نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۹، شماره ۳، مرداد – شهریور ۱۳۹۴، ص. ۷۲۹-۷۱۸

Journal of Water and Soil
Vol. 29, No. 3, Jul.-Agu. 2015, p. 718-729

تأثیر تلقیح دو گانه باکتری تیوباسیلوس (*Thiobacillus thiooxidans*) و قارچ میکوریز (*Glomus spp.*) بر تغذیه ذرت در سطوح مختلف گوگرد

احمد غلامی[1*]- علی انصوری[2]- حمید عباس دخت[3]- علیرضا فلاح[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۳/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۱/۲۴

چکیده

به منظور بررسی برهمکنش کود گوگرد و باکتری تیوباسیلوس بر کلونیزاسیون ریشه و تغذیه ذرت آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل پنج سطح گوگرد (S_0، S_{50}، S_{100}، S_{150} و S_{200} به‌ترتیب شامل مقادیر صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم گوگرد پودری بر کیلوگرم خاک گلدان)، تیوباسیلوس تیواکسیدانس در دو سطح (تلقیح T_1 و عدم تلقیح T_0) و قارچ میکوریز در سه سطح عدم تلقیح (M_0)، تلقیح با *Glomus intraradices* (M_1) و *Glomus mosseae* (M_2) بودند. نتایج این بررسی نشان داد که کاربرد گوگرد، مقادیر نیتروژن، فسفر، گوگرد، آهن و روی، هم‌چنین بیوماس اندام هوایی و کلروفیل را در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری در گیاه ذرت افزایش داد. کاربرد تیوباسیلوس سبب افزایش معنی‌دار فسفر، آهن، روی و کاهش معنی‌دار درصد کلونیزاسیون ریشه گیاه به‌وسیله قارچ‌های میکوریز و pH خاک شد. هم‌چنین نتایج بررسی حاضر نشان داد که تلیقح قارچ میکوریز مقادیر نیتروژن، فسفر، گوگرد، آهن، روی و کلونیزاسیون ریشه را نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش داد. کاربرد مجزا و توأم گوگرد و تیوباسیلوس تأثیر منفی معنی‌داری بر درصد کلونیزاسیون ریشه داشت. اثرات منفی افزایش مصرف گوگرد بر درصد کلونیزاسیون ریشه در گونه *G.mosseae* بیشتر از گونه *G.intraradices* بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد کاربرد گوگرد و تیوباسیلوس و هم‌چنین اثر متقابل این دو عامل تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی داشت. برش دهی اثر متقابل گوگرد و تیوباسیلوس نشان داد که کاربرد باکتری تیوباسیلوس تنها در شرایط عدم کاربرد گوگرد و کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم گوگرد تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی داشت. بر اساس این نتایج کاربرد گوگرد، تیوباسیلوس و میکوریز در خاک‌های قلیایی سبب بهبود تغذیه و افزایش رشد گیاه شد.

واژه‌های کلیدی: اسیدیته، تلقیح مضاعف، عناصر غذایی، کلونیزاسیون، همزیستی

مقدمه

تولید محصول در خاک‌های قلیایی به دلیل وجود pH بالا و غلظت زیاد کاتیون‌های بازی همواره با مشکلاتی مواجه است. بطوریکه برخی از عناصر به صورت غیر قابل استفاده برای گیاهان در می‌آیند (۱۰). استفاده از کودهای شیمیایی حاوی عناصر کم مصرف هم ممکن است تأثیر چندانی نداشته باشد زیرا این عناصر در شرایط pH بالا به سرعت نامحلول می شوند. راه اصلاح این خاک‌ها استفاده از گوگرد است. گوگرد پس از اکسید شدن و تولید اسید سولفوریک، قادر به کاهش pH است، بنابراین در انحلال عناصرغذایی نامحلول در خاک مؤثر است (۲۰). تاثیر گوگرد به منظور تأمین نیاز گیاه به این عنصر و یا بهبود وضعیت تغذیه‌ای گیاه زمانی مؤثر خواهد بود که گوگرد به میزان قابل توجهی در خاک اکسید شود (۱۳). سینگ (۲۷) گزارش نمود افزایش کاربرد گوگرد موجب افزایش معنی‌دار عملکرد دانه و عملکرد زیستی باقلا شد. سینگ و سینگ (۲۵) گزارش کردند کاربرد ۳۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد موجب افزایش معنی‌دار سطح برگ، ماده خشک، تعداد غلاف، وزن ۱۰۰۰ دانه و عملکرد دانه سویا شد. یکی از مهم‌ترین اکسید کننده‌های گوگرد، باکتری تیوباسیلوس که از ترکیبات احیا شده گوگرد به عنوان منبع کسب انرژی استفاده می کنند (۳۲). معمولاً جمعیت این باکتری‌ها در خاک پایین است و مصرف گوگرد همراه با این باکتری‌ها در خاک‌های قلیایی، اثرات سودمند و از جمله افزایش سرعت اکسایش گوگرد را بهمراه دارد (۳۱). خاوازی و همکاران (۱۷) اظهار داشتند که کود زیستی گوگردی (حاوی باکتری تیوباسیلوس) از جمله کودهایی است که از طریق اکسایش گوگرد توسط باکتری تیوباسیلوس به جذب گوگرد و سایر عناصر غذایی مانند فسفر، آهن و روی کمک می‌کند. نتایج یک بررسی نشان داد که کاربرد تیوباسیلوس همراه با گوگرد سبب افزایش معنی‌دار گوگرد و آهن در دانه ذرت نسبت به شاهد شد (۱).

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشیار، دانش آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهرود
(*- نویسنده مسئول: Email: ahgholami@ yahoo.com)
۴- استادیار موسسه تحقیقات آب و خاک

جدول ۱- نتایج تجزیه فیزیکوشیمیایی خاک مزرعه

Table1- physical and chemical characteristic of soil

هدایت الکتریکی (dS/m^{-1})	اسیدیته (pH)	شن Sand	لای Silt	رس Clay	مواد آلی O.C.	نیتروژن N	منیزیم Mg	سولفات $So4^{-2}$	پتاسیم K	فسفر P	کلسیم Ca
		(درصد)							(ppm)		
0.69	8.1	34	44	22	0.33	0.04	23	6.1	145	10	37

تأمین عناصر غذایی یکی از محدودیت‌های رایج در رشد و تولید گیاهان در بسیاری از زیست بوم‌ها می‌باشد. قارچ‌های میکوریزی با دامنه وسیعی از گیاهان زراعی همزیستی داشته بطوریکه قارچ مواد غذایی را از خاک جذب و به گیاه انتقال داده و در مقابل گیاه مواد فتوسنتزی تثبیت شده را به قارچ منتقل می‌کند (۲۸). توانایی همزیستی و اثرات مثبت قارچ میکوریزی بر رشد و بهبود سلامت گیاه به اثبات رسیده است. همزیستی این قارچ بیشتر به منظور جذب عناصر غذایی کم تحرک در خاک مثل فسفر، مس و روی صورت می گیرد (۲۸). به‌طوری‌که در یک آزمایش مشاهده شده است که غلظت فسفر، منیزیم، روی و مس به طور معنی‌داری در اندام هوایی ذرت تلقیح شده با میکوریز افزایش یافت (۱۹). سابرامانین و جارست (۲۹) نیز مشاهده نمودند که در شرایط تنش رطوبتی و در گیاهان تلقیح شده با قارچ های میکوریزی، مقدار نیتروژن، فسفر، پتاسیم، منگنز، منیزیم و روی در ذرت افزایش معنی‌داری داشتند.

