مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 17 العدد 2 سنة 2012
عبد الامير علي ياسين / ليث سريع الركابي ISSN-1997-2490

تأثير كلوريد الصوديوم NaCl والمخصب الحيوي Agrispoon في نمو نبات عين البزون *Catharanthus roseus* (L.) G. Don وإنتاجه لقلويدي الفنكرستين والفنبلاستين

عبد الأمير علي ياسين — كلية التربية - جامعة القادسية
ليث سريع الركابي* — كلية العلوم - جامعة القادسية

الخلاصة:

أجريت التجربة في الظلة الخشبية التابعة لقسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة القادسية لموسم النمو 2009 - 2010 . الهدف من التجربة هو الكشف عن تأثير أربعة تراكيز من كلوريد الصوديوم هي 0 و 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز/م وثلاثة تراكيز من المخصب الحيوي هي 0 و 3 و 6 مل/لتر في نمو نبات عين البزون *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. وأنتاج المادتين الفعالتين طبياً الفنكرستين Vincristine والفنبلاستين Vinblastine . حيث تم زراعة 48 شتلة بعمر شهر واحد في سنادين بلاستيكية بأبعاد 15 × 20 سم (شتلة واحدة لكل سندانة) بتأريخ 2009/11/1 . تم رش المخصب الحيوي مرتين أثناء موسم النمو ؛ بتأريخ 1/ 2009/11 و 2009/12/1 في الصباح الباكر على المجموع الخضري لحين البلل الكامل ، بينما أضيفت التراكيز الملحية إلى النباتات متى ما أحتاجت إلى السقي . صممت التجربة بالقطاعات العشوائية الكاملة Randomized Complete Blocks Design (RCBD) في ترتيب عاملي (4 × 3) وبأربع مكررات . أستعمل أختبار أقل فرق معنوي المعدل Revised Least Significant Difference (RLSD) لمقارنة المتوسطات عند مستوى أحتمال 5 % وعندما يكون التأثير معنوياً ، وأهم النتائج التي توصلت لها التجربة مايأتي :

1- زيادة تركيز كلوريد الصوديوم سبب أنخفاضا معنوياً في معدل المساحة الورقية والوزن الجاف للمجموع الخضري ، ومحتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي والنسبة المئوية للنتروجين ونسبة البوتاسيوم/الصوديوم ، بينما سبب زيادة معنوية لمحتوى الأوراق من البرولين وقلويدي الفنكرستين والفنبلاستين .

2- زيادة تركيز المخصب الحيوي سبب زيادة معنوية في جميع الصفات المدروسة ماعدا أنخفاض معنوي للبرولين .

3- التداخل بين كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي سبب زيادة معنوية في محتوى الأوراق من قلويدي الفنكرستين VIC والفنبلاستين VIB . بلغ أعلى محتوى للأوراق من القلويد VIC 0.3400 مايكروغرام/غم وزن جاف من الأوراق و VIB بلغ 0.6829 مايكروغرام/غم وزن جاف من الأوراق عند التوليفة المكونة من ملوحة تركيزه 12 ديسي سيمنز/م ومخصب حيوي تركيزه 6 مل/لتر .

المقدمة :

حث الحق سبحانه وتعالى على لسان رسوله الكريم محمد (صلى الله عليه واله وسلم) على التداوي وطلب الشفاء إذ قال عليه أفضل الصلاة والسلام (تداووا عباد الله فما أنزل الله من داء إلا وله دواء إلا السأم) صدق رسول الله (صلى الله عليه واله وسلم) .

كانت النباتات ومازالت مصدر مهم لتوفير الغذاء والدواء لأحتوائها على مواد فعالة ذات قيمة دوائية عالية. ومن النباتات الطبية المستخدمة منذ القدم نبات عين البزون *Catharanthus roseus* العائد للعائلة الدفلية Apocynacea ، والنبات عبارة عن عشبه طبية تحتوي على أكثر من 130 مركباً قلويدياً21 ذات أهمية طبية وصيدلانية وأقتصادية كبيرة (1) . موطنها الأصلي هو جزيرة مدغشقر Madagascar الأفريقية ومنها أنتشر إلى مناطق واسعة من العالم كالمناطق الأستوائية وشبه الأستوائية الدافئة (2) .

أن الفنكرستين يستخدم لعلاج أبيضاض الدم اللمفاوي Lymphocytic leukaemia لدى الأطفال والأورام اللمفاوية lymphomas وسرطان الرئة ذو الخلية الصغيرة Lung cancer-non small cell وسرطان الثدي Breast cancer وسرطان عنق الرحم Cervical cancer والأورام الدماغية Brain tumors . كما أن للفنبلاستين دور مهم في معالجة مرض هوجكن Hodgkins disease والأورام اللمفاوية غير هوجكن non- Hodgkins lymphomas وسرطان المثانة Bladder cancer وسرطان الكلية Kidney cancer وسرطان الخصية Testicular cancer وسرطان الخلايا الجرثومية Germ cell cancer في الخصية (3 و 4) .

ونظراً للأهمية البالغة للمخصبات الحيوية في زيادة أنتاج المواد الفعالة لبعض النباتات الطبية (5) ، وللدور الذي يلعبه الإجهاد الملحي في تغير مسارات تخليق النواتج الأيضية الثانوية ومنها أنتاج المادة الفعالة طبياً لنباتات عديدة (6) ، ولما كان زيادة أنتاج النبات للمركبات القلويدية يعد أمراً مهماً حيث يزيد من كميته وتوفيره بصورة تجارية واسعة وذلك لزيادة الطلب على تلك المواد

* البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الثاني .

المتواجدة طبيعياً فيه وخاصة مركبي الفنكرستين والفنبلاستين والتي لا يمكن أنتاجهما صناعياً في المختبرات ، حيث أن أوراق نبات عين البزون تبقى المصدر الحيوي الوحيد لإنتاج قلويدي الفنكرستين VIC و الفنبلاستين VIB (7) . إذ أصبح الهدف من هذه التجربة هو إيجاد تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي في نمو وأنتاج المادة الفعالة طبيا الفنكرستين Vincristin والفنبلاستين Vinblastin لنبات عين البزون *Catharanthus roseus* (L.) G. Don .

