



## 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

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

1. M.Sc. Student of Agrotechnology, 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.

**Citation:** Alahdadi, H., Yadavi, A., Movahedi Dehnavi, M., Balouchi, H. (2025). 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. *Plant Productions*, 48(1), 1-19.

### Abstract

#### Introduction

Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) is a multipurpose crop with medicinal and oil-producing applications, primarily cultivated for edible oil and industrial dyes. Its adaptability to arid and semi-arid climates makes it a valuable crop for regions facing water scarcity. Water scarcity and drought stress significantly impact its growth and yield, particularly in arid regions such as Iran. Sulfur, the fourth most consumed nutrient by plants, plays a crucial role in photosynthesis and cell membrane integrity. However, excessive application of chemical sulfur fertilizers can lead to soil salinity, making biofertilizers a sustainable alternative. Biofertilizers, such as *Thiobacillus* spp., not only provide essential nutrients but also improve soil health and reduce environmental pollution. *Thiobacillus* spp. bacteria enhance plant growth by supplying sulfate and improving soil properties.

#### Materials and Methods

This study investigated the effects of chemical and biological sulfur sources, including bentonite sulfur and *Thiobacillus* bacteria, on the shoot nutrient content (N, P, K, S, Fe, and Zn), physiological characteristics, and seed yield of safflower under water stress. The experiment was conducted in the summer of 2023 at the research farm of Yasouj University, Faculty of Agriculture, located in Dashtrom. A split-factorial design based on a randomized complete block design (RCBD) with three replications was used. Irrigation regimes at three levels (full irrigation, irrigation cutoff from flowering to maturity as severe drought stress, and irrigation cutoff from seed filling to maturity as moderate drought stress) were the main factor, while bentonite sulfur application at three levels (0,

---

\* **Corresponding Author:** Alireza Yadavi  
**E-mail:** Yadavi@yu.ac.ir



150, and 300 kg/ha) and *Thiobacillus* bacteria application (with and without) were the secondary factors.

### Results and Discussion

Statistical analysis showed that bentonite sulfur fertilizer and *Thiobacillus* bacteria significantly improved nutrient content in shoot, physiological traits, and grain yield under drought stress. The combined application of sulfur and *Thiobacillus* bacteria enhanced the plant's ability to withstand water deficit conditions by improving nutrient availability and stress-related enzymatic activities. Under severe drought stress (irrigation cutoff from flowering to maturity), the highest nitrogen (2.33%), sulfur (0.149%), iron (44 mg kg<sup>-1</sup>), and zinc (25.66 mg kg<sup>-1</sup>) levels were observed with the combined application of 300 kg ha<sup>-1</sup> of bentonite sulfur and *Thiobacillus* bacteria. The interaction between irrigation regime, bentonite sulfur, and *Thiobacillus* bacteria significantly influenced total chlorophyll content, carotenoid content, total soluble carbohydrates, and antioxidant enzyme activities (catalase and peroxidase). The highest values for these traits in each irrigation regime were obtained with the application of 300 kg ha<sup>-1</sup> of bentonite sulfur and *Thiobacillus* bacteria. This demonstrates the potential of sulfur-based treatments to enhance stress tolerance mechanisms in safflower. Malondialdehyde (MDA) content increased under water deficit conditions (flowering and seed-filling stages), but decreased with bentonite sulfur and *Thiobacillus* bacteria. Seed yield was significantly enhanced by the application of 300 kg ha<sup>-1</sup> of bentonite sulfur and *Thiobacillus* bacteria, with increases of 25.28% under full irrigation, and 45.54% under moderate drought stress.

### Conclusion

The findings suggest that drought stress, particularly irrigation cutoff from flowering to maturity, reduces physiological traits and seed yield in safflower. However, the application of 150 kg ha<sup>-1</sup> of sulfur-bentonite combined with *Thiobacillus* bacteria not only mitigates the adverse effects of water stress but also enhances nutrient uptake, biofertilizer efficiency, and seed yield while reducing the need for chemical fertilizers. This study provides valuable insights into the role of sulfur and biofertilizers in improving safflower resilience under water-limited conditions, contributing to sustainable agricultural practices in arid regions.