هدف از اجرای این آزمایش بررسی اثرات کود گوگرد و باکتری تیوباسیلوس بر کلونیزاسیون دو گونه قارچ میکوریز و تغذیه گیاه ذرت می باشد. همچنین بر همکنش دو کود زیستی قارچی و باکتریایی بر جذب عناصر غذایی و نقش گوگرد به عنوان محرک فعالیت باکتری از دیگر موارد مورد بررسی در این تحقیق است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود انجام شد. عوامل مورد آزمایش شامل پنج سطح گوگرد (S_0، S_{50}، S_{100}، S_{150} و S_{200} بترتیب مقادیر صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم گوگرد پودری در هر کیلوگرم خاک گلدان، تیوباسیلوس تیواکسیدانس در دو سطح (مصرف T_1 و عدم مصرف T_0) و قارچ میکوریز در سه سطح عدم تلقیح (M_0)، تلقیح با *Glomus intraradices* (M_1) و *Glomus mosseae* (M_2) بود. گوگرد عنصری به صورت پودر ۲۰ روز قبل از کشت بذر به خاک گلدان‌ها که از مزرعه تهیه شده بود، اضافه شد و تیوباسیلوس تیواکسیدانس (10^8 سلول زنده باکتری در هر میلی لیتر) بر اساس مقدار توصیه شده، یک هفته قبل از کشت به خاک اضافه شد. مایه تلقیح قارچ‌های میکوریز آرباسکولار، حاوی مخلوطی از ریشه گیاه شبدر، خاک، هیف و اسپور (۳۰۰ –۲۵۰ اسپور در هرگرم) بود که در هنگام کاشت ماده تلقیح در زیر بذر و به مقدار ۱۰ گرم برای هر گلدان با قطر ۲۲ سانتی‌متر، ارتفاع ۲۵ سانتی متر و ظرفیت ۳ کیلوگرم قرار گرفت. رقم ذرت دانه‌ای مورد استفاده NS604 بود که رقمی متوسط رس می باشد. خصوصیات خاک مورد استفاده در گلدان‌ها در جدول ۱ آورده شده است. پس از گذشت ۶ هفته، بوته‌ها برداشت شده و برای اندازه گیری آهن و روی در اندام هوایی از دستگاه ICP[1] استفاده شد. به این منظور ابتدا خاکستر نمونه‌های گیاهی در کوره و دمای ۵۰۰–۵۵۰ درجه سانتی‌گراد تهیه و سپس ۵ میلی لیتر اسید کلریدریک ۳۷ درصد به آن اضافه و با آب ۲ بار تقطیر به حجم ۵۰ میلی‌متر رسانده شد. گوگرد به روش هضم در مجاورت نیترات منیزیم و اسید پرکلریک و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، نیتروژن کل به روش کجلدال و فسفر به روش هانسون(۱۲) اندازه‌گیری شدند. محتوای کلروفیل توسط دستگاه کلروفیل سنج (Minolta SPAD-502)، از سه برگ کاملا توسعه یافته هر بوته در گلدان ارزیابی شد. برای تعیین میزان کلونیزاسیون ریشه‌ها ابتدا از ریشه های تهیه شده از هر گلدان با آب جاری شسته شد. به منظور رنگ‌بری، ریشه ها در محلول KOH ده درصد به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط آزمایشگاه قرار داده شد. برای رنگ آمیزی ریشه‌ها از تریپان بلو استفاده شد.برای تهیه تریپان بلو (0.05% w/v) در لاکتوگلیسرول از اسید لاکتیک، گلیسرول و آب به نسبت ۱:۱:۱ استفاده می کنیم. به منظور تعیین درصد کلونیزاسیون از ریشه های هر گلدان ۵۰ قطعه یک سانتیمتری رنگ آمیزی شده بطور تصادفی انتخاب و با استفاده از میکروسکوپ وجود اندام های قارچی مورد بررسی قرار گرفت(۴). آنالیز داده‌ها بوسیله نرم افزار SAS انجام شد. در مورد صفاتی که اثر متقابل عوامل مورد آزمایش بر آنها معنی‌دار شد، برش‌دهی اثر متقابل صورت گرفت (۲۴). برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد و برای رسم نمودارها از Excel استفاده شد.

1 - Inductively Coupled Plasma -Atomic Emission Spectrometer

جدول۲- میانگین مربعات صفات مورد ارزیابی در اندام هوایی گیاه ذرت تیمار شده با قارچ میکوریزا باکتری- تیوباسیلوس و گوکرد

Table2- Mean of square for some maizeshoot characteristics treated with mycorrhiza, thiobacillus and sulfur

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	pH خاک	کلونیزاسیون colonization درصد	وزن خشک اندام هوایی (shoot dry weight) (g)	کلروفیل (chlorophyll) واحد اسپد	روی Zn (اندام هوایی) (mg/kg)	آهن Fe (اندام هوایی) (mg/kg)	نیتروژن N (اندام هوایی) (٪)	فسفر P (اندام هوایی) (٪)	گوگرد S (اندام هوایی) (mg/kg)
تکرار Rep.	2	0.003	8.4	0.24	39.77	2.56	4.63	0.003	0.00002	475.65
گوگرد (S)	4	0.429**	3308**	0.6**	89.13**	4.03**	10.23*	0.0013**	0.00065**	1221.45**
تیوباسیلوس(T)	1	0.1**	409**	0.36*	84.48*	12.6**	15.21*	0.0002ns	0.0059**	50.47ns
میکوریز (M)	2	0.003ns	29016**	0.04ns	1.78ns	10.98**	38.7**	0.0011**	0.0082*	1147.28ns
S*T	4	0.017*	33.71*	0.59**	14.83ns	4.6**	12.18*	0.0014ns	0.0014**	317.96*
S*M	8	0.004ns	444**	0.08ns	10.87ns	3.55**	5.83ns	0.0012ns	0.0071**	145.73ns
T*M	2	0.016ns	14.7ns	0.01ns	28.31ns	2.03ns	5.21ns	0.006ns	0.0044ns	276.92ns
S*T*M	8	0.001ns	4.9ns	0.1ns	12.5ns	1.55ns	4.93ns	0.0002ns	0.0015ns	122.58ns
خطا	58	0.005	10.22	0.05	20.45	1.08	3.35	0.0002	0.001	95.37
ضریب تغییرات (cv)(٪)		0.92	7.47	24.17	16.04	4.29	5.98	2.23	5.79	

