Archive of SID

یازدهمین همایش پژوهش های نوین در علوم و فناوری
پاییز ۱۳۹۶
Fall 2017
11th Conference on Recent Research in Science and Technology

تاثیر کربنات کلسیم و کود سوپر فسفات تریپل بر محتویات آلیزارین ریشه گیاهان روناس

– محمد مقدمی راد[۱]، رمضانعلی خاوری نژاد[۲]*، سارا سعادتمند[۳]، فرزانه نجفی[۴]

۱ - دانشجوی دکتری فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران.
mmrad1343@gmail.com

۲–*استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، ایران.*

ra.khavarinejad@gmail.com

۳– *دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران، ایران.*

s_ saadatmand@yahoo.com

۴– *دانشیار گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی تهران، ایران.*

f_najafi@yahoo.com

چکیده

در پژوهش حاضر، گیاهان روناس در شرایط برون آزمایشگاهی با دو عامل کود سوپر فسفات تریپل و کربنات کلسیم کاشته شدند. در پایان دوره رشد، طول ریشه ، قطر ریشه ، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، وزن تر گیاه، خشک کل گیاه، پراکسید هیدروژن، پروتئین کل و درصد محتویات رنگی اندازه گیری شدند. گیاهان روناس در ۲۰ تیمار در قالب طرح پژوهشی با دو عامل و چهار تکرار مورد آزمایش قرار گرفتند. عامل کربنات کلسیم در ۵ سطح ۰، ۲، ۵، ۱۰ و۱۵ میلی مولار و فسفات از منبع کود سوپر فسفات تریپل در چهار سطح ۰، ۵، ۱۰ و۱۵ گرم بر متر مربع تامین شد. نتایج حاصله نشان داد که با افزایش مقدار کربنات کلسیم تا سطح ۲ میلی مولار و سوپر فسفات تریپل تا سطح ۱۰ گرم در مترمربع، بیشترین میزان طول ریشه ، قطر ریشه ، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، وزن تر کل و وزن خشک کل مشاهده شد. بیشترین درصد محتویات رنگی (آلیزارین)، پروتئین کل(میکرو گرم بر گرم وزن تر) و پر اکسید هیدروژن(میکرو مول بر گرم وزن تر) به طور معنی داری در تیمار توام ۲ میلی مولار کربنات کلسیم و ۵ گرم در متر مربع کود سوپر فسفات تریپل، نسبت به شاهد، مشاهده شد. بیشترین درصد محتویات رنگی (آلیزارین)، پروتئین کل و پراکسید هیدروژن به طور معنی داری در تیمارهای مختلف سوپر فسفات تریپل با افزایش سطح آن ، نسبت به شاهد، افزایش نشان دادند. با توجه به نتایج بدست آمده می توان پیشنهاد کرد، در منطقه مورد آزمایش، غلظت های پایین کربنات کلسیم توام با

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت های تا حد متوسط کود سوپر فسفات تریپل می تواند گزینه ای مناسب برای افزایش مواد رنگی (آلیزارین) موجود در ریشه روناس باشد.

علائم اختصاری:

RL: root length, RD: root diameter, RFM: root fresh matter, RDM: root dry matter, TFM: total fresh matter, TDM: total dry matter, tsp: triple super phosphate, and TDC: total dye content.

واژه های کلیدی:

آلیزارین، پارامترهای فیزیولوژیکی، سوپر فسفات تریپل، کربنات کلسیم و روناس(*Rubia tinctorum* L.).

مقدمه

روناس با نام علمی *Rubia tincrorium* L. و نام انگلیسی Madder از تیره گیاهی روبیاسه از گیاهان چند ساله بوده که از ریشه آن یکی از بادوام ترین رنگ های قرمز طبیعی به نام آلیزارین بدست می آید و به همین دلیل جزو یکی از گیاهان رنگ دار صنعتی و دارویی محسوب می گردد. خانواده روبیاسه(Rubiaceae) در همه جا وجود دارند، ولی بیشتر در مناطق گرمسیری متمرکز شده اند. از نظر تنوع گونه ها در رتبه چهارم نهاندانگان قرار دارند(Mabberley, 1997). مطالعات Pereira و Meieles در سال ۲۰۱۰ نشان داد که خانواده روبیاسه تقریبا" دارای ۶۳۷ جنس و ۱۳۰۰۰ گونه است. Daiana و Cicilia در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند که ایریدوئیدها، آلکالوئیدها و آنتراکینون ها نقطه مشترک ارتباط کموتاکسونومی همه تیره ها و زیر خانواده های روبیاسه هستند. از ویژگی های خانواده روبیاسه تولید متابولیت های بیو اکتیو با توان بالای فارماکولوژیکی است. تنوع متابولیت ها و افزایش کمیت و کیفیت آن ها، با بهره گیری از ایده های نو با استفاده از حاصلخیز کننده ها، امروزه مورد توجه محققان است. مطالعات انجام شده توسط Khalil و همکاران در سال ۲۰۰۶ وSmith و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان داد که از مواد رنگی ریشه روناس در صنایع داروسازی، نساجی، رنگرزی الیاف پشمی و ابریشمی، رنگ آمیزی بافت های کلسیفیه استفاده می شود. این گیاه در ایران بیشتر در مناطق خشک و نیمه خشک مانند یزد و اردکان کشت می شود.

بررسی های Ayala وPrakasa Rao در سال ۲۰۰۲ نشان داد که یکی از نیازهای مهم در برنامه ریزی های زراعی به منظور حصول عملکرد بالا و کیفیت مطلوب، ارزیابی سیستم های تغذیه گیاهان است. Dufault و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که مواد مؤثره گیاهان رنگی و دارویی ممکن است به طور مثبت یا منفی به کودها پاسخ بدهند، که این موضوع مستلزم انجام مطالعات تغذیه ای می باشد. تغذیه مناسب گیاهان در مقاومت آن ها به انواع تنش های زنده و غیر زنده نقش موثری دارد. کلسیم به عنوان یک پیامبر ثانویه، در واکنش به تغییراتی را در نفوذپذیری غشا هدایت می کند و با انتشار پروتون به داخل سلول باعث می شود که مقدار H_2O_2 افزایش یابد (Pei et al., 2000). ارتباط بین پراکسید هیدروژن و سیگنال های Ca^{2+} بوسیله مطالعات روی گیاه آرابیدوپسیس تائید شده است (Yang and Poovaiah. 2002). پراکسید هیدروژن تولید شده در سلول های گیاهی دارای نقش دوگانه است. در غلظت های پایین، به عنوان یک پیامبر ثانویه، آغاز کننده و تنظیم کننده پاسخ های گیاهان به سیگنال های محیطی است (Laloi *et al.* 2004; Fukao and Bailey-Serres 2004; Mittler *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID

(2004). در غلظت های بالا، منجر به مرگ سلولی می شود(Dat *et al.* 2000). در سال های اخیر، نقش H_2O_2 در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی از قبیل پیری (Peng *et al.*, 2005)، تنفس نوری و فتوسنتز (Noctor and Foyer,1998), باز و بسته شدن روزنه ها (Bright *et al.*, 2006) ، چرخه سلولی (Mittler *et al.*, 2004)، و رشد و نمو (Foreman *et al.*, 2003) به عنوان یک کلید تنظیم کننده نشان داده شده است.

