

برهمکنش گوگرد و باکتری تیوباسیلوس بر کلونیزاسیون دو گونه قارچ میکوریزا و رشد ذرت (*Zea mays* L.) در شرایط گلخانه

علی انصوری^۱، احمد غلامی^۲، محمد رضا چائی چی^۳، حسن شهنقی^۴ و صادق اسدی^۵
۱، ۴ و ۵، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه صنعتی شاهرود
۲، دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود
۳، استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۹۱/۶/۱۲ - تاریخ تصویب: ۹۲/۸/۱)

چکیده

به منظور بررسی برهمکنش گوگرد و باکتری تیوباسیلوس بر کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ میکوریزا و رشد ذرت، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک های کامل تصادفی اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح گوگرد: (شاهد (S0)، ۵۰ (S50)، ۱۰۰ (S100)، ۱۵۰ (S150) و ۲۰۰ (S200) میلی گرم بر کیلوگرم خاک گلدان)، تیوباسیلوس در دو سطح (شاهد (عدم مصرف T₀ و مصرف T₁) و قارچ میکوریزا در سه سطح (عدم تلقیح یا شاهد (M₀))، تلقیح با *Glomus intraradices* (M₁) و *Glomus mosseae* (M₂)) بودند. نتایج نشان داد کاربرد گوگرد و تیوباسیلوس، کلروفیل، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، ارتفاع بوته و طول ریشه را در مقایسه با شاهد به طور معنی داری افزایش داد. تلقیح بذر با *G.intraradices* و *G.mosseae* وزن خشک ریشه (به ترتیب ۱۵/۹ و ۱۴/۵ درصد)، کلونیزاسیون ریشه (۸۸/۸ درصد) و طول ریشه (به ترتیب ۶ و ۱/۱ درصد) را در مقایسه با شاهد به طور معنی داری افزایش داد. کاربرد منفرد و توأم گوگرد و تیوباسیلوس تأثیر منفی بر درصد کلونیزاسیون ریشه داشت. افزایش کاربرد گوگرد درصد کلونیزاسیون در *G.mosseae* را بیشتر از *G.intraradices* تحت تأثیر منفی قرار داد. برهمکنش گوگرد و تیوباسیلوس تأثیر معنی داری بر کلیه صفات مورد بررسی بجز کلروفیل داشت. همچنین برهمکنش تیمار ۵۰ میلی گرم گوگرد و *G.mosseae* موجب افزایش وزن خشک (۶/۸ درصد) و طول (۲۸/۲ درصد) ریشه ذرت نسبت به شاهد شد.

واژه های کلیدی: تیوباسیلوس، رشد ذرت، کلونیزاسیون ریشه، گوگرد، میکوریزا

مقدمه

ذرت از جمله گیاهانی است که نیاز بالایی به عناصر غذایی از جمله نیتروژن، فسفر و پتاسیم دارد (Jokela & Randall, 1989). بنابراین به منظور افزایش عملکرد به مقدار زیادی کود نیتروژن و فسفر نیاز دارد (Barry & Miller, 1989). امروزه به دلیل استفاده بی رویه از کودهای شیمیایی، مواد آلی زمین های کشاورزی در ایران کاهش یافته و

ترکیب خاک به بافت سخت و نامطلوب تبدیل شده است (Naghavi Maremati et al., 2007). در راستای توسعه کشاورزی پایدار و کاهش مصرف کودهای شیمیایی، لازم است از کودهای آلی یا زیستی استفاده گردد. از میان کودهای زیستی رایج در اراضی کشاورزی می توان به قارچ های آرباسکولار میکوریزای و باکتری های اکسید کننده گوگرد اشاره کرد. توانایی همزیستی و اثرات مثبت قارچ میکوریزا بر رشد و بهبود سلامت گیاه

کاربرد گوگرد موجب افزایش معنی داری در عملکرد دانه و عملکرد زیستی باقلا شد. Singh & Singh (1995)، گزارش کردند کاربرد ۳۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد موجب افزایش معنی دار سطح برگ، ماده خشک، تعداد غلاف، وزن ۱۰۰۰ دانه و عملکرد دانه سویا شد.

تیوباسیلوس، باکتری رایج و مهمترین باکتری اکسیدکننده گوگرد در خاک می باشد (Zhi-Hui et al., 2010). تیوباسیلوس تیواکسیدانس^۱ یک باکتری شیمیولیتوتروف اسید دوست است که با استفاده از گوگرد به عنوان منبع انرژی، مهمترین میکروارگانیسم کاتالیز سولفید محسوب می شود. با این حال، گزارش شده که تعداد این باکتری ها در بیشتر خاک های زراعی کم است (Chapman, 1990; Lawrence & Germida, 1991). Ansori et al. (2012) نشان دادند کاربرد تیوباسیلوس موجب کاهش کلونیزاسیون میکوریزا و افزایش عملکرد دانه ذرت شد. همچنین اثرات مثبت گوگرد و گوگرد تلقیح شده با تیوباسیلوس بر رشد گیاه ذرت توسط این محققین گزارش شده است. از آنجا که اطلاعات کمی در مورد رابطه قارچ میکوریزا با باکتری تیوباسیلوس و کود گوگرد در خاک های آهکی ایران در دسترس است، این آزمایش با هدف بررسی اثرات کود گوگرد و باکتری تیوباسیلوس بر کلونیزاسیون دو گونه قارچ میکوریزا و تأثیر آن بر رشد گیاه ذرت انجام شد.

مواد و روش ها

به منظور بررسی برهمکنش گوگرد و باکتری تیوباسیلوس بر کلونیزاسیون ریشه توسط قارچ های میکوریزا و اثر آن بر رشد ذرت، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود در سال ۱۳۹۰ انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح گوگرد: (شاهد (S0)، ۵۰ (S50)، ۱۰۰ (S100)، ۱۵۰ (S150) و ۲۰۰ (S200) میلی گرم بر کیلوگرم خاک گلدان، تیوباسیلوس در دو سطح (عدم مصرف T0 و تلقیح T1) و قارچ میکوریزا در سه سطح عدم تلقیح یا شاهد (M0)، تلقیح با *Glomus intraradices* (M1) و

به اثبات رسیده (Jones & Smith., 2004)، اما در مورد رابطه آن با باکتری تیوباسیلوس و عنصر گوگرد اطلاعات کمی در دسترس است. میکوریزا به عنوان یک میکروارگانیسم همزیست، با دامنه وسیع تطابق با گیاهان زراعی و وحشی شناخته شده است که در آن قارچ مواد غذایی را از خاک جذب و به گیاه انتقال داده و در مقابل گیاه کربن فتوسنتزی تثبیت شده را به قارچ منتقل می کند (Smith & Read., 1997). از آنجا که تأمین مواد مغذی یکی از محدودیت های رایج در رشد و تولید گیاهان در بسیاری از زیست بوم ها می باشد، استفاده از توانایی قارچ های هتروتروفیک آرباسکولار میکوریزا به منظور افزایش توانایی گیاهان در جذب آب و مواد غذایی توصیه می شود (Smith & Smith., 1996). Jones & Smith., 2004). گوگرد به عنوان چهارمین ماده مغذی گیاه شناخته شده و کمبود آن بیشتر در خاک هایی با بافت سبک که از لحاظ ماده آلی فقیر هستند مشاهده می شود (Khan et al., 2008).