المواد وطرائق العمل :

أجريت التجربة في الظلة الخشبية التابعة لقسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة القادسية لموسم النمو 2009-2010 ، حيث تم زراعة 48 شتلة (بعمر شهر واحد ومعدل أرتفاع 12 سم) لنبات عين البزون في سنادين بلاستيكية سعة 5 كغم تربة أبعادها 15 × 20 سم وبواقع (شتلة واحدة لكل سندانة) بتأريخ 2009/11/1 ، تتألف تربة كل سندانة من التربة وسماد البتموس وبنسبة (1:2) . أستعمل كلوريد الصوديوم بأربعة تراكيز هي (0 و 6 و 9 و 12) ديسي سيمنز / م ، كما أستعمل المخصب الحيوي الاجرسبون بثلاثة تراكيز (0 و 3 و 6) مل / لتر ، أذ تم إضافته مرتين الأولى بتأريخ 1/ 2009/11 والثانية 2009/12/1 رشاً في الصباح الباكر على المجموع الخضري وحتى البلل الكامل ، أما بالنسبة لكلوريد الصوديوم فتم سقي النباتات بالتراكيز الملحية المذكورة ، حيث سقيت كل 12 نبتة بتركيز ملوحة محدد . الصفات المدروسة تم قياسها بتأريخ 2010/2/1 والمتمثلة :

1- صفات النمو :

- معدل مساحة الورقة وذلك حسب طريقة (8) وبتطبيق المعادلة آلاتية :

المساحة الورقية = أقصى طول للورقة × أقصى عرض للورقة × 0.75 .

- الوزن الجاف للمجموع الخضري لكل نبات بعد قلعه مباشرةً وتنظيفه جيداً من الشوائب والأتربة العالقة ، بعد ذلك تم تقطيع المجموع الخضري ووضعه في أكياس ورقية مثقبة ووضعت في فرن كهربائي (نوع Hirayama ياباني المنشأ) على درجة حرارة 70 °م لمدة 48 ساعة ولحين ثبات الوزن ثم وزن بالميزان الحساس (نوع Metler HK 160 سويسري المنشأ) لغرض حساب الوزن الجاف للمجموع الخضري .

2- محتوى الأوراق :

- الكلوروفيل الكلي حسب طريقة (9) وبأستخدام جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer (نوع Bichrom – Libra S22 – UK 2005) عند الطولين الموجيين 645 و 663 نانوميتر وبتطبيق المعادلة الأتية :

$$\text{Total chlorophyll (mg /gm tissue)} = [\,20.2\ (D645) + 8.02\ (D663)\,] \times \frac{V}{1000 \times W}$$

- النسبة المئوية للنتروجين حسب طريقة (10) .

نسبة البوتاسيوم / الصوديوم : تم قياس البوتاسيوم والصوديوم بأستخدام جهاز المطياف الفوتومتري باللهب Flame Photometer (نوع Jenway – PFP7-UK 2002) ، وحسب ماذكره(11) .

- تركيز البرولين حسب طريقة (12) وبأستخدام جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer عند طول موجي 520 نانوميتر.

- تركيز المواد الفعالة طبياً الفنكرستين والفنبلاستين حيث تم استخلاصهما من الأوراق حسب طريقة (13 و 14) . ثم أستخدام جهاز HPLC (نوع Shimadzu – Germany 2004) وبتطبيق المعادلة التالية تم حساب تركيز القلويد .

$$\text{تركيز القلويد للعينة} = \left(\frac{\text{المساحة النسبية للعينة}}{\text{المساحة النسبية للقياسي}} \times \text{تركيز القلويد القياسي} \right)$$

النتائج والمناقشة :

1- تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي في بعض صفات النمو .

تبين نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (1) بأن زيادة تراكيز كلوريد الصوديوم في مياه السقي 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز/ م ، سببت انخفاض معنوي في معدل مساحة الورقة لكل نبات وكانت نسب الأنخفاض 12.67% و 36.65% و 49.08% ، على التوالي ، قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت18.942 سم^2 . هذه النتائج تتفق مع نتائج (6) . أما بالنسبة لتأثير المخصب الحيوي فأن زيادة تركيزه من 0 إلى 6 مل / لتر أدى إلى زيادة معنوية في معدل مساحة الورقة لكل نبات ، أذ بلغت معدل مساحة الورقة عند معاملة المقارنة 12.175 سم^2 في حين زادت عند تركيز المخصب 3 و 6 مل / لتر إلى 14.704 سم^2 و 15.969 سم^2 ،على التوالي . هذه النتائج تتفق مع ماتوصل إليه (16) . أما بالنسبة إلى التداخل بين المخصب الحيوي والملوحة فكان تأثيرهما معنوياً في معدل مساحة الورقة لكل نبات ، حيث لوحظ انه عند كل تركيز من تراكيز الملوحة أدى إضافة المخصب الحيوي إلى زيادة معنوية في معدل مساحة الورقة .