n.s, **,* بترتیب معنی دار در سطح ۵ درصد- یک درصد و عدم معنی داری

*,**,ns : significant at 5%, 1% and no significant difference

نتایج و بحث

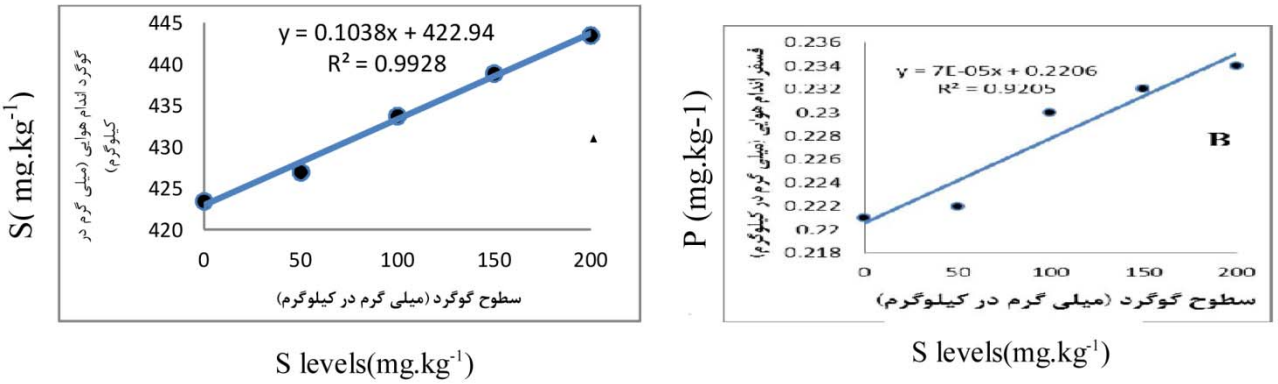
گوگرد: نتایج نشان داد که مصرف گوگرد و قارچ میکوریز تأثیر معنی‌داری بر مقدار گوگرد اندام هوایی نسبت به شاهد داشتند(جدول ۲). با افزایش مصرف گوگرد، غلظت گوگرد در اندام هوایی بصورت خطی افزایشی یافت(شکل A-۱). بیشترین غلظت گوگرد با کاربرد ۲۰۰ میلی گرم گوگرد در کیلوگرم خاک و کمترین مقدار آن از تیمار شاهد حاصل شد. نتایج نشان داد که تنها تلقیح گلوموس اینترارادیس تأثیر معنی‌داری (۲/۷۸ افزایش نسبت به شاهد) در افزایش غلظت گوگرد اندام هوایی داشت (شکل A-۳). برهمکنش گوگرد و تیوباسیلوس تأثیر معنی‌داری بر غلظت گوگرد اندام هوایی ذرت داشت. کاربرد تیوباسیلوس به میزان استفاده از گوگرد بستگی دارد (جدول ۳). بطوری که در شرایط عدم استفاده از گوگرد و کاربرد ۵۰ میلی گرم گوگرد در کیلوگرم خاک، استفاده از باکتری تیوباسیلوس توصیه می‌شود و با افزایش کاربرد گوگرد، استفاده یا عدم استفاده از باکتری تیوباسیلوس تأثیری بر غلظت گوگرد اندام هوایی ندارد. نتایج یک بررسی نشان داد که گوگرد و تیوباسیلوس سبب افزایش عملکرد ذرت و دسترسی به عناصر غذایی مانند گوگرد شد (۱). هم‌چنین در گیاه سیر با افزایش مصرف گوگرد از ۰ تا ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار مقدار جذب گوگرد افزایش یافت (۳۰).

فسفر: نتایج نشان داد که عوامل مورد بررسی تأثیر معنی‌داری بر درصد فسفر اندام هوایی ذرت نسبت به شاهد داشتند (جدول ۲). کاربرد ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم گوگرد بترتیب باعث ۰/۴۵، ۳/۹۱، ۴/۷۴ و ۵/۵۶ درصد افزایش در غلظت فسفر اندام هوایی ذرت نسبت به شاهد شد که از نظر آماری معنی‌داری بود (B-۱). قارچ میکوریز سبب افزایش معنی‌دار غلظت فسفر در اندام هوایی ذرت شد (شکل B-۳).

جدول۳- برش دهی اثر متقابل: مجموع مربعات تیوباسیلوس (B) در سطوح گوگرد (S)
Table3- Splitting of interactions; sum of square thiobacillus (B) with S levels(S)

سطوح گوگرد	pH خاک	کلونیزاسیون colonization (٪)	بیوماس اندام هوایی Shoot dry weighy (g)	روی Zn (mg/kg)	آهن Fe (mg/kg)	نیتروژن N (٪)	فسفر P (٪)	گوگرد S (mg/kg)
0	0.06ns	37.5**	0.68**	1.18ns	0.16ns	0.00006ns	0.0006ns	937.5*
50	0.026*	32.67**	0.02ns	2.16ns	3.74ns	0.00417ns	0.0001ns	1093.5*
100	0.006ns	1.5ns	1.1**	0.66ns	1.06*	0.00ns	0.0012*	1.5ns
150	0.046ns	6.00ns	0.12ns	0.16ns	0.67ns	0.0006ns	0.0001ns	7.7ns
200	0.001ns	0.66ns	0.28ns	11.48**	0.16ns	0.001ns	0.001ns	266.67ns

*,**,ns بترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار.
*,**,ns : significant at 5%, 1% and no significant difference



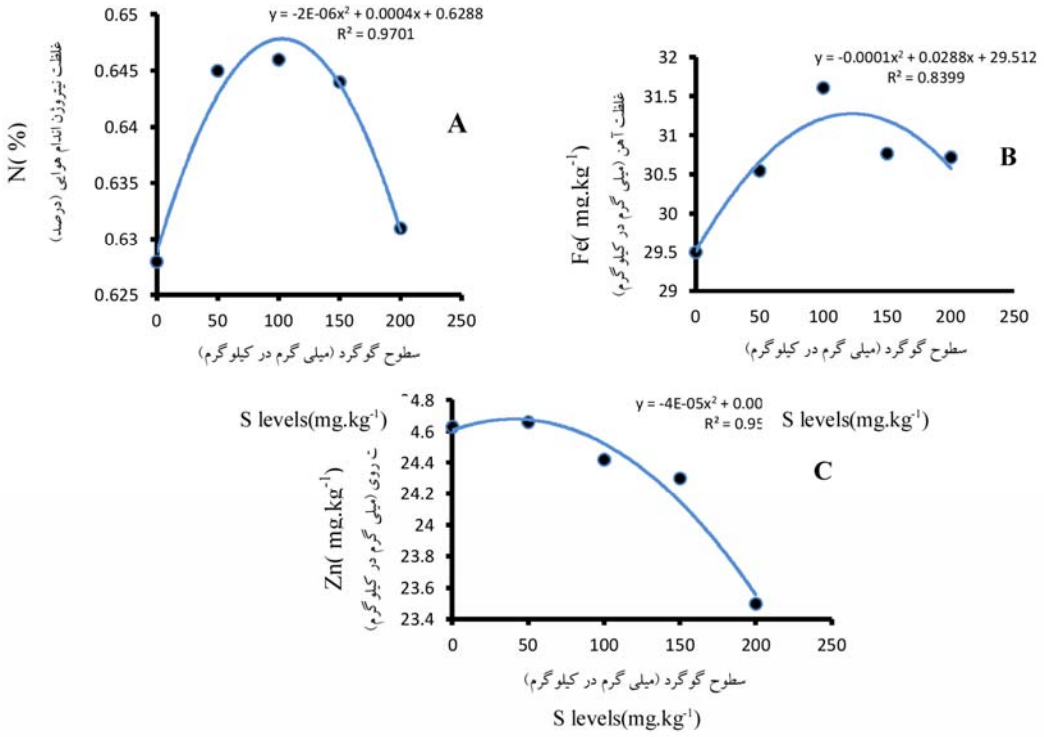
شکل۱- تأثیر کاربرد سطوح مختلف گوگرد بر غلظت گوگرد (A) و غلظت فسفر (B) اندام های هوایی ذرت
Figure 1- Effects of S levels on S (A) and P (B) concentration of maize shoot