از جمله اثرات بیوشیمیایی گوگرد در گیاهان می توان به مشارکت در ساخته شدن اسیدهای آمینه گوگرد دار، تشکیل کلروفیل a، فعال کردن آنزیم های تجزیه کننده پروتئین، ساخته شدن بیوتین، تیامین، گلوآمین و کوآنزیم تشکیل روغن های گلوکوزیدی، تشکیل گروه های دی سولفیدی و سولفیدریل (موثر در ساختمان پروتئین) دانست (Besharati, 1998; Kariminia, 1987). گوگرد علاوه بر ارزش تغذیه ای، به دلیل ظرفیت اکسیده شدن و تولید اسید سولفوریک، توان لازم برای کاهش پی-اچ را دارا می باشد، بنابراین می تواند در انحلال ترکیبات غذایی نامحلول و آزاد شدن عناصر ضروری مانند فسفر در رایزوسفر، موثر واقع شود (Kalbasi et al., 1988; Morvedt et al., 1991). در طی دو سال آزمایش به طور متوسط مقدار عملکرد دانه ذرت با افزودن ۴۵ کیلوگرم گوگرد در هکتار، در مقایسه با کاربرد ۰، ۱۵ و ۳۰ کیلوگرم، به ترتیب ۹/۳۹، ۵/۲۳ و ۲/۴۳ درصد افزایش یافت (Maurya et al., 2005). Ansori et al., (2012) گزارش کردند که کاربرد ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد با عملکرد ۲۵/۴۷ و ۲۸/۵۶ تن در هکتار باعث افزایش ۱۴/۶ و ۲۳ درصدی عملکرد زیستی ذرت نسبت به شاهد شد. Singh (2004) گزارش نمود افزایش

1. *Thiobacillus thiooxidans*

منظور تلقیح بذر با قارچ میکوریزا، هنگام کاشت این ماده تلقیح کننده در ۲ سانتی متری زیر بذر ذرت و به مقدار ۷ گرم برای هر گلدان قرار گرفت. رقم ذرت دانه ای مورد استفاده NS604 بوده که رقمی تجاری و متوسط رس می باشد. برای تعیین بافت خاک و وضعیت عناصر غذایی از عمق ۰-۳۰ سانتی متری خاک مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نمونه مرکب تهیه و مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج تجزیه فیزیکیوشیمیایی خاک در جدول ۱ نشان داده شده است.

Glomus mosseae (M2) بودند. تعداد کل گلدان های آزمایش ۹۰ = ۳۰ × ۳ عدد بود. گوگرد عنصری به صورت پودر ۲۰ روز قبل از کشت بذر در گلدان ها بکار برده شد و تیوباسیلوس تیواکسیدانسانس به صورت جامد همراه مواد نگه دارنده (دارای 10^8 Cfu/ml) در جعبه های یک کیلویی تهیه و بر اساس مقدار توصیه شده در بروشور جعبه، یک هفته قبل از کشت به خاک اضافه شد. گلدان ها از خاک زراعی پر شدند. زاد مایه قارچ های میکوریزا آرباسکولار، حاوی مخلوطی از ریشه گیاه شبدر، خاک، هیف و اسپور (۳۰۰-۲۵۰ اندامک فعال قارچ در گرم) از شرکت زیست توران شاهرود تهیه گردید. به

جدول ۱- نتایج تجزیه فیزیکیوشیمیایی خاک مزرعه

اسیدیته (pH)	مواد آلی (درصد)	نیترژن	فسفر	پتاسیم	کلسیم (mg/kg)	سولفات	منیزیم
۸/۱	۰/۳۳	۰/۰۴	۱۰	۱۴۵	۳۷	۶/۱	۲۳

در آن قرار داده شدند. جهت خنثی نمودن اثر محیط، ریشه ها به مدت ۴ دقیقه در محلول اسید کلریدریک (HCl) ۰/۱ مولار قرار داده شدند. برای رنگ آمیزی ریشه ها به مدت ۱۲ ساعت در محلول تریپان بلو (۰/۱ درصد) در دمای آزمایشگاه نگهداری شد (Philips & Hayman., 1970). به منظور تعیین درصد کلونیزاسیون ۲۵ قطعه یک سانتی متری زیر میکروسکوپ با بزرگ نمایی ۲۰۰ قرار داده شد و وجود هر یک از اندام های قارچ (ویزیکول، آرباسکول و هیف) به عنوان یک درصد محاسبه شد (Garcia et al., 2012). اثرات متقابل دو گانه که پس از تجزیه واریانس معنی دار شدند با استفاده از نمایه PROC GLM در نرم افزار SAS برش دهی داده شد. تجزیه و تحلیل داده ها بوسیله نرم افزار SAS انجام شد. برای مقایسه میانگین ها از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها بوسیله برنامه Excel انجام شد.

نتایج و بحث

کلروفیل

بررسی نتایج حاصل از این تحقیق (جدول ۲) بیانگر آن است که کاربرد گوگرد و تیوباسیلوس تأثیر معنی دار بر کلروفیل برگ ذرت داشت. بیشترین درصد کلروفیل در

۱۴۵ و ۱۰ فسفر در این آزمایش از گلدان هایی با قطر دهانه ۲۲ سانتی متر، ارتفاع ۲۵ سانتی متر به ظرفیت ۳ کیلوگرم استفاده شد. به منظور اندازه گیری صفات مورد نظر، در انتهای دوره رشد بعد از ۶ هفته، بوته ها برداشت شد. ارتفاع بوته بعد از برداشت بوسیله خط کش (بر حسب سانتی متر) اندازه گیری شد. طول ریشه گیاه ذرت نیز در پایان دوره رشد از خاک گلدان خارج و پس از شستشوی بوسیله خط کش (بر حسب سانتی متر) اندازه گیری شد. وزن خشک ریشه و اندام هوایی به وسیله ترازوی حساس با دقت ۰/۰۰۱ بر حسب میلی گرم اندازه گیری گردید.

میزان محتوای کلروفیل توسط دستگاه کلروفیل سنج (Minolta SPAD-502, Japan)، از سه برگ توسعه یافته هر بوته در گلدان دو نمونه ارزیابی شد. سطح برگ (LA) از میانگین (طول برگ × عرض برگ) بر حسب سانتی متر مربع) برگ های دو بوته در هر گلدان تعیین شد. برای تعیین میزان کلونیزاسیون ریشه ها، از هر گلدان آزمایشی نمونه ۵ گرمی از ریشه گرفته شد. ریشه های نمونه برداری شده با آب شسته شده، به طوری که تمامی خاک و باقیمانده گیاهی از ریشه ها حذف گردید. سپس به منظور رنگ بری ریشه ها در محلول ۲۰٪ KOH به مدت ۳ ساعت در دمای ۶۰ درجه سیلسیوس

موجب افزایش میزان کلروفیل برگ ذرت شده بطوری که با کاربرد ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگرم گوگرد به ترتیب باعث افزایش ۱۳ و ۱۸/۳ درصد در مقدار کلروفیل برگ ذرت نسبت به تیمار شاهد گردید. Randle (2000) در بررسی اثر افزایش غلظت نیتروژن در سیستم آبکشت بر پیاز خوراکی گزارش نمود که با افزایش غلظت نیتروژن در محلول، میزان نیتروژن و نیترات پیاز به صورت خطی افزایش می یابد و گوگرد پیاز در پاسخ به افزایش نیتروژن در محلول ابتدا افزایش و سپس به صورت غیر خطی کاهش می یابد. کاربرد تیوباسیلوس باعث افزایش ۷ درصدی در کلروفیل برگ ها نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۳).