وفيما يتعلق بالوزن الجاف للمجموع الخضري فتشير نتائج الجدول (2) بأن زيادة تراكيز الملوحة 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز/م سببت انخفاضا معنويا بنسبة 13.87 % و 34.86 % و 54.79 % ، على التوالي ، قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 7.020 غم / نبات ، وهذه النتائج تتفق مع نتائج (17) . أن أضافة المخصب الحيوي أدى إلى زيادة معنوية في الوزن الجاف للمجموع الخضري بلغ 5.253 و 5.462 غم / نبات عند التركيزين 3 و 6 مل / لتر على التوالي مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 4.895 غم / نبات . هذه النتائج تتفق مع نتائج كل من (5 و 18). كما يشير التداخل بين عاملي الدراسة إلى أن استخدام المخصب الحيوي مع معاملات الملوحة أدى إلى زيادة متفاوتة في معنويتها بالوزن الجاف للمجموع الخضري . هذه النتائج تتفق مع نتائج (19) .أن سبب الانخفاض في المساحة الورقية والوزن الجاف للمجموع الخضري يعود إلى التأثير السلبي للملوحة في انقسام واستطالة الخلايا من خلال تأثيرها في التفاعلات المؤدية إلى أنتاج مشجعات الانقسام كالاوكسينات Auxins و السايتوكاينينات Cytokinins والجبرلينات Gibberellins مؤدية إلى تحديد حجم وعدد الخلايا في الحزم الوعائية الناقلة والمتمثلة بالخشب واللحاء (20) . كما أن امتصاص الأملاح قد يؤدي إلى زيادة تراكمها داخل أنسجة النبات بكميات تزيد عن حاجة النبات فتؤثر سلباً على العمليات الحيوية وهو ما يسمى بالتأثير السمي Toxic effect حيث أنها تؤدي إلى تغير في النشاطات الأنزيمية المؤدية إلى أستمرار التفاعلات الكيميائية المؤثرة في النمو وذلك بتثبيط عمل أنزيمات البناء وخاصة أنزيمات تصنيع البروتينات والكاربوهيدرات وأنزيمات دورة التحلل السكري ، إضافة إلى التأثير الغذائي Nutritional effect أذ تؤدي إلى اضطراب في التغذية المعدنية للنبات (21) . ومما يجدر ذكره أن (22) لاحظوا بأن اختزال نمو الورقة تحت ظروف الشد الملحي العالي يعود نتيجة إلى أختزال طولي وعرضي في نمو الورقة ، وأنخفاض الضغط الانتفاخي Turgour pressure في خلايا الأوراق مما يسبب أنخفاض في تدفق الماء والعناصر الغذائية إليها ، وكذلك انتقال الهرمونات المشجعة للنمو من الجذور إلى باقي أجزاء النبات (20) . أضف إلى إن مثل هذه الظروف من الملوحة يشجع النبات إلى أنتاج مثبطات النمو كالأبسيسيك والأثيلين اللذان يثبطان نمو وتوسع الأوراق من خلال غلق الثغور وقلة نفاذ CO_2 إلى الأوراق مما يقلل من إنتاج المواد الكاربوهيدراتية والمواد الضرورية لنمو الأوراق فتتحدد نتيجة لذلك المساحة الورقية (23) . كما تسبب الملوحة زيادة معدل التنفس والتي تزيد من استهلاك كميات كبيرة من المواد الكاربوهيدراتية (24) . كما أن سبب الانخفاض في الوزن الجاف يعود إلى كون الملوحة تعجل من شيخوخة أوراق النبات وزيادة تساقطها ، والتي تعتبر مصنعاً لبناء غذاء النبات مما يؤثر سلباً في عملية البناء الضوئي من خلال تعرض الكلوروفيل إلى التلف (25) . و كما أن الملوحة تعمل على تثبيط أنزيمات البناء وخاصة أنزيمات تصنيع البروتينات (21) . كما يتضح من النتائج سالفة الذكر أن أستعمال المخصب الحيوي (الأجرسبون) سبب زيادة معنوية في المساحة الورقية والوزن الجاف للمجموع الخضري لأحتوائه على مواد عضوية متوازنة وهرمونات كالأوكسينات والسايتوكاينينات والجبرلينات المشجعة لعملية الأنقسام الخلوي (26) . وكما يلعب المخصب الحيوي دوراً في زيادة جاهزية المغذيات الضرورية في التربة من خلال خفض حامضية التربة pH حيث أن جاهزية العناصر للأمتصاص تزداد في التربة الحامضية مما ساعد في أمداد النبات بأحتياجاته الغذائية (27) .

2- تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي في محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي .

يتضح من نتائج الجدول (3) إلى وجود فروق معنوية في محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي إذ يلاحظ أنها أنخفضت معنوياً بزيادة تراكيز كلوريد الصوديوم في مياه السقي 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م وكانت نسب الانخفاض 6.67 % و 16.60 % و 23.57 % ، على التوالي ، قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 0.7209 ملغم / غم وزن طري . هذه النتائج تتفق مع نتائج (15) .أما بالنسبة لتأثير المخصب الحيوي فتشير النتائج إلى زيادة معنوية لمحتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي بزيادة تركيز المخصب الحيوي وكانت نسب الزيادة على التوالي 2.53 % و 8.04 % قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 0.6133 ملغم / غم وزن طري . وهذه النتائج تتفق مع نتائج (28) .

ويشير التداخل بين الملوحة والمخصب الحيوي في الجدول نفسه إلى أن كل منها أثر معنوياً في محتوى أوراق نبات عين البزون من الكلوروفيل الكلي . حيث أن زيادة المخصب الحيوي عند كل تركيز من تراكيز الملوحة أدى إلى زيادة معنوية في كمية الكلوروفيل الكلي . أما بالنسبة لتأثير الملوحة فكان تأثيراً سلبياً ، حيث انه عند كل تركيز من تراكيز المخصب الحيوي أدت زيادة تركيز الملوحة إلى انخفاض معنوي في محتوى الكلوروفيل الكلي وبلغ 0.5436 ملغم / غم وزن طري عند التوليفة المكونة من 12 ديسي سيمنز / م ملوحة و 3 مل / لتر مخصب بالمقارنة مع 0.7212 ملغم / غم وزن طري عند التوليفة المكونة من 0 ملوحة و 3 مل / لتر من المخصب الحيوي .

أن سبب أنخفاض محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي تحت تأثير الملوحة يعزى إلى حصول أضطراب في التوازن الأيوني داخل النبات مما يؤثر سلباً في أمتصاص العناصر التي تدخل في تركيب جزيئه الكلوروفيل كالنتروجين والمغنيسيوم والحديد ، كما أن لتراكم أيونات الصوديوم Na^+ و الكلوريد Cl^- تأثير تثبيطي لبناء الصبغات المختلفة أو تحطيم أغشية عضية الكلوروبلاست (29) ، أذ لاحظ (30) أن كلوريد الصوديوم NaCl يؤدي إلى تشوه البلاستيدات وتحطيم الكلوروفيل . أضافة إلى أن الملوحة تعمل على زيادة نفاذية الأغشية الخلوية بفعل تأثير الإجهاد التأكسدي والذي يقلل من تراكم حامض Amino levulinic acid والذي يعتبر البادئ لبناء الكلوروفيل مما يؤدي إلى أنخفاض محتوى أوراق النبات من الكلوروفيل (31) ، أما بالنسبة إلى الكلوروفيل الكلي في النباتات المعاملة بالمخصب الحيوي فأنه يعزى إلى احتواء المخصب الحيوي على بكتريا مثبتة للنتروجين الذي يعد المكون الأساسي لبناء جزيئه الكلوروفيل ، حيث أن 70 % من نتروجين الورقة يدخل في تركيب الكلوروفيل (27) . كما أن المخصب

الحيوي يعمل على زيادة معدل بناء الكلوروفيل من خلال تنشيط الأنزيمات الضرورية لبنائه وتثبيط أنزيم chlorophyllase الذي يحطم جزيئه الكلوروفيل ، كما أن له دور في خفض مستوى الجذور الحرة Free radicals المتولدة بسبب الملوحة والتي تهاجم الجزيئات البايولوجية Biomolecules كالبروتينات والكلوروفيلات والأحماض النووية DNA و RNA (32) .

3- تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي في نسبة النتروجين ومحتوى الأوراق من البوتاسيوم والصوديوم ونسبة البوتاسيوم / الصوديوم .

أوضحت نتائج الجدول (4) أن زيادة ملوحة مياه السقي 6 و 9 و 12 ديسي سيمنز / م أدت إلى انخفاض معنوي في نسبة النتروجين وبلغت 2.848 و 2.266 و 1.603 ، على التوالي ، مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 3.034 . هذه النتائج تتفق مع نتائج (33) . أما بالنسبة للمخصب الحيوي فانه اثر معنوياً على نسبة النتروجين حيث انه بزيادة تركيزه أدى إلى زيادة نسبة النتروجين في أوراق النبات وبلغت عند المعاملات 3 و 6 مل / لتر 2.579 و 2.938 ، على التوالي ، مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 1.796 وتتفق هذه النتائج مع نتائج (28) .

التداخل المعنوي في الجدول نفسه يشير إلى زيادة معنوية عند إضافة المخصبات الحيوية للنبات المتعرضة للملوحة عند التركيزين 6 و 9 ديسي سيمنز / م ملوحة ، بينما كان هنالك ميلاً للزيادة غير المعنوية عند إضافة المخصب الحيوي للنباتات المجهدة بتركيز ملوحة 12 ديسي سيمنز / م . وهذا يؤكد أهمية استخدام المخصبات مع النباتات المتعرضة للملوحة عند تراكيز محددة من الملوحة لتحسين النسبة المئوية للنتروجين في أوراقها والذي يعتبر أنعكاس للعمليات الأيضية للنتروجين . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه (34) .

تبين نتائج الجدول (5) أن محتوى الأوراق من البوتاسيوم قد انخفض معنويا مع زيادة تراكيز ملوحة مياه الري من 6 إلى 12 ديسي سيمنز / م إذ بلغت 27.777 و 23.741 و 20.845 ملغم/غم وزن جاف من الأوراق مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 31.149 ملغم / غم وزن جاف من الأوراق وتتفق هذه النتائج مع نتائج (30) ، أما بالنسبة للمخصب الحيوي فتشير نتائج الجدول إلى زيادة معنوية بمحتوى الأوراق من البوتاسيوم . أن تأثير الملوحة للنبات المعاملة بالمخصب الحيوي فقد أدت زيادة تركيز الملوحة إلى أنخفاض معنوي في محتوى الأوراق من البوتاسيوم عند كل تركيز من تراكيز المخصب الحيوي .

تشير نتائج الجدول (6) إلى زيادة معنوية لمحتوى الأوراق من الصوديوم وذلك بزيادة تراكيز الملوحة من 6 إلى 12 ديسي سيمنز /م وتتفق هذه النتائج نتائج (15) ، أما بالنسبة للمخصب الحيوي فتبين نتائج التحليل الإحصائي في الجدول إلى أنخفاض معنوي في محتوى الأوراق من الصوديوم بفعل استخدام المخصب الحيوي فقد بلغت أقل قيمة 46.127 ملغم / غم وزن جاف من الأوراق عند تركيز مخصب 6 مل / لتر مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 53.361 ملغم / غم وزن جاف من الأوراق عند تركيز مخصب 0 مل / لتر ، أما بالنسبة إلى تأثير تداخل عاملي الدراسة (الملوحة والمخصب الحيوي) فقد كان تأثيرهما متعاكسين في محتوى أوراق نبات عين البزون من الصوديوم حيث أدت الملوحة عند كل تركيز من تراكيز المخصب الحيوي 3 و 6 مل / لتر إلى زيادة معنوية في تركيز الصوديوم

كما تشير النتائج المبينة بالجدول (7) أن زيادة تركيز ملوحة مياه السقي من 6 إلى 12 ديسي سيمنز/م أدت إلى انخفاض معنوي في نسبة K / Na آذ بلغت 0.637 و 0.398 و 0.287 ، مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 1.410 . وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (35) . كما يشير الجدول إلى زيادة معنوية في نسبة K / Na بزيادة تركيز المخصب الحيوي وبلغت 0.636 ، 0.828 عند التركيزين 3 و 6 مل/لتر مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 0.585 . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه (36) .كما يستدل من الجدول (5) أن التداخل بين الملوحة والمخصب الحيوي أثر معنوياً في نسبة K/Na ، حيث أن زيادة تراكيز الملوحة عند كل تركيز من تراكيز المخصب أدت إلى انخفاض معنوي في نسبة K/Na أما بالنسبة إلى تأثير المخصب الحيوي فأن استخدامه للنباتات المجهدة ملحياً زاد من نسبة K/Na ولكنها زيادة غير معنوية حيث كانت الزيادة المعنوية فقط عند معاملة المقارنة بسبب عدم استخدام مياه مالحة (السقي بماء مقطر) وبالتالي أدت عملية السقي المتكررة إلى خفض تركيز الأملاح في التربة . وهذه النتائج تتفق مع ماتوصل إليه (37) .

أن سبب الانخفاض في النسبة المئوية للنتروجين يعزى إلى ظاهرة التضاد Antagonism بين أيون الصوديوم Na^+ وأيون الامونيوم NH_4^+ من جهة وبين أيون الكلور Cl^- وأيون النترات NO_3^- من جهة أخرى ، أو ربما بسبب الجهد الأزموزي والشد المائي اللذان يؤثران في نمو الجذور وبالتالي انخفاض مساحة امتصاص المغذيات الضرورية للنمو من التربة (38) . كما أن الملوحة أيضاً تزيد من قاعدية التربة مما يزيد من تثبيت الفسفور في التربة وأنخفاض جاهزيته للأمتصاص من قبل الجذور .

أن سبب زيادة نسبة النتروجين ومحتوى الأوراق بزيادة تركيز المخصب الحيوي وذلك لأحتواء المخصب على أحياء مجهرية لها القابلية على أنتاج الأحماض العضوية Tartaric acid و Malic acid و Oxalic acid التي لها دور في خفض pH التربة حيث أن جاهزية NO_3^- تزداد في التربة الحامضية . كما أن المخصب الحيوي يحتوي على أحياء مجهرية لها القابلية على تثبيت النتروجين بهيئة النترات أو الامونيا الجاهزين للامتصاص من قبل النبات (39) . كما أن المخصب الحيوي يحتوي على العناصر الغذائية التي تنافس عنصر الصوديوم بالامتصاص من قبل الجذور وبالتالي يحصل أنخفاض لتركيز الصوديوم في الأوراق ومن ثم زيادة نسبة K / Na . كما أن المخصب الحيوي يزيد من جاهزية عنصر البوتاسيوم من خلال خفض pH التربة وكذلك دوره في الثباتية الأختيارية للغشاء البلازمي في امتصاص المغذيات وبالتالي تقليل امتصاص الصوديوم بالرغم من زيادة تركيزه في التربة بسبب السقي بمياه حاوية على كلوريد الصوديوم NaCl .

4- تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي في محتوى الأوراق من الحامض الأميني البرولين .

تبين نتائج التحليل الإحصائي في الجدول (8) أن زيادة ملوحة كلوريد الصوديوم في مياه السقي من 6 إلى 12 ديسي سيمنز/م أدت إلى زيادة معنوية في محتوى الأوراق من البرولين وبلغت 0.3439 و 0.4256 و 0.4678 مايكروغرام / غم وزن طري من الأوراق مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 0.2476 مايكروغرام / غم وزن طري من الأوراق . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه (40) . أن سبب زيادة البرولين يعزى إلى علاقته بتنظيم الضغط الازموزي للنبات حيث لوحظ عند تعرض النباتات للأجهادات البيئية ومنها الملوحة يؤدي إلى تراكم بعض المركبات النتروجينية كظاهرة تكيفيه ومن بينها البرولين لأنه نشط أزموزياً أذ انه يعيد التوازن للمرافق الإنزيمي $NADP^{+}$ و NADPH (41) ، كما يعمل على حماية الإنزيمات والأغشية البلازمية من خطر الأجهاد التأكسدي من خلال كبح أنواع الأوكسجين الفعالة Reactive Oxygen Species (ROS) (42) ، أذ لاحظ (43) أنخفاض تراكيز الجذور الحرة إلى حد كبير عند تراكم البرولين بكميات كبيرة ، كما أن الملوحة تزيد من تحلل البروتينات وتحولها إلى أحماض أمينية متعددة كالبرولين Proline والكلايسين بيتاين Glycine betaine مما يجعل تراكيزها مرتفعة في النبات ، كما يستفيد النبات من تكوين البرولين كمضاد للتسمم بالأمونيا وكذلك يستخدم في خزن النتروجين والكاربون للنبات والذي يستفيد منه بعد زوال تأثير الملوحة (44).

أما بالنسبة للمخصب الحيوي أدت زيادة تركيزه إلى انخفاض معنوي في محتوى الأوراق من البرولين وبلغت أعلى تركيز للبرولين عند تركيز مخصب 6 مل / لتر 0.3312 مايكروغرام / غم وزن طري من الأوراق مقارنة بمعاملة المقارنة والتي بلغت 0.4061 مايكروغرام / غم وزن طري من الأوراق عند تركيز مخصب 0 مل / لتر ، وهذه النتائج تتفق مع ما وجده كل(45) . أن سبب الانخفاض يعزى إلى التأثير الايجابي للمخصب الحيوي في توفير المغذيات وإعادة التوازن الهرموني للنبات مما يقلل من حاجة النبات لتكوين البرولين ، كما أنها تعمل على توجيه العمليات الحيوية باتجاه تجميع الأحماض الأمينية لبناء البروتينات مما يؤدي إلى انخفاض محتوى الأوراق من البرولين أما بالنسبة إلى تأثير التداخل بينهما فتشير النتائج إلى أن معاملة النباتات المعرضة للملوحة بالمخصب الحيوي أدت إلى انخفاض معنوي في محتوى الأوراق من البرولين وبلغ أعلى أنخفاض 0.2165 مايكروغرام / غم وزن طري من الأوراق عند التوليفة المكونة من المخصب الحيوي بتركيز 6 مل/لتر وملوحة 0 ديسي سيمنز/ م مقارنة مع أعلى زيادة 0.5104 مايكروغرام / غم وزن طري من الأوراق عند التوليفة المكونة من المخصب الحيوي بتركيز 0 مل / لتر وملوحة 12 ديسي سيمنز / م . أن سبب انخفاض محتوى الأوراق من البرولين يعزى إلى أن المخصب الحيوي يحفز النبات على تنشيط أنزيمي proline dehydrogenase و proline oxidase اللذين يحللان البرولين لغرض الاستفادة من مخزون النتروجين والكاربون .

5- تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي في محتوى الأوراق من المواد الفعالة طبيا الفنكرستين والفنبلاستين .

تبين نتائج التحليل الإحصائي في الجدولين (9 و10) وجود زيادة معنوية كبيرة في أنتاج النبات لقلويدي الفنكرستين والفنبلاستين بزيادة تراكيز الملوحة من 6 إلى 12 ديسي سيمنز / م وكانت النسبة المئوية لزيادة للفنكرستين 40.38 % و 56.07 % و 60.88 % ، على التوالي ، قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 0.1280 مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق . بينما كانت نسبة زيادة الفنبلاستين 19.15 % و 25.13 % و 31.95 % ،على التوالي ، قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 0.4474 مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق . هذه النتائج تتفق مع ما توصل إليه (46 و47). أما بالنسبة لتأثير المخصب الحيوي فتشير نتائج الجدولان (9 و10) إلى وجود زيادة معنوية في أنتاج الفنكرستين والفنبلاستين بزيادة تركيز المخصب إلى 3 و 6 مل / لتر وكانت نسب زيادة الفنكرستين 3.38 % ، 10.42 % ، على التوالي ، قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 0.2288 مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق ، بنما بلغت نسبة زيادة الفنبلاستين 6.08 % و 11.36 % ، على التوالي ، قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 0.5299 مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق . هذه النتائج تتفق مع ما توصل (16 و48) .

أن نتائج التحليل الإحصائي تشير إلى أن تداخل كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي كان تأثيرهما تأزري في زيادة أنتاج نبات عين البزون لقلويدي الفنكرستين والفنبلاستين . أن سبب زيادة أنتاج النبات للقلويدات يعزى إلى دوره في تعديل أزموزية الخلية بزيادة سالبية جهد ماء الخلية النباتية المعرضة إلى أجهاد أزموزي لذلك فان النبات يزيد من أنتاجها ، كما أنها تعتبر مواد خازنة للكاربون و النتروجين والطاقة والتي يستفيد منها النبات بعد زوال الملوحة . كما أن ايونات الصوديوم تقوم بعمليات تنشيط الأنزيمات المؤدية إلى تكوين القلويدات ، كما تعمل الملوحة على تحفيز أنتاج الجذور الحرة Free radicals الضارة للنبات ، ولتقليل ضررها ينتج النبات القلويدات التي تلعب دوراً في حماية النبات من تأثيرات الأجهاد التأكسدي الضارة للغشاء البلازمي والأنزيمات والأحماض النووية DNA و RNA (3). كما أن إضافة المخصب الحيوي يزيد من القلويدات لاحتوائه على أحياء مجهرية مثبتة للنتروجين مما يؤدي إلى زيادة محتوى النبات من النتروجين والذي يحفز النبات على زيادة أنتاج المركبات القلويدية (4) .

