیوباسیلوس × رژیم آبیاری در سطح احتمال پنج درصد بر درصد فسفر اندام هوایی معنی‌دار گردید (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر تیوباسیلوس × گوگرد نشان داد در هر دو شرایط عدم کاربرد و کاربرد تیوباسیلوس بیشترین درصد فسفر اندام هوایی از تیمار کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد (بدون گوگرد) با افزایش ۱۲/۸۶ و ۲۳/۶۴ درصدی مواجه شد (جدول ۴). مقایسه میانگین اثر رژیم آبیاری × گوگرد نشان داد در هر سه سطح آبیاری کامل و قطع آبیاری از مراحل گلدهی و پر شدن دانه، کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار از درصد فسفر اندام هوایی بیشتری نسبت به عدم کاربرد گوگرد برخوردار بود

گلرنگ افزایش یافته است. پژوهشگران گزارش داده‌اند تیوباسیلوس عامل آزادسازی هورمون اکسین بوده و از این جهت تحریک رشد گیاه را سبب شده، در نتیجه افزایش جذب عناصری چون فسفر را در پی دارد. همچنین تیوباسیلوس با اثرگذاری بر ترشح اسیدهای آلی بر میزان حلالیت و پویایی فسفر معدنی خاک و با ترشح آنزیم‌هایی مثل فسفاتاز بر حلالیت فسفر آلی خاک موثر خواهد بود (Noorbakhsh *et al.*, 2014)

کم‌ترین میزان (۰/۲۸۷ درصد) با قطع آبیاری در مرحله ۳۰ درصد گلدهی حاصل شد. فسفر آزاد شده از فسفات خاک با میزان اسید سولفوریک تولید شده از فرآیند اکسیداسیون گوگرد رابطه مستقیمی دارند. Fallah Nusratabad (2019) در این رابطه بیان داشت اثر همزمان گوگرد و تیوباسیلوس به میزان ۱۶۵ درصد، فسفر قابل جذب کلزا را افزایش داد. در پژوهش حاضر نیز رابطه‌ای هم‌افزایی میان گوگرد بنتونیت‌دار و تیوباسیلوس در محیط خاک ایجاد شده است و به کمک بهبود دسترسی به فسفر، میزان آن در

**Table 4-** Means comparison the interaction effect of Thiobacillus and sulfur on phosphorus and MDA content in safflower

Thiobacillus spp.	sulfur fertilizer (kg.ha <sup>-1</sup> )	P Shoot (%)	MDA (μM.g <sup>-1</sup> FW)
T <sub>0</sub> (Non-application)	0	0.373 <sup>b</sup>	2.28 <sup>a</sup>
	150	0.408 <sup>a</sup>	1.86 <sup>b</sup>
	300	0.421 <sup>a</sup>	1.41 <sup>c</sup>
T <sub>1</sub> (Application)	0	0.406 <sup>c</sup>	1.39 <sup>a</sup>
	150	0.467 <sup>b</sup>	1.34 <sup>a</sup>
	300	0.502 <sup>a</sup>	1.11 <sup>b</sup>

In each column, means with common letter don't have a significant difference at the 5% level.

**Table 5-** Means comparison of the interaction effect of irrigation and sulfur on phosphorus and MDA content in safflower

Irrigation regime	sulfur fertilizer (kg.ha <sup>-1</sup> )	P Shoot (%)	MDA (μM.g <sup>-1</sup> FW)
Full irrigation	0	0.447 <sup>b</sup>	1.317 <sup>a</sup>
	150	0.484 <sup>a</sup>	0.937 <sup>b</sup>
	300	0.495 <sup>a</sup>	0.934 <sup>b</sup>
Cut off irrigation from the flowering stage	0	0.332 <sup>c</sup>	2.404 <sup>a</sup>
	150	0.381 <sup>b</sup>	2.23 <sup>b</sup>
	300	0.404 <sup>a</sup>	1.559 <sup>c</sup>
Cut off irrigation from the seed filling stage	0	0.391 <sup>c</sup>	1.801 <sup>a</sup>
	150	0.448 <sup>b</sup>	1.638 <sup>b</sup>
	300	0.485 <sup>a</sup>	1.302 <sup>c</sup>

In each column, means with common letter don't have a significant difference at the 5% level.

همزمان با شدت قطع آبیاری، گیاه گلرنگ برای بهبود مقاومت به کم‌آبی، در جهت مخالف با پدیده انتشار و با صرف انرژی محتوای عنصر پتاسیم را در بافت ریشه و اندام هوایی افزایش داده است. یون پتاسیم به دلیل اثرگذاری بر باز و بسته شدن روزنه‌ها، نگهداشت فشار تورژسانس، کاهش تلفات آب و ایجاد تعادل آب در بافت‌های گیاه از طریق تنظیم اسمزی، عامل کاهش تاثیر تنش خشکی شده است (Dastbandan Nejad *et al.*, 2010). Arabi *et al.* (2022) در بررسی عنصر مغذی پتاسیم در کنگد اظهار

**محتوای پتاسیم اندام هوایی:** نتایج، حاکی از معنی‌داری اثر متقابل رژیم آبیاری × تیوباسیلوس در سطح احتمال یک درصد بر درصد پتاسیم اندام هوایی دارد (جدول ۲). مقایسه میانگین رژیم آبیاری × تیوباسیلوس نشان داد کاربرد تیوباسیلوس موجب افزایش ۹/۵۱ و ۱۰/۵۲ درصدی پتاسیم اندام هوایی به ترتیب در سطح آبیاری کامل و قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه گردید اما در سطح قطع آبیاری از مرحله گلدهی در مقایسه با شاهد تاثیر کمتری بر درصد پتاسیم اندام هوایی داشت (جدول ۶).



مختلف گوگرد موجب افزایش جذب پتاسیم شده است (Mondal, 2016). افزایش جذب پتاسیم، نتیجه تبدیل این عنصر از شکل معدنی و تثبیت شده به حالت محلول و تبادلپذیری است. بنابراین باکتری تیوباسیلوس و گوگرد بنتونیت دار به جهت تجزیه و انحلال کانیها موجب آزادسازی پتاسیم و افزایش جذب آن در اندام هوایی گلرنگ شده اند.

داشتند بیشترین میزان پتاسیم در آبیاری تا ۵۰ درصد گلدهی با ۱/۹۰ درصد به دست آمد و کمترین مقدار نیز تحت آبیاری تا ۵۰ درصد کپسول دهی (۱/۷۴ درصد) حاصل شد که با تیمار آبیاری کامل (۱/۷۹ درصد) اختلاف معنی داری نداشت.

در آزمایش پیش رو افزایش مصرف منابع گوگردی به واسطه افزایش رشد و فعالیت ریشه باعث جذب بیشتر پتاسیم از خاک شد. در پژوهشی در کنجد بیان شد کاربرد مقادیر

**Table 6-** Means comparison of the interaction effect irrigation and Thiobacillus on potassium, phosphorus and MDA content in safflower

Irrigation regime	Thiobacillus spp.	K Shoot (%)	P Shoot (%)	MDA ( $\mu\text{M.g}^{-1}$ FW)
Full irrigation	T <sub>0</sub> (Non-application)	2.06 <sup>b</sup>	0.43 <sup>b</sup>	1.24 <sup>a</sup>
	T <sub>1</sub> (Application)	2.25 <sup>a</sup>	0.522 <sup>a</sup>	0.87 <sup>b</sup>
Cut off irrigation from the flowering stage	T <sub>0</sub> (Non-application)	2.91 <sup>a</sup>	0.357 <sup>b</sup>	2.44 <sup>a</sup>
	T <sub>1</sub> (Application)	2.8 <sup>a</sup>	0.387 <sup>a</sup>	1.68 <sup>b</sup>
Cut off irrigation from the seed filling stage	T <sub>0</sub> (Non-application)	2.26 <sup>b</sup>	0.416 <sup>b</sup>	1.87 <sup>a</sup>
	T <sub>1</sub> (Application)	2.5 <sup>a</sup>	0.467 <sup>a</sup>	1.28 <sup>b</sup>

In each column, , means with common letter don't have a significant difference at the 5% level.