مطالعات Perez-Amador و همکاران در سال ۲۰۰۰ و Ohe و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان داد که در مناطق نیمه خشک، تنش خشکی علت اصلی کاهش ریشه گیاهان و عملکرد آن ها محسوب می شود. موجب تحریک گیاه به یکسری پاسخ های دفاعی در سطوح مختلف ملکولی، سلولی و فیزیولوژیکی می شود. همچنین آن ها نشان دادند که در این مناطق میزان پروتئین محلول کل کاهش می یابد. با توجه به این که غالب مناطق کشور ایران جزو اقلیم خشک و نیمه خشک قرار دارد، تولید گیاهان مقاوم به خشکی با عملکرد مناسب با استفاده از روش های جدید زیست فناوری امری ضروری به نظر می رسد.

مطالعات Cifuentes وLinderman در سال ۱۹۹۳ نشان داد که در خاک های مناطق خشک و نیمه خشک به علت pH بالا و غلظت زیاد یون کلسیم، عناصر غذایی مانند فسفر که قابلیت جذب آن ها وابسته به pH است، به صورت نامحلول درآمده و از دسترس گیاه خارج می شوند. نتایج تحقیقات Ferguson در سال ۲۰۰۶ حاکی از آن است که در خاک های آهکی، فسفر اغلب به دلیلpH بالا و واکنش با کلسیم در دسترس نیست. تثبیت فسفر در خاک های آهکی با کلسیم و در خاک های اسیدی با آهن و آلومینیم امکان پذیر است. به دلیل ظرفیت بالای برخی خاک ها برای تثبیت فسفر، تحرک آن در خاک در مقایسه با سایر عناصر بسیار کم است. تحقیقات Padmavathi و Lakshmamma در سال ۲۰۰۳ نشان داد که از طریق افزایش مصرف کودهای شیمیایی فسفره دسترسی و جذب فسفات در محیط ریزوسفر ریشه افزایش می یابد و باعث ارتقائ کارایی فیزیولوژیکی فسفر در گیاه می شود. Kovar وBarber در سال ۱۹۹۸ نشان دادند که در خاک های آهکی رسوب فسفر به صورت فسفات کلسیم، عامل اصلی کاهش قابلیت جذب فسفر در خاک به شمار می رود. بنابراین، گیاه همواره با کمبود فسفر مواجه می گردد. بررسی های Tisdalelو Nelson در سال۱۹۷۴ نشان داد که به دلیل ماهیت خاص خاک های آهکی امکان مصرف مستقیم فسفات به تنهایی وجود ندارد. برای جبران این کمبود از کودهای شیمیایی فسفاته استفاده می شود. به منظور حصول عملکرد بالا و کیفیت مطلوب تر مواد رنگی ریشه گیاه روناس این پژوهش طراحی واجرا گردید.

مواد و روش ها:

این پژوهش به صورت کشت در شرایط برون آزمایشگاهی در مزرعه تحقیقاتی در اردکان یزد انجام شد. خاک دست نخورده مورد استفاده از سطح زمین تا عمق ۸۰ سانتیمتری در منطقه مورد مطالعه جمع آوری گردید. پس از خشک کردن خاک در هوا و گذراندن آن از الک ۱۰میلی متری، برخی ویژگی های شیمیائی و فیزیکی آن از جمله بافت خاک، pH و مقدار کاتیون های Mg^{2+}، Ca^{2+}، Na^{+} وK^{+} و آنیون های Cl^{-} و HCO_3^{-} بر حسب میلی اکی والان بر لیترتعیین گردید، نتایج آن در زیر ارائه شده است.

جدول ۱- برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده برای کشت گیاهان روناس.

Soil parameter	**Value**

www.SID.ir

Archive of SID

pH	7.3
HCO_3^-(meq L^{-1})	1.2
Cl^-(meq L^{-1})	198.75
Mg^{2+}(meqL^{-1})	11.625
Ca^{2+}(meq L^{-1})	27.6
K^+(meq L^{-1})	0.065
Na^+(meq L^{-1})	23.775
Clay(%)	39
Sand(%)	21
Silt(%)	40

تیمارهای مورد استفاده در برگیرنده کربنات کلسیم در ۵ سطح (۰، ۲، ۵ ،۱۰ و۱۵ میلی مولار) و سوپر فسفات تریپل در ۴ سطح (۰، ۵، ۱۰ و۱۵ گرم بر مترمربع خاک) تهیه شدند. قلمه ها در عمق۳۰ سانتیمتری خاک کاشته شدند. در هر کرت چهار ردیف قلمه کاشته شد که دو ردیف کناری و دو گیاه از طرفین خطوط باقی مانده به عنوان اثر حاشیه ای حذف و بقیه گیاهان به عنوان جامعه آماری در نظر گرفته شدند. آزمایش به صورت فاکتوریل با دو عامل و چهار تکرار در قالب طرح پایه بلوک های کاملا تصادفی اجرا شد. هدایت الکتریکی آب آبیاری در طول دوره رشد اندازه گیری و میانگین آن ۱۱/۶ $ds\ m^{-1}$تعیین شد. در دو زمان ۲۵ و ۵۵ روز بعد از جوانه زنی سنجش ها طبق طراحی آزمایش انجام شدند.

آنالیز رشد

گیاهان در دو نوبت ۲۵ و ۵۵ روزه جهت آنالیز رشد برداشت شدند. وزن تر ریشه (RFM)، وزن تر کل گیاه (TFM)، طول ریشه (RL) و قطر ریشه (RD) بلافاصله پس از برداشت اندازه گیری شد و برای بدست آوردن وزن خشک کل گیاه (TDM) و وزن خشک ریشه(RDM) گیاهان را در آون به مدت ۲۴ ساعت، در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد قرار داده و بعد از خارج شدن نمونه ها از آون، نمونه ها به دسیکاتور منتقل و سپس توزین انجام شد.