جدول(1). تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في معدل مساحة الورقة (سم² / نبات) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / كلوريد الصوديوم (ديسي سيمنز / م)	0	3	6	معدل تأثير كلوريد الصوديوم
0	17.325	18.938	20.563	18.942
6	13.063	16.688	19.875	16.542
9	10.188	13.063	12.750	12.000
12	8.125	10.125	10.688	9.646
معدل تأثير المخصب الحيوي	12.175	14.704	15.969	

أقل فرق معنوي المعدل (RLSD) عند مستوى 5% : المخصب الحيوي كلوريد الصوديوم التداخل
0.301 0.549 0.261

جدول(2). تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في الوزن الجاف للمجموع الخضري (غم / نبات)

المخصب الحيوي (مل / لتر) / كلوريد الصوديوم (ديسي سيمنز / م)	0	3	6	معدل تأثير كلوريد الصوديوم
0	6.578	7.112	7.369	7.020
6	5.628	5.970	6.539	6.046
9	4.386	4.681	4.652	4.573
12	2.986	3.248	3.288	3.174
معدل تأثير المخصب الحيوي	4.895	5.253	5.462	

معنوي المعدل (RLSD)عند مستوى 5% : المخصب الحيوي كلوريد الصوديوم التداخل
0.130 0.143
0.319

جدول(3). تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من الكلوروفيل الكلي (ملغم / غم وزن طري) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / كلوريد الصوديوم (ديسي سيمنز / م)	0	3	6	معدل تأثير كلوريد الصوديوم
0	0.6954	0.7212	0.7462	0.7209
6	0.6442	0.6658	0.7085	0.6728
9	0.5872	0.5862	0.6301	0.6012
12	0.5265	0.5436	0.5828	0.5510
معدل تأثير المخصب الحيوي	0.6133	0.6292	0.6669	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند مستوى 5% : المخصب الحيوي كلوريد الصوديوم التداخل
0.0111 0.0128 0.0236

المخصب الحيوي (مل / لتر) / كلوريد الصوديوم (ديسي سيمنز/م)	0	3	6	معدل تأثير كلوريد الصوديوم
0	2.270	3.151	3.680	3.034
6	2.034	3.012	3.498	2.848
9	1.608	2.503	2.688	2.266
12	1.271	1.651	1.887	1.603
معدل تأثير المخصب الحيوي	1.796	2.579	2.938	

جدول(4). تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في النسبة المئوية للنتروجين .

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند مستوى 5% : المخصب الحيوي كلوريد الصوديوم التداخل
0.342 0.395 0.901

جدول(5) . تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من عنصر

المخصب الحيوي (مل / لتر) / كلوريد الصوديوم (ديسي سيمنز/م)	0	3	6	معدل تأثير كلوريد الصوديوم
0	28.722	28.779	35.946	31.149
6	25.972	27.458	29.901	27.777
9	22.890	23.678	24.654	23.741
12	19.995	21.264	21.277	20.845
معدل تأثير المخصب الحيوي	24.395	25.295	27.945	

البوتاسيوم (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند مستوى 5% : المخصب الحيوي كلوريد الصوديوم التداخل
1.043 1.179 2.735

جدول(6) . تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من

المخصب الحيوي (مل / لتر) / كلوريد الصوديوم (ديسي سيمنز/ م)	0	3	6	معدل تأثير كلوريد الصوديوم
0	24.371	23.159	19.609	22.380
6	48.145	45.130	39.276	44.184
9	64.787	59.677	55.551	60.005
12	76.142	72.442	70.071	72.885
معدل تأثير المخصب الحيوي	53.361	50.102	46.127	

عنصر الصوديوم (ملغم / غم وزن جاف من الأوراق) .

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند مستوى 5% : المخصب الحيوي الملوحة التداخل
1.455 1.644 3.760

جدول(7). تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في النسبة المئوية للبوتاسيوم/الصوديوم

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	1.184	1.245	1.802	1.410
6	0.540	0.609	0.762	0.637
9	0.354	0.397	0.444	0.398
12	0.263	0.294	0.303	0.287
معدل تأثير المخصب الحيوي	0.585	0.636	0.828	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند مستوى 5% : المخصب الحيوي 0.212 كلوريد الصوديوم 0.226 التداخل 0.405

جدول(8). تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من البرولين (مايكروغرام / غم وزن طري من الأوراق) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	0.2703	0.2559	0.2165	0.2476
6	0.3703	0.3605	0.3010	0.3439
9	0.4734	0.4352	0.3681	0.4256
12	0.5104	0.4536	0.4393	0.4678
معدل تأثير المخصب الحيوي	0.4061	0.3763	20.331	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند مستوى 5% : المخصب الحيوي 0.0295 كلوريد الصوديوم 0.0326 التداخل 0.0656

جدول(9). تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من الفنكرستين (مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	0.1039	0.1237	0.1565	0.1280
6	0.2109	0.2110	0.2222	0.2147
9	0.2836	0.2876	0.3029	0.2914
12	0.3166	0.3249	0.3400	0.3272
معدل تأثير المخصب الحيوي	0.2288	0.2368	0.2554	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند مستوى 5% : المخصب الحيوي 0.0024 كلوريد الصوديوم 0.0027 التداخل 0.0051

جدول(10). تأثير كلوريد الصوديوم والمخصب الحيوي وتداخلاتهما في محتوى الأوراق من الفنبلاستين (مايكروغرام / غم وزن جاف من الأوراق) .