ساخت درشت مولکولهایی همچون پپتیدها، اسیدهای چرب و کلروفیل دارد، می تواند مقاومت گیاه را افزایش دهد. با این حال، میزان گوگرد در گیاهان تحت تنش به طور قابل توجهی کاهش می یابد (Kopriva et al., 2019). در طول تنش خشکی، سولفات به طور فعال در شیره آوند چوبی به روشی مرتبط با سنتز آبسزیک اسید (ABA) بارگیری می شود و بیان ژن های بیوسنتز ABA را افزایش می دهد. مسدود کردن انتقال سولفات به سلول های نگهبان باعث کاهش بسته شدن روزنه در برگ ها می شود (Malcheska et al., 2017).

به نظر می رسد عرضه مقادیر مناسب سولفات در تیمارهای گوگرد عنصری و تیوباسیلوس باعث افزایش جذب سولفات و به تبع آن انتقال گوگرد به بخش هوایی گیاه شده است. Motalebifard and Nourgholipour (2021) نیز بیان نمودند استفاده از گوگرد عامل افزایش میزان غلظت گوگرد برگ (۰/۹۹ درصد) از منبع ۱۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار شد. ایشان همچنین افزودند که اثربخشی گوگرد منوط به اکسایش آن و تولید اسید سولفوریک است که بستگی به حاصلخیزی جمعیت ریزجانداران اکسید کننده گوگرد در خاک، رطوبت و

**محتوای گوگرد اندام هوایی:** اثر متقابل سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس بر درصد گوگرد اندام هوایی در سطح احتمال خطای یک درصد معنی دار شد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش طول مدت قطع آبیاری در گیاه گلرنگ از درصد گوگرد اندام هوایی کاسته شد و در هر سه سطح رژیم آبیاری، کاربرد گوگرد به همراه تیوباسیلوس موجب افزایش درصد گوگرد نسبت به تیمار شاهد شد. در هر سه سطح رژیم آبیاری (به ترتیب آبیاری کامل و قطع آبیاری از مرحله گلدهی و پر شدن دانه) بیشترین درصد گوگرد اندام هوایی به ترتیب با میانگین های ۰/۲۶۳، ۰/۱۴۹ و ۰/۲۳۴ درصد از تیمار کاربرد همزمان ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار و تیوباسیلوس و کمترین آن به ترتیب با میانگین های ۰/۲۳۹، ۰/۱۰۹ و ۰/۱۸۳ درصد از تیمار شاهد (عدم کاربرد گوگرد و عدم کاربرد تیوباسیلوس) به دست آمد (جدول ۳).

تنش خشکی به دلیل بسته شدن روزنه ها برای کاهش تعرق، منجر به کاهش جذب CO<sub>2</sub> می شود و همچنین کارایی استفاده از عناصر غذایی را کاهش می دهد. این ارتباط بین عناصر غذایی و رطوبت به صورت متقابل عمل می کند. در شرایط تنش، گوگرد به علت نقشی که در

درجه حرارت خاک، pH خاک، ماده آلی و مدیریت محصول دارد.

### محتوای آهن اندام هوایی: تجزیه واریانس داده ها

نشان از معنی داری اثر متقابل سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس بر محتوای آهن اندام هوایی در سطح احتمال خطای یک درصد دارد (جدول ۲). اطلاعات مقایسه میانگین نشان از روند نزولی محتوای آهن اندام هوایی با افزایش دوره قطع آبیاری دارد به طوری که در سطح قطع آبیاری از مرحله گلدهی، کمترین محتوای آهن اندام هوایی و در سطح آبیاری کامل، بیشترین محتوای آهن اندام هوایی گلرنگ مشاهده شد. در سطح آبیاری کامل بیشترین محتوای آهن اندام هوایی با میانگین ۷۶/۵ میلی گرم بر کیلوگرم از تیمار کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار به همراه تیوباسیلوس و کمترین آن نیز با میانگین ۵۶/۸۵ میلی گرم بر کیلوگرم از تیمار کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار و بدون تیوباسیلوس به دست آمد (جدول ۳). در تنش قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه بیشترین محتوای آهن اندام هوایی از تیمار کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار به همراه کاربرد تیوباسیلوس به دست آمد که نسبت به تیمار شاهد با افزایش ۳۷/۲۳ درصدی مواجه شده بود. در سطح قطع آبیاری از مرحله گلدهی نیز بیشترین و کمترین محتوای آهن اندام هوایی به ترتیب از کاربرد همزمان ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد + باکتری تیوباسیلوس و عدم کاربرد گوگرد و باکتری مشاهده شد (جدول ۳).

از آنجا که مقدار جذب عناصر وابسته شرایطی چون غلظت قابل دسترس، رطوبت خاک، درجه حرارت محیط و همین طور موجودی دیگر عناصر است، به نظر می رسد در این پژوهش اسید سولفوریک ایجاد شده از کاربرد کودهای گوگردی با آزادسازی و جذب بهتر آهن از ترکیبات کمپلکس موجود در خاک، عامل افزایش محتوای آهن اندام هوایی گلرنگ شده است. (Gohargani 2015) در تحقیقی بر کلزا بیان داشت که مصرف گوگرد پودری و باکتری تیوباسیلوس بر میزان آهن موجود در خاک موثر

بوده است، به گونه ای که بیشترین میزان آهن (۱۳/۴۷ میلی گرم در کیلوگرم) از مصرف ۸۰۰ کیلوگرم گوگرد به همراه ۴ کیلوگرم مایه تلقیح تیوباسیلوس حاصل شد. خاک مهم ترین فاکتور مؤثر بر قابلیت جذب آهن است. در خاک های آهکی مقداری یون بی کربنات در اثر واکنش دی اکسید کربن و آهک تولید می شود که این یون با افزایش pH خاک باعث کاهش آهن قابل جذب می شود، به طوری که با یک واحد افزایش در pH خاک، فعالیت  $Fe^{2+}$  و  $Fe^{3+}$  به ترتیب ۱۰۰ و ۱۰۰۰ برابر کاهش می یابد. در آزمایش حاضر نیز، استفاده از گوگرد بنتونیت دار و باکتری تیوباسیلوس با کاهش pH میزان آهن خاک را افزایش داده و در نتیجه جذب آن توسط ریشه های گلرنگ را تسهیل نموده است.