جدول٤- برش دهی اثر متقابل: مجموع مربعات میکوریز (M) در سطوح گوگرد (S)
Table4- Splitting of interactions; sum of square of mycorrhiza(M) with S levels(S)

سطوح گوگرد S	کلونیزاسیون colonization (درصد)	روی Zn (mg.kg)	نیتروژن N (٪)	فسفر P (٪)
0	4762.6**	8.52**	0.004ns	0.003**
50	4601.4ns	4.99*	0.0009*	0.0001ns
100	3326.7ns	3.69**	0.00007ns	0.000ns
150	2177.7ns	4.48ns	0.0003ns	0.000ns
200	1168.1ns	4.09ns	0.0005ns	0.0001ns

*، ** و ns بترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد و غیر معنی‌دار.
*,**,ns : significant at 5%, 1% and no significant difference

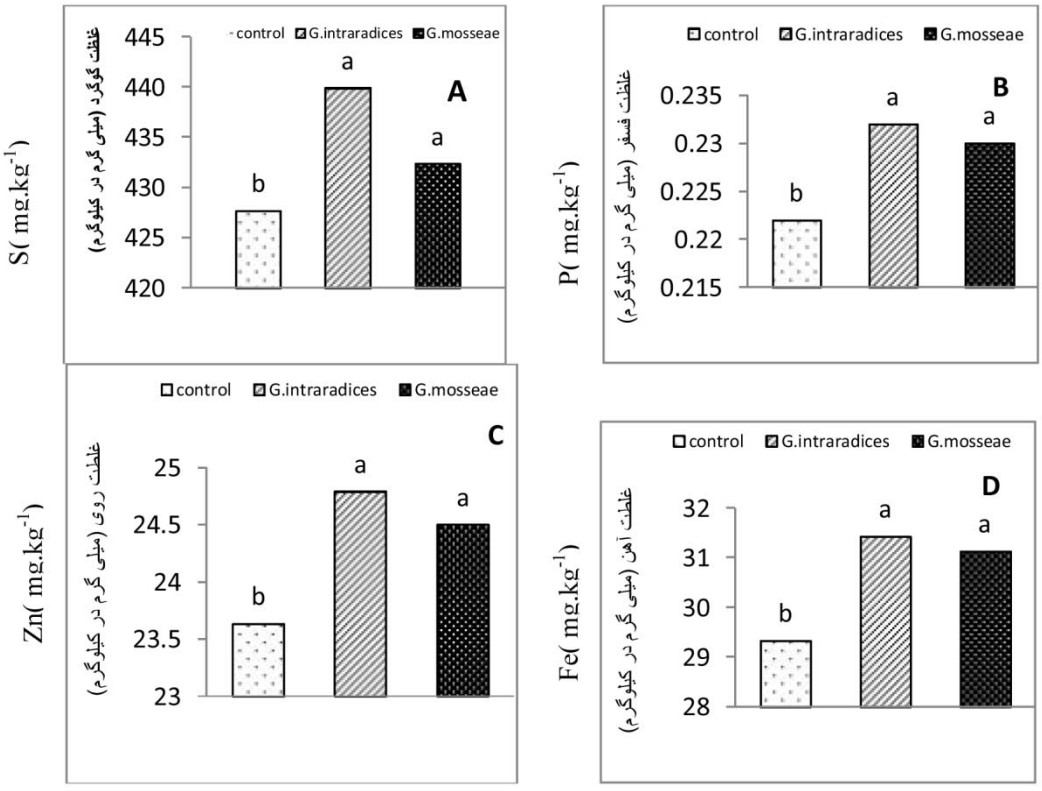
تلقیح گلوموس اینترارادیس و موسه بترتیب ۴/۱۸ و ۳/۳۴ درصد غلظت فسفر اندام هوایی را نسبت به شاهد افزایش دادند. کاربرد باکتری تیوباسیلوس تنها در صورت استفاده از ۱۰۰ میلی‌گرم گوگرد بر افزایش جذب فسفر اندام هوایی تأثیر معنی‌دار داشت (شکل۳). برش دهی اثر متقابل گوگرد و میکوریز (جدول ۴) نشان داد که قارچ میکوریز تنها در شرایط عدم کاربرد گوگرد (شاهد) تأثیر معنی‌داری بر غلظت فسفر اندام هوایی داشت. مقایسه میانگین سطوح مختلف میکوریزا همراه با گوگرد (جدول۵) نشان داد که بیشترین غلظت فسفر از کرتهای شاهد(بدون قارچ) همراه با ۱۰۰کیلوگرم گوگرد بدست آمد. گزارش شده است که در گیاه سیر با افزایش مصرف گوگرد از ۰ تا ۱۰۰ در هکتار مقدار جذب فسفر افزایش می‌یابد (۳۰). افزایش جذب فسفر در نتیجه مصرف گوگرد توسط برخی دیگر از محققین گزارش شده است (۱۰). در یک بررسی کاربرد مقادیر مختلف گوگرد با و بدون تیوباسیلوس نشان داد که بالاترین مقدار جذب فسفر در گیاه سویا مربوط به مصرف ۱۰۰۰ کیلوگرم گوگرد در هکتار همراه با تیوباسیلوس بود (۱۱).



شکل ۲- تأثیر کاربرد سطوح مختلف گوگرد بر نیتروژن (A)، آهن (B) و روی (C) اندام هوایی ذرت
Figure 2- Effects of S levels on N (A), Fe(B), and Zn(C) concentration of maize shoot

نیتروژن: نتایج بیانگر آن است که کاربرد گوگرد تأثیر معنی‌داری بر درصد نیتروژن اندام هوایی ذرت داشت (جدول ۲) و بیشترین درصد نیتروژن با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم درکیلوگرم گوگرد حاصل شد (شکل A-۲). با کاربرد گوگرد تا مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم، غلظت نیتروژن در اندام هوایی افزایش یافت و سپس با افزایش بیشتر گوگرد غلظت نیتروژن بشدت کاهش پیدا کرد. برش دهی اثر متقابل گوگرد و تیوباسیلوس بر درصد نیتروژن اندام‌های هوایی نشان داد که کاربرد و عدم کاربرد باکتری تیوباسیلوس در سطوح مختلف گوگرد تأثیر معنی داری بر این صفت نداشت (جدول ۳). هم‌چنین برش دهی اثر متقابل گوگرد و میکوریز (جدول۴) نشان داد که تلقیح میکوریز فقط در شرایط مصرف ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم گوگرد تأثیر معنی‌داری بر نیتروژن اندام هوایی داشت. بررسی ترکیب تیماری سطوح میکوریزا با گوگرد نشان می‌دهد که بیشترین مقدار نیتروژن از کرت های شاهد(بدون قارچ) همراه با ۱۵۰ و یا ۲۰۰ کیلوگرم گوگرد بدست آمد (جدول۵). نتایج یک بررسی نشان داد که کاربرد ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگرم گوگرد بترتیب باعث افزایش ۱۲/۵۷ درصد و کاهش ۵/۹۸ درصد در مقدار نیتروژن دانه نسبت به شاهد شد (۱). این نتایج می‌تواند ناشی از رابطه آنتاگونیستی بین گوگرد و نیتروژن باشد که با افزایش مصرف گوگرد و در نتیجه افزایش غلظت آن در گیاه، میزان جذب نیتروژن توسط گیاه کاهش می‌یابد. نتایج تحقیق دیگری در مورد پیاز نشان داد که با توجه به اثر آنتاگونیستی نیتروژن و گوگرد، بیشترین عملکرد و بالاترین مقدار جذب نیتروژن و گوگرد با مقادیر بالای نیتروژن (۱۶۰ کیلوگرم در هکتار) و مقادیر متوسط گوگرد (۴۰ کیلوگرم درهکتار) به دست می‌آید (۲۱). اثرات نیتروژن بر قارچهای میکوریزای ارباسکولار بصورت متفاوت گزارش شده است. در برخی از منابع به رابطه منفی بین درصد نیتروژن و کلونیزاسیون میکوریزایی در شبدر و پیاز اشاره شده است (۲۳). البته نیتروژن همیشه به عنوان عامل باز دارنده کلونیزاسیون میکوریزایی مطرح نیست. کود های حاوی نیتروژن می توانند دارای اثرات مثبت بر قارچهای میکوریزا باشند مشروط به اینکه میزان حاصلخیزی اولیه خاک پایین باشد (۲۳). سیلویا و همکاران (۲۵) اظهار داشتند که بوته ها ذرت کلونیزه شده با قارچهای میکوریزای آرباسکولار از نظر غلظت فسفر و نیتروژن نسبت به بوته‌های شاهد برتری داشتند (۲۵).