تیمار ۵۰ میلی گرم گوگرد مشاهده شد، که سبب افزایش ۱۹/۸ درصدی نسبت به تیمار شاهد شد (جدول ۳). گوگرد به دلیل نقش در تشکیل ترکیبات اسیدهای آمینه، سنتز پروتئین، ویتامین، کلروفیل و روغن اهمیت ویژه ای دارد (Kacar & Katkat., 2007). تحت شرایط محدودیت گوگرد، سنتز پروتئین های جدید و همچنین برخی آنزیم های تجزیه کننده پروتئین ها در برگ ها کاهش می یابد. عدم سنتز آنزیم روبیسکو و کلروز شدن برگ های جوان ناشی از محدودیت گوگرد، سبب کاهش مقدار کلروفیل برگ ها و سنتز جدید دستگاه فتوسنتزی می گردد (Burke et al., 1986). Ansori et al. (2012) اظهار داشتند کاربرد گوگرد

جدول ۲- میانگین مربعات صفات مورد ارزیابی در گیاه ذرت تیمار شده با گوگرد، تیوباسیلوس و قارچ میکوریزا

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل	سطح برگ	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	کلونیزاسیون	ارتفاع بوته	طول ریشه
تکرار	۲	۳۹/۷۷	۰/۰۰۶	۰/۲۴	۰/۰۶	۸/۴	۴۹/۶	۲۶/۳
گوگرد (S)	۴	۸۹/۱۲**	۰/۰۴۸**	۰/۶۰**	۰/۱۵**	۳۳۰/۸**	۴۷۵**	۴۶۹**
تیوباسیلوس (T)	۱	۸۴/۴۸*	۰/۰۱۳ ^{n.s}	۰/۳۶*	۰/۴۱**	۴۰۹**	۱۰۵**	۱۲/۶ ^{n.s}
میکوریزا (M)	۲	۱/۷۸ ^{n.s}	۰/۰۰۱ ^{n.s}	۰/۰۴ ^{n.s}	۰/۱۰**	۲۹۰/۱۶**	۹/۷ ^{n.s}	۶۰/۲**
S*T	۴	۱۴/۸۳ ^{n.s}	۰/۰۴۵**	۰/۵۹**	۰/۰۵**	۳۳/۷۱*	۲۳۵**	۳۱۶**
S*M	۸	۱۰/۸۷ ^{n.s}	۰/۰۰۴ ^{n.s}	۰/۰۸ ^{n.s}	۰/۱۰**	۴۴۴**	۴/۷ ^{n.s}	۵۹/۲**
T*M	۲	۲۸/۳۱ ^{n.s}	۰/۰۲۴*	۰/۰۱ ^{n.s}	۰/۰۵**	۱۴/۷ ^{n.s}	۱۳/۲ ^{n.s}	۶۳/۸**
S*T*M	۸	۱۲/۵۰ ^{n.s}	۰/۰۱۴*	۰/۰۱ ^{n.s}	۰/۱۱**	۴/۹ ^{n.s}	۲۲/۳**	۴۴/۶**
ضریب تغییرات		۱۶/۰۴	۱۸/۰۴	۲۴/۱۷	۱۰/۴۲	۷/۴۷	۶/۵۱	۷/۶۸

به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم معنی داری می باشد. ^{n.s}، * و **.

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر کود گوگرد، باکتری تیوباسیلوس و قارچ میکوریزا بر صفات رویشی ذرت

تیمارها	کلروفیل (درصد)	سطح برگ (سانتی متر مربع)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)	کلونیزاسیون (درصد)	ارتفاع بوته (سانتی متر)	طول ریشه (سانتی متر)
گوگرد	۲۶/۸ ^b	۰/۳۸ ^b	۰/۶۶ ^c	۰/۸۱ ^a	۵۸/۸ ^a	۳۳/۸ ^c	۳۲/۰ ^b
شاهد	۳۲/۱ ^a	۰/۵۰ ^a	۱/۰۸ ^a	۰/۸۴ ^a	۵۲/۶ ^b	۴۴/۱ ^a	۲۹/۹ ^a
۵۰	۲۷/۱ ^a	۰/۴۸ ^a	۱/۰۶ ^a	۰/۷۳ ^b	۴۳/۵ ^c	۴۴/۹ ^a	۴۱/۰ ^a
۱۰۰	۲۸/۹ ^a	۰/۴۱ ^b	۱/۰۶ ^a	۰/۶۱ ^c	۳۲/۸ ^d	۳۴/۷ ^c	۳۰/۹ ^b
۱۵۰	۲۷/۸ ^a	۰/۴۰ ^b	۰/۸۷ ^b	۰/۸۱ ^a	۲۶/۰ ^e	۳۹/۷ ^b	۳۰/۷ ^b
تیوباسیلوس	۲۷/۲ ^b	۰/۴۲	۰/۸۸ ^b	۰/۶۹ ^b	۴۴/۹	۳۸/۴۱ ^b	۳۴/۵۶
شاهد	۲۹/۱ ^a	۰/۴۵	۱/۰۱ ^a	۰/۸۳ ^a	۴۰/۶	۴۰/۵۷ ^a	۳۵/۳۱
تلقیح							
میکوریزا	۲۸/۳	۰/۴۲	۰/۹۸	۰/۶۹ ^b	۶۱ ^b	۳۹/۲	۳۴/۳ ^b
شاهد	۲۸/۳	۰/۴۴	۰/۹۰	۰/۸۰ ^a	۶۰/۷ ^a	۳۹/۰	۳۶/۵ ^a
اینترادیس	۲۷/۹	۰/۴۴	۰/۹۶	۰/۷۹ ^a	۶۰/۷ ^a	۴۰/۱	۳۳/۹ ^a
موسه							

* وجود حرف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد

کلروفیل سهیم بوده، و از این طریق کلروفیل برگ را افزایش می دهند. کود زیستی گوگردی (حاوی باکتری تیوباسیلوس) یکی از کودهایی است که از طریق اکسایش گوگرد توسط ریز جانداران خاکزی اکسید کننده

باکتری تیوباسیلوس با استفاده از گوگرد و تبدیل آن به سولفات موجب افزایش مقدار گوگرد و سایر عناصر غذایی وابسته به پی-اچ خاک (مانند فسفر و آهن)، برای گیاه می شوند. این عناصر در تشکیل

جدول ۴ نتیجه تجزیه واریانس و برش دهی برهمکنش گوگرد و تیوباسیلوس آورده شده است. با توجه به این جدول می توان اظهار کرد که کاربرد تیوباسیلوس به استفاده یا عدم استفاده گوگرد بستگی دارد. در صورت عدم استفاده از گوگرد پیشنهاد می شود که از باکتری تیوباسیلوس استفاده شود.