**Keywords:** Biofertilizer, Irrigation cutoff, Malondialdehyde, Seed yield, Shoot elements



## تأثیر باکتری تیوباسیلوس و گوگرد بنتونیت دار 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، 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، گیاهی چندمنظوره با کاربردهای دارویی و روغنی است که عمدتاً برای تولید روغن خوراکی و رنگ‌های صنعتی کشت می‌شود. سازگاری این گیاه با آب‌وهوای خشک و نیمه‌خشک، آن را به یک محصول ارزشمند برای مناطق مواجه با کم‌آبی تبدیل کرده است. 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 کودهای شیمیایی گوگردی می‌تواند به شوری خاک منجر شود. بنابراین، کودهای زیستی به عنوان جایگزینی مناسب مطرح شده‌اند. کودهای زیستی، مانند باکتری‌های تیوباسیلوس، نه تنها مواد مغذی ضروری را تأمین می‌کنند، بلکه سلامت خاک را بهبود بخشیده و آلودگی محیطی را کاهش می‌دهند. باکتری‌های تیوباسیلوس (*Thiobacillus* spp.) با تأمین سولفات و بهبود ویژگی‌های خاک، به رشد بهتر گیاه کمک می‌کنند. این مطالعه جهت ارزیابی اثر منابع شیمیایی و زیستی گوگردی شامل گوگرد بنتونیت دار و باکتری تیوباسیلوس بر محتوای عناصر اندام هوایی، برخی ویژگی‌های 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، قطع آبیاری از شروع گلدهی تا رسیدگی به عنوان تنش خشکی شدید و از پر شدن دانه تا رسیدگی به عنوان تنش خشکی متوسط) به عنوان عامل اصلی و ترکیب کود گوگرد بنتونیت دار در سه سطح (۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار) و باکتری تیوباسیلوس در دو سطح (کاربرد و عدم کاربرد) به عنوان عامل فرعی مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که با افزایش سطوح کود گوگرد بنتونیت دار و کاربرد باکتری تیوباسیلوس، محتوای عناصر اندام هوایی، صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه تحت شرایط تنش خشکی به طور معنی‌داری بهبود یافت. کاربرد ترکیبی گوگرد و باکتری تیوباسیلوس توانایی گیاه را برای تحمل کم‌آبی با بهبود دسترسی به مواد مغذی و فعالیت آنزیم‌های مرتبط با تنش افزایش داد. تحت شرایط تنش شدید کم‌آبی (قطع آبیاری از گلدهی تا رسیدگی) 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 بنتونیت دار + باکتری تیوباسیلوس حاصل شد. همچنین برهم‌کنش سه‌گانه رژیم آبیاری × گوگرد بنتونیت دار × تیوباسیلوس بر محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید، محتوای قندهای محلول 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 بنتونیت دار + باکتری تیوباسیلوس مشاهده شد. این نتایج نشان‌دهنده پتانسیل تیمارهای مبتنی بر گوگرد برای بهبود سازوکارهای تحمل تنش در گلرنگ است. محتوای مالون دی‌آلدئید نیز با قطع آبیاری از مراحل گلدهی و پر شدن دانه افزایش یافت ولی با کاربرد گوگرد بنتونیت دار و باکتری تیوباسیلوس کاهش یافت. عملکرد دانه نیز متاثر از کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد بنتونیت دار + 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 قطع آبیاری به ویژه از مرحله گلدهی تا رسیدگی با کاهش صفات فیزیولوژیک و عملکرد دانه گلرنگ همراه بوده و کاربرد ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد بنتونیت دار به همراه باکتری تیوباسیلوس علاوه بر کاهش مصرف کود شیمیایی و در نتیجه پیامدهای نامطلوب ناشی از آن، منجر به افزایش جذب عناصر غذایی، ارتقای کارایی کود زیستی و بهبود عملکرد دانه در شرایط تنش کم‌آبی شده است. این مطالعه بینش‌های ارزشمندی در مورد نقش گوگرد و کودهای زیستی در بهبود مقاومت گلرنگ به کم‌آبی ارائه می‌دهد و به توسعه روش‌های کشاورزی پایدار در مناطق خشک کمک می‌کند.

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

#### مقدمه

تکمیلی میزان کلروفیل کل کاهش ولی میزان آنزیم کاتالاز افزایش یافته است (Delfani et al., 2019)

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، سولفاتیدها، ویتامین‌ها، کوآنزیم‌ها، کلاسترهای آهن-گوگرد، اسید لیپوئیک، تیامین، کوآنزیم A و غیره شرکت دارد (Kopriva et al., 2019) بنابراین نقش مهمی در فوستتر و تشکیل ساختار غشاهای سلولی گیاهان دارد (Malcheska et al., 2017). اثر مثبت کاربرد گوگرد بر محتوای رنگیزه‌های فوستتری در سویا (Liu et al., 2016)، افزایش جذب عناصر فسفر، پتاسیم و گوگرد در کنجد (Mondal, 2016) و پایداری غشای سلولی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز در آفتابگردان (Heidari et al., 2015) مطرح شده است. همچنین افزایش عملکرد دانه گلرنگ در واکنش به سطوح گوگرد نیز در مطالعات گذشته گزارش شده است (Moradi and Pasari, 2022).