المخصب الحيوي (مل / لتر) / تركيز الملوحة (ديسي سيمنز/م)	0	3	6	معدل تأثير الملوحة
0	0.3966	0.4455	0.5001	0.4474
6	0.5165	0.5608	0.5828	0.5534
9	0.5730	0.5944	0.6255	0.5976
12	0.6336	0.6560	0.6829	0.6575
معدل تأثير المخصب الحيوي	0.5299	0.5642	0.5978	

قيمة أقل فرق معنوي المعدل (RLSD)عند مستوى 5% : المخصب الحيوي 0.0027 كلوريد الصوديوم 0.0031 التداخل 0.0056

المصادر :

1- Verpoorte, R. ; Van Der Heijden, R. and Moreno, P.R.H. (1997). Biosynthesis of Terpenoid Indole Alkaloids in *Cataranthus roseus* Cells. In : The Alkaloids. Cordell, G.A. (Ed.), Academic, San Diego, 49 : 221-229 .
2- Veeresham, C. (2004). Medicinal Plant Biotechnology . Satish Kumar Jain for CBS Publishers and Distributors, New Delhi . India Binding House .
3- Evans, W.C. (2002). Trease and Evans Pharmacognosy 15^{th} ed. W.B. Saunders Company Ltd. London. UK.
4- Van Der Heijden, R. ; Jacobs, D.I. ; Snoeijer, W. ; Hallard, D. and Verpoorte, R. (2004). The *Catharanthus* alkaloids: pharmacognosy and biotechnology, *Curr. Med. Chem*., 11(5) : 607-628.
5- Heikal, A. E. (2005). Effect of organic and biofertilization on growth production and composition of thyme (*Thymus vulgaris* L .) plants. M.Sc. Thesis, Cairo, Univ. Agric. Fac.
6- Hanafy, M.S. ; Boselah, N.A.E. and Omer, K.F. (1994). Effect of different salinity levels of diluted sea water on growth, yield, essential oil productivity and chemical composition of *Nigella sativa* L. plant . The first Conf. Of Ornamental Hort. , 2: 546-564.
7- Hernandez-Dominguez, E. ; Campos-Tomayo, F. ; Carrillo-Pech , M. and Vazquez-Flota, F. (2005). *Catharanthus roseus* shoot cultures for the production of monoterpenoid indole alkaloids. Methods in Molecular Biology. , 318: 349-355.
8- Johson , G.R. (1973). Diallel analysis leaf area heterosis and relationships to yield in maize . Grop Sci . 13 (1) :172-180.
9- Mackinney, G. (1941). Absorption of light by chlorophyll solutions. J. Biol. Chem., 140: 315-322.
10- Chapman , H.D. and Partt , P.F. (1961). Methods of Analysis for Soil , Plant and Water . Univ. of Calif. Div. Agric. Sci .
11-Wiessmann, H. and Nehring, K. (1960). Agriculturchemische Untersuchun gsmethoden four Duengeund Futtermittel, Boden and Mileh. Dritte voellig neubeasrbeitete Auflage. Verlag paul parey. Hamburg and Berlin. West Germany.
12- Bates , L.S. ; Waldren , R.P. and Teare , I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies . Plant and Soil , 39 : 205-207 .

13- Harborne, J.B. (1984). Phytochemical Methods, A Guide to Modern Technique of Plant Analysis 2nd, Chapman Hall. Second ed., London , New York .
14- Arvind, V.; Laakso, I. ; Seppanen-Laakso, T. ; Huhtikangas, A. and Riekkola, M.L. (2007). A simplified procedure for indole alkaloid extraction from *Catharanthus roseus* combined with a semi-synthetic production process for vinblastine . Molecule , 12 : 1307-1315 .
15- Jaleel, C. A. ; Sankar, B. ; Sridharan, R. and Panneerselvam, R. (2008) Soil salinity alters growth, chlorophyll content, and secondary metabolite accumulation in *Catharanthus roseus*. Turk. J. Biol., 32 : 79-83.
16- Acosta , L. (1985). Effect of different nitrogen levels on the yield of leaves and total alkaloids of *Datura candida* . Revista Planta Medical , 55: 63-77.
17- Elfeky, S.S.; Osman, M.E.H.; Hamada, S.M. and Hasan, A.M. (2007). Effect of salinity and drought on growth criteria and biochemical analysis of *Catharanthus roseus* shoot . Int. J. Bot., 3: 202-207.
18- El-Ghadban, E. A.; Shalan, M. N. and Abdel-latif, T. A. (2006). Influence of biofertilizers on growth , volatile oil yield and constituents of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) .Egyptian J. Agric. Res. , 84(3): 977-992 .
19- Ashraf M. (1999) . Interactive effect of salt (NaCl) and nitrogen source on growth, water relations and photosynthetic capacity of sunflower (*Helianthus annuus* L.). Annal. Appl.Biol. , 135: 509-513 .
20- David, M. O. and Nilsen, E. T. (2000) . The Physiology of Plant Under Stress . John Wiley and Sons , Inc .
21- Tuteja, N. (2005).Unwinding after high salinity stress. II. Development of salinity tolerant plant without affecting yield. Plant J. (India) , 24: 219-229.
22- Kawakami, J. ; Iwama, K. and Jitsuyama, Y. (2006) . Soil water stress and the growth and yield of convention a seed tubers . Field Crops Research , 95: 89-96.
23- Davis, W. J. and Zhaug, J. (1991) . Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil . Annual Review of Plant Physiology , 42 : 55-76 .
24- Maas, E. V. (1986) . Salt tolerance of plants . Appl. Agr. Res. , 1: 12-26 .
25- Desingh, R. and Kanagaraj, G. (2007) . Influence of salinity stress on photosynthesis and antioxidative systems in two cotton varieties . Gen. Appl. Plant Physiology , 33(3-4): 221-234 .
26- Devlin, R.M. and Witham, F.H. (1983) Plant Physiology . Bostin : Willard. Grant Press. U.S.A. : 960-716 .
27- Barker , A.V. and Pilbeam , D.J. (2007). Handbook of Plant Nutrition . CRC . Taylor and Francis Group . 613 .
28- Shehata, M.M. and El-Khawas, S.A. (2003). Effect of two biofertilizers on growth parameters, yield characters, nitrogenous components, nucleic acids content, minerals. banding pattern of sunflower (*Helianthus annus* L .) yield . Pakistan J. Biol. Sci. ,6(14): 1268-1275 .
29- Mohammed , A.M.A. (2007) . Physiological aspects of mung bean plant (*Vigna radiate* L. wilczek) in response to salt stress and gibberellic acid treatment. Research. J. Agric and Biol. Sci. , 3(4): 200-213 .
30- Mix, G. (1973). Influence of higher sodium chloride concentrations on the potassium content and fine structure of chloroplasts of beans, barley and sugar beet. M.Sc. Thesis ,Technical University , Berlin.
31- Turban, E. and Eris, A. (2005) . Changes of micronutrients, dry weight, and chlorophyll contents in strawberry plants under salt stress conditions. Communications in Soil Science and Plant Analysis , 36: 1021-1028 .
32- Dubey, R.S. (1990).Effect of salinity on nucleic acid metabolism of germinating rice seeds , differing in Salt tolerance , Plant Physiol. Biochcm. , 12 :9-12 .