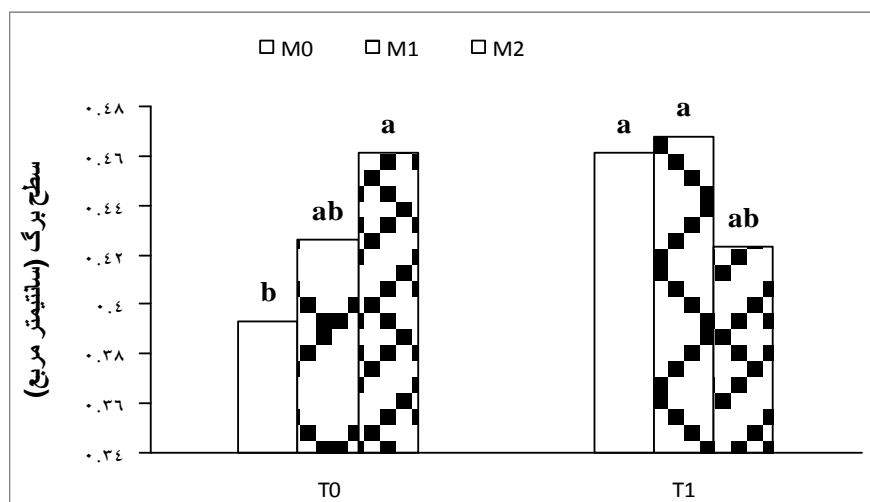
همچنین کاربرد باکتری تیوباسیلوس فقط در سطوح ۱۰۰ و ۱۵۰ کیلوگرم گوگرد معنی دار شد و با افزایش کاربرد گوگرد، استفاده یا عدم استفاده تیوباسیلوس تأثیری بر سطح برگ نداشت. نتایج حاصل از برهمکنش تیوباسیلوس و میکوریزا نشان داد که بیشترین سطح برگ در تیمار کاربرد تیوباسیلوس بدون تلقیح میکوریزا و برهمکنش تیوباسیلوس و گلوموس اینترادیس حاصل شد (شکل ۱).

آن (باکتری تیوباسیلوس) به جذب گوگرد و سایر عناصر غذایی مانند فسفر، آهن و روی کمک می کند و باعث افزایش عملکرد گیاه می شود (Khavazi et al., 2001).

سطح برگ (LA)

همان طور که در (جدول ۲) مشاهده می شود کاربرد گوگرد، برهمکنش گوگرد و تیوباسیلوس، تیوباسیلوس و میکوریزا و برهمکنش سه گانه آن بر سطح برگ معنی دار شد. کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم گوگرد به ترتیب ۳۱/۶ و ۲۶/۳ درصد سطح برگ را نسبت به شاهد افزایش داد (جدول ۳).

این افزایش می تواند ناشی از افزایش کلروفیل برگ ها که خود سبب افزایش فتوسنتز، سطح برگ و نهایتاً تجمع ماده خشک گیاه گردد. Chatterjee et al. (1985) گزارش کردند که سطح برگ آفتابگردان به طور معنی داری با کاربرد ۴۵ کیلوگرم گوگرد افزایش یافت. در



شکل ۱- تأثیر برهمکنش تیوباسیلوس و میکوریزا بر سطح برگ (LA) ذرت

T = تیوباسیلوس (T0 = عدم کاربرد و T1 = کاربرد) و M = سطوح میکوریزا (M0 = شاهد، M1 = گلوموس اینترادیس، M2 = گلوموس موسه)

معنی داری بر وزن خشک اندام هوایی داشت. با کاربرد ۲۰۰ میلی گرم گوگرد وزن خشک اندام هوایی نسبت به سطوح کمتر گوگرد کاهش معنی داری یافت. افزایش معنی دار عملکرد زیستی ذرت با کاربرد ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد نیز گزارش شده است (Ansori et al., 2012).

وزن خشک اندام هوایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس این صفت نشان داد که کاربرد گوگرد و تیوباسیلوس تأثیر معنی داری بر وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد داشتند (جدول ۲). همان طور که در جدول مقایسه میانگین (جدول ۳) مشاهده می شود کاربرد ۵۰ میلی گرم گوگرد ۶۵/۶ درصد وزن خشک اندام هوایی را نسبت به شاهد افزایش داد. افزایش کاربرد گوگرد تا ۱۵۰ میلی گرم افزایش

آلی در تأمین انرژی مورد نیاز اکسیداسیون گوگرد پودری به سولفات از یک طرف، و حجم کم گلدان های مورد استفاده (ماده خشک تولیدی) در این پژوهش، ممکن است برخی از نتایج حاصل در این تحقیق به سبب نوعی طراحی آزمایش باشد لذا توصیه می گردد در تحقیقات بعدی به هر سه جزء مواد آلی، باکتری و رطوبت توجه لازم مبذول گردد.

بررسی نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد همزمان گوگرد و تیوباسیلوس تأثیر معنی داری بر وزن خشک اندام هوایی داشت (جدول ۲). همان طور که برش دهی برهمکنش در جدول ۴ نشان داده شده، کاربرد باکتری تیوباسیلوس تنها در شرایط عدم کاربرد گوگرد و کاربرد ۱۰۰ میلی گرم گوگرد تأثیر معنی داری بر وزن خشک اندام هوایی داشت. با توجه به نقش مواد

جدول ۴- نتیجه تجزیه واریانس و برش دهی برهمکنش کاربرد کود گوگرد و باکتری تیوباسیلوس

منابع تغییر	درجه آزادی	سطح برگ	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	کلونیزاسیون	ارتفاع بوته	طول ریشه
بلوک	۲	۰/۰۰۵	۰/۰۵۶	۰/۰۳۷	۰/۴۶۶	۱۹/۰۷	۱۵/۸
گوگرد (S)	۴	۰/۱۲۱**	۰/۸۸۸*	۰/۶۸۴**	۳۷۰/۴**	۴۷۵**	۶۸۷**
تیوباسیلوس (T)	۱	۰/۰۴۲**	۰/۱۲۹ ^{n.s.}	۰/۳۰۶**	۴۵/۶**	۳۶/۹**	۱/۶۳ ^{n.s.}
S*T	۴	۰/۰۸۳**	۰/۰۸۱**	۰/۶۰۳**	۲۸/۲ ^{n.s.}	۵۲۳**	۷۱۷**
خطا	۱۸	۰/۰۶۰	۱/۰۰۸	۰/۱۳۰	۶۶/۲	۷۸/۵	۸۸/۲

برش دهی اثر متقابل - مجموع مربعات سطوح T (تیوباسیلوس) در هر سطح S (گوگرد)

سطوح گوگرد	درجه آزادی	سطح برگ	وزن خشک اندام هوایی	وزن خشک ریشه	کلونیزاسیون	ارتفاع بوته	طول ریشه
شاهد	۱	۰/۰۵۱**	۰/۶۸۰**	۰/۷۱۴**	۷۳/۵**	۲۲۱/۸**	۸/۱
۵۰	۱	۰/۰۰۲	۰/۰۲۰	۰/۰۶۴**	۳۲/۶۶**	۱۰/۶	۰/۶
۱۰۰	۱	۰/۰۱۵*	۱/۱۰۰**	۰/۰۲۲	۱/۵	۱۹۹/۶**	۴۰۰**
۱۵۰	۱	۰/۰۵۰**	۰/۱۲۳	۰/۰۰۱	۱/۵	۳۷/۵**	۱۶۰**
۲۰۰	۱	۰/۰۰۶	۰/۲۸۶	۰/۱۰۶**	۰/۶۶	۸۸/۱**	۱۵۰**

*، **، و ^{n.s.} به ترتیب معنی داری در سطح ۵ و ۱ درصد و عدم معنی داری می باشد.