در یک بررسی دیگر غلظت نیتروژن در بوته‌های میکوریزی کمتر از شاهد بود. محققین در این بررسی نتیجه‌گیری کردند که در این بوته‌ها نیتروژن به‌صورت لوکس جذب شده و با تحریک رشد توسط میکوریزا رقیق شده است (۱۶).

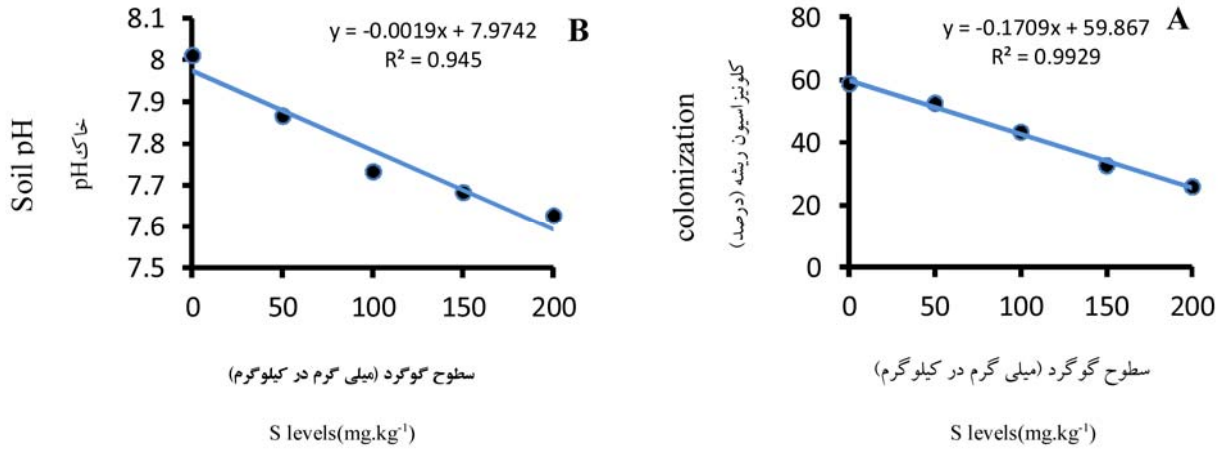


شکل ۳- تأثیر تلقیح قارچ میکوریز بر گوگرد (A)، فسفر (B)، روی (C) و آهن (D) اندام هوایی ذرت

Figure 3- Effects of mycorrhizal inoculation on S (A), P (B), Zn(C) and Fe (D) of maize shoot

آهن: نتایج نشان داد که عوامل مورد بررسی و اثر متقابل گوگرد و تیوباسیلوس تأثیر معنی‌داری بر غلظت آهن اندام هوایی داشتند (جدول۲). به‌طوری‌که با کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم گوگرد بیشترین غلظت آهن به‌دست آمد (شکل B -۲). با افزایش کاربرد گوگرد تا ۱۰۰ میلی گرم غلظت آهن افزایش و پس از آن با کاربرد ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم گوگرد کاهش یافت. تلقیح گونه‌های میکوریز گلوموس اینترارادیس و موسه به‌ترتیب ۶/۶۸ و ۵/۷۸ درصد غلظت آهن اندام هوایی را نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل D-۳). برش دهی اثر متقابل گوگرد و تیوباسیلوس بر غلظت آهن نشان داد که کاربرد تیوباسیلوس تنها در ۱۰۰ میلی‌گرم گوگرد سبب افزایش معنی‌دار آهن می‌شود (جدول ۳). تحقیقات نشان می‌دهد که گوگرد در افزایش جذب آهن توسط ذرت، سورگوم و سویا موثر است (۱۵). هم‌چنین تأثیر مقادیر مختلف گوگرد بر سویا در خاک‌های آهکی نشان داد که بالاترین مقدار جذب آهن مربوط به تیمار ۵۰۰ کیلوگرم گوگرد همراه با تیوباسیلوس بود (۱۱). کوتاری و همکاران (۱۸) با بررسی تاثیر میکوریزا بر جذب عناصر غذایی در گیاه ذرت بیان کردند که غلظت آهن در اندام‌های هوایی بوته‌های میکوریزی بالاتر از شاهد بود. آن‌ها اظهار داشتند که یکی از اثرات سورمند قارچهای میکوریزا افزایش جذب عناصر غذایی خصوصا عناصر غیر متحرک و یا دارای تحرک کم در خاک است(18).