سنجش پراکسید هیدروژن

با استفاده از روش Velikova و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. ۰/۵گرم بافت تازه ریشه در ۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۱/. درصد در حمام یخ سائیده شد و به مدت ۱۵ دقیقه با نیروی g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. ۰/۵ میلی لیتر محلول روشناور با ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ mM (اسیدیته معادل ۷) و ۱ میلی لیتر یدید پتاسیم ۱ M مخلوط گردید. جذب نمونه در طول موج ۳۹۰ nm خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد مقدار پراکسید هیدروژن بر حسب میکرو مول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجش پروتئین کل

اندام هوایی و ریشه تازه گیاه پس از توزین، با دو میلی لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (۶/۸ pH) به صورت هموژن درآمد. سپس سا نتریفیوژ نمونه ها در سرعت ۱۵۰۰۰g به مدت ۱۲ دقیقه در دمای ۴ درجه سا نتیگراد انجام شد. از بخش رویی عصاره برای

www.SID.ir

Archive of SID

سنجش غلظت پروتئین کل عصاره های گیاهی استفاده شد. جذب نمونه ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومترخوانده شد و غلظت پروتئین بر حسب میکرو گرم در یک گرم وزن تر بیان گردید (Bradford , 1976).

آنالیز مواد رنگی

بعد از خشک کردن ریشه، آن ها را به وسیله آسیاب برقی پودر کرده و در مرحله بعد در بن ماری در دمای $۷۰^{o}C$ نمونه های پودر شده را با ۵۰ میلی لیتر متانول مخلوط کرده، سپس نمونه ها را به مدت یک ساعت روی شیکر قرار داده، تا سرد شوند. نمونه ها را صاف کرده و حجم آن ها با متانول ۸۰٪ به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. یک میلی لیتر آلیزارین استاندارد در ۱۰۰ میلی لیتر متانول (HPLC grade)، با شرایط ذکر شده، در بالا حل گردید. جذب نمونه ها در nm ۴۵۰ به وسیله اسپکتروفتومتر (Carry-100) خوانده شد. محتویات رنگی بر اساس آلیزارین استاندارد با استفاده از روش Siebenborn و همکاران (۱۹۹۷) محاسبه گردید.

تحلیل آماری

بررسی های آماری بر اساس آنالیز واریانس دو عاملی توسط نرم افزار SPSS ویرایش ۲۲ و مقایسه میانگین ها بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال $P <$ ۰/۰۵ صورت گرفت. رسم نمودار ها با استفاده از نرم افزار Excel انجام شد.

نتایج:

نتایج ارائه شده در جدول ۲ نشان داد که در تیمار (mM) ۲ کربنات کلسیم و ($g\ m^{-2}$) ۱۰ سوپر فسفات تریپل بیشترین وزن تر و خشک ریشه و کمترین آن در تیمار ($g\ m^{-2}$) ۱۵ سوپر فسفات تریپل مشاهده شد. بیشترین وزن تر و خشک ریشه در تیمارهای مربوط به عامل کربنات کلسیم در غلظت (mM) ۲ اندازه گیری گردید. با افزایش سطح سوپر فسفات تریپل وزن تر و خشک ریشه افزایش معنی داری داشتند. نتایج آنالیز واریانس دو عاملی جدول ۳ نشان داد که اختلاف میانگین هرکدام از عامل ها در سطح ۰/۰۰۱ و تاثیرمتقابل آن ها، به ترتیب، در سطح ۰/۰۱ و ۰/۰۵ معنی دار است. همچنین در تیمار (mM) ۲ کربنات کلسیم و ($g\ m^{-2}$) ۱۰ سوپر فسفات تریپل بیشترین طول و قطر ریشه و کمترین آن در تیمار ($g\ m^{-2}$) ۱۵ سوپر فسفات تریپل مشاهده شد. در تیمارهای پنج گانه کربنات کلسیم بیشترین افزایش طول و قطر ریشه در سطح (mM) ۲ و در تیمارهای سوپر فسفات تریپل در سطح ($g\ m^{-2}$) ۱۰ مشاهده گردید. با افزایش سطح سوپر فسفات تریپل وزن تر و خشک ریشه افزایش معنی داری داشتند. نتایج آنالیز واریانس در جدول ۳ نشان داد که اختلاف میانگین برای هر کدام از عامل ها در سطح ۰/۰۰۱ وتاثیرمتقابل آن ها در سطح ۰/۰۵ معنی دار است. همچنین در تیمار (mM) ۲ کربنات کلسیم و ($g\ m^{-2}$) ۱۰ سوپر فسفات تریپل بیشترین مقدار وزن تر و خشک کل گیاه و کمترین آن در تیمار ($g\ m^{-2}$) ۱۵ سوپر فسفات تریپل مشاهده گردید. به طور کلی بیشترین وزن تر و خشک کل گیاه در تیمارهای عامل کربنات کلسیم در (mM) ۲ اندازه گیری شد. با افزایش سطح سوپر فسفات تریپل وزن تر و خشک کل گیاه افزایش معنی داری داشتند. نتایج آنالیز واریانس در جدول ۳ نشان داد که اختلاف میانگین برای هر کدام از عامل ها در سطح ۰/۰۰۱ و تاثیرمتقابل آن ها، به ترتیب، در سطح ۰/۰۰۱ و ۰/۰۵ معنی دار است.

www.SID.ir

Archive of SID

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می شود با افزایش مقدار سوپر فسفات تریپل افزایش ماده رنگی آلیزارین در ریشه مشاهده شد. در تیمارهای دو سطح ۲ و ۵ میلی مولار کربنات کلسیم توام با چهار سطح عامل سوپر فسفات تریپل تریپل افزایش ماده

رنگی آلیزارین در ریشه مشاهده شد. در تیمارهای ۱۰و۱۵ میلی مولار کربنات کلسیم توام با چهار سطح سوپر فسفات تریپل ماده رنگی آلیزارین ریشه نسبت به دو سطح دیگر کربنات کلسیم به ترتیب کاهش معنی داری داشت. به حدی که در تیمار توام (mM) ۱۵ کربنات کلسیم و ($g\ m^{-2}$) ۱۵ سوپر فسفات تریپل مقدار آلیزارین کمتر بود. بیشترین مقدار آلیزارین هم در تیمارتوام (mM) ۲ کربنات کلسیم و ($g\ m^{-2}$)۵ سوپر فسفات تریپل مشاهده شد. در تیمارهای پنج سطح کربنات کلسیم بیشترین مقدار آلیزارین در غلظت (mM) ۵ مشاهده شد و کمترین مقدار در غلظت (mM) ۱۵ بود. نتایج آنالیز واریانس دو عاملی جدول ۳ نشان داد که اختلاف میانگین هرکدام از عامل ها و تاثیرمتقابل آن ها در سطح ۰/۰۰۱ معنی دار است.