با این که کاربرد کودهای شیمیایی، حاصلخیزی خاک را در پی دارند، این کودها قادر به تأمین 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،

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) یکی از قدیمی‌ترین محصولات زراعی است که به‌عنوان 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 آماس، همین‌طور کاهش پتانسیل فشاری سلول‌ها به سبب توقف رشد، کاهش تقسیم سلولی و عدم فراهمی فرآورده‌های فوستتری مورد نیاز برای رشد می‌شود (Wijewardana et al., 2019). در مطالعات پژوهشگران بر گیاه گلرنگ در واکنش به سطوح شدید قطع آبیاری نشان داده شد که مقادیر غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئید و عملکرد دانه به مقدار قابل توجهی کاهش یافت (Sargazi et al., 2023; Mosavi et al., 2020; Zandi et al., 2023)، اما فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز افزایش نشان داد (Pashang et al., 2023; Zandi et al., 2023). در تحقیقی بر روی دو رقم گلرنگ (گلدشت و فرامان) نیز مشاهده شده است که در شرایط دیم (وجود تنش رطوبتی) نسبت به انجام آبیاری

شرکت کیمیا اکسیر شرق واقع در مشهد و باکتری تیوباسیلوس نیز از موسسه تحقیقات آب و خاک کرج تهیه گردید.

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 چهار خط کاشت با طول ۳/۵ متر و به فاصله ردیف‌های ۵۰ سانتی‌متری شکل گرفت. فاصله بین کرت‌های فرعی نیم متر، فاصله بین کرت‌های اصلی یک متر و فاصله بین بلوک‌های آزمایشی دو 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 صورت 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 گردید.

کود گوگرد بتونیت‌دار به عنوان یکی از عوامل آزمایش، قبل از کاشت در دو طرف هر پشته اعمال شد. بذرهاى 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  $10^8$  CFU/g) در نیمه خرداد ماه سال ۱۴۰۱ با رعایت فاصله پنج سانتی‌متری از یکدیگر روی پشته‌های کاشت و در عمق سه تا چهار 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 کتور 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.

با کاهش pH خاک در اطراف ریشه‌ها باعث افزایش حلالیت عناصر ریزمغذی و بهبود ویژگی‌های رشد گیاه می‌شوند (Mortazavi and Kochaki, 2021). در همین راستا در کلزا گزارش شده است که اعمال تیمار بذرمال تیوباسیلوس تحت قطع آبیاری از مرحله گلدهی، از نظر عملکرد دانه با تیمار آبیاری کامل در یک گروه آماری جای گرفتند (Soleymani et al., 2017). 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 به‌عنوان یک گیاه دانه روغنی مهم و ارزشمند و از سوی دیگر صدمات ناشی از وقوع تنش خشکی بر ساختار سلولی، متابولیت‌های اولیه و ویژگی‌های 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 دشت‌روم با مختصات جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۱ دقیقه طول شرقی و ۳۰ درجه و ۳۴ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۲۰۹۲ متری از سطح دریا در سال ۱۴۰۱ اجرا شد. میانگین دمای سالیانه منطقه آزمایش ۱۶ درجه سانتی‌گراد و میانگین بارش سالیانه آن ۳۰۰ میلی‌متر می‌باشد. سطوح رژیم آبیاری به عنوان فاکتور اصلی در سه سطح (آبیاری کامل، قطع آبیاری از مرحله گلدهی تا رسیدگی کامل به عنوان تنش خشکی شدید و قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه تا رسیدگی کامل به عنوان تنش خشکی متوسط) و ترکیب تیمارهای کود گوگرد بتونیت‌دار 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 عامل فرعی در نظر گرفته شد. کود گوگرد بتونیت‌دار از