### محتوای روی اندام هوایی: نتایج تجزیه واریانس

داده ها گویای معنی داری اثر متقابل سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس بر محتوای روی اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد بود (جدول ۲). مطابق با مقایسه میانگین سطوح گوگرد و تیوباسیلوس در هر سطح رژیم آبیاری، محتوای روی اندام هوایی همراه با افزایش طول مدت قطع آبیاری کاهش یافت و کاربرد گوگرد و باکتری تیوباسیلوس این روند کاهشی را بهبود بخشیدند. در سطوح آبیاری کامل و قطع آبیاری از مراحل پر شدن دانه و گلدهی بیشترین محتوای عنصر روی به ترتیب با میانگین های ۴۴/۶۶ ، ۳۰/۱۶ و ۲۵/۶۶ میلی گرم بر کیلوگرم از تیمار ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار به همراه تیوباسیلوس به دست آمد و کمترین آن نیز از تیمار عدم کاربرد گوگرد و تیوباسیلوس مشاهده شد که به ترتیب با افزایش ۷۶/۸ و ۷۵/۷۵ درصدی و ۱/۲۳ برابری همراه بودند (جدول ۳).

Shojaeian Kish et al. (2021) نیز در راستای

پژوهش حاضر افزودند که با افزایش سطوح تنش خشکی میزان عنصر روی در اندام هوایی کتان روغنی کاهش یافت به گونه ای که بیشترین مقدار (۲۲/۸ میلی گرم بر کیلوگرم) از سطح آبیاری کامل و کمترین مقدار (۱۶/۸ میلی گرم بر

کیلوگرم) از قطع آبیاری از مرحله شروع گلدهی تا کپسول‌دهی نشان داده شد.

عنصر روی به دلیل محافظت از گروه سولفیدریل، سنتز کلروفیل‌ها را در پی دارد. عنصر روی به واسطه اتصال به گروه سولفیدریل (SH) موجب استحکام آنزیم‌ها و ساختار لیپیدهای غشای یاخته‌ای می‌شود. بر این اساس می‌توان به ارتباط بین گوگرد و روی پی‌برد که در این آزمایش نیز متناسب با افزایش گوگرد مصرفی و البته فراهمی شرایط جذب و انتقال روی، افزایش این عنصر در اندام هوایی گلرنگ دیده شد. در همین راستا نتایج حاصل از تحقیقات Dehghan et al. (2021) نیز حاکی از اثرگذاری مثبت و معنی‌دار گوگرد در افزایش محتوای روی اندام هوایی گلرنگ داشت.

#### محتوای کلروفیل کل برگ: جدول تجزیه

واریانس نشانگر معنی‌داری اثر سه‌گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس در سطح احتمال خطای پنج درصد بر محتوای کلروفیل کل است (جدول ۷). نتایج مقایسه میانگین حاکی از آن است که با افزایش طول مدت قطع آبیاری، محتوای کلروفیل کل برگ کاهش یافت. در سطح آبیاری کامل تیمار کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + تیوباسیلوس دارای بیشترین محتوای کلروفیل کل برگ (۰/۹۲۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) بود و تیمار عدم کاربرد گوگرد و تیوباسیلوس نیز دارای کم‌ترین محتوای کلروفیل کل برگ (۰/۵۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) بود. در سطح قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه و گلدهی نیز تیمار کاربرد تیوباسیلوس به همراه ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار دارای بیشترین مقدار محتوای کلروفیل کل برگ به ترتیب با میانگین ۰/۸۲۲ و ۰/۶۴۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود و تیمار شاهد (عدم کاربرد گوگرد و باکتری) با میانگین‌های ۰/۵۱۶ و ۰/۳۷۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ دارای کم‌ترین میزان کلروفیل کل برگ در گلرنگ بود (جدول ۸).

یکی از شاخص‌های مهم فیزیولوژیکی مقاومت در برابر تنش‌های غیرزنده، حفظ فرایند فتوسنتز و پایداری

کلروفیل برگ می‌باشد. شدت فرایند فتوسنتز در پی مواجهه گیاه با شرایط کم‌آبی کاهش می‌یابد، زیرا به واسطه اختلال در سامانه‌های آنزیمی کاهش‌دهنده فعالیت اکسیژن فعال، پراکسیداسیون چربی‌ها و در نتیجه خسارت به غشای سلولی و تخریب رنگدانه‌ها بیشتر می‌شود. اساس ساختمان کلروفیل در گیاهان از عناصر مغذی نیتروژن، فسفر و آهن تشکیل شده است و هرگونه کاهش محتوای این عناصر، کاهش کلروفیل تحت شرایط تنش را به دنبال دارد (Rostami et al., 2022). گوگرد نیز جزئی از آمینواسیدهای سیستمین و متیونین و بخشی از پروتئین‌ها است که در سنتز کلروفیل نقش مهمی ایفا می‌کند (Kopriva et al., 2019)، در واقع گوگرد به عنوان جزئی از سوکسینیل کوآنزیم A در بیوسنتز کلروفیل در برگ‌ها دخیل بوده و فعالیت آن در سطح سلولی از طریق افزایش فتوسنتز ظهور می‌یابد (Noorbakhsh et al., 2014).

در این تحقیق کاهش محتوای کلروفیل کل در شرایط تنش خشکی می‌تواند نتیجه افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز و یا حمله رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش اکسیدکننده باشد (Khorasaninejad et al., 2018). کاربرد گوگرد بنتونیت‌دار و بیوسولفور تیوباسیلوس دسترسی گیاه گلرنگ به گوگرد و دیگر عناصر غذایی وابسته به pH را که در چرخه‌های فتوسنتزی و ساختمان سیتوکروم‌ها نقش دارند، افزایش داده است. همسو با یافته‌های این تحقیق، تاثیر مثبت کاربرد گوگرد بر محتوای رنگینه‌های کلروفیل در گلرنگ (Fattahi et al., 2024) گزارش شده است.

#### محتوای کاروتنوئید برگ: جدول تجزیه واریانس

بیانگر معنی‌داری اثر متقابل سه‌گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس بر محتوای کاروتنوئید در سطح احتمال پنج درصد دارد (جدول ۷). نتایج نشان داد که در سطح آبیاری کامل تیمار کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد + تیوباسیلوس دارای بیشترین میزان کاروتنوئید (۰/۰۳۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و تیمار شاهد (عدم کاربرد گوگرد و باکتری) دارای کم‌ترین میزان کاروتنوئید (۰/۰۲۳۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) بود. در سطوح قطع آبیاری از مرحله پر شدن

دانه و قطع آبیاری از مرحله گلدهی نیز بیشترین و کمترین محتوای کاروتنوئید کل برگ به ترتیب متعلق به تیمار کاربرد همزمان ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + تیوباسیلوس و تیمار شاهد بود که افزایش ۳۳/۷۲ و ۲۳/۳۶ درصدی را در پی داشتند (جدول ۸).

کاروتنوئیدها حمایت کنندگان رنگدانه‌های فتوسنتزی و غیر فتوسنتزی هستند که انرژی طول موج‌های کوتاه را گرفته و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژنی، نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا می‌نمایند (Inze and Van Montagu, 1995). پژوهشگران با بررسی تاثیر سطوح قطع آبیاری بر محتوای کاروتنوئید در گیاه گلرنگ بیان کردند در تنش شدید (آبیاری تا مرحله تکمیل گلدهی) با کاهش پتانسیل آب، غلظت کاروتنوئید به مقدار ۲۷ درصد در مقایسه با آبیاری کامل کاهش یافت (Sargazi et al., 2023). در تحقیق پیش‌رو احتمالاً کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی گوگردی به واسطه بهبود جذب عناصر موجب افزایش معنی‌دار محتوای کاروتنوئید در سطوح قطع آبیاری شده است به گونه‌ای که تفاوت معنی‌داری میان دو سطح قطع آبیاری در مرحله پر شدن دانه با قطع آبیاری در مرحله گلدهی مشاهده نشد و به همین دلیل اثرات کاهش تنش شدید را نسبت به تنش ملایم بهبود بخشیده است. افزایش مقدار کاروتنوئیدها تحت تنش آبی (ناشی از اثر دفاعی این رنگیزه‌ها برای محافظت از کلروفیل) قابل انتظار است و نشان‌دهنده نقش آن در تعدیل میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن است.