طبق نتایج ارائه شده در جدول ۲ در تمامی سطوح پنج گانه کربنات کلسیم با افزایش مقدار سوپر فسفات تریپل مقدار پراکسید هیدروژن (میکرومول بر گرم وزن تر) در ریشه و برگ روناس افزایش یافت. در تیمارهای پنج سطح کربنات کلسیم بیشترین مقدار پراکسید هیدروژن در غلظت (mM) ۵ مشاهده شد و کمترین مقدار در غلظت (mM) ۱۵ بود. نتایج آنالیز واریانس دو عاملی جدول ۳ نشان می دهد که اختلاف میانگین هرکدام از عامل ها و تاثیرمتقابل آن ها در سطح ۰/۰۰۱ معنی دار است.

طبق نتایج ارائه شده در جدول ۲ در تمامی سطوح پنج گانه کربنات کلسیم با افزایش مقدار سوپر فسفات تریپل مقدار پروتئین کل (میکرو گرم بر گرم وزن تر) در ریشه و برگ روناس افزایش یافت. در تیمارهای پنج سطح کربنات کلسیم بیشترین مقدار پروتئین کل در غلظت (mM) ۱۰ مشاهده شد و کمترین مقدار در غلظت (mM) ۱۵ بود. نتایج آنالیز واریانس دو عاملی جدول ۳ نشان می دهد که اختلاف میانگین هرکدام از عامل ها و تاثیرمتقابل آن ها در سطح ۰/۰۱ معنی دار است.

جدول۲- میانگین و انحراف استاندارد از میانگین پارامترهای فیزیولوژیکی مورد سنجش در تیمارهای مختلف کربنات کلسیم و فسفات در گیاهان روناس.

www.SID.ir

Archive of SID

$CaCO_3$(mM)	TFM(g)±SE	RD(cm)±SE	RFM(g)±SE	RL(cm)±SE	RDM(g)±SE	TDM(g)±SE	TDC(%)±SE	LeafH2O2±SE	R00tH2O2±SE	Leafprotein±SE	Rootprotein±SE
0*0	13.7±0.173^{hi}	0.48±0.0065^{fg}	6.52±0.161^{g}	23.95±0.766^{de}	0.63±0.018^{fg}	2.23±0.009^{h}	1.00±0.0002^{gf}	2.56±0.075^{ef}	1.76±0.012^{f}	0.20±0.004^{de}	0.16±0.005^{de}
0*5	15.65±0.35^{gh}	0.5±0.0092^{ef}	7.95±0.141^{ef}	27.93 ±0.801^{cd}	0.73±0.021^{ef}	2.42±0.012^{g}	1.03±0.0013^{cde}	3.17±0.013^{ab}	2.66±0.014^{c}	0.24±0.006^{bcd}	0.20±0.005^{bcd}
0*10	16.11±0.104^{fg}	0.55±0.0092^{de}	8.23±0.088^{de}	29.70±0.312^{c}	0.78±0.011^{e}	2.51±0.009^{g}	1.04±0.0062^{cde}	3.31±0.006^{ab}	2.86±0.015^{b}	0.25±0.006^{abc}	0.20±0.006^{abc}
0*15	15.93±0.188^{fg}	0.6±0.0092^{cd}	8.11±0.168^{e}	29.80±0.621^{c}	0.76±0.007^{ef}	2.51±0.059^{g}	1.04±0.0009^{cde}	3.32±0.004^{ab}	2.90±0.018^{ab}	0.26±0.006^{abc}	0.21±0.006^{abc}
2*0	15.9±0.361^{fg}	0.55±0.016^{de}	7.13±0.174^{fg}	29.83±0.566^{c}	0.77±0.015^{e}	2.41±0.008^{g}	1.03±0.0020^{def}	3.08±0.050^{bc}	2.59±0.029^{c}	0.22±0.008^{de}	0.18±0.007^{de}
2*5	18.62±0.219^{cde}	0.59±0.011^{cd}	9.05±0.128^{cd}	38.55±0.802^{b}	0.99±0.039^{cd}	3.04±0.012^{e}	1.12±0.0152^{a}	3.27±0.023^{ab}	2.88±0.011^{b}	0.26±0.005^{abc}	0.21±0.006^{abc}
2*10	22.33±0.168^{b}	0.68±0.065^{ab}	11.11±0.174^{a}	44.35±0.324^{a}	1.20±0.013^{bcd}	3.83±0.026^{b}	1.09±0.0021^{a}	3.40±0.002^{a}	3.08±0.027^{a}	0.28±0.005^{ab}	0.23±0.006^{ab}
2*15	19.73±0.08^{cd}	0.63±0.065^{bc}	9.71±0.116^{bc}	40.63±0.965^{ab}	1.03±0.029^{a}	3.30±0.011^{d}	1.09±0.0057^{ab}	3.20±0.062^{ab}	2.91±0.048^{ab}	0.27±0.006^{ab}	0.22±0.006^{ab}
5*0	17.82±0.176^{def}	0.6±0.0092^{cd}	7.07±0.128^{fg}	30.15±0.295^{c}	0.76±0.017^{ef}	2.47±0.002^{g}	1.02±0.0017^{ef}	3.30±0.003^{ab}	2.84±0.020^{b}	0.24±0.006^{bcd}	0.19±0.006^{bcd}
5*5	20.29±0.416^{c}	0.61±0.0056^{cd}	9.00±0.103^{cd}	37.85±1.116^{b}	0.95±0.028^{d}	3.00±0.005^{e}	1.06±0.0016^{bc}	3.38±0.011^{a}	3.02±0.023^{ab}	0.29±0.006^{a}	0.24±0.006^{a}
5*10	24.58±0.37^{a}	0.69±0.011^{a}	10.46±0.078^{ab}	44.38±0.794^{a}	1.15±0.026^{ab}	3.61±0.019^{b}	1.06±0.0016^{bc}	2.84±0.031^{cd}	2.57±0.049^{a}	0.30±0.006^{a}	0.24±0.007^{a}
5*15	23.26±0.056^{ab}	0.64±0.011^{abc}	9.33±0.076^{cd}	43.00±0.645^{a}	1.08±0.018^{abc}	3.44±0.024^{c}	1.05±0.0017^{cd}	2.61±0.003^{def}	2.21±0.015^{d}	0.29±0.007^{a}	0.25±0.007^{a}
10*0	11.91±0.058^{ij}	0.39±0.011^{hi}	5.58±0.138^{h}	19.59±0.898^{f}	0.50±0.024^{e}	1.88±0.026^{j}	0.98±0.0044^{g}	2.58±0.047^{ef}	2.22±0.026^{d}	0.28±0.005^{ab}	0.23±0.005^{ab}
10*5	13.82±0.083^{hi}	0.48±0.065^{fg}	6.34±0.044^{gh}	22.79±0.140^{ef}	0.59±0.005^{gh}	2.14±0.006^{i}	0.94±0.0018^{h}	2.54±0.043^{ef}	2.24±0.022^{d}	0.30±0.006^{a}	0.24±0.007^{a}
10*10	17.03±0.002^{efg}	0.5±0.0092^{ef}	8.25±0.057^{de}	28.85±0.315^{c}	0.78±0.011^{e}	2.77±0.053^{f}	0.91±0.0028^{i}	2.54±0.038^{ef}	2.14±0.030^{d}	0.28±0.004^{ab}	0.24±0.007^{ab}
10*15	14.99±0.262^{gh}	0.43±.065^{gh}	7.19±0.138^{fg}	26.03±0.532^{cde}	0.68±0.016^{efg}	2.48±0.01^{g}	0.58±0.0023^{j}	2.39±0.045^{efg}	1.96±.0.043^{e}	0.25±0.007^{abc}	0.21±0.007^{abc}
15*0	6.45±0.165^{k}	0.34±0.0056^{i}	2.07±0.15^{j}	8.58±0.143^{h}	0.23±0.004^{j}	1.00±0.003^{m}	0.57±0.0017^{j}	2.35±0.024^{fg}	1.93±0.038^{ef}	0.22±0.006^{de}	0.18±0.005^{de}
15*5	8.11±0.035^{j}	0.38±0.065^{hi}	2.78±0.162^{ij}	11.35±0.504^{gh}	0.30±0.013^{ij}	1.30±0.016^{l}	0.57±0.0020^{j}	2.65±0.048^{de}	2.31±0.022^{d}	0.24±0.007^{bcd}	0.18±0.005^{bcd}
15*10	10.31±0.454^{k}	0.39±0.011^{hi}	3.53±0.216^{ij}	14.00±0.649^{g}	0.37±0.017^{i}	1.60±0.014^{k}	0.51±0.0032^{k}	2.20±0.069^{g}	1.78±0.030^{ef}	0.19±0.008^{ef}	0.15±0.004^{ef}
15*15	7.84±0.188^{k}	0.35±0.0092^{i}	2.85±0.063^{ij}	11.10±0.322^{gh}	0.29±0.008^{j}	1.28±0.01^{l}	0.50±0.0027^{k}	1.93±0.044^{h}	1.48±0.025^{g}	0.15±0.007^{f}	0.13±0.004^{f}

