

استحداث التضاعف الكروموسومي والتقييم المبكر لشتلات الروبينيا *Robinia pseudoacacia L.*

ناظم ذنون سعيد
عمر مظفر عمر
قسم الغابات ، كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في المشتل ومختبر تنمية وتربية الغابات في قسم الغابات للفترة من بداية شهر شباط وحتى نهاية شهر تشرين الأول عام ٢٠٠٧ بهدف إحداث التضاعف الكروموسومي Polyploidy لشتلات الروبينيا *Robinia pseudoacacia L.* من خلال نقع بذورها في المحلول المائي لتراكيز مختلفة من قلويد الكولشيسين ولفترات مختلفة ومن أهم النتائج بالنسبة لتأثير تراكيز الكولشيسين ظهر حدوث تضاعف كروموسومي رباعي $4n$ ٤٨ كروموسوما عند نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر بنسبة ٣٤.٦٨ % في حين كان معدل هذه النسبة عند نقع الشتلات بتركيز ٥٠٠ ملغم / لتر ٥.٥٥ % بينما أدى نقع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر إلى حدوث التضاعف الثلاثي $3n$ ٣٦ كروموسوما وبنسبة ٣٢.٧٩ % أما المعاملات الأخرى المتبقية حافظت على عددها الثنائي $2n$ ٢٤ كروموسوما . أما بالنسبة للصفات المدروسة فقد أدى التركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر إلى خفض نسبة الإنبات بمقدار ٢٨.٢٠ % مقارنة مع التركيز صفر بينما أدى التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر إلى خفض معدلات صفة عامل شكل الوريقة ، عدد الثغور في المليمتر المربع الواحد حيث بلغت نسبة قلة المعدلات ١٨.٨١ و ٥٥.٣١ % على التوالي بينما أدى هذا التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر إلى زيادة طول الساق بنسبة ٣٠.٤٣ % ، قطر الساق ٣٨.٢٦ % ، طول الجهاز الثغري ٤٩.٦٣ % ، عرض الجهاز الثغري ٥٦.٣٠ % إذا ما قورن مع نقع البذور بالماء فقط . وفيما يخص فترات النقع أثرت فترة النقع ٢٤ ساعة تأثيرا معنويا في جميع الصفات المدروسة وأعطت اقل المعدلات لصفات نسبة الإنبات ، عامل شكل الوريقة وعدد الثغور في حين أدت هذه الفترة إلى زيادة معنوية في بقية الصفات المدروسة . لتأثير التداخل أدى نقع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ ساعة إلى خفض نسبة الإنبات بمقدار ٣١.٢٣ % بينما أدى نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ ساعة إلى زيادة طول الساق ، قطر الساق ، طول الجهاز الثغري وعرض الجهاز الثغري . حيث ازدادت هذه الصفات زيادة معنوية بنسبة ٣١.٣١ ، ٣٥.١٧ ، ٤٣.٥٧ ، ٥٤.٠٩ % كما وأدى هذا التداخل إلى خفض معدلات الصفات عامل الشكل بنسبة ٣١.٢٥ % ، وعدد الثغور في المليمتر المربع الواحد بنسبة ٥٣.٨٤ % إذا ما قورن مع نقع البذور بالماء فقط .

المقدمة

تعد عملية احداث التضاعف الكروموسومي اصطناعيا من احد الوسائل المستخدمة لتحسين انواع النباتات اضافة الى تحويل الهجن العقيمة الى نباتات خصبة ، وهناك نوعين من التضاعف الكامل Euploidy والتضاعف الناقص Aneuploidy ويعني التضاعف الكروموسومي الكامل تضاعف لعدد الكروموسومات الاصلية الكلي او الاساسي للكائن الحي . تنشأ المتضاعفات طبيعيا او صناعيا حيث تحدث في الطبيعة نتيجة لتعرض النبات الى الصواعق او الاشعة او البرودة القاسية والتي تؤدي جميعها الى عدم حدوث انقسام في سايتوبلازم الخلية وعدم تكون المغزل بعد الانقسام الميوزي الذي يحصل فيه تضاعف للكروموسومات ، وبدلا من ان تتكون خليتين تحوي كل منهما على العدد الاصلية للكروموسومات سوف تبقى خلية واحدة تحتوي على ضعف العدد الاصلية من الكروموسومات (محمد ، ١٩٨٢) ويمكن احداث هذا التضاعف صناعيا باستخدام العقار قلويد الكولشيسين (Alkaloid colchicine) او اسينافثين (Acenaphthene) او فيراترين (Veratrine) والاكثر استعمالا هو قلويد الكولشيسين بالتراكيز ٠.٠٥ ، ٠.١٠ ، ٠.٢٠ % وهو مستخلص من كورمات الزعفران الربيعي *Colchium autumnale* حيث تبلغ نسبته ٠.٠٤ % من المادة الجافة ووزنه النوعي ٣٩٩ وتركيبه الكيميائي