**محتوای قندهای محلول برگ:** نتایج تجزیه واریانس (جدول ۷) حاکی از معنی‌داری اثر سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس در سطح احتمال پنج درصد بر محتوای قندهای محلول برگ است. نتایج مقایسه میانگین نشان داد در سطح آبیاری کامل و قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه بیشترین محتوای قندهای محلول برگ در تیمار کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + تیوباسیلوس حاصل شد که به ترتیب موجب افزایش ۱/۱۲ برابری و ۴۴/۳۸ درصدی محتوای قندهای محلول برگ نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد گوگرد و تیوباسیلوس) شد. همچنین در سطح تنش قطع آبیاری از مرحله گلدهی تیمار کاربرد همزمان تیوباسیلوس و ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار دارای بیشترین محتوای قندهای محلول برگ (۵۸/۰۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) و تیمار ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار دارای کمترین محتوای قندهای محلول برگ (۴۷/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ) بود که بایکدیگر اختلاف معنی‌دار ۲۱/۴۲ درصدی داشتند (جدول ۸). سازوکار تنظیم اسمزی یکی از اجزای تاثیرگذار بر میزان تحمل گیاهان به تنش خشکی می‌باشد. به دلیل آن که قندها از اسمولیت‌های سازگار به تنش خشکی محسوب می‌شوند و انباشت آن‌ها تنظیم اسمزی، توانایی نگهداشت آماس سلولی و پایداری پروتئین‌ها را سبب می‌شود، در نتیجه افزایش محتوای قندهای محلول در اثر قطع آبیاری، راهکار دفاعی گیاه برای افزایش تحمل نسبت به وضعیت نامناسب موجود است (Hadi et al., 2015).

**Table 7-** Analysis of variance (mean square) of the effects of irrigation, sulfur and thiobacillus treatments on f physiological traits and Grain Yield of safflower

S.O.V	df	Total chlorophyll	Carotenoid	Soluble sugar	Catalase	Peroxidase	MDA	Grain Yield
Replication	2	0.002 <sup>ns</sup>	0.00016 <sup>ns</sup>	7.22 <sup>ns</sup>	0.17 <sup>ns</sup>	0.30 <sup>*</sup>	0.26 <sup>**</sup>	18984 <sup>ns</sup>
Irrigation (I)	2	0.25 <sup>**</sup>	0.010 <sup>**</sup>	3941.16 <sup>**</sup>	618.15 <sup>**</sup>	5.04 <sup>**</sup>	4.51 <sup>**</sup>	9508651 <sup>**</sup>
Error a	4	0.001	0.00002	7.34	0.80	0.06	0.027	35981
Sulphur (S)	2	0.31 <sup>**</sup>	0.0030 <sup>**</sup>	140.06 <sup>**</sup>	146.11 <sup>**</sup>	4.009 <sup>**</sup>	1.50 <sup>**</sup>	613584 <sup>**</sup>
Thiobacillus (T)	1	0.04 <sup>**</sup>	0.0046 <sup>**</sup>	641.43 <sup>**</sup>	29.78 <sup>**</sup>	8.68 <sup>**</sup>	4.42 <sup>**</sup>	1320704 <sup>**</sup>
T × S	2	0.001 <sup>ns</sup>	0.0002 <sup>*</sup>	3.16 <sup>ns</sup>	12.95 <sup>*</sup>	0.001 <sup>ns</sup>	0.40 <sup>**</sup>	53084 <sup>ns</sup>
S × I	4	0.0008 <sup>ns</sup>	0.0002 <sup>*</sup>	3.55 <sup>ns</sup>	10.64 <sup>*</sup>	0.04 <sup>ns</sup>	0.18 <sup>**</sup>	127840 <sup>**</sup>
T × I	2	0.001 <sup>ns</sup>	0.0004 <sup>**</sup>	34.17 <sup>*</sup>	6.27 <sup>ns</sup>	0.77 <sup>**</sup>	0.16 <sup>*</sup>	180393 <sup>**</sup>
T × S × I	4	0.003 <sup>*</sup>	0.0002 <sup>*</sup>	27.50 <sup>*</sup>	7.74 <sup>*</sup>	0.8 <sup>*</sup>	0.01 <sup>ns</sup>	66386 <sup>**</sup>
Error b	30	0.001	0.00007	10.64	2.71	0.08	0.041	28292

c.v. (%)	5.81	6.37	8.98	14.6	13.73	13.3	6.45
----------	------	------	------	------	-------	------	------

ns, \* and \*\*: Non significant and significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

**Table 8-** Means comparison of of triple interaction of irrigation, sulfur and thiobacillus on physiological traits and grain yield in safflower