جدول۳- آنالیز واریانس دو عاملی ۱۱ پارامتر فیزیولوژیکی گیاهان روناس در تیمارهای مختلف کربنات کلسیم و فسفات.

منبع تغییرات	TFM	RD	RFM	RL	RDM	TDM	TDC	LeafH2O2	R00tH2O2	Leafprotein	Rootprotein
$CaCO_3$	414.472***	0.205***	107.9***	2073.613***	1.332***	9.186***	0.831***	2.717***	2.597***	0.017***	0.014***
tsp	84.523***	0.028***	24.271***	358.601***	0.271***	2.659***	0.031***	0.36***	0.566***	0.004**	0.003**
$CaCO_3$*tsp	3.552*	0.003*	0.978**	18.299*	0.015*	.166***	0.030***	0.296***	0.445***	0.003***	0.002**

جدول ۴- پیوستگی بین ۱۱ پارامتر فیزیولوژیکی مورد مطالعه تحت تیمارهای مختلف کربنات کلسیم و کود سوپر فسفات تریپل.

parameter	Total dye content(%)	TFM(g)	RD(cm)	RFM(g)	RL(cm)	RDM(g)	TDM(g)	Leaf H2O2(umol g-1FW)	Root H2O2(umol g-1FW)	Leaf protein(ug g-1FW)	Root protein(ug g-1FW)
TDC(%)	1										
TFM(g)	.764**	1									
RD(cm)	.796**	.872**	1								
RFM(g)	.827**	.945**	.863**	1							
RL(cm)	.795**	.972**	.881**	.957**	1						
RDM(g)	.783**	.965**	.872**	.959**	.992**	1					
TDM(g)	.773**	.950**	.884**	.957**	.958**	.954**	1				
Leaf H2O2	-.619**	-.136	-.233*	-.255*	-.179	-.179	-.131	1			
Root H2O2	.736**	.613**	.729**	.682**	.668**	.650**	.635**	-.394**	1		
Leaf protein	.524**	.553**	.503**	.576**	.542**	.531**	.583**	-.092	.478**	1	
Root protein	.490**	.521**	.502**	.550**	.518**	.516**	.571**	-.014	.434**	.824**	1

***، ** و * به ترتیب نشانه معنی دار بودن در سطح احتمال ۰/۰۰۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۵ می باشند.

طبق نتایج ارائه شده در جدول ۴ در تمامی سطوح کربنات کلسیم و کود سوپر فسفات تریپل بین درصد محتویات رنگی با تمامی پارامترهای مورد مطالعه پیوستگی مثبت معنی دار وجود دارد. به استثنای، پارامتر پراکسید هیدروژن برگی که پیوستگی آن منفی است.