33- Karadge , B.A. and Gaikwad, P.V. (2003). Influence of sodium chloride salinity on growth and organic constituents of *Cataranthus roseus* . J. Plant Physiol. , 8 : 392-397.
34- El-Komy, H.M.A.; Abdel-Samad, H.M. and Abdel-Baki, G.K. (2003) . Nitrate redactase in Wheat plants grown under water stress and inoculated with *Azospirillum Spp*. Biol. Plantarum, 46:281 – 287 .
35- Khan , M.A. ; Shirazi , M.U. ; Khan, M.A. ; Mujtaba , S.M. ; Islam, E. ; Mumtas, S. ; Shereen, A. ; Ansari, R.U. and Ashraf, M.Y. (2009). Role of proline , K/Na ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). Pak. J. Bot . ,41(2): 633-638 .
36- Abdolzadeh , A ; Hosseinian , F.; Aghdasi, M. and Sadgipoor , H. (2006) . Effect of nitrogen sources and levels on growth and alkaloid content of periwinkle . Asian J. Plant Sci., 5(2): 271-276 .
37- Abou El-Maged , M.M.; Zaki , M.F. and Abou-Hussein , S.D. (2008) . Effect of organic manure and different levels of saline irrigation water on growth , green yield and chemical content of sweet fennel. Aus. J. Basic. Appl. Sci. , 2(1): 90-98 .
38- Suhayda, C.G.; Giannini, J.L.; Briskin, D.P. and Shannam, M.C. (1990). Electrostatic changes in *Lycopersicon esculentum* root plasma membrane resulting from salt stress. Plant physiol. 93: 471-473.
39- Raaijmakes, J.M. ; Vlami, M. and De Souza, J.T. (2002). Antibiotic production by bacterial biocontrol agents . Antonie Van Leeuwenhoek. 81: 537-547 .
40- Jaleel, C.A. ; Manivannan, P. ; Kishorekumar, A. ; Sankar, B. and Panneerselvam, R. (2007). Calcium chloride effects on salinity induced oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. Comptes Rendus Biologies , 330(9) : 674-683.
41- Orcutt , D.M. and Nilsen, E.T. (2000). The Physiology of Plants Under Stress : Soil and Biotic Factors . John Wiley and Sons , Inc. USA .
42- Vaidyanathan, H. ; Sivakumar, P.; Chakrabarty, R. and Thomas, G. (2003) . Scavenging of reactive oxygen species in NaCl stressed rice (*Oryza sativium* L.) – differential responses in salt tolerant and sensitive varieties . Plant Sci., 165 : 1411-1418 .
43- Jaleel, C.A. (2009). Changes in non enzymatic antioxidants and ajmalicine production in *Catharanthus roseus* with Different Soil Salinity Regimes. Botany Research International, 2 (1): 1-6 .
44- Jenks, M.A. and Hasegawa, P.M. (2005) . Plant a biotic stress. Black well. Publishing. 270p.
45- Tawfik, M.M.; Amany, A.B. and Salem, A.K.M. (2006) . Response of Kaller Grass (*Leptochloa fusca* L.) to biofertilizer inculcation under different levels of sea water irrigation . J. Appl. Sci. Res. , 2(12): 1203 -1211 .
46- Osman, M.E.H. ; Elfeky, S.S. ; Abo El-Soud, K. and Hasan, A.M. (2007). Response of *Catharanthus roseus* shoots to salinity and drought in relation to vincristine alkaloid content. Asian J. Plant Sci., 6(8): 1223-1228.
47- Misra, N. and Gupta, A.K. (2006). Effect of salinity and different nitrogen sources on the activity of antioxidant enzymes and indole alkaloid content in *Cathatanthus roseus* seedlings. J. Plant Physiol., 136:11-18.
48- Sreevalli, Y. ; Kulkarni, R.N. ; Baskaraan, K. and Chandrashekara, R.S. (2004) . Increasing the content of leaf and root alkaloids of high alkaloid content mutants of periwinkle through nitrogen fertilization . Industrial Crops and Products, 19: 191 – 195.

Effect of Sodium Chloride (NaCl) and Biofertilizer (Agrispoon) on Growth of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don and Production of Alkaloids Vincristine and Vinblastine

Abdulameer Ali Yaseen
College of Education
University of Al-Qadissiya

Layth Sareea Al-Rekaby
College of Science
University of Al-Qadissiya

Abstract:-

This experiment was conducted in Biology Department of College of Science , Al-Qadisiya University during the period from 1/11/2009 to 1/4/2010.

The goal of the experiment was to find the effect of four levels of sodium chloride include 0 and 6 and 9 and 12 dsm/m and three levels of biofertilizer (Agrispoon) include 0 and 3 and 6 ml/L on growth characteristics and production of medicinal active substance (vincristine and vinblastine) of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don . Forty eight transplants at age of one month were transplanted in plastic pots with dimension of 15 × 20 cm (one transplant per pot) in 1/11/2009 . The Agrispoon was sprayed twice during the growing season on 1/11/200 and 1/12/2009 at the early morning on the plant shoot till complete wetness . Sodium chloride were imposed on plants when even irrigation was needed .The design of the experiment was Randomized Complete Blocks Design (RCBD) in a factorial arrangement (4×3) in four replications . The Revised Least Significant Difference (RLSD) was used to compare treatment means at 5 % probability level when treatment effect was significant . Results were as follow :

1-Increasing sodium chloride concentration caused a significant decrease in leaf area average and dry weight of shoot , leaves content of total chlorophyll and nutrient elements N and K/Na ratio and caused a significant increased in leaf content of proline and VIC and VIB alkaloids .

2-Increasing biofertilizer concentration caused a significant increase in all vegetative growth characteristics except that of content of proline which was significantly decreased .

3- The interaction between sodium chloride and biofertilizer caused a significant increase in leaves content of VIC and VIB alkaloids . The highest amount of VIC was 0.3400 µgm/gm dry weight of leaves and VIB 0.6829 µgm/gm dry weight of leaves were produced from the combination treatment of 12 dsm/m salt and 6 ml/L biofertilizer .