البحث مستل من رسالة الباحث الثاني

تاريخ تسلم البحث ٢٠١١/٥/٣ وقبوله ٢٠١١/٩/١٢

$C_{22}H_{25}O_6N$ (Ziese ، ١٨٨٣) . ويعمل على منع تكوين المغزل عند الانقسام الخلوي او يمنع تصنيع البروتين المكون لالياف المغزل (Jackson ، ١٩٧٦) ، تشير الدراسات الى اهمية التضاعف الكروموسومي ومنها التي اجراها سعيد ودخيل (٢٠٠١) و Poskuta و Nelson (١٩٨٦) و Joseph و اخرون (١٩٨١) والتي تبين ان النباتات الرباعية تتصف بانها اكثر قوة في نموها وذات قدرة افضل في

العيش في بيئات اقل ملائمة لها وذات مقاومة اكبر للاصابات الحشرية والمرضية ولها محتوى اكبر من اليخضور والبروتين وازهارها اكبر بالاضافة الى رغبة المستهلك بالاصناف الرباعية من الناحية التجارية عند مقارنتها بالاصناف الثنائية . والروبينيا او زهرة العنقود تنتمي الى جنس *Robinia L.* الذي يحتوي على عشرة انواع الى العائلة الفراشييه *Popilionaceae* ، يعيش هذا النوع في منطقة الشرق الاوسط وشرق الولايات المتحدة الامريكية وفي مناطق عديدة من العالم تاقلم للعيش فيها وهو من الانواع المحبة للضوء والتي تفضل الاراضي الخفيفة والتي تحتوي على رطوبة قليلة وتعيش في الاراضي الرملية الجافة والتراب الكلسية وتحتمل الملوحة . تعد شجرة الروبينيا من الاشجار ثنائية الغرض لاحتوائها على عقد نتروجينية تقوم بتثبيت النتروجين في التربة بالاضافة الى خشبها الصلب والمتين ، وهي من الانواع متساقطة الاوراق حيث تستعمل اوراقها علف للحيوانات اما شتلاتها فتستعمل في تشجير جوانب الطرق وتكوين الظل والزينة لانها كثيرة التفرع (نحال ، ٢٠٠٢) و (داؤد ، ١٩٧٩) . ونتيجة لما تقدم عن اهمية التضاعف الكروموسومي ، اجريت هذه الدراسة لغرض مضاعفة العدد الكروموسومي بغمر بذور الروبينيا في المحلول المائي لقلويد الكولشيسين بتركيز مختلفة ولفترات مختلفة للوصول الى التركيز والفترة التي يحدث عندها التضاعف للعدد الكروموسومي للروبينيا ، ومقارنة النباتات الرباعية بالنباتات الثنائية في الصفات المدروسة ، وبما ان العدد الكروموسومي للروبينيا هو $2n=24$ لذلك يعتبر من الانواع التي يمكن احداث التضاعف الكروموسومي فيهما لغرض تحسينه .

مواد البحث وطرائقه

اجريت هذه الدراسة في مشتل قسم الغابات في كلية الزراعة والغابات للمدة من بداية شهر شباط وحتى نهاية شهر تشرين الأول من عام ٢٠٠٧ حيث تم الحصول على بذور الروبينيا *Robinia pseudoacacia L.* من منطقة عقره في محافظة نينوى واستعملت مادة الكولشيسين (*Colchicine*) بهدف إحداث التضاعف الكروموسومي للروبينيا عن طريق نقع البذور في محلوله المائي ولفترات مختلفة ثم التقييم المبكر للشتلات ، وقد شملت الدراسة عاملين :

العامل الأول : مادة الكولشيسين بأربع تراكيز هي صفر و ٥٠٠ و ١٠٠٠ و ٢٠٠٠ ملغم / لتر
العامل الثاني : فترات نقع بذور الروبينيا في المحلول المائي لتراكيز الكولشيسين وبأربع فترات هي ٦ و ١٢ و ١٨ و ٢٤ ساعة

استخدم تصميم القطاعات العشوائى الكامل بعاملين 4×4 بثلاث قطاعات حيث بلغ عدد المعاملات ١٦ وبلغ عدد الوحدات التجريبية ٤٨ وحدة تجريبية (الراوي وخلف الله ، ٢٠٠٠) .