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و تفسیر

طبق نتایج ارائه شده در جدول ۲ بیشترین مقدار پارامتر های وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، طول ریشه، قطر ریشه، وزن تر کل گیاه و وزن خشک کل گیاه در تیمار توام ($g\ m^{-2}$) ۱۰ سوپر فسفات تریپل و (mM) ۲ کربنات کلسیم مشاهده شد. در تیمارهای پنج گانه کربنات کلسیم، در غلظت های ۲و۵ میلی مولار افزایش معنی داری در مقدار پارامترهای فیزیولوژیکی ذکر شده، نسبت به شاهد، وجود داشت. در حالی که در غلظت های ۱۰و ۱۵ میلی مولار مقدار پارامترها، نسبت به شاهد، کاهش معنی داری می یابد. نتایج به دست آمده نشان می دهند که در غلظت های ۲ و۵ میلی مولار کربنات کلسیم بیشترین تاثیر بر شش پارامتر رویشی مورد بررسی مشاهده شد. به نحوی که در تیمار (mM) ۲ کربنات کلسیم بیشترین مقدار پارامترهای ذکر شده وجود داشت. تحقیقات Opala در سال ۲۰۱۷ نشان داد که مقادیر پایین آهک در لایه زیرین خاک، فسفات در دسترس را افزایش می دهد و افزودن آهک به خاک باعث کمبود فسفات خواهد شد. کاهش پارامتر های وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، طول ریشه، قطر ریشه، وزن تر کل گیاه و وزن خشک کل گیاه با افزایش غلظت تیمار کربنات کلسیم ممکن است ناشی از هزینه انرژی

متابولیکی مربوط به سازگاری به شرایط تنش، کاهش نرخ فتوسنتز در واحد سطح برگ، کاهش جذب کربن، صدمه به بافت‌ها و رسیدن به حداکثر غلظت نمکی باشد، که گیاه آن را تحمل می‌کند. در سطوح یونی بالاتر احتمالاً جذب غیر متعارف یون، روندهای طبیعی متابولیسمی را مختل نموده و گیاه بخشی از انرژی مواد آلی را به جای تخصیص به رشد به تولید محلول‌های سازگار، به تعدیل اسمزی و حفظ سلول اختصاص می‌دهد (Shannon and Grieve, 1999; Ashraf, 1994; Meneguzzo et al., 2000). Martin و همکاران در سال ۱۹۹۵ گزارش کردند که کاهش وزن خشک در سطوح بالای کربنات کلسیم و فسفات ناشی از تاثیر منفی این تیمارها بر جذب سایر عناصر غذایی از جمله عناصر کم مصرف است که منجر به بر هم خوردن تعادل غذایی و در نهایت کاهش عملکرد گیاه می شود. بررسی های Sayin و همکاران در سال ۱۹۹۰ نشان داد که در خاک های آهکی قابلیت جذب فسفات به طور عمده توسط کربنات کلسیم، pH بالا و کمبود مواد آلی محدود می شود.

نتایج ارائه شده درجدول۲ در چهار سطح سوپر فسفات تریپل بدون وجود کربنات کلسیم نشان داد که با افزایش سطح فسفات پارامترهای وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، طول ریشه، قطر ریشه، وزن تر کل گیاه و وزن خشک کل گیاه افزایش یافتند و این افزایش ها در سطح ۰/۰۰۱ معنی دار بودند. Gibson در سال ۱۹۸۸ مشاهده کرد که فسفات نقش مهمی در متابولیسم کربوهیدرات ها دارد و نیاز به فسفات کافی در محیط شور، مربوط به نقش این عنصر در تنظیم تجمع یون ها و یا کدبندی یون ها در داخل سلول است. Lakshmamma وPadmavathi در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که میزان تحرک فسفر در خاک بسیار ناچیز است و با افزایش مصرف کود های شیمیایی فسفره مقدار دسترسی و جذب فسفات در محیط ریزوسفر ریشه ها افزایش یافته و باعث ارتقائ کارایی فیزیولوژیکی فسفات در گیاه می شود. بررسی های Goldstein و همکاران در سال ۱۹۸۸ نشان داد که فسفر به عنوان یکی از عناصر پر مصرف نقش مهمی در تولید محصول در خاک های دارای کربنات کلسیم مناطق خشک و نیمه خشک دارد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج ارائه شده در جدول ۲ نشان داد که با افزایش غلظت سوپر فسفات تریپل میزان آلیزارین، پراکسید هیدروژن و پروتئین کل برگ و ریشه افزایش معنی داری یافت. محتویات رنگی آلیزارین، پراکسید هیدروژن و پروتئین کل برگ و ریشه به ویژه تا سطح ۲ و۵ میلی مولار کربنات کلسیم توام با سطح ($g\ m^{-2}$) ۱۰ سوپر فسفات تریپل افزایش یافت. Tumova و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند که ترکیبات فنلی ترکیبات به عنوان شاخص های تنش اکسیداتیو محسوب می شوند، لذا انباشتگی انواع ترکیبات فنلی در شرایط تنش می تواند به عنوان یک نشانه در جلوگیری از تخریب سلولی عمل کرده و در نهایت به افزایش تحمل در برابر تنش منجر شود. آلیزارین از جمله ترکیبات فنلی است، که دارای گروه هیدروکسیل است، که دهنده هیدروژن می باشد و می تواند فعالیت رادیکال های آزاد را مهار کرده و آنزیم های آنتی اکسیدانی را فعال کند. مطالعات He و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان می دهد که بالا بودن ترکیبات فنلی، دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی اکسیدانی آن ها نیز می باشد، زیرا بر اساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی اکسیدانی گیاهان وجود دارد. از طرفی نیز مشاهده گردید که با افزایش سطح سوپر فسفات تریپل و کربنات کلسیم تا حد متوسط و افزایش پراکسید هیدروژن تا حدودی تولید آلیزارین افزایش یافت. از آنجا که آلیزارین می تواند در درمان برخی سرطان ها، صنایع دارویی، رنگ آمیزی بافت های کلسیفیه، رنگ آمیزی بافت سنگ مخازن نفت و تولید باتری های سبز کاربرد دارد، با وجود این ترکیب در روناس ممکن است

بتوان با اعمال این رژیم ها میزان تولید آن ها را نیز افزایش داد. که این خود نیاز به تحقیق بیشتر داشته و با توجه به تحقیقات دارویی اخیر برای جایگزینی داروهای شیمیایی توسط گیاهان دارویی سنتی ایجاد پایه علمی برای شناسایی اثرات آن ها ، امری ضروری بنظر می رسد.