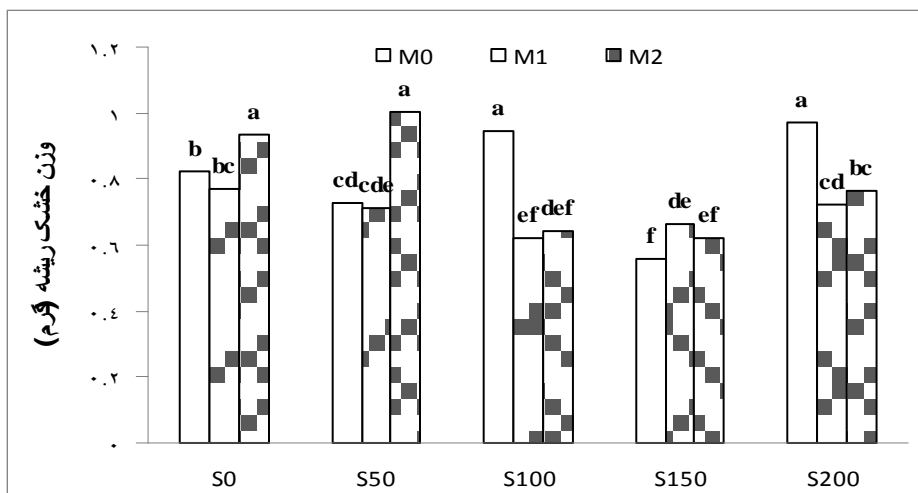
وزن خشک ریشه

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که وزن خشک ریشه به طور معنی داری تحت تأثیر عوامل بکار برده شده در آزمایش قرار گرفت (جدول ۲). بیشترین وزن ریشه در تیمار ۵۰ میلی گرم گوگرد حاصل شد که اختلاف معنی داری با شاهد و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم نداشته است (جدول ۳). کاربرد تیوباسیلوس ۲۰/۳ درصد وزن ریشه را نسبت به عدم کاربرد افزایش داد. تلقیح با گلوموس اینترارادیس و موسه به ترتیب ۱۵/۹ و ۱۴/۵ درصد وزن خشک ریشه را نسبت به عدم تلقیح افزایش دادند (جدول ۳). برش دهی برهمکنش گوگرد و تیوباسیلوس بر وزن خشک ریشه نشان داد کاربرد باکتری تیوباسیلوس تنها با عدم کاربرد گوگرد،

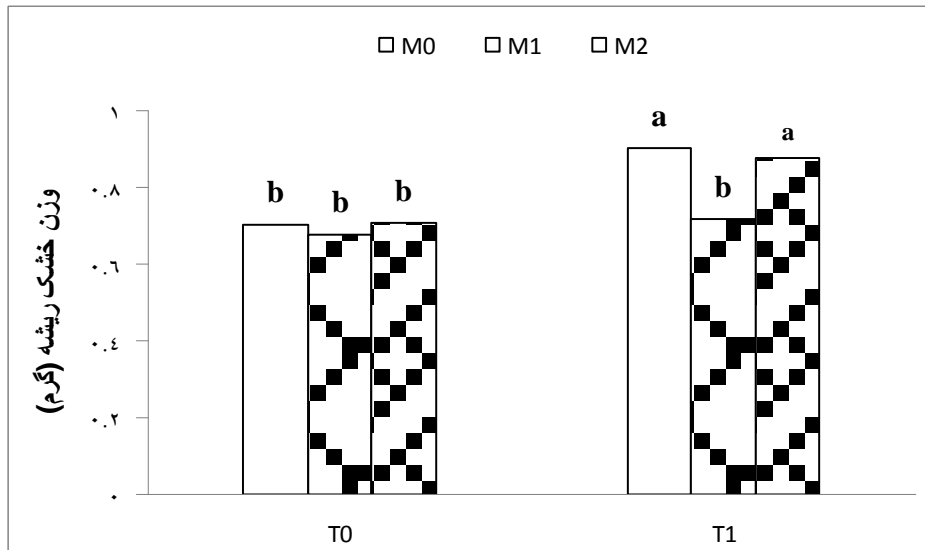
کاربرد ۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم تأثیر معنی داری بر وزن خشک ریشه داشت (جدول ۴). مقایسه میانگین برهمکنش گوگرد و میکوریزا نشان داد بیشترین وزن خشک ریشه در تیمار ۵۰ میلی گرم گوگرد و گلوموس موسه حاصل شد (شکل ۲). همچنین نتایج حاصل از برهمکنش تیوباسیلوس و میکوریزا نشان داد، بهترین ترکیب تیماری کاربرد تیوباسیلوس و عدم تلقیح میکوریزا برای افزایش وزن خشک ریشه ذرت بود (شکل ۳). Hasan & Olsen (1966) در بررسی اثر گوگرد بر ذرت پی بردند عملکرد ذرت افزایش یافت که با نتایج این بررسی مطابقت دارد. Kaplan & Orman (1998) در آزمایش گلخانه ای و مزرعه ای در خاک های آهکی دریافتند که مصرف گوگرد، عملکرد محصول و

میزان اکسایش گوگرد، کاهش پی-اچ و مقدار سولفات تولید شده در خاک تلقیح شده بیشتر از خاک بدون تلقیح می‌باشد.

مقدار آهن، روی، منگنز و فسفر جذب شده توسط سورگوم را افزایش می‌دهد. Mc Cready & Krouse (1982) با تلقیح باکتری تیوباسیلوس مشاهده کردند که



شکل ۲- کاربرد همزمان گوگرد و قارچ میکوریزا بر وزن خشک ریشه ذرت
S= سطوح گوگرد (S0, S50, S100, S150 و S200 به ترتیب صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم گوگرد) و M= سطوح میکوریزا (M0=عدم تلقیح، M1=گلوبوس اینترادیس، M2=گلوبوس موسه)



شکل ۳- برهمکنش باکتری تیوباسیلوس و قارچ میکوریزا بر وزن خشک ریشه ذرت
T= تیوباسیلوس (T0 = عدم کاربرد، T1=کاربرد) و M= سطوح میکوریزا (M0=شاهد، M1=گلوبوس اینترادیس، M2=گلوبوس موسه)