Irrigation regime	sulfur (kg/ha)	Thiobacillus spp.	Total chlorophyll (mg.g <sup>-1</sup> FW)	Carotenoid (mg.g <sup>-1</sup> FW)	Soluble sugar (mg.g <sup>-1</sup> FW)	Catalase (m mol.g <sup>-1</sup> .min)	Peroxidase (Unit.mg <sup>-1</sup> protein.min)	Grain Yield (kg.ha <sup>-1</sup> )
Full irrigation	0	T <sub>0</sub>	0.539 <sup>d</sup>	0.139 <sup>d</sup>	14.08 <sup>d</sup>	3.21 <sup>e</sup>	0.9 <sup>e</sup>	2960 <sup>e</sup>
		T <sub>1</sub>	0.662 <sup>c</sup>	0.150 <sup>c</sup>	22.77 <sup>b</sup>	5.24 <sup>c</sup>	1.61 <sup>c</sup>	3083 <sup>c</sup>
	150	T <sub>0</sub>	0.781 <sup>b</sup>	0.144 <sup>d</sup>	19.06 <sup>c</sup>	4.31 <sup>d</sup>	1.23 <sup>d</sup>	3363 <sup>b</sup>
		T <sub>1</sub>	0.796 <sup>b</sup>	0.194 <sup>a</sup>	27.86 <sup>a</sup>	6.85 <sup>b</sup>	2.05 <sup>b</sup>	3635 <sup>a</sup>
	300	T <sub>0</sub>	0.826 <sup>b</sup>	0.170 <sup>b</sup>	18.15 <sup>c</sup>	5.49 <sup>c</sup>	2.01 <sup>b</sup>	3413 <sup>b</sup>
		T <sub>1</sub>	0.922 <sup>a</sup>	0.198 <sup>a</sup>	29.89 <sup>a</sup>	8.62 <sup>a</sup>	2.35 <sup>a</sup>	3708 <sup>a</sup>
Cut off irrigation from the flowering stage	0	T <sub>0</sub>	0.372 <sup>f</sup>	0.111 <sup>c</sup>	49.49 <sup>c</sup>	12.26 <sup>e</sup>	1.80 <sup>f</sup>	1836 <sup>a</sup>
		T <sub>1</sub>	0.403 <sup>e</sup>	0.119 <sup>b</sup>	48.15 <sup>d</sup>	15.65 <sup>d</sup>	2.95 <sup>e</sup>	1941 <sup>a</sup>
	150	T <sub>0</sub>	0.499 <sup>d</sup>	0.116 <sup>c</sup>	47.79 <sup>d</sup>	15.56 <sup>d</sup>	1.98 <sup>e</sup>	1765 <sup>a</sup>
		T <sub>1</sub>	0.587 <sup>c</sup>	0.132 <sup>a</sup>	54.74 <sup>b</sup>	17.00 <sup>c</sup>	3.21 <sup>b</sup>	1941 <sup>a</sup>
	300	T <sub>0</sub>	0.630 <sup>b</sup>	0.125 <sup>b</sup>	50.93 <sup>c</sup>	23.77 <sup>a</sup>	2.53 <sup>d</sup>	1878 <sup>a</sup>
		T <sub>1</sub>	0.664 <sup>a</sup>	0.136 <sup>a</sup>	58.03 <sup>a</sup>	19.62 <sup>b</sup>	3.97 <sup>a</sup>	2098 <sup>a</sup>
Cut off irrigation from the seed filling stage	0	T <sub>0</sub>	0.518 <sup>e</sup>	0.105 <sup>c</sup>	27.35 <sup>d</sup>	6.00 <sup>d</sup>	1.33 <sup>e</sup>	2140 <sup>d</sup>
		T <sub>1</sub>	0.605 <sup>d</sup>	0.122 <sup>b</sup>	37.77 <sup>ab</sup>	9.64 <sup>c</sup>	1.80 <sup>d</sup>	2498 <sup>c</sup>
	150	T <sub>0</sub>	0.727 <sup>c</sup>	0.122 <sup>b</sup>	32.69 <sup>c</sup>	9.56 <sup>c</sup>	1.94 <sup>c</sup>	2276 <sup>d</sup>
		T <sub>1</sub>	0.741 <sup>c</sup>	0.135 <sup>a</sup>	38.98 <sup>ab</sup>	10.91 <sup>b</sup>	2.33 <sup>b</sup>	2826 <sup>b</sup>
	300	T <sub>0</sub>	0.783 <sup>b</sup>	0.129 <sup>b</sup>	36.10 <sup>b</sup>	14.12 <sup>a</sup>	2.55 <sup>b</sup>	2421 <sup>c</sup>
		T <sub>1</sub>	0.822 <sup>a</sup>	0.142 <sup>a</sup>	39.49 <sup>a</sup>	14.12 <sup>a</sup>	2.92 <sup>a</sup>	3136 <sup>a</sup>

In each column, averages with common character do not have a significant difference at the 5% level.

T<sub>0</sub> = Application of bacteria, T<sub>1</sub> = Non-application of bacteria

**فعالیت آنزیم کاتالاز:** نتایج تجزیه واریانس نشان می‌دهد اثر متقابل سه‌گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس در سطح احتمال پنج درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار شد (جدول ۷). فعالیت آنزیم کاتالاز همراه با افزایش سطوح قطع آبیاری افزایش یافت و کاربرد گوگرد و باکتری تیوباسیلوس نیز این روند افزایشی را تسریع کرد. در سطوح آبیاری کامل و قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب با میانگین‌های ۸/۶۲ و ۱۴/۱۲ میکرومول بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار به همراه تیوباسیلوس به دست آمد، اما در سطح قطع آبیاری از مرحله گلدهی بیشترین میزان فعالیت کاتالاز از تیمار کاربرد مجزای ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار حاصل شد. کم‌ترین آن نیز در هر سه سطح قطع آبیاری از تیمار عدم کاربرد گوگرد به همراه عدم کاربرد تیوباسیلوس مشاهده شد. (جدول ۸).

در پژوهش حاضر غلظت عناصر مغذی چون نیتروژن و فسفر اندام هوایی به واسطه کاربرد گوگرد بنتونیت‌دار و باکتری تیوباسیلوس افزایش یافت. از آنجا که کارکرد این عناصر در بیوسنتز پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها (در چرخه کربس و فسفریلاسیون اکسیداتیو) ضروری است، در نتیجه اعمال کودهای زیستی و شیمیایی گوگردی، افزایش محتوای قندهای محلول انتظار می‌رفت. اطلاعات آزمایش حاضر نشان می‌دهد که کاربرد منابع گوگردی موجب کاهش صدمات ناشی از تنش قطع آبیاری می‌شود، زیرا با تجمع قندهای محلول، جذب آب ناشی از کاهش پتانسیل اسمزی، عامل حفظ فشار تورژسانس و تعادل اسمزی بوده است. در این (Mousavi Nik, 2012) بیان داشت که کاربرد سطوح کود گوگردی افزایش غلظت کربوهیدرات‌ها را در پی داشته است. ایشان علت را به اثر مثبت گوگرد بر افزایش رشد رویشی و به‌ویژه بافت‌های فتوسنتزی نسبت دادند.

در زمان بروز تنش خشکی، واکنش‌های تاریکی فرآیند فتوسنتز مختل می‌شود و اکسیژن به عنوان پذیرنده جان‌شین الکترون عمل کرده، سبب ایجاد رادیکال‌های آزاد می‌شود. این ترکیبات خسارت زیادی از طریق اکسیداسیون درشت مولکول‌ها به یاخته‌ها وارد می‌کنند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در یاخته‌های گیاهان دارند (Soleymani and Pirzad, 2016). کاتالاز به دلیل ویژگی ضد اکسندگی برای فعال شدن پاسخ‌های دفاعی جهت مقابله با تنش‌ها عمل می‌کند و همراه دیگر آنزیم‌ها در پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد موثر است. Pashang *et al.* (2023) در مطالعه‌ای بر گیاه گل‌رنگ عنوان کردند اثرات تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز در تنش شدید (قطع آبیاری از مرحله گلدهی) با افزایش ۲۹۲/۸۶ درصدی در رقم گل‌مهر همراه بود. همچنان که در تحقیق حاضر نیز با افزایش ۱۷۵/۷۵ درصدی در رقم فرمان همراه بود. در این آزمایش نشان داده شد که در گیاه گل‌رنگ کاربرد کودهای گوگرد بنتونیت‌دار و باکتری تیوباسیلوس به دلیل القای دفاع آنتی‌اکسیدانی در پاسخ به قطع آبیاری موثر بوده است. در واقع گوگرد در پیوندهای دی‌سولفید موجود در مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی حضور داشته و از این رو مسئول کاهش تنش اکسیداتیو می‌باشند (Ihara *et al.*, 2017). از طرف دیگر به دلیل آن که آهن از اجزای مهم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز می‌باشد (Nazari *et al.*, 2018) و در این تحقیق نیز کاربرد گوگرد در افزایش جذب عنصر آهن در اندام هوایی گل‌رنگ اثبات شد، لذا می‌توان چنین نتیجه گرفت که استفاده از کودهای گوگردی موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شده است و در نتیجه به پایداری غشا در برابر تنش کمک کرده است. یافته‌های (Heidari *et al.*, 2015) نیز نشان داد که کاربرد گوگرد در گیاه آفتابگردان بر افزایش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت سطوح خشکی موثر بوده است.