نتیجه گیری

مطالعات Tang و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داد که پراکسید هیدروژن می تواند کانال های کلسیمی را فعال کرده و غلظت کلسیم سیتوزلی را افزایش دهد، کلسیم سیتوزولی نیز به نوبه خود آنزیم NADPH اکسیداز غشایی پلاسمایی را فعال کرده و منجر به انفجار اکسیداسیونی و تولید پراکسید هیدروژن شود. از طرفی مطالعات Sharma و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان داد که پراکسید هیدروژن در درون سلول به عنوان یک پیامبر ثانویه عمل کرده لذا می تواند باعث افزایش فعالیت و یا القای بیان برخی ترکیبات آنتی اکسیدانت از جمله متابولیت های ثانویه (آلیزارین) شود. این سیستم های آنتی اکسیدانی به عنوان یک سیستم دفاعی در مقابل انواع واکنشگرهای اکسیژن عمل کرده و به سلول کمک می کنند تا بهتر بتواند شرایط تنش را تحمل کند. با توجه به پیوستگی معنی دار بین پارامترهای فیزیولوژیک مورد مطالعه، کاهش مواد رنگی در غلظت های بالای کربنات کلسیم و کود سوپر فسفات تریپل شاید به منظور مقابله با رادیکال های آزاد و به علت سمیت ناشی از غلظت بالای تیمارها باشد. با توجه به افزایش میزان آلیزارین، پراکسید هیدروژن وپروتئین کل برگ و ریشه به ویژه تا سطح ۲ و۵ میلی مولار کربنات کلسیم توام با سطح ($g\ m^{-2}$) ۱۰ سوپر فسفات تریپل ومعنی دار بودن اثرات بین دو عامل (با توجه به نوع ترکیب شیمیایی خاک) و مشاهده بیشترین مقدار پارامترهای وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، طول ریشه، قطر ریشه، وزن تر کل گیاه و وزن خشک کل گیاه در تیمار توام (mM) ۲ کربنات کلسیم و ($g\ m^{-2}$) ۱۰ سوپر فسفات تریپل می توان پیشنهاد کرد، در منطقه مورد آزمایش، غلظت (mM) ۲ کربنات کلسیم توام با غلظت های ($g\ m^{-2}$) ۱۰سوپر فسفات تریپل می تواند گزینه ای مناسب برای افزایش مواد رنگی (آلیزارین) موجود در ریشه روناس باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع:

1-**Abebe, G., Hattar, B., and Al-Tawaha, A. R. M.,** 2005. Nutrient availability as affected by manure application to cowpea (*Vigna unguiculate* L. walp.) on calcareous soils. Journal of. Journal of. Agricultural of Social Science, 1: 1-6.

2-**Ashraf, M.**, 1994. Breeding for salinity tolerance in plants. CRC Critical Reviews in Plant Sciences, 13: 17-42.

3-**Ayala, S., and Prakasa Rao, E. V. S.**, 2002. Perspective of soil fertility management with a focus on fertilizer use for crop productivity. Current Science, 82(7):797-807.

4-**Bakalova, S., Nikolova, A. and Nedeva, D.**, 2004. Isoenzyme profiles of peroxidase, catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds. Journal of Plant Physiology, 30: 64-77.

5-**Bhattacharjee, S.**, 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: Role in stress, transduction in plants. Journal of Current Science, senescence and signal, 89: 1113-1121.

6-**Bradford, M. M.**, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annals of Biochemistry, 72: 248-254.

7-**Bright, J., Desikan, R., Hancock, J. T., Weir, I. S., Neill, S. J.**, 2006. ABA-induced NO generation and stomatal closure in Arabidopsis are dependent on H_2O_2 synthesis. The Plant Journal**,** 45: 113-122.

8-**Cifuentes, F. R., lindermann, W. C.**, 1993. Organic matter stimulation of elemental sulfur oxidation in calcareous soils. Siol Sci. Soc.Am.J., 57:727-731.

9-**Daiane, M. and Cecilia, V. N.**, 2015. Secondary Metabolites from Rubiaceae Species. Molecules, 20(7):13422-13495.

10-**Dixit V., Pandey V., Shyam R.**, 2001. Differential oxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea(*Pisum sativum* L. Cv. Azad). J. Exp. Bot. 52: 1101-1109.

11-**Dufault, R. J., Rushing, J., Hassal, R., Shepard, B. M., Mc Cotcheon, G., and Ward, B.**, 2003. Infloence of fertilizer on growth and marker compound of field grown Echinacea species and feverfew. Scientia Horticulture, 98: 61-69.

12-**Ferguson, R. B.**,2006. EC06-155 Nutrient Management for Agronomic Crops in Nebraska. Historical Materials from University of Nebraska-Lincoln Extension. Paper 1711.

13-**Flowers, T. J. and Yeo A. R.**, 1986. Ion relations of plants under drought and salinity. Aust. J. Plant Physiol., 13:75-91.

14-**Foreman, J., Bothwell, JH., Demidchik, V., Mylona, P., Miedema, H., Torres, MA.**, 2003. Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth. Nature 422: 442-446.

15-**Gibson, T. S.,** 1988. Carbohydrate metabolism and phosphorus salinity interaction in wheat (*Triticum aestivum* L.). Plant Soil. 111: 25-35.

www.SID.ir

Archive of SID

16- **He, L., Gao, Z. , Li, R.**, 2009. Pretreatment of seed with H_2O_2 enhances drought tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. African Journal of Biotechnology, 8(22): 6151-6157.

17-**Hopkins, B. and Ellsworth J.**, 2003. Phosphorus nutrition in potato production. Idaho Potato Conf, pp. 22-23.

18-**Kavita, S., Ritambhara, G. K., Shalini, V. and Dubey, R. S.**, 2001. Effect of cadmium on lipid peroxidasion ,superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Sic.

19-**Khalil, A. H. P. S., Alwani, S. M. and Omar, M. A. K.**, (2006). Chemical composition, anatomy, lignin distribution and cell wall structure of Malaysia plant waste fibers. Bioresource, 1: 220-232.

20-**Mabberley, D. J.**, 1997. The Plant-book: A portable dictionary of the vascular plants utilizing Kubitzki's the families and genera of vascular plants (1990), Cronquist's an integrated system of classification of flowering plants (1981), and current botanical literature, arranged largely on the principles of editions 1–6 (1896/97–1931) of Willis's a dictionary of the flowering plants and ferns, 2nd ed.; Cambridge university press: Cambridge, UK.

21-**Martin, L., and Bengt, N.**, 1995. Effects of lime and phosphorous additions on nutrient status and growth of peach (*Fagus sylvatica* L.) seedlings. Journal of Forest Ecology and Management, 74 (103): 133- 148.

22-**Mac-Adam, J. W. and Nelson Sharp, C. J.**, 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. Journal of Plant Physiology, 99 (3): 872-878.

23-**Meneguzzo, S., Navari-Izzo, F., Izzo, R.**, 2000. NaCl effects on water relations and accumulation of mineral nutrients in shoots, roots and cell sap of wheat seedlings. J. Plant Physiol., 156: 711-716.

24- **Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F.**, 2004. Reactive oxygen gene network of plant. TRENDS Plant Science, 9(10): 490-498.

25-**Munns, R.**, 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment, 25: 239-250.

26-**Noctor, G., Foyer, CH.**, 1998a. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol Biol., 49: 249-279.