## نتایج و بحث

### محتوای نیتروژن اندام هوایی

نتایج تجزیه واریانس نشان از معنی داری برهم کنش سه گانه رژیم آبیاری  $\times$  گوگرد  $\times$  تیوباسیلوس بر درصد نیتروژن اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۲). در هر سه سطح رژیم آبیاری (به ترتیب آبیاری کامل، قطع آبیاری از مرحله گلدهی تا رسیدگی و قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه تا رسیدگی) بیشترین درصد نیتروژن به ترتیب با میانگین های ۴/۳۳، ۲/۳۳ و ۳/۶۱ درصد از تیمار کاربرد همزمان ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار + تیوباسیلوس و کمترین آن به ترتیب با میانگین های 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 داد که افزایش دوره قطع آبیاری موجب کاهش بیشتر نیتروژن اندام هوایی شد. علت این مسئله را می توان در کاهش بیشتر رطوبت خاک و کاهش جذب نیتروژن دانست. تنش خشکی به واسطه 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 جذب کننده ریشه را کاهش داده است. گزارش شده است اعمال تنش بر روی کلزا سبب محدودیت جذب و تحرک عناصر مغذی خاک از طریق اثرگذاری بر روند رشد ریشه شده است و به همین سبب بیشترین و کمترین محتوای نیتروژن به میزان ۴/۰۶۶ و ۳/۶۴۱ درصد به ترتیب در تیمارهای آبیاری کامل و قطع آبیاری از ۳۰ درصد خورجین دهی مشاهده شد (Gholami et al., 2022a). در پژوهش حاضر کاربرد کود گوگرد بنتونیت دار و باکتری تیوباسیلوس موجب افزایش محتوای نیتروژن اندام هوایی گلرنگ شد. در این رابطه می توان بیان داشت اعمال منابع زیستی و شیمیایی گوگرد به واسطه اسید سولفوریک تولید شده، منجر به کاهش pH خاک می شود. 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.

اندازه گیری فسفر به روش کالیمتری (رنگ زرد مولیدات-وانادات) به کمک دستگاه اسپکتروفومتر (Lambda EZ 210) در طول موج ۴۲۰ نانومتر (Emami, 1996) و اندازه گیری پتاسیم به روش نشر شعله ای 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 کجالدال طی سه مرحله هضم، تقطیر و تیتراسیون به دست آمد. اندازه گیری گوگرد به روش هضم اسیدی (با اسید نیتریک ۶۵ درصد) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفومتر در طول موج ۴۳۰ نانومتر انجام گرفت (Maff, 1986).

به منظور اندازه گیری رنگدانه های فتوسنتزی و ویژگی های فیزیولوژیک نیز همزمان با نمونه گیری جهت عناصر بخشی از برگ های گیاهان به این منظور اختصاص داده شد. با تهیه عصاره آنزیمی، میزان جذب در طول موج های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفومتر (Lambda EZ 210) خوانده شد. مقدار غلظت کلروفیل با توجه به روش Arnon (1949) و غلظت کاروتنوئید به روش Lichtenthaler (1987) اندازه گیری شد. برای اندازه گیری قندهای محلول میزان جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر با اسپکتروفومتر قرائت شد (Irigoyen et al., 1992). غلظت مالون دی آلدئید نیز در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر محاسبه شد (Heath and Packer, 1968) به منظور سنجش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی 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 اسپکتروفومتر اندازه گیری شد.

برداشت نهایی گلرنگ در مهرماه، پس از حذف اثر حاشیه ای از مساحت ۲/۵ متر مربع عملکرد دانه محاسبه شد. در پایان تجزیه آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1، مقایسه میانگین اثرات اصلی بر اساس آزمون LSD و مقایسه میانگین برهم کنش ها با رویه L.S.Means انجام 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

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

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 for the interaction of irrigation, sulfur and Thiobacillus on nitrogen, sulfur, iron and zinc elements in safflower**

Irrigation regime	sulfur fertilizer (kg.ha <sup>-1</sup> )	Thiobacillus spp.	N Shoot (%)	S Shoot (%)	Fe Shoot (mg.kg <sup>-1</sup> )	Zn Shoot (mg.kg <sup>-1</sup> )
Full irrigation	0	T <sub>0</sub>	2.38 <sup>c</sup>	0.232 <sup>c</sup>	56.85 <sup>c</sup>	25.26 <sup>c</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>
Irrigation cut off from the flowering stage to maturity	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>
Irrigation cut off from the seed filling stage to maturity	0	T <sub>0</sub>	1.71 <sup>d</sup>	0.183 <sup>c</sup>	52.83 <sup>c</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 the same letters don't have a significant difference at the 5% probability level

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

**محتوای فسفر اندام هوایی**

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 تا

برهم کنش گوگرد × رژیم آبیاری در سطح احتمال یک درصد و برهم کنش گوگرد × تیوباسیلوس و تیوباسیلوس × رژیم آبیاری در سطح احتمال پنج درصد بر درصد فسفر اندام هوایی معنی دار گردید (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر تیوباسیلوس × گوگرد نشان داد در هر دو شرایط

### محتوای پتاسیم اندام هوایی

نتایج، حاکی از معنی داری برهم کنش رژیم آبیاری × تیوباسیلوس در سطح احتمال یک درصد بر درصد پتاسیم اندام هوایی بود (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 تا رسیدگی گردید اما در سطح قطع آبیاری از مرحله گلدهی تا رسیدگی در مقایسه با شاهد تأثیر کمتری بر درصد پتاسیم اندام هوایی داشت (جدول ۶).