**فعالیت آنزیم پراکسیداز:** نتایج تجزیه واریانس (جدول ۷) نمایانگر معنی‌داری اثر متقابل سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس در سطح احتمال خطای پنج درصد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز بود. مقایسه میانگین نشان داد فعالیت آنزیم پراکسیداز همراه با افزایش طول مدت قطع آبیاری روندی صعودی داشته است، در سطوح آبیاری کامل، قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه و قطع آبیاری از مرحله گلدهی بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب با میانگین‌های ۲/۳۵، ۲/۹۲ و ۳/۹۷ جذب در دقیقه به میکروگرم پروتئین از تیمار کاربرد همزمان ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار به همراه کاربرد تیوباسیلوس حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد (عدم کاربرد گوگرد و تیوباسیلوس) به ترتیب اختلاف ۱/۶۱، ۱/۱۹ و ۱/۲۰ برابری نشان دادند (جدول ۸).

در شرایط تنش آبی و کاهش ظرفیت انتقال الکترون فتوسنتزی که به دنبال آن تجمع الکترون‌ها و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن نظیر پراکسید هیدروژن منجر به تخریب غشای سلولی می‌شود، فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش می‌یابد. Motakefi *et al.* (2022) در پژوهش خود بر گیاه گل‌رنگ نشان دادند، بیشترین مقدار فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز به میزان ۱۴/۳۳ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار قطع آبیاری در مرحله تشکیل طبق حاصل شد و کم‌ترین مقدار آن نیز به میزان ۲/۴۲ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه از تیمار آبیاری کامل به دست آمد که با نتایج تحقیق حاضر هم‌راستا می‌باشد.

یافته‌های این پژوهش بیانگر آن است که فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت کاربرد گوگرد بنتونیت‌دار و باکتری تیوباسیلوس نسبت به تیمار شاهد با افزایش طول مدت قطع آبیاری افزایش یافته است، به نحوی که کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + تیوباسیلوس بیشترین فعالیت پراکسیداز را به دنبال داشته است. در همین راستا Ghasem Beiki *et al.* (2021) نیز اظهار داشتند که کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد همراه با تلقیح باکتری تیوباسیلوس بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را به میزان ۳/۷۳۰ میکرومول

بر دقیقه بر میلی گرم پروتئین نسبت به شاهد در کلزا نشان داده است. این تاثیر گذاری مثبت گوگرد در فعالیت آنزیم پراکسیداز را می توان ناشی از حضور مستقیم گوگرد در تشکیل پیوندهای دی سولفید موجود در ساختار پراکسیداز دانست (Ihara *et al.*, 2017) و یا در نتیجه تاثیر غیرمستقیم گوگرد از طریق بهبود جذب عنصر آهن که جزئی اساسی از ساختار پراکسیداز است (Nazari *et al.*, 2018).

**محتوای مالون دی آلدئید:** نتایج تجزیه واریانس گویای معنی داری اثرات متقابل دوگانه گوگرد × تیوباسیلوس و رژیم آبیاری × گوگرد در سطح احتمال یک درصد و معنی داری اثر دوگانه رژیم آبیاری × تیوباسیلوس در سطح احتمال پنج درصد است (جدول ۷). مقایسه میانگین سطوح گوگرد در هر سطح تیوباسیلوس حاکی از آن است که در سطح عدم کاربرد و کاربرد باکتری تیوباسیلوس، تیمار ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار به ترتیب موجب کاهش ۳۸/۱۵ و ۲۰/۱۴ درصدی محتوای مالون دی آلدئید نسبت به شاهد گردید (جدول ۴). مقایسه میانگین سطوح گوگرد در هر سطح رژیم آبیاری نیز حاکی از آن است که در سطوح آبیاری کامل و قطع آبیاری از مراحل پر شدن دانه و گلدهی کم ترین میزان محتوای مالون دی آلدئید مربوط به تیمار کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار بود که نسبت به تیمار شاهد کاهش ۲۹/۰۸، ۲۷/۷۰ و ۳۵/۱۴ درصدی داشت (جدول ۵). مطابق با جدول ۶ در سطوح آبیاری کامل، قطع آبیاری از مراحل پر شدن دانه و گلدهی کاربرد تیوباسیلوس محتوای مالون آلدئید برگ را به ترتیب به میزان ۲۹/۸۳، ۳۱/۵۵ و ۳۱/۱۴ درصد کاهش داد.

مالون دی آلدئید نتیجه تجزیه هیدروپراکسیدهای اسیدهای چرب غیراشباع است و به عنوان یک نشانگر زیستی به جهت پراکسیداسیون لیپیدی، که حاصل تنش اکسیداتیو است، ایجاد می شود. در واقع با آسیب وارد شده به غشای پلاسمایی که به علت وجود ROS ها در تنش اکسیداتیو رخ می دهد، محتوای مالون دی آلدئید نیز افزایش می یابد. Sharifi Soltani *et al.* (2022) ابراز نمودند در کرچک بیشترین مقدار فعالیت مالون دی آلدئید در شرایط

تنش شدید (قطع آبیاری به مدت ۴۴ روز) به دست آمد و میزان آن نسبت به آبیاری کامل، ۸۰/۰۵ درصد افزایش یافت.

یافته های حاضر نشانگر آن است که متناسب با کاهش دسترسی به رطوبت کافی، میزان محتوای مالون دی آلدئید نیز به واسطه خسارت وارد شده به یاخته ها بیشتر شد. همچنین تجمع اسمولیت های سازگار با تنش و همچنین آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز با افزایش مصرف گوگرد و تیوباسیلوس موجب تنظیم اسمزی درون یاخته ای شد و از این طریق تنش وارد شده به غشا را کاهش داد، در نتیجه پایداری غشای پلاسمایی را به دنبال داشتند و میزان مالون دی آلدئید را کاهش دادند. Soleymani *et al.* (2017) در مطالعات خود بر گیاه کلزا دریافتند که اگرچه بیشترین میزان مالون دی آلدئید از تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی با ۲۷/۳۲ نانومول بر میلی گرم پروتئین به دست آمد، اما کاربرد باکتری تیوباسیلوس با افزایش دیواره یاخته ای و پایداری غشای سیتوپلاسمی از میزان بیومارکر تخریب کاست، به گونه ای که از لحاظ آماری با تیمار آبیاری معمول تفاوت معنی داری نداشت. گوگرد به جهت افزایش ساخت پروتئین ها و فسفولیپیدهای موجود در ساختار دیواره یاخته ای، باعث بهبود جذب آب می شود. در این تحقیق نیز اعمال کود گوگرد بنتونیت دار همراه با جذب بهتر عناصر بوده است. به همین دلیل می توان نتیجه گرفت که به جهت بهبود وضعیت مواجهه با ROS ها و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، محتوای مالون دی آلدئید برگ ها نیز با افزایش سطوح تنش، کاهش یافته است.

**عملکرد دانه:** نتایج تجزیه واریانس نمایانگر معنی دار شدن اثر متقابل سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس در سطح احتمال خطای یک درصد بر عملکرد دانه دارد (جدول ۷). مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه نشان داد که در سطح آبیاری کامل بیشترین عملکرد دانه در تیمار کاربرد باکتری تیوباسیلوس به همراه ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار با میانگین ۳۷۰۸ کیلوگرم در هکتار حاصل شد که نسبت به تیمار شاهد با افزایش ۲۵/۲۸ درصدی همراه شد

و همراه با تیمار ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد + تیوباسیلوس در یک گروه آماری قرار گرفتند. در سطح قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه نیز بیشترین عملکرد دانه گلرنگ (۳۱۳۶ کیلوگرم در هکتار) از تیمار کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + تیوباسیلوس و کمترین آن (۲۱۴۰ کیلوگرم در هکتار) از تیمار عدم کاربرد گوگرد و باکتری تیوباسیلوس حاصل شد. در سطح قطع آبیاری از مرحله گلدهی نیز تمامی تیمارهای مورد بررسی در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۸).