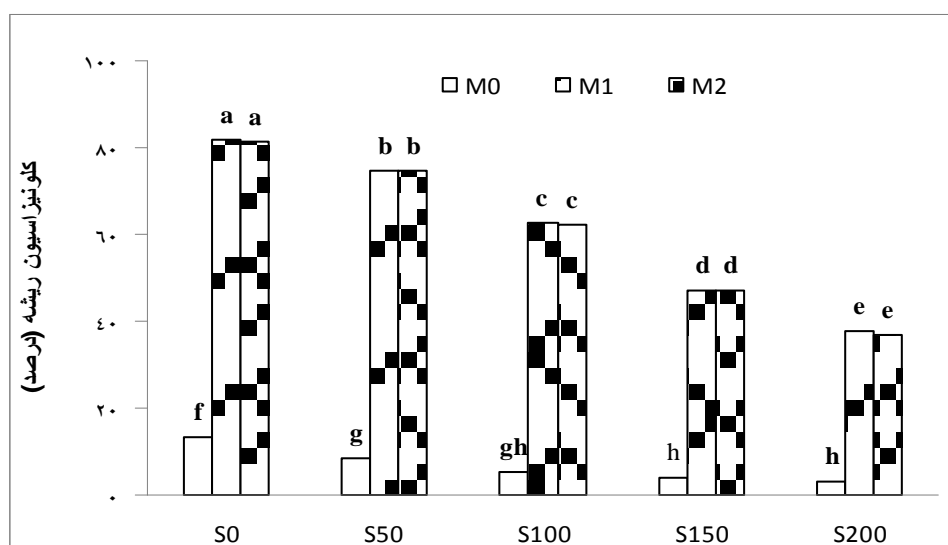
لحاظ آماری اختلاف معنی دار (سطح یک درصد) مشاهده شد. به طوری که بیشترین درصد کلونیزاسیون مربوط به شاهد (۵۸/۸ درصد) و با مصرف گوگرد درصد کلونیزاسیون کاهش یافت. کمترین درصد کلونیزاسیون با کاربرد ۲۰۰ میلی گرم (۲۶ درصد) در کیلوگرم گوگرد

کلونیزاسیون ریشه

اثر عوامل مورد بررسی، برهمکنش گوگرد و تیوباسیلوس و نیز گوگرد و میکوریزا بر درصد کلونیزاسیون ریشه معنی دار شد (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین نشان داد بین سطوح کاربرد کود گوگرد از

از برش دهی برهمکنش گوگرد و تیوباسیلوس نشان داد در شرایط عدم کاربرد گوگرد و کاربرد ۵۰ میلی گرم گوگرد، عدم کاربرد تیوباسیلوس تأثیر منفی بر کلونیزاسیون ریشه توسط میکوریزا داشته، ولی در سطوح بالای کاربرد گوگرد، کاربرد و عدم کاربرد تیوباسیلوس تفاوتی نداشته است و کاهش کلونیزاسیون ریشه ناشی از تأثیر منفی گوگرد می باشد. نتایج حاصل برهمکنش گوگرد و میکوریزا نشان داد بیشترین درصد کلونیزاسیون (۸۲ درصد) مربوط به تیمار عدم کاربرد گوگرد و تلقیح گلموس اینترادیس و کمترین درصد (۳/۳ درصد) مربوط به تیمار کاربرد ۲۰۰ میلی گرم گوگرد و عدم تلقیح میکوریزا بود (شکل ۴).

حاصل شد. اثر منفی گوگرد بر رشد قارچ میکوریزا به خصوص در سطوح بالای گوگرد به وضوح قابل مشاهده است. Ansori et al. (2011) نشان دادند که با کاربرد ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار درصد کلونیزاسیون ریشه ذرت به ترتیب ۳۷/۷ و ۳۶/۵ درصد کاهش یافت. آنها اظهار نمودند این کاهش می تواند ناشی از اکسایش گوگرد، تولید اسید سولفوریک و اثرات سوء بر فعالیت قارچ میکوریزا باشد. کاربرد باکتری تیوباسیلوس ۹/۵ درصد کلونیزاسیون ریشه را نسبت به شاهد کاهش داد. این کاهش می تواند ناشی از روابط آنتاگونیستی بین باکتری تیوباسیلوس و میکوریزا باشد. کاهش کلونیزاسیون میکوریزا با کاربرد تیوباسیلوس نیز گزارش شده است (Ansori et al., 2012). نتایج حاصل



شکل ۴- تأثیر کاربرد همزمان گوگرد و میکوریزا بر درصد کلونیزاسیون ریشه ذرت
S= سطوح گوگرد (S0, S50, S100, S150, S200 به ترتیب صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم گوگرد) و M= سطوح میکوریزا (M0=شاهد، M1= گلموس اینترادیس، M2= گلموس موسه)

بر ارتفاع بوته نشان داد کاربرد باکتری تیوباسیلوس تنها با عدم کاربرد گوگرد، کاربرد ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم گوگرد تأثیر معنی داری داشت (جدول ۴). افزایش معنی دار ارتفاع بوته کلزا با کاربرد ۶۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد گزارش شده است (Kumar et al., 2004). Stamford et al. (2002) گزارش کردند تلقیح گوگرد با تیوباسیلوس موجب افزایش رشد دو گیاه نخود و لوبیا نسبت به شاهد شد. همچنین اثرات مثبت گوگرد و گوگرد تلقیح شده با تیوباسیلوس بر رشد گیاهان توسط

ارتفاع بوته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس ارتفاع بوته نشان داد که کود گوگرد، باکتری تیوباسیلوس و اثر متقابل آنها تأثیر معنی داری بر ارتفاع بوته نسبت به شاهد داشتند (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با کاربرد ۱۰۰ میلی گرم گوگرد بیشترین ارتفاع بوته بدست آمد که با شاهد اختلاف معنی داری داشت (شکل ۳). کاربرد تیوباسیلوس ۵/۶ درصد ارتفاع بوته را نسبت به شاهد افزایش داد. برش دهی برهمکنش گوگرد و تیوباسیلوس

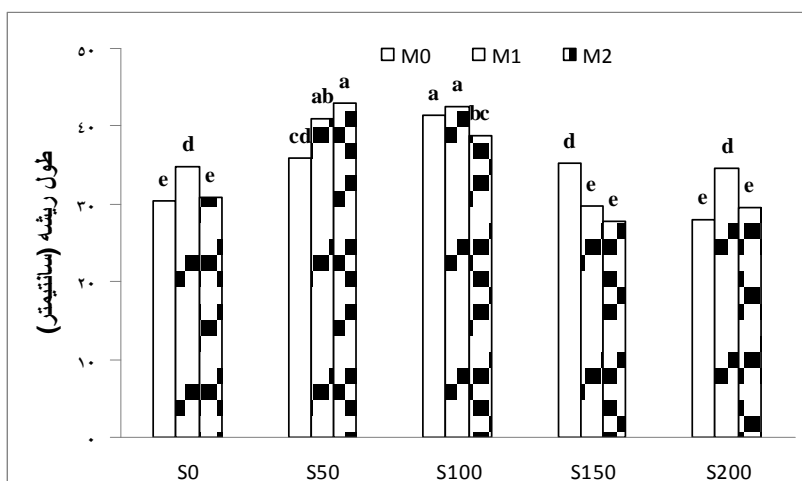
آزمایشات انجام شده توسط برخی محققین مشاهده کردند به علت محدود بودن جمعیت و تنوع باکتری های تیوباسیلوس در خاک های آهکی (Rupela & Taura., 1973)، استفاده از باکتری تیوباسیلوس به همراه گوگرد سبب افزایش سرعت اکسیداسیون گوگرد در خاک شده و موجب اصلاح خاک و بهبود وضعیت تغذیه گیاهان شده است (Caldwell et al., 1969). برهمکنش گوگرد و میکوریزا تأثیر معنی داری بر طول ریشه داشت (شکل ۵). نتایج بدست آمده نشان داد کمترین طول ریشه مربوط به کاربرد ۱۵۰ میلی گرم گوگرد و تلقیح گلوموس موسه (۲۷/۸ سانتی متر) و بیشترین طول ریشه مربوط به تیمار کاربرد ۱۰۰ میلی گرم و تلقیح میکوریزا گونه اینترادیس (۴۲/۵۰ سانتی متر) می باشد.