روی: نتایج نشان داد که عوامل مورد بررسی و اثرات متقابل گوگرد با تیوباسیلوس و گوگرد با میکوریز تأثیر معنی‌داری بر غلظت روی در اندام هوایی (جدول ۲). همان‌گونه که در شکل دیده می شود غلظت روی با کاربرد مقادیر بیشتر از ۵۰ میلی‌گرم گوگردکاهش پیدا کرد (شکل C-۲). تلقیح میکوریز غلظت روی را در اندام هوایی ذرت بطور معنی‌داری افزایش داد. به‌طوری‌که گلوموس اینترارادیس و موسه بترتیب ۴/۶۷ و ۳/۵۵ درصد غلظت روی را نسبت به شاهد افزایش دادند (شکل C-۳). نتایج حاصل از برش دهی اثر متقابل گوگرد و تیوباسیلوس بر غلظت روی نشان داد که فقط کاربرد تیوباسیلوس در سطح ۲۰۰ میلی‌گرم گوگرد سبب شد تا غلظت روی در اندام هوایی به‌طور معنی‌داری کاهش یابد (جدول ۳). هم‌چنین برش دهی اثر متقابل گوگرد و میکوریز نشان داد که قارچ میکوریز تنها در شرایط عدم کاربرد گوگرد و یا ۵۰ میلی‌گرم تأثیر معنی‌داری بر افزایش غلظت روی داشت (جدول ۳). بررسی اثر متقابل سطوح میکوریزا در گوگرد نشان داد که بیشترین غلظت روی از کاربرد گونه گلوموس اینترا و گونه گلوموس موسی بترتیب در سطح صفر و سطوح صفر و پنجاه کیلوگرم گوگرد بدست آمد (جدول۵). مطالعه بر روی سورگوم و لوبیا چشم بلبلی نشان داد که قارچ میکوریز سبب افزایش جذب روی می گردد (۳). کوتاری و همکاران (۱۸) بیان کردند که غلظت روی در اندام‌های هوایی بوته‌های میکوریزی ذرت به‌طور معنی‌داری بالاتر از بو ته‌های شاهد بود (۱۸). در یک ازمایش (۲۲) میزان مشارکت هیف قارچ گونه *G.mosseae* در ذرت برای جذب روی ۱۶ تا ۲۵ درصد و برای جذب فسفر ۱۳ تا ۲۰ درصد تخمین زده شده است. افزایش جذب نیتروژن، گوگرد، کلسیم، منیزیم، پتاسیم، روی و مس در ذرت کاشته شده در خاک‌های اسیدی و کلونی شده با گونه‌های *G. diaphanum, G. etunicatum , G.intraradices* گزارش شده است (۹). راوات و همکاران (۲۲) اظهار داشتند که نیاز به عنصر روی در گیاهان به گونه گیاه زراعی، درجه وابستگی به میکوریزا، تعداد گونه های قارچ میکوریزا و وضعیت روی و فسفر در خاک بستگی دارد. نتایج بررسی این محققین نشان داد که فسفر بر جذب و غلظت روی اثر انتاگونیستی دارد (۲۲).



شکل ٤- تأثیر سطوح مختلف گوگرد بر درصد کلونیزاسیون (A) و pH خاک (B)

Figure 4- Effects of Slevels on % colonization (A) and soil pH (B)

کلروفیل: نتایج حاصل بیانگر آن است که مصرف گوگرد و تیوباسیلوس تأثیر معنی‌داری بر کلروفیل برگ ذرت داشت (جدول ۲). گوگرد در تشکیل اسیدهای آمینه گوگردی، سنتز پروتئین، ویتامین، کلروفیل و روغن موثر است (۱۳). عدم سنتز آنزیم روبیسکو و کلروز شدن برگ‌های جوان بدلیل محدودیت گوگرد سبب کاهش مقدار کلروفیل برگ‌ها می‌گردد (۵). کاربرد تیوباسیلوس باعث افزایش ۷/۱۲ درصد کلروفیل برگ‌نسبت به شاهد شد. تیوباسیلوس با استفاده از گوگرد و تبدیل آن به سولفات موجب افزایش دسترسی به گوگرد و دیگر عناصر غذایی وابسته به pH مانند فسفر و آهن می‌شود. این عناصر در تشکیل کلروفیل سهیم هستند. گفته شده است که کود گوگردی حاوی تیوباسیلوس از از طریق اکسایش گوگرد توسط این باکتری به جذب گوگرد و سایر عناصر غذایی مانند فسفر، آهن و روی کمک کرده و باعث افزایش عملکرد گیاه می‌شود (۱۷).

وزن خشک اندام هوایی: نتایج نشان داد که کاربرد گوگرد و تیوباسیلوس و هم‌چنین اثر متقابل این دو عامل تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی داشت (جدول ۲). در یک تحقیق درنتیجه کاربرد ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگرم در هکتار گوگرد عملکرد بیولوژیک به مقدار ۱۴/۶ و ۲۳ درصد نسبت به شاهد افزایش یافت (۱). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که کاربرد همزمان گوگرد و تیوباسیلوس تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی داشت (جدول ۲). برش دهی اثر متقابل گوگرد و تیوباسیلوس در جدول ۳ نشان داده شده است. کاربرد باکتری تیوباسیلوس تنها در شرایط عدم کاربرد گوگرد و کاربرد ۱۰۰ میلی‌گرم گوگرد تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک اندام هوایی داشت.

جدول ۵- جدول مقایسه میانگین تأثیر قارچ میکوریزا و گوگرد بر تغذیه ذرت

Table5- Mean comparison of the effects of mycorrhiza and S on maize nutrition

تیمار Treatment	گوگرد S	کلونیزاسیون Colonization	روی Zn	نیتروژن N	فسفر P
میکوریز Mycorrhiza					
	0	13.16f	23 ef	0.633cde	0.196de
شاهد	50	8.33g	23.6def	0.631ef	0.215c
control	150	4 h	23.5def	0.660a	0.235ab
	200	3.33h	24.05bcde	0.660a	0.225bc
	0	82a	25.41a	0.623ef	0.235ab
	50	74.66b	25.13ab	0.653ab	0.228b
اینترادیس	100	62.66c	24.66abc	0.465abc	0.225bc
Intra.	150	47.50d	24.83abc	.641bcd	0.235ab
	200	37e	23.91cde	0.616f	0.236ab
	0	81.5a	25.50a	0.630def	0.231ab
موسه	50	74.83b	25.26a	0.651ab	0.225bc
mosseae	100	62.33c	24.61abcd	0.648abc	0.226bc
	150	47d	24.56abcd	0.631def	0.233ab
	200	37.83e	22.55f	0.616f	0.236ab
LSD		3.695	1.201	0.016	0.011

* وجود حرف مشترک نشان دهنده عدم اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد است.

*The same letter means there are no significant different between result.

کلونیزاسیون ریشه: نتایج بیانگر آن است که اثرات اصلی گوگرد، تیوباسیلوس، میکوریز و اثرات متقابل گوگرد و تیوباسیلوس، گوگرد و میکوریز بر درصد کلونیزاسیون ریشه معنی‌داری بود (جدول ۲). با افزایش کاربرد گوگرد درصد کلونیزاسیون ریشه به‌طور خطی کاهش یافت. به طوری که بیشترین درصد کلونیزاسیون مربوط به شاهد و کمترین درصد کلونیزاسیون با کاربرد ۲۰۰ میلی گرم گوگرد در کیلوگرم خاک حاصل شد (شکل A-۴). کاربرد ۲۵۰ و ۵۰۰ کیلوگرم گوگرد درصد کلونیزاسیون ریشه را به طور معنی‌دار کاهش داد (۱). این کاهش می‌تواند ناشی از اکسایش گوگرد، تولید اسید سولفوریک و اثرات سوء آن بر فعالیت قارچ میکوریز باشد. کاربرد باکتری تیوباسیلوس ۴/۲۷ درصد کلونیزاسیون ریشه را نسبت به شاهد کاهش داد که این کاهش می‌تواند ناشی از روابط آنتاگونیستی بین

باکتری تیوباسیلوس و قارچ میکوریز باشد. نتایج حاصل از برش‌دهی اثر متقابل گوگرد و تیوباسیلوس نشان داد در شرایط عدم مصرف گوگرد و نیز کاربرد ۵۰ میلی گرم گوگرد در کیلوگرم خاک کاربرد تیوباسیلوس تأثیر معنی‌دار و منفی بر کلونیزاسیون داشته است و کاهش کلونیزاسیون ناشی از تأثیر منفی گوگرد می‌باشد. برش دهی اثر متقابل گوگرد و میکوریز نشان داد که تأثیر میکوریز بر کلونیزاسیون میکوریزی تنها در شرایط عدم کاربرد گوگرد معنی‌دار بود (جدول ۴). اثر متقابل سطوح قارچ میکوریز و گوگرد نشان داد که بیشترین درصد کلونیزاسیون از کاربرد هر دو گونه قارچ میکوریز و عدم مصرف گوگرد بدست امد (جدول۵).