27-**Ohe, M., Rapolu, M., Mieda, T., Miyagawa, Y., Yabuta, Y., Yoshimura, K., and Shigeoka, S.**, 2005. Decline in leaf photooxiadtive-stress tolerance with age in tobacco. Plant Science, 168: 1487-1493.

28-**Padmavathi, P. and Lakshmamma, P.**, 2003. Optimizing irrigation in relation to phosphorus nurition in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Sesame and Safflower Newsletter No,18 .Published by Institute of Sustainable Agriculture. Cordoba, Spain.

29-**Parida, A. K. and Das, A. B.**, 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety, 60: 324-349.

30-**Pei, Z. M., Murata, Y., Bnning, G., Thomine, S., Klusener, B., Allen, G. J.**, 2000. Calcium

www.SID.ir

Archive of SID

channels activated by hydrogen peroxide mediate abscisic acid signaling in guard cell. Nature 406: 731-734.

31-**Peng, L. T., Jiang, Y. M., Yang, S. Z., Pan, S. Y.**, 2005. Accelerated senescence of Fresh-cut Chinese water chestnut Tissues in relation to Hydrogen peroxide accumulation. Plant PHYSLMOLBI, 31(5): 527-532.

32-**Pereira, C. G., Meireles, M. A. A.**, 2010. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: Fundamentals, applications and economic perspectives. Food Bioprocess Tech., *3*:340–372.

33-**Perez-Amador, M., Abler, M. L., De Rocher, E. J., Thompson, D. M., Van Hoof, A., Lebrasseur, N. D., Lers, A. and Green, P. J.**, 2000. Identification of BFN1, a bifunctional

nuclease induced during leaf and stem senescence in Arabidopsis. Plant Physiology, 122: 169-179.

34- **Saneoka, H., Moghaieb, R. E. A., Premachandra, G. S., Fujita, K.**, 2004. Nitrogen nutrition and water stress effects on cell membrane stability and leaf water relations in *Agrostis palustris* Huds. Environ. Exp. Bot., 52: 131–138.

35-**Shannon, M. C. and Grieve, C. M.**, 1999. Tolerance of vegetable crops to salinity. Scientia Horticulture, 78: 5-8.

36- **Sharma, V., Ramawat , K. G.**, 2013. Salinity-induced modulation of growth and antioxidant activity in the callus cultures of miswak (*Salvadora persica*).Biotech., 3(1): 11–17.

37-**Siebenborn, S., Marquard, R., Yüce, S. and Turgut, I.**, 1997. Untersuchungen zur Inkulturnahme von Farberkrapp (Rubia tinctorum). In: Deutsch-Türkische Agrarforschung Symposium, Antalya, Turkey, 193-198.

38-**Smith, J. G., Ian, J. M., Vincent, D.**, 2005. Photo tendering of wool sensitized by naturally occurring polyphenolic dyes. Journal of Photochemistry and Photobiology Application: Chemistry, 169: 147-149.

39-**Sudhakar, C., Lakshmi, A., and Giridarakumar, S.**, 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. Plant Science, 141: 613-619.

40-**Tang, Z. L., Yang, Y., Zu, X.**, 2009. Variations of vinblastine accumulation and redox state affected by exogenous H_2O_2 in *Catharanthus roseus* (L.). Plant Growth Regul., 57: 15–20.

41-**Tisdale S. L., Nelson W. L., Beaton J. D., Havlin J. L.**, 1993. soil Fertility and fertilizers. 5th ed. Mcmillon publishing co. New York. Wainwright M. 1984. Sulfur oxidation in soils. Advences in Agronomy., 37: 346-396.

42-**Tumova, L., Tuma, J., Cheel, J., Dusek, J.**, 2008. Oxidative stress and flavonoid production by *Ononis arvensis* L. culture *in vitro*. 24.

43-**Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A.**, 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. Journal of Plant Sciences, 151: 59-66.

www.SID.ir

Archive of SID

44-**Yang, T., Poovaiah, B. W.**, 2002. Hydrogen peroxide homeostasis activation of plant catalase by calcium/calmodulin. Plant Biology, 99(6): 4097-4102.
45-**Yong Kim, S., Lim J. H., Park M. R., Kim Y., Won Seo Y., Choi K. G. and Yun S. J.**, 2005. Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barely roots under saline stress. Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 38: 218-224.

The effects of $CaCO_3$ and phosphate fertilizer on alizarin contents in *Rubia tinctorum* L. roots.

Mohamad Moghadami Rad[1], Ramazan Ali Khavari-Nejad[2]*, Sara Saadatmand[3], Farzaneh Najafi[4]

1-PhD. Student of Plant Physiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Mmrad1343@gmail.com

2- Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Ra.khavarinejad@gmail.com

3- Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

S_ *saadatmand@yahoo.com*

4- Associate Professor , Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

F_najafi@yahoo.com

Abstracts

Mining natural variations is a major approach to identify new options to improve medical plants (Rubia tinctorum L.) fertilizers use efficiency. In present work, uncover Rubia tinctorum L. plants were grown in order to study the interaction effects of $CaCO_3$ and triple super phosphate chemical fertilizer on root length, root diameter, root fresh matter, root dry matter, total fresh matter, total dry matter, alizarin contents, total protein of leaf and root, and H_2O_2 of leaf and root. The plants were treated with twenty fertilizer treatments with 2 factors and 4 replications. The first factor was $CaCO_3$ with 5 levels fertilizer including 0, 2, 5, 10, and 15 (mM) of $CaCO_3$. The second factor was triple super phosphate chemical fertilizer at 4 levels including 0, 5, 10, and 15 (g m^{-2}) of triple super phosphate chemical fertilizer. Ec mean of water was determined 11.6 (ds m^{-1}) in growth period. Root length, root diameter, root fresh matter, root dry matter, total fresh matter and total dry matter increased in Rubia tinctorum L. roots and the maximum them were observed at 2 (mM) $CaCO_3$ and 10 (g m^{-2}) triple super phosphate chemical fertilizer application. The result showed_that alizarin contents_was significantly increased _in_2, 5_and 10 (mM)_$CaCO_3$_, but, in 15 (mM)_$CaCO_3$__decreased. The highest H_2O_2 (root) was found in 15 (mM) $CaCO_3$ and 15 (g m^{-2}) triple super phosphate chemical fertilizer in comparison with control. Therefore, in Rubia tinctorum L. are suggesting that $CaCO_3$ application at low rates combined with moderate amounts of triple super phosphate chemical fertilizer would be appropriate in this area.

www.SID.ir

Archive of SID

Keywords

alizarin, $CaCO_3$, physiological parameters, *Rubia tinctorum* L., triple super phosphate.

.

www.SID.ir