کاهش دسترسی به آب آبیاری و کاهش میزان سنتز مواد فتوسنتزی و انتقال آن‌ها به دانه، باعث کاهش اجزای عملکرد و در نهایت کاهش عملکرد دانه می‌شود. به نظر می‌رسد تنش آبی در مرحله گلدهی منجر به کوچک شدن سطح برگ، تسریع پیری، کاهش سرعت رشد محصول و کاهش طول دوره پر شدن دانه گردیده و در نتیجه تجمع ماده خشک و عملکرد دانه در این مرحله کاهش پیدا کرده است. تنش آبی در نتیجه بسته شدن روزنه‌ها و افت فتوسنتز از یک سو و اثر بر فعالیت‌های آنزیمی و فرآیندهای مربوطه از سوی دیگر، موجب افت عملکرد دانه می‌شود. Mosavi *et al.* (2020) نیز بیان نمودند که اعمال قطع آبیاری از مراحل گلدهی و پر شدن دانه به ترتیب ۳/۳۲ و ۳/۱۹ درصد با کاهش عملکرد در گلرنگ همراه بوده است.

اثر مثبت کودهای زیستی و شیمیایی گوگردی بر عملکرد دانه به نقش مستقیم گوگرد در تغذیه گیاه بستگی دارد و همچنین به توانایی این کودها در کاهش موضعی pH خاک در اطراف ریشه‌ها مرتبط است. این کاهش pH به افزایش حلالیت عناصر تثبیت شده در خاک‌های آهکی و بهبود جذب عناصر توسط گیاه کمک می‌کند. بنابراین، می‌توان افزایش عملکرد را بهبود جذب عناصر غذایی دانست. در این پژوهش، به نظر می‌رسد که افزایش غلظت عناصر غذایی به متابولیسم مواد فتوسنتزی، افزایش اجزای

عملکرد و در نهایت افزایش عملکرد دانه گلرنگ منجر شده است. همچنین، می‌توان گفت که نقش مثبت گوگرد در بهبود سامانه‌های دفاع آنزیمی و غیر آنزیمی، از طریق کاهش تأثیرات منفی تنش و افزایش تحمل گیاه، به بهبود عملکرد در واحد سطح کمک کرده است. مطابق با این پژوهش، Moradi and Pasari (2022) در گیاه گلرنگ اطلاع دادند که کاربرد ۳۵۰ کیلوگرم در هکتار از گوگرد گرانوله بنتونیت‌دار عملکرد دانه را به میزان ۱۶/۵۴ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد. همچنین در رابطه با تأثیر کاربرد کود زیستی تیوباسیلوس در کاهش مصرف کودهای شیمیایی نیز در گیاه کنجد Rezaee *et al.* (2017) مطرح نمودند که با اعمال تیمار بیوسولفور، عملکرد دانه به نسبت کاربرد کودهای جداگانه و ترکیبی نیتروژن و فسفر اختلاف معنی‌داری نداشت.

#### نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش استفاده از باکتری تیوباسیلوس و گوگرد بنتونیت‌دار با افزایش جذب عناصر ماکرو و میکرو و تولید درشت مولکول‌هایی مانند پپتیدها، ویتامین‌ها و رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل و کاروتنوئید، توانست پیامدهای منفی ناشی از کم آبیاری را در گیاه گلرنگ بهبود بخشد و باعث افزایش عملکرد دانه در شرایط قطع آبیاری شود. همچنین کاربرد توأم تیوباسیلوس و گوگرد در تیمارهای قطع آبیاری از مرحله گلدهی و پر شدن دانه باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز گردید که نشان‌گر توانایی این منابع گوگردی به‌عنوان تعدیل‌کننده اثر تنش است

**سپاس‌گزاری:** بدین وسیله از دکتر رضا نقی‌ها دانشیار گروه پاتوبیولوژی دانشگاه شهید چمران اهواز به جهت همکاری در تهیه سرم فیزیولوژیک برای تلقیح سوسپانسیون باکتری و بذر تشکر و قدردانی می‌گردد.

#### منابع مورد استفاده

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105: 121-126.



- Aminian, R., Karimzadeh Asl, K., Habibzadeh, F., & Baghbani Arani, A. (2019). The multivariate statistical methods to study the relationships among safflower traits under normal irrigation and drought stress conditions. *Plant Productions*, 42(2): 211-226. [In Persian]
- Arab, S., Baradaran Firouzabadi, M., & Asghari, H. (2016). The effect of ascorbic acid and sodium nitroprusside foliar application on photosynthetic pigments and some traits of spring safflower under water deficit stress. *Plant Productions*, 38(4): 93-104. [In Persian]
- Arabi, M., Parsa, S., Jami Al-Ahmadi, M., & Mahmoodi, S. (2022). Effect of superabsorbent polymer and potassium sulfate on growth, yield and yield components of sesame (*Sesamum indicum* L.) under water deficit conditions. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 15(1): 149-160. [In Persian]
- Arnon, D.I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 24(1): 1.
- Dastbandan Nejad, S., aki Nejad, T., & Lack, S. (2010). Study effect of drought stress and different levels of potassium fertilizer on K accumulation in corn. *Nature and Sciences*, 8(5): 23-27.
- Dehghan, R., Karimian, A., Ghasemi, S., & Amini, M. (2023). Comparison the effect of sulfur on yield and micro elements uptake in oilseed crops and forage plants The effect of sulfur on yield and nutrient uptake in oilseed crops and forage plants. *Journal of Environmental Science and Technology*, 25(3):49-61. [In Persian]
- Emami, A. (1996). Methods of plant analysis. *Soil and Water Research Institute*, 982(1): 128. [In Persian]
- Fallah Nusratabad, A. (2019). The effect of sulfur and *Thiobacillus* inoculum on phosphorus absorption in rapeseed. *Oilseed Plants*, 2(1): 7-12. [In Persian]
- Fattahi, M., Janmohammadi, M., & Sabaghnia, N. (2024). The agronomic response of *Carthamus tinctorius* to sulphur fertilizers. *Agriculture and Forestry*, 70(1): 203-215.
- Ghasem Beiki, S., Majidian, P., Rameeh, V., Gerami, M., & Masoudi, B. (2021). Effect of Sulfur Application Inoculated with *Thiobacillus* Bacteria on some Physiological Characteristics of Promising Line of L17 Canola (*Brassica napus* L.) under Rainfed Conditions of Mazandaran. *Crop Physiologist Journal*, 12 (48): 115-131. [In Persian]
- Gholami, M., Koochekzadeh, A., Siadat, A., Moradi Telavat, M.R., & Rafiee, M. (2022a). Evaluation the nutrient content of different rapeseed (*Brassica napus* L.) cultivars under the effect of *Azotobacter* and irrigation. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 53(1): 27-38. [In Persian]
- Gholami, M., Siadat, S.A., Koochakzadeh, A., Moradi Telavat, M.R., & Rafeie, M. (2022b). Survey of *Azotobacter* inoculation and cessation of irrigation on yield and some physiological characteristics of rapeseed cultivars. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 15(2): 375-392. [In Persian]
- Gohargani, J. (2015). Effect of sulfur, organic matter and *Thiobacillus* on availability of micronutrients in canola seeds in a Calcareous Soil. *Journal of Sol Biology*, 3(1): 73-82. [In Persian]
- Hadi, H., Seyed Sharifi, R., & Namur, A. (2015). *Plant protection and abiotic stresses*. (First Edition. ed.). Publications of Urmia University. 346p. [In Persian]
- Heath, R.L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of biochemistry and biophysics*, 125(1): 189-198.
- Heidari, G., Hasanzadeh, B., Siosemardeh, A., Sohrabi, Y., Emam, Y., & Majidi, M. (2015). The effects of drought stress levels, sulfur application and manganese spraying on some physiological traits of sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Iranian Dryland Agronomy Journal*, 4(1): 29-44. [In Persian]
- Ihara, H., Hori, T., Aoyagi, T., Takasaki, M., & Katayama, Y. (2017). Sulfur-oxidizing bacteria mediate microbial community succession and element cycling in launched marine sediment. *Frontiers in Microbiology*, 8: 152.
- Irigoyen, J., Einerich, D., & Sánchez-Díaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia plantarum*, 84(1): 55-60.
- Khorasaninejad, S., Alizadeh Ahmadabadi, A., & Hemmati, K. (2018). The effect of humic acid on leaf morphophysiological and phytochemical properties of *Echinacea purpurea* L. under water deficit stress. *Scientia Horticulturae*, 239: 314-323.
- Kopriva, S., Malagoli, M., & Takahashi, H. (2019). Sulfur nutrition: impacts on plant development, metabolism, and stress responses. Oxford University Press UK. pp: 4069-4073.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology*, 148:350-382.
- Liu, X., Wang, Q., Hu, C., Zhao, X., Duan, B., & Zhao, Z. (2016). Regulatory effects of sulfur on oilseed rape (*Brassica napus* L.) response to selenite. *Soil Science and Plant Nutrition*, 62(3): 247-253.
- MacAdam, J.W., Nelson, C.J., & Sharp, R.E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant physiology*, 99(3): 872-878.
- Maff, R. (1986). The analysis of agricultural materials. In: HMSO London.