این نتایج می تواند نشان دهنده آن باشد که در سطوح بالای گوگرد، کارایی گونه اینترادیس بیشتر از گلوموس موسه است. همچنین برهمکنش تیوباسیلوس و میکوریزا اختلاف معنی داری بر طول ریشه را نشان داد (شکل ۶). به طوری که بیشترین طول ریشه مربوط به تیمار برهمکنش تیوباسیلوس و گلوموس اینترادیس (۳۸/۴۶ سانتی متر) و کمترین طول ریشه مربوط به برهمکنش تیوباسیلوس و گلوموس موسه (۳۲/۹۵ سانتی متر) می باشد.

دیگر یافته ها به اثبات رسیده است (Ansori et al., 2012).

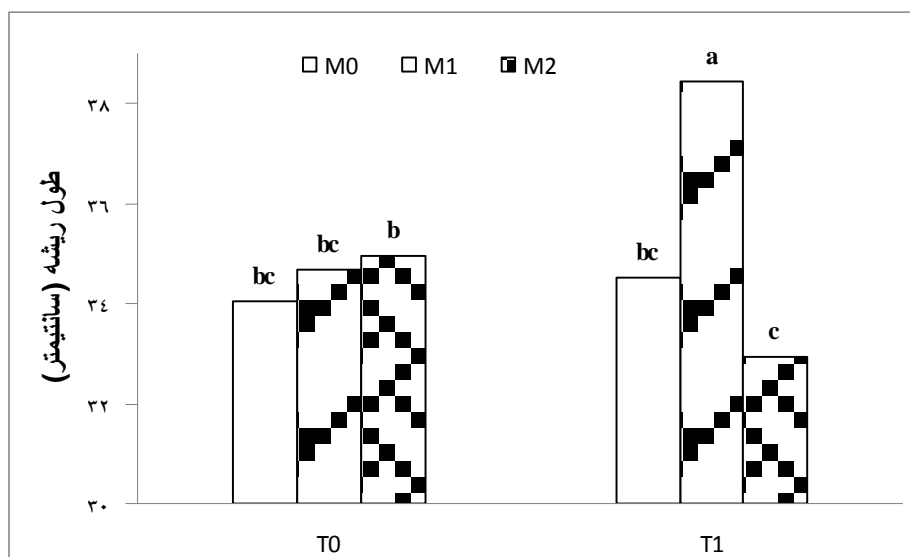
طول ریشه

بررسی نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد گوگرد و تلقیح میکوریزا تأثیر معنی داری بر طول ریشه دارد (جدول ۲). همان طور که مشاهده می شود (جدول ۳) کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم گوگرد ۲۴/۵ و ۲۸/۱ درصد طول ریشه را نسبت به شاهد افزایش داد. با افزایش کاربرد گوگرد به ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم طول ریشه کاهش معنی داری پیدا کرد و با شاهد اختلاف معنی داری نداشته است. تلقیح میکوریزا سبب افزایش معنی دار طول ریشه نسبت به شاهد شد. بین گونه های مختلف قارچ (گلوموس اینترادیس و موسه) در افزایش طول ریشه از لحاظ آماری اختلاف معنی داری مشاهده نشد. برهمکنش گوگرد و تیوباسیلوس تأثیر معنی داری بر طول ریشه داشت. برش دهی برهمکنش گوگرد و تیوباسیلوس نشان داد کاربرد باکتری تیوباسیلوس بدون کاربرد گوگرد تأثیر معنی داری بر طول ریشه نداشته و تنها با کاربرد ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی گرم گوگرد کاربرد تیوباسیلوس مفید و تأثیر معنی داری بر طول ریشه داشت (جدول ۴). کاربرد گوگرد وقتی موثر و نتیجه بخش خواهد بود که پس از مصرف مقدار کافی گوگرد در خاک توسط ریز جانداران مختلف مثل باکتری تیوباسیلوس اکسید گردد (Eriksen et al., 1999). در



شکل ۵- تأثیر برهمکنش گوگرد و میکوریزا بر طول ریشه ذرت

S= سطوح گوگرد (S1= صفر، S2= ۵۰، S3= ۱۰۰، S4= ۱۵۰ و S5= ۲۰۰ میلی گرم در کیلوگرم گوگرد) و M= سطوح میکوریزا (M0=شاهد، M1= گلوموس اینترادیس، M2= گلوموس موسه)



شکل ۶- تأثیر برهمکنش باکتری تیوباسیلوس و قارچ میکوریزا بر طول ریشه ذرت
 T= تیوباسیلوس (T0 = عدم کاربرد، T1= کاربرد) و M= سطوح میکوریزا (M0=شاهد، M1= گلوموس اینترادیس، M2= گلوموس موسه)

درصد کلونیزاسیون ریشه شد. در سطوح بالای گوگرد توانایی کلونیزاسیون گونه گلوموس اینترادیس بیشتر از گلوموس موسه بود. نتایج نشان داد به منظور افزایش رشد و استفاده از توانایی همزیستی قارچ میکوریزا، کاربرد سطوح کم و متوسط (۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم) گوگرد همراه با باکتری تیوباسیلوس، خصوصاً در خاک هایی با پی-اچ بالای ۷ (خاک هایی قلیایی) مناسب ترین ترکیب تیماری برای گیاه ذرت می باشد.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش، نشان داد که کلروفیل برگ، سطح برگ، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، کلونیزاسیون ریشه، ارتفاع بوته و طول ریشه ذرت تحت تأثیر کاربرد کود گوگردی قرار گرفتند. کاربرد باکتری تیوباسیلوس سبب افزایش کلروفیل برگ، وزن خشک اندام هوایی، ریشه و ارتفاع بوته و کاهش کلونیزاسیون قارچ میکوریزا شد. کاربرد همزمان گوگرد و تیوباسیلوس بخصوص در سطوح بالای گوگرد سبب تشدید کاهش