pH خاک: در این بررسی تأثیر گوگرد، تیوباسیلوس و اثر متقابل آن‌ها بر pH خاک معنی‌دار شد (جدول ۲). شکل D-۴ نشان می‌دهد که با افزایش کاربرد گوگرد pH به‌صورت خطی کاهش یافت. بیشترین pH مربوط به تیمار شاهد و کمترین pH با کاربرد۲۰۰ گوگرد حاصل شد. کاربرد تیوباسیلوس موجب کاهش معنی‌دار pH نسبت به شاهد شد. برش دهی اثر متقابل گوگرد و تیوباسیلوس بر pH خاک نشان داد که کاربرد تیوباسیلوس در شرایط عدم مصرف گوگرد و همچنین در شرایط مصرف ۵۰ میلی‌گرم گوگرد تأثیر معنی‌داری بر کاهش pH خاک دارد (جدول ۳). آتو و اولسون (۲) اظهار کردند که میزان اکسیداسیون گوگرد و کاهش pH در خاک های تلقیح شده با تیوباسیلوس نسبت به خاک‌های تلقیح نشده ۱ تا ۱۱ برابر بیشتر است.

نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش نشان داد که کاربرد گوگرد سبب شد تا مقادیر نیتروژن، فسفر، گوگرد، آهن روی، همچنین بیوماس اندام هوایی و کلروفیل در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری افزایش یابد. اثرات مثبت گوگرد بر این صفات از راه بهبود تغذیه گوگردی گیاه و کاهش pH خاک صورت گرفته است. کاربرد تیوباسیلوس سبب افزایش فسفر، آهن، روی و کاهش کلونیزاسیون ریشه و pH خاک شد. باکتری تیوباسیلوس با اکسایش گوگرد، pH خاک را کاهش داده و سبب بهبود شرایط تغذیه‌ای گیاه و افزایش رشد ذرت گردید. اثرات اصلی و و متقابل گوگرد و تیوباسیلوس بر درصد کلونیزاسیون ریشه منفی بود. هم‌چنین با تلقیح قارچ میکوریز مقادیر نیتروژن، فسفر، گوگرد، آهن، روی و کلونیزاسیون ریشه نسبت به شاهد افزایش یافت. بر اساس این نتایج به نظر می‌رسد کاربرد گوگرد، تیوباسیلوس و میکوریز در خاک‌های قلیایی می‌تواند تغذیه و رشد ذرت را بهبود بخشد.

منابع

1-Ansori A., Gholami A., Abbas dokht H., Gholipoor M. and Baradaran M. 2012. Evaluation of mycorrhizal symbiosis, thiobacillus bacteria and sulfur levels on growth and yield of maize. Msc. Thesis. Shahrood university, pp104. (in Persian) .

2-Attoe O.J. and Olson R.A. 1966. Factors affecting the rate of oxidation of elemental sulfur and that added in rock-phosphate-sulfur fusion. Soil Science, 101:317-324.

3-Bagayoko M., George E., Romheld V. and Buerkert A. 2000. Effects of mycorrhizae and phosphorus on growth and nutrient uptake of millet, cowpea and sorghum on a West African soil. Journal of Agricultural Science, 135: 399-407.

4-Brundrett M., Bougher N., Dell B., Grove T. and Malajczuk, N. (eds). 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture .Australian Centre for International Agricultural Research

5-Burke J.J., Holloway P. and Dalling M.J. 1986. The effect of sulphur deficiency on he organization and photosynthetic capability of wheat leaves. Journal of Plant Physiology, 125:371-375.

9-Clark R. B. 1997. Arbuscular mycorrhizal adaptation , spore germination , root colonization and host plant growth and mineral acquisition at low pH . plant and soil, 192: 15-22

10-Deluca T.H., Skogley E.O. and Engle R.E. 1989. Band–applied elemental sulfur to enhance the phyto-availability of phosphorus in alkaline calcareous soil. Biology and ertility of Soils, 7:346-350.

11-Gorbani Nasrabadi, R., Saleh Rastin N. and Alikhani H. 2003. Effects of bio-sulfur on some nutrient absorption in sybean- rhizobium symbiosis system. 8th congress of Iranian soil sci. Rasht. (in Persian).

12-Hanson W. C. 1950. The photometric determination of phosphorus in fertilizers using the phosphovanado-molybdate complex. J. of the Science of Food and Agriculture. 1(6): 172–173.

13-Janzen H. and Bettani, H. 1987. The effect of temperature and water potential on sulfur oxidation in soils. Soil Science, 144:81–89.

14-Kacar B. and Katkat A.V. 2007. Plant Nutrition. Nobel Press; Ankara, Turkey. P365.

15-Kalbasi M., Filoof F. and Rezaiane Y.J. 1988. Effect of sulfur treatment on yield and uptake of Fe, Zn, and Mn by

corn, sorghum and soybean. Journal of Plant Nutrition, 11: 1353 – 1360.
16-Khalil S., Loynachan T.E. and Tabatabai M.A.1994. mycorrhizal dependency and nutrient uptake by improved and unimproved corn and soybean cultivars. Agronomy Journal, 86:949-958.
17-Khavazi K., Nourgholipour F. and 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. 231-234.
18-Kothari S.K., Marschner H. and Romheld V.. 1990. Direct and indirect effects of VA mycorrhiza fungi and rhizosphere microorganisms on acquisition of mineral nutrients by maize in a calcareous soil. New Phytology, 116: 637-645
19-Liu A., Hamel C., Hamilton R.I. and Smith D.L. 2000. Mycorrhizae formation and nutrient uptake of new corn (*Zea mays* L.) hybrids with extreme canopy and leaf architecture as influenced by soil N and P levels. Plant and Soil, 221:157-166.
20-Morvedt J.J., Giordano P.M. and Lindsay W.L. 1991.Micronutrient in agriculture. Soil Sci Soc. Am. Inc. Madison, Wisconsin. USA.p666.
21-Nasreen S., Haque M.M., Hossain M.A. and Frid, A.T.M. 2007. Nutrient uptake and yield of onion as influenced by nitrogen and sulphur fertilization. Bangladesh Agricultural Research, 32(3):413-420.
22-Rawat A. K., Khare A. K. and Thompson J.P. 1996. Effect of vesicular arbuscular ycorrhiza on phosphorus and zinc nutrition of maize grown in vertisols of Madhya radesh. Indian Journal of Agricultural Science, 66(1): 33-37.
23-Safir G .R. (editor): 1987. Echophysiology of va mycorrhizal plants. Chapter 9: 172- 192
24-Soltani A. 2007. Application of SAS software. Jihad daneshgahi mashhad. Pp182. . (in Persian)
25-Sylvia D. M., Hammond L.C., Bennet J.M., Hass J.H. and Linda S.B. 1993. Field esponse of maize to a VAM fungus and water management. Agron Journal, 85:193– 198.
26-Singh D. and Singh, V. 1995. Effect of potassium, zinc and sulphur on growth characters, yield attributes and yield of soybean. Indian Journal of Agronomy, 40(2):7-223.228.
27-Singh Y.P. 2004. Role of sulphur and phosphorus in black gram production. Fertility News, 49(2): 6-33.
28-Smith S.E. and Read D.J. 1997. Mycorrhizal Symbiosis (2nd ed). Academic Press: London, UK. p605.
29-Subramanian H. and Charest S. 1999. Acquistion if N by external hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungi and its impact on physiological responses in maize under drought stress and well watered conditions. Mycology, 9:69 –75.
30-Vinay S., Mehta V.S. and Singh V. 1995. Effect of sulfur sources and levels on yield and uptake of nutrients by garlic. Fertility News, 40(8):47- 49.
31-Wainwright M. 1984. Sulfur oxidation in soils. Advances in Agronomy, 37:349-396.
32-Zhi-Hui Y., Stoven K., Haneklaus S., Singh B.R. and Schnug, E. 2010. Elemental Sulfur Oxidation by *Thiobacillus* spp. And Aerobic Heterotrophic Sulfur-Oxidizing Bacteria. Pedosphere, 20(1):71-79.