- Malcheska, F., Ahmad, A., Batool, S., Müller, H.M., Ludwig-Müller, J., Kreuzwieser, J., Randewig, D., Hänsch, R., Mendel, R.R., & Hell, R. (2017). Drought-enhanced xylem sap sulfate closes stomata by affecting ALMT12 and guard cell ABA synthesis. *Plant physiology*, 174(2): 798-814.
- Mondal, S. (2016). Efficiency of Sulphur source on sesame (*Sesamum indicum* L.) in red and lateritic soil of West Bengal. *International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences*, 6: 65-70.
- Moradi, O., & Pasari, B. (2022). Influence of Sulfur Fertilizers and Nano-potassium Foliar Application on Morphologic, Agronomic Characters and Quality of Safflower Seeds. *Sustainable Agricultural Research*, 2(2): 27-43. [In Persian]
- Mortazavi, A., & Kochaki, A. (2021). *An introduction to industrial microbiology* (The seventh edition ed.). Publications of Ferdowsi University of Mashhad. 365p. [In Persian]
- Mosavi, S.M., Bijanzadeh, E., Zinati, Z., & Barati, V. (2020). Evaluation of photosynthetic pigments, antioxidant enzyme activity and seed yield of safflower cultivars under cutting off irrigation. *Journal of Crops Improvement*, 22(4): 571-586. [In Persian]
- Motakefi, M., Sirousmehr, A., & Mousavi Nik, M. (2022). Effect of selenium and calcium foliar application on antioxidant enzymes activity and some biochemical traits of safflower under drought stress conditions. *Iranian Journal of Plant Biology*, 13(4): 69-88. [In Persian]
- Motalebifard, R., & Nourgholipour, F. (2021). Effects of nitrogen and sulphur different levels and sources on yield, nutrients concentration and oil content of canola (*Brassica napus* L.). *Applied Soil Research*, 9(2): 31-46. [In Persian]
- Mousavi Nik, M. (2012). Effect of drought stress and sulphur fertilizer on quantity and quality yield of psyllium (*Plantago ovata* L.) in Baluchestan. *Journal Of Agroecology*, 4(2): 170-182. [In Persian]
- Nazari, T., Barani, M., Dordipour, E., Nasrabadi, R., & Shahkolaie, S. (2018). Effect of humic acid on physiological indices of iron deficiency in canola (*Brassica napus* cv. Hyola 308). *Water and Soil*, 32(6): 1191-1205. [In Persian]
- Noorbakhsh, F., Behdani, M., Jami, A.M., & Mahmoodi, S. (2014). Evaluation of Integrated Impact of Sulfur and Thiobacillus on Qualitative and Morphological Characteristics of Safflower (*Carthamus tinctorius*L.). *Journal Of Agroecology*, 6(1): 51-59. [In Persian]
- Pashang, D., Weisany, W., & Ghasem-Khan Ghajar, F. (2023). Effect of foliar application of auxin on morphophysiological and biochemical traits of safflower cultivars (spring and autumn) under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 16(1): 19-33. [In Persian]
- Patterson, B.D., MacRae, E.A., & Ferguson, I.B. (1984). Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV). *Analytical biochemistry*, 139(2): 487-492.
- Rezaee, P., Kochaki, A., Nasiri, M., & Jahan, M. (2017). Yield and Yield Components of Sesame Influenced by Chemical and Biological Fertilizers and Irrigation Levels. *Journal of Agricultural Science and Sustainable Production*, 27(4): 172-189. [In Persian]
- Rostami, H., Abbasi, N., & Hajinia, S. (2022). Evaluation of yield and yield components and quality of camelina grain oil under fertilizer application. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 53(4): 245-260. [In Persian]
- Sargazi, S., Sirousmehr, A., & Ghanbari, A. (2023). Evaluation of morphological and biochemical traits of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under drought stress conditions and Foliar application of organic fertilizer. *Journal of Plant Process and Function*, 12(54): 105-122. [In Persian]
- Sharifi Soltani, S., Ranjbar, G.A., Kazemitabar, S. K., Pakdin Parizi, A., & Najafi Zarini, H. (2022). Evaluation of photosynthetic pigment, antioxidant and non-antioxidant activity and some morphological traits changes under drought stress in castor plant (*Ricinus Communis* L.). *Journal of Crop Breeding*, 14(44): 119-130. [In Persian]
- Shojaeian Kish, F., Yadavi, A., Movahhedi Dehnavi, M., Salehi, A., & Hamidian, M. (2021). Improvement of Physiological Characteristics and Nutrient Uptake of Linseed (*Linum usitatissimum*) with Biofertilizers Application under Irrigation Withholding at Different Growth Stages. *Journal of Plant Process and Function*, 10(44): 265-282. [In Persian]
- Soleymani, D., Nasri, M., & Oveysi, M. (2017). Effects of foliar treatments (bacteria Thiobacillus, glycine betaine, Thiofol and salicylic acid) on yield and physiological traits of rapeseed (*Brassica napus* L.) under cut irrigation. *Agronomic Research in Semi Desert Regions*, 14(2): 101-110. [In Persian]
- Soleymani, F., & Pirzad, A. (2016). The effect of mycorrhizal fungi on the oxidant enzymes activity in the medicinal herb, hyssop, under water deficit conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 31(6): 1013-1023. [In Persian]
- Wijewardana, C., Reddy, K.R., & Bellaloui, N. (2019). Soybean seed physiology, quality, and chemical composition under soil moisture stress. *Food Chemistry*, 278: 92-100.