همزمان با شدت قطع آبیاری، گیاه گلرنگ برای بهبود تحمل به کم آبی، در جهت مخالف با پدیده انتشار و با صرف انرژی محتوای عنصر پتاسیم را در بافت ریشه و اندام هوایی افزایش داده است (Ge et al., 2012). 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، سبب کاهش اثرات نامطلوب تنش خشکی شده است (Dastbandan Nejad et al., 2010). در بررسی عنصر مغذی پتاسیم در کنگد بیشترین میزان پتاسیم در آبیاری تا ۵۰ درصد گلدهی با ۱/۹۰ درصد مشاهده شد 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 (Arabi et al., 2022).

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 کنگد بیان شد کاربرد مقادیر 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 تبادلی 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 است.

رسیدگی و پر شدن دانه تا رسیدگی، کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار از درصد فسفر اندام هوایی بیشتری نسبت به عدم کاربرد گوگرد برخوردار بود (جدول ۵). همچنین برهم کنش دوگانه رژیم آبیاری × تیوباسیلوس بیانگر آن است که در آبیاری کامل و قطع آبیاری از مراحل گلدهی تا رسیدگی و پر شدن دانه تا رسیدگی، 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. هم‌راستی این پژوهش Gholami et al. (2022b) بیان داشتند بیشترین مقدار فسفر اندام هوایی کلزا (۰/۴۹۵ درصد) در آبیاری کامل و 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. در این رابطه گزارش شده است که اثر همزمان گوگرد و تیوباسیلوس به میزان ۱۶۵ درصد، فسفر قابل جذب کلزا را افزایش داد (Fallah Nusratabad., 2019). در پژوهش حاضر نیز رابطه‌ای هم‌افزا میان گوگرد بنتونیت دار و تیوباسیلوس در محیط خاک ایجاد شده است و به کمک بهبود دسترسی به فسفر، میزان آن در 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 مؤثر خواهد بود (Noorbakhsh et al., 2014).



**Table 4. Means comparison for the interaction effect of Thiobacillus and sulfur on phosphorus and malondialdehyde content in safflower**

<i>Thiobacillus</i> spp.	Sulfur fertilizer (kg. ha <sup>-1</sup> )	P Shoot (%)	MDA content (μM. g FW <sup>-1</sup> )
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 the same letters don't have a significant difference at the 5% probability level

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

Irrigation regime	Sulfur fertilizer (kg. ha <sup>-1</sup> )	P Shoot (%)	MDA content (μM. g FW <sup>-1</sup> )
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>
Irrigation cut off from the flowering stage to maturity	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>
Irrigation cut off from the seed filling stage to maturity	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 the same letters don't have a significant difference at 5% probability level

**Table 6. Means comparison of the interaction effect irrigation and Thiobacillus on potasium, phosphorus and malondialdehyde content in safflower**

Irrigation regime	<i>Thiobacillus</i> spp.	K Shoot (%)	P Shoot (%)	MDA content (μM. g FW <sup>-1</sup> )
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>
Irrigation cut off from the flowering stage to maturity	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>
Irrigation cut off from the seed filling stage to maturity	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 the same letters don't have a significant difference at 5% probability level

(به ترتیب آبیاری کامل و قطع آبیاری از مراحل گلدهی و پر شدن دانه تا رسیدگی) 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).

### محتوای گوگرد اندام هوایی

برهم کنش سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس بر درصد گوگرد اندام هوایی در سطح احتمال 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

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 تا رسیدگی 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 تا رسیدگی 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 مؤثر 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 عامل مؤثر بر قابلیت جذب آهن است. در خاک های آهنکی مقداری یون بی کربنات در اثر واکنش دی اکسید کربن و آهنک 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  $Fe^{3+}$  و  $Fe^{2+}$  به ترتیب ۱۰۰۰ و ۱۰۰ 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.

تنش خشکی به دلیل بسته شدن روزنه ها برای کاهش تعرق، منجر به کاهش جذب دی اکسید کربن 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 ساخت درشت مولکول های 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 بارگیری می شود و بیان ژن های بیوسنتز آبسزیک اسید 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. گزارش شده است استفاده از گوگرد عامل افزایش میزان غلظت گوگرد برگ (۰/۹۹ درصد) از منبع ۱۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار است. همچنین اثربخشی گوگرد منوط به اکسایش آن و تولید اسید سولفوریک است که بستگی به حاصلخیزی جمعیت ریزجانداران اکسید کننده گوگرد در خاک، رطوبت و درجه حرارت خاک، pH خاک، ماده آلی و مدیریت محصول دارد (Motalebifard and Nourgholipour, 2021).