Journal of Water and Soil
Vol. 29, No. 3, Jul.-Agu. 2015, p. 718-729

نشریه آب و خاک (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۹، شماره ۳، مرداد – شهریور ۱۳۹۴، ص. ۷۲۹-۷۱۸

Co-Inoculation Effects of *Thiobacillus thiooxidans* Bacteria and Mycorrhiza (*Glomus spp*.) on Maize Nutrition at Different Levels of Sulfur

A. Gholami[1]*- A. Ansouri[2]- H. Abbas dokht[3]- A. R. Fallah[4]

Received: 07-06-2014
Accepted: 13-04-2015

Introduction: Sulfur is the key element for higher crops and plays an important role in the formation of proteins, vitamins, and enzymes. It is a constituent of amino acids such as cysteine and methionine, which act for the synthesis of other compounds containing reduced sulfur, such as chlorophyll and utilization of phosphorus and otheressential nutrients.Deficiency of this nutrient in soil is usually compensated by using chemical fertilizers. However, these fertilizers have harmful effects on the environment and decrease the quality of the agriculture products. Therefore, biological fertilizers are more useful for using in agricultural ecosystems.Sulfurshould be addedto the soil, usually in a reduced form such as elemental sulfur. Use of S oxidizers enhances the rate of natural oxidation of S and speeds up the production of sulfates and makes them available to plants consequently resulting in an increased plant yield. The role of chemolithotrophic bacteria of the genus *Thiobacillus* through oxidation process in the soil is usually emphasized. Sulfur oxidation is the most important step of sulfur cycle, which improves soil fertility. The result is formation of sulfate, which can be used by the plants, while the acidity produced by oxidation helps to solubilize nutrients in alkaline soils. These bacteria can solubilise the soil minerals through the production of H_2SO_4 that reacts with these non-soluble minerals and oxidised them to be available nutrients to the cultivated plants. Arbuscular MycorrhizalFungi isan important component ofthe microbiota, mutualistic symbioticsoilfungithatcolonizesthe rootsofmost cropplants.The AM symbiosis involves an about 80% of land plant species and 92% of plant families. They have theability to enhance host uptake of relativelyimmobile nutrientsparticularly phosphorus (P) andzinc (Zn),Manganese (Mn) andiron(Fe).Arbuscular mycorrhizal fungi increased plant uptake of phosphorus, nitrogen and water absorption. Inoculation withthesefungihas increased the yield of numerous field-grown crops.

This study was aimed to evaluate the effects of *thiobacillus* bacteria and sulfur application on soil pH, and also their interactions with mycorrhizal fungi in order to improve nutrients uptake and grain yield of maize under alkaline soil condition.

Materials and Methods: Treatments arranged as factorial experiment were based on RCBD with three replications. Treatments consisted of mycorrhizal inoculation: inoculated (m_1) and non-inoculated (m_0), *thiobacillus* in two levels of inoculated (t_1) and non-inoculated (t_0) and three levels of sulfur (S_0: 0 $kg.ha^{-1}$, S_1: 250 $kg.ha^{-1}$ and S_2: 500 $kg.ha^{-1}$). Four-row plots were prepared with row width and intra-row space of 60 and 20 cm, respectively. Seeds of maize (*Zea Mays*, Sc:647) were surface sterilized in a 10% (v/v) solution of hydrogen peroxide for 10 min, were rinsed with sterile distilled water. Before sowing, 300 kg of urea per hectare were applied according to the results of soil analysis. In order to facilitate oxidation of sulfur to sulfate form**,** , S was applied and thoroughly mixed into top 30 cm of soil 30 days before sowing. One week before sowing, *thiobacillus* (*Thiobacillus thiooxidans*) was inoculated. Inoculum of AM fungus *Glomus intraradices*, were added to soil just before planting at about 2 centimeters below seed sowing dept. To measure Arbuscular Mycorrhizal colonization, root plants collected one week before harvesting, cleared in 10% KOH at 80˚C for 2 h, and then acidified in 1% HCL for 60 min. Then the cleared roots were stained in a solution of Trypan blue. For nutrient analysis, the following procedure was applied. Zn, Fe, S, and P were determined by Inductively Coupled Plasma-atomic emission spectrometry apparatus. For this purpose, ash of seed samples was prepared at 500-550 degree of Celsius and then 5 ml of HCl 37% was added and with dionized water to reach to 50 ml. Kjeldahl method was used to determine nitrogen. Analysis of variance was performed on all experimental data and means were compared using the least Significant Differences (LSD) test with SAS software. The significance level was $p>0.05$ unless stated otherwise.

Results and Discussion: Results showed sulfur application increased significantly the amount of S, P, N, Fe, Zn, shoot dry weight and leaf chlorophyll of maize. With increasing Sulfur, sulfur concentration in plant shoot

1,2, 3- Associate Professor, MSc Graduated and Associate Professor, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Shahrood University
(* - Corresponding Author Email: ahgholami@ yahoo.com)
4- Assistant Professor of Soil and Water Institute

increased with linear trend. The highest S concentration was obtained with 200 mg.kg-1 S and the lowest amount was obtained from control plots. Applications of 50, 100, 150 and 200 mg.kg-1 S increased P content about 0.45, 3.91, 4.74 and 5.56 %, respectively. The highest N contentwas obtained with 100 mg.kg-1 S. The *thiobacillus* significantly increased P, Fe, Zn anddecreased root colonization and soil pH compared to control. Thiobacillus bacteria increased shoot P only with application of 100 mg.kg-1 S. Mycorrhizal inoculation increased the amount of N, P, S, Fe, Zn, shoot dry weight and root colonization. Inoculation with G.intra and G.mosseae increased shoot P content about 4.18 and 3.34% in comparison with the control plots. Single or combination of sulfur and *thiobacillus* had a negative impact on the root colonization. Based on the results it seems that sulfur, *thiobacillus* and mycorrhiza in alkaline soils improved crops nutrition and growth. S application and thiobacillus interaction on S concentration of maize shoot were significant. In condition of 0 or 50 mg.kg-1 S application, inoculation of thiobacillus is recommended. Also, the effects of mycorrhiza on P shoot was significant with no application of S.

Keywords: Mycorrhiza, Nutrient uptake, Root colonization, Sulfur, *Thiobacillus*