REFERENCES

1. Ansori, A., Gholami, A., Abasdokht, H., Gholipoor, M. & Baradaran, M. (2011). The effect of mycorrhiza, thiobacillus and sulfur on chlorophyll content and leaf relative water content of corn. *The First National Conference on Economic Jihad in the Field of Agriculture and Natural Resources, Qom, Iran*. Pp 553-556. (In Farsi).
2. Ansori, A., Gholami, A., Abasdokht, H., Gholipoor, M. & Baradaran, M. (2012). *Evaluation the effects of mycorrhizal symbiosis, Thiobacillus and sulfur application on growth Characteristics and yield of corn (Zea mays L.)*. MSc Thesis Shahrood University of Technology, Iran. (In Farsi).
3. Barry, D.A.J. & Miller, M.H. (1989). Phosphorus nutritional requirement of maize seedlings for maximum yield. *Agronomy Journal*, 81, 95-99.
4. Besharati, H. (1998). *Effects of the sulfur applications with Thiobacillus species in the ability to absorb certain nutrients in the soil*. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Tehran University. (In Farsi).
5. Burke, J.J., Holloway, P., & Dalling, M.J. (1986). The effect of sulphur deficiency on the organization and photosynthetic capability of wheat leaves. *Journal of Plant Physiology*, 125, 371-5.
6. Caldwell, A.C., Seim, E.C. & Rehm, G.W. (1969). Effects of elemental sulfur on composition of alfalfa (*Medicago sativa*) and corn (*Zea maize L.*). *Agronomy of Journal*, 61, 632-634.
7. Chapman, S.J. (1990). Thiobacillus populations in some agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 22, 479-482.
8. Chatterjee, B. N., Ghosh, R. K. & Chakraborty, P.K. (1985). Response of mustard to sulphur and micronutrients. *Indian Journal Agronomy*, 30(1), 75-8.

9. Eriksen, G., Coale, F. & Bollero, G. (1999). Soil nitrogen dynamics and maize production in municipal solid waste amended soil. *Agronomy of Journal*, 91, 1009-1016.
10. Garcia, I., Mendoza, R. & Pomar, M. C. (2012). Arbuscular mycorrhizal symbiosis and dark septate endophytes under contrasting grazing modes in the *Magellanic steppe* of Tierra del Fuego. *Agriculture Ecosystem and Environment*, 155, 1-8.
11. Hasan, N. & Olson, R.A. (1966). Influence of applied sulfur on availability of soil nutrients for corn (*Zea mays* L.) nutrition. *Canadian Journal Soil Science*, 30:284-286.
12. Jokela, W.E. & Randall, G.W. (1989). Corn yield and residual soil nitrate as affected by time and rate of nitrogen application. *Agronomy Journal*, 81, 720-726.
13. Jones, M. D. & Smith, S.E. (2004) Exploring functional definitions of mycorrhizas: are mycorrhizas always mutualisms? *Canadian Journal Biotechnology*, 82: 1089-1109.
14. Kacar, B. & Katkat, A.V. (2007). *Plant Nutriation*. 3th ed. Nobel Press; Ankara, Turkey.
15. Kalbasi, M., Manuchehri, N. & Filsoof, F. (1988). Local acidification of soil as a means to alleviate iron chlorosis on Quince orchards. *Journal of Plant Nutrition*, 9(3-7), 1001-1007.
16. Kaplan, M. & Orman, S. (1998). Effect of elemental sulfur and sulfur containing waste in a calcareous soil in Turrkey. *Journal of Plant Nutrition*, 21(8), 1655-1665.
17. Kariminia, A. (1987). *The identification of Thiobacillus species isolated some of soils from Iran and their effect on reduction soil pH*. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Tehran University. (In Farsi).
18. Khan, N.A., Singh, S. & Umar, S. (2008). Sulfur assimilation and abiotic stress in plants. Eds. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg*, Pp: 372.
19. Khavazi, K. Nourgholipour, F. & Malakouti, M.J. (2001). Effect of thiobacillus and phosphate solubilizing bacteria on increasing P availability from rock phosphate for corn. *International Meeting on Direct Application of Rock Phosphate and Related Technology*, Kuala Lumpur, Malaysia.
20. Kumar, S., Gaur, B.L. & Sumeriya, H.K. (2004). Effect of nitrogen, phosphorus and sulphur levels on growth and oil yield of taramira under rainfed conditions of southern Rajasthan. *Haryana Journal Agronomy*, 20(1), 4-6.
21. Lawrence, J.R. & Germida, J.J. (1991). Enumeration of sulfur-oxidizing populations in Saskatchewan agricultural soils. *Canadian Journal Soil Science*, 71, 127-136.
22. Maurya, K.L., Sharma, H.P., Tripathi, H.P. & Singh, S. (2005). Effect of nitrogen and sulphur application on yield attributes, yield and net returns of winter maize (*Zea mays* L.). *Haryana Journal Agronomy*, 21(2), 115-16.
23. Mc Cready, R.G.L. & Krouse, H.R. (1982). Sulfur isotope fractionation during the oxidation of elemental sulfur by Thiobacillus in a solonetzic soil. *Canadian Journal Soil Science*, 92: 105-110.
24. Morvedt, J.J., Giordano, P.M. & Lindsay, W.L. (1991). *Micronutrient in agriculture*. Soil Science Soc. Am. Inc. Madison, Wisconsin USA.
25. Naghavi maremati, A., Bahmanyar, M.A., Pirdashti, H. & Salak Gilani, S. (2007). Effect of different rate and type of organic and chemical fertilizers on yield and yield components of different rices cultivars. In: *10th Iranian Conference of Soil Science, Tehran*, pp, 766-767. (In Farsi).
26. Philips, J.M. & Hayman, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transactions of British Mycological Society*, 55, 158-161.
27. Randle, W.M. (2000). Increasing nitrogen concentration in hydroponics solutions affects onion flavor and bulb quality. *Journal of the American Society Horticultural Science*, 125(2), 254-259.
28. Rupela, O.P. & Taura, P. (1973). Isolation and characterization of *Thiobacillus* from alkaline soils. *Soil Biology Biochemistry*, 5, 891- 897.
29. Singh, D. & Singh, V. (1995). Effect of potassium, zinc and sulphur on growth characters, yield attributes and yield of soybean. *Indian Journal Agronomy*, 40(2), 223-7.
30. Singh, Y.P. (2004). Role of sulphur and phosphorus in black gram production. *Fertilizer News*, 49(2), 33-6.
31. Smith, F.A, Smith, S.E. (1996). Mutualism and parasitism: diversity in function and structure in the "arbuscular" (VA) mycorrhizal symbiosis. *Advance Biotechnology Research*, 22, 1-43.
32. Smith, S.E. & Read, D.J. (1997). *Mycorrhizal Symbiosis* (2nd ed). Academic Press: London, UK. p.605.
33. Stamford, N.P., Freitas, A.D., Ferraz, D.S. & Santos, C.E.R.S. (2002). Effect of sulfur inoculated with thiobacillus on saline soils amendment and growth of cowpea and yam bean legumes. *Journal of Agriculture Science*, 139, 275-281.
34. Zhi-Hui, Y., Stoven, K., Haneklaus, S., Singh, B.R. & Schnug, E. (2010). Elemental Sulfur Oxidation by *Thiobacillus spp.* and Aerobic Heterotrophic Sulfur-Oxidizing Bacteria. *Pedosphere*, 20(1), 71-79.