### محتوای آهن اندام هوایی

تجزیه واریانس داده ها نشان از معنی داری برهم کنش سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس بر محتوای آهن اندام هوایی در سطح احتمال خطای یک درصد داشت (جدول ۲). اطلاعات مقایسه میانگین نشان از روند نزولی محتوای آهن اندام هوایی با افزایش دوره قطع آبیاری داشت، به طوری که در سطح قطع آبیاری از مرحله گلدهی تا رسیدگی، 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

### محتوای روی اندام هوایی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها گویای معنی‌داری برهم‌کنش 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 بخشید. در سطوح آبیاری کامل و قطع آبیاری از مراحل پر شدن دانه تا رسیدگی و گلدهی تا رسیدگی بیشترین محتوای عنصر روی به ترتیب با میانگین‌های ۴۴/۶۶، ۳۰/۱۶ و ۲۵/۶۶ میلی‌گرم 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).

در راستای پژوهش حاضر دیگر محققین نیز گزارش کردند که با افزایش سطوح تنش خشکی میزان عنصر روی در اندام هوایی کتان روغنی کاهش یافت به گونه‌ای که بیشترین مقدار (۲۲/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از سطح آبیاری کامل و کم‌ترین مقدار (۱۶/۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از قطع آبیاری از مرحله شروع گلدهی تا کپسول‌دهی مشاهده شد (Shojaeian Kish *et al.*, 2021).

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 سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس در سطح احتمال پنج درصد بر

محتوای کلروفیل کل بود (جدول ۷). نتایج مقایسه میانگین حاکی از آن بود 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 تا رسیدگی و گلدهی تا رسیدگی 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 غیر زیستی، 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 سیستم‌های آنزیمی کاهش‌دهنده فعالیت اکسیژن واکنش‌گر، 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 کلروفیل‌از

است به گونه‌ای که تفاوت معنی‌داری میان دو سطح قطع آبیاری در مرحله پر شدن دانه تا رسیدگی با قطع آبیاری در مرحله گله‌ی تا رسیدگی مشاهده نشد و به همین دلیل اثرات کاهشی 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 اکسیژن واکنش‌گر 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 بود (جدول ۷). نتایج مقایسه میانگین نشان داد در سطح آبیاری کامل و قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه تا رسیدگی 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 گله‌ی تا رسیدگی تیمار کاربرد همزمان تیوباسیلوس و ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار دارای بیشترین محتوای قندهای محلول برگ (۵۸/۰۳ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) و تیمار ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار دارای کمترین محتوای قندهای محلول برگ (۴۷/۷۹ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) بود که بایکدیگر اختلاف معنی‌دار ۲۱/۴۲ درصدی داشتند (جدول ۸). سازوکار تنظیم اسمزی یکی از اجزای اثرگذار 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).

و یا حمله رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش اکسیدکننده باشد (Khorasaninejad et al., 2018). کاربرد گوگرد بنتونیت دار 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، اثر مثبت کاربرد گوگرد بر محتوای رنگیزه‌های کلروفیل در گلرنگ (Fattahi et al., 2024) گزارش شده است.

### محتوای کاروتنوئید برگ

جدول تجزیه واریانس بیانگر معنی‌داری برهم‌کنش سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس بر محتوای کاروتنوئید در سطح احتمال پنج درصد بود (جدول ۷). نتایج نشان داد که در سطح آبیاری کامل تیمار کاربرد ۳۰۰ کیلوگرم گوگرد + تیوباسیلوس دارای بیشترین میزان کاروتنوئید (۰/۰۲۳۳ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) و تیمار شاهد (عدم کاربرد گوگرد و باکتری) دارای کمترین میزان کاروتنوئید (۰/۰۲۳۱ میلی گرم بر گرم وزن تر برگ) بود. در سطوح قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه تا رسیدگی و قطع آبیاری از مرحله گله‌ی تا رسیدگی 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 حمایت‌کنندگان 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 اثر سطوح قطع آبیاری بر محتوای کاروتنوئید در گیاه گلرنگ بیان کردند در تنش شدید (عدم آبیاری پس از مرحله تکمیل گله‌ی) با کاهش پتانسیل آب، غلظت کاروتنوئید به مقدار ۲۷ درصد در مقایسه با آبیاری کامل کاهش یافت (Sargazi et al., 2023). در تحقیق پیش‌رو به نظر می‌رسد کاربرد کودهای شیمیایی و زیستی گوگردی به واسطه بهبود جذب عناصر موجب افزایش معنی‌دار محتوای کاروتنوئید در سطوح قطع آبیاری شده

**Table 7. Analysis of variance (mean square) of the effects of irrigation, sulfur and Thiobacillus treatments on physiological traits and seed yield of safflower**

S.O.V	df	Total chlorophyll content	Carotenoid content	Soluble carbohydrates	Catalase activity	Peroxidase activity	MDA content	Seed 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)	3 0	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 <sup>-1</sup> )	<i>Thiobacillus</i> spp.	Total chlorophyll content (mg.g FW <sup>-1</sup> )	Carotenoid content (mg.gFW <sup>-1</sup> )	Soluble carbohydrates (mg.g FW <sup>-1</sup> )	Catalase activity (mmol.g <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	Peroxidase activity (Unit.mg <sup>-1</sup> protein.min <sup>-1</sup> )	Seed yield 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>c</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>
Irrigation cut off from the flowering stage to maturity	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>c</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>
Irrigation cut off from the seed filling stage to maturity	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, means with the same letters do not have a significant difference at the 5% probability level. T<sub>0</sub> = Application of bacteria, T<sub>1</sub> = Non-application of bacteria

می‌شود. این ترکیبات خسارت زیادی از طریق اکسیداسیون درشت مولکول‌ها به سلول‌ها وارد می‌کنند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول‌های 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 مؤثر است. در مطالعه‌های مشابهی بر روی گیاه گلرنگ مشخص شد اثرات تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش شدید با افزایش قابل توجهی همراه بود (Zandi et al., 2023; Pashang et al., 2023). همچنان که در تحقیق حاضر نیز فعالیت آنزیم کاتالاز با افزایش ۱۷۵/۷ درصدی در رقم فرامان همراه بود.

در این آزمایش نشان داده شد که در گیاه گلرنگ کاربرد کودهای گوگرد بنتونیت دار و باکتری تیوباسیلوس به دلیل القای دفاع آنتی‌اکسیدانی در واکنش به قطع آبیاری مؤثر بوده است. در واقع گوگرد در پیوندهای دی‌سولفید موجود در مولکول‌های آنتی‌اکسیدانی حضور داشته و از این رو مسئول کاهش تنش اکسیداتیو می‌باشد (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 مؤثر بوده است.

#### فعالیت آنزیم پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۷) نمایانگر معنی‌داری برهم‌کنش سه گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس در سطح احتمال پنج درصد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز بود.

در پژوهش حاضر غلظت عناصر مغذی چون نیتروژن و فسفر اندام هوایی به واسطه کاربرد گوگرد بنتونیت دار 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 مطالعه‌ای بیان شد که کاربرد سطوح کود گوگردی افزایش غلظت کربوهیدرات‌ها را در پی داشته است و در همین راستا علت را به اثر مثبت گوگرد بر افزایش رشد رویشی و به‌ویژه بافت‌های فتوسنتزی نسبت دادند (Mousavi Nik, 2012).

#### فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد برهم‌کنش 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 تا رسیدگی 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 تا رسیدگی 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 زمان بروز تنش خشکی، واکنش‌های تاریکی فرآیند فتوسنتز مختل می‌شود و اکسیژن به عنوان پذیرنده جانشین الکترون عمل کرده، و سبب ایجاد رادیکال‌های آزاد

موجود در ساختار پراکسیداز دانست (Ihara *et al.*, 2017) و یا در نتیجه اثر 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 برهم کنش 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 بر محتوای مالون دی آلدئید بود (جدول ۷). مقایسه میانگین سطوح گوگرد در هر سطح تیوباسیلوس حاکی از آن بود 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 بود که در سطوح آبیاری کامل و قطع آبیاری از مراحل پر شدن دانه تا رسیدگی و گلدهی تا رسیدگی کمترین 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 تا رسیدگی و گلدهی تا رسیدگی 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 گونه های اکسیژن واکنش گر در تنش اکسیداتیو رخ می دهد، و محتوای مالون دی آلدئید نیز افزایش می یابد. در مطالعه ای بر روی کرچک گزارش شد 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،

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 تا رسیدگی و قطع آبیاری از مرحله گلدهی تا رسیدگی بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب با میانگین های 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 الکترون ها و افزایش گونه های اکسیژن واکنش گر نظیر پراکسید هیدروژن منجر به تخریب غشای سلولی می شود، فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش می یابد. هم راستا با نتایج تحقیق حاضر، نتایج سایر مطالعات بر گیاه گلرننگ نشان داد، بیشترین مقدار فعالیت آنزیم پراکسیداز از تیمارهای قطع آبیاری در مرحله تشکیل طبق حاصل شد و کمترین مقدار آن نیز از تیمار آبیاری کامل به دست آمد (Zandi *et al.*, 2023; Motakefi *et al.*, 2022).

یافته های این پژوهش بیانگر آن است که فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت کاربرد گوگرد بنتونیت دار 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 دیگر محققین 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 را نشان داده است (Ghasem Beiki *et al.*, 2021). این اثرگذاری مثبت گوگرد در فعالیت آنزیم پراکسیداز را می توان ناشی از حضور مستقیم گوگرد در تشکیل پیوندهای دی سولفید

تیمار ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد + تیوباسیلوس در یک گروه آماری قرار گرفتند. در سطح قطع آبیاری از مرحله پر شدن دانه تا رسیدگی 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 کاهش فتوسنتز از یک سو و اثر بر فعالیت‌های آنزیمی و فرآیندهای مربوطه از سوی دیگر، موجب کاهش عملکرد دانه می‌شود. دیگر محققین نیز بیان نمودند که اعمال قطع آبیاری از مراحل گلدهی و پر شدن دانه به ترتیب ۳/۳۲ و ۹۳/۱۹ درصد با کاهش عملکرد در گلرنگ همراه بوده است (Mosavi et al., 2020).

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

۸۰/۰۵ درصد افزایش یافت (Sharifi Soltani et al., 2022).

یافته‌های حاضر نشانگر آن است که متناسب با کاهش دسترسی به رطوبت کافی، میزان محتوای مالون دی‌آلدئید نیز به واسطه خسارت وارد شده به سلول‌ها بیشتر شد. همچنین تجمع اسمولیت‌های سازگار با تنش و همچنین آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز با افزایش مصرف گوگرد و تیوباسیلوس موجب تنظیم اسمزی درون سلولی 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 دی‌آلدئید را کاهش دادند. در مطالعه‌ای در کلزا نیز مشاهده گردید که اگرچه بیشترین میزان مالون دی‌آلدئید از تیمار قطع آبیاری در مرحله گلدهی با ۲۷/۳۲ نانومول بر میلی‌گرم پروتئین به دست آمد، اما کاربرد باکتری تیوباسیلوس با افزایش پایداری دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی از میزان این نشانگر زیستی تخریب غشا کاست، به گونه‌ای که از لحاظ آماری با تیمار آبیاری معمول تفاوت معنی‌داری نداشت (Soleymani et al., 2017). گوگرد به جهت افزایش ساخت پروتئین‌ها و فسفولیپیدهای موجود در ساختار دیواره سلولی، باعث بهبود جذب آب می‌شود. در این تحقیق نیز اعمال کود گوگرد بنتونیت‌دار همراه با جذب بهتر عناصر بوده است. به همین دلیل می‌توان نتیجه گرفت که به جهت بهبود وضعیت مواجهه با گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، محتوای مالون دی‌آلدئید برگ‌ها نیز با افزایش سطوح تنش، کاهش یافته است.

### عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس نمایانگر معنی‌دار شدن برهم‌کنش سه‌گانه رژیم آبیاری × گوگرد × تیوباسیلوس در سطح احتمال یک درصد بر عملکرد دانه بود (جدول ۷). مقایسه میانگین برهم‌کنش سه‌گانه 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



و تولید درشت مولکول‌هایی مانند پپتیدها، ویتامین‌ها و رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل و کاروتنوئید، توانست پیامدهای منفی ناشی از کم‌آبیاری 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 مراحل گلدهی تا رسیدگی و پر شدن دانه تا رسیدگی 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.

در بهبود سیستم‌های دفاع آنزیمی و غیر آنزیمی، از طریق کاهش اثرات نامطلوب 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 گزارش دادند که کاربرد ۳۵۰ کیلوگرم در هکتار از گوگرد گرانوله بتونیت‌دار عملکرد دانه را به میزان ۱۶/۵۴ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داد. همچنین در رابطه با اثر 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

در این پژوهش استفاده از باکتری تیوباسیلوس و گوگرد بتونیت‌دار با افزایش جذب عناصر ماکرو و میکرو

### References

- 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. *Journal of Environmental Science and Technology*, 25(3):49-61. [In Persian]
- Delfani, M., Hatami, A., Pouredad, S., Tahmasebi, Z., Fattah nia, F., & Jahansooz, M. (2019). Investigation of the effect of planting density and supplementary irrigation on response of photosynthetic pigments and catalase and ascorbate peroxidase and forage yield of two safflower cultivars (*Carthamus tinctorius* L.). *Plant Process and Function*, 8 (32) :137-156. [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.
- Ge, TD., Sun, NB., Bai, LP. Tong, CL. & Sui, FG. (2012). Effects of drought stress on phosphorus and potassium uptake dynamics in summer maize (*Zea mays*) throughout the growth cycle. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34: 2179–2186.
- 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 Physiology 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., & Rrafiei, 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 Soil 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.
- Zandi, R., Rahnama, A., & Meskarbashi, M., (2023). Effects of deficit irrigation management on physiological and biochemical properties of two safflower cultivars. *Applied Field Crops Research*, 35(4): 24-1. [In Persian]