عوملت بذور الروبينيا بالنقع بالمحلول المائي لتراكيز الكولشيسين وحسب الفترات المحددة في مخطط الدراسة ثم غسلت بالماء الجاري لفترة طويلة لإزالة أثار مادة الكولشيسين . اخذ ٦٠ بذرة من كل معاملة ووضعت في ثلاث أطباق بترى نظيفة ومعقمة بعد أن وضع في كل طبق ورقة ترشيع معقمة ورطبة وبواقع ٢٠ بذرة في كل طبق ثم تركت في حاضنة الإنبات بدرجة حرارة ٢٠ - ٢٥°م في مختبر تنمية الغابات لإنباتها لغرض الحصول على الجذيرات لدراسة عدد الكروموسومات ، وبعد الحصول على الجذيرات والجذور لهذه البذور تم إتباع الخطوات التالية :

التثبيت : تم تثبيت النهايات الجذرية بعد استئصالها من البادرات بطول ١٠ ملليمتر باستخدام محلول كارنوي أول (1) Carnoy's fluid والمنكون من ثلاثة حجوم من الكحول الايثيلي المطلق Absolute alcohol وحجم واحد من حامض ألكليك الثلجي Glacial acetic acid والمحضر أنيا لتجنب تكون خلايا الاثيل التي تزيد من درجة اصطبغ السيتوبلازم (Sharma و Sharma ، ١٩٨٠) وتركت لمدة ٢٤ ساعة بدرجة حرارة الغرفة وبعد ذلك غسلت بالكحول الايثيلي وبتركيز ٧٠ % مع الرج بين فترة وأخرى لمدة ثلاث ساعات مع تبديل الكحول كل ساعة بعدها حفظت في التركيز الكحولي نفسه داخل المجمدة لحين الاستعمال .
التصبغ وتحضير الشرائح : استخدم صبغة الكارمين الحامضية بتركيز ٢ % في صبغة النهايات الجذرية لمدة ٢٤ ساعة وبعدها أزيل الماء بعملية سحب الماء Dehydration وذلك بإمرار الجذور في سلسلة تراكيز من الكحول الايثيلي ٣٠ % و ٥٠ % و ٧٠ % على التوالي واستعملت طريقة الهرس Squash method في تحضير الشرائح حيث وضع طرف الجذر المصبوغ على الشريحة الزجاجية وبواسطة إبرتي التشريح الدقيقتين أزيلت القلنسوة Root cap واخذ ١ - ٢ ملم من طرف الجذر وهرس على شريحة زجاجية هرسا

جيدا باستخدام بعض القطرات من حامض ألكليك الثلجي بتركيز ٤٥ % ثم وضع غطاء الشريحة بدقة لمنع تكون الفقاعات الهوائية وبواسطة النهاية العريضة لإبرة التشريح يضرب باعتناء عددة ضربات سريعة ومستمرة على غطاء الشريحة لتوزيع الخلايا بشكل متساوي ولطرد الفقاعات الهوائية المتكونة ثم مررت الشريحة على لهب مصباح كحولي هادئ ٤ - ٥ مرات متتالية وبعد ذلك وضعت الشريحة بين طيات ورقتي التشريح وضغط عليها بقوة بواسطة الإبهام ، ثم فحصت تحت المجهر واختيرت الخلايا التي تحتوي على أطوار انقسام واضحة والتي يسهل عد الكروموسومات فيها ، ثم صورت بعضها بواسطة كاميرة المجهر المركب من نوع Olympus بعد دراستها بالعدسة الزيتية . حضرت أكياس بلاستيكية سوداء بولي اثلين اسطوانية الشكل نصف قطر قاعدته ١٠ سم وارتفاعه ٣٠ سم مملوء بترربة رملية مزيجيه حيث رتبت بشكل ثلاث قطاعات كل قطاع يحوي على ١٦ وحدة تجريبية وكل وحدة تجريبية مكونة من ٢٠ كيس في داخل الظلة الخشبية نسبة الضوء فيها ٥٠ % في مشتل قسم الغابات . زرعت البذور المعاملة بالمحلول المائي لتراكيز الكولشيسين وللفترات المختلفة في ٢٧ / ٢ / ٢٠٠٧ في الأكياس البلاستيكية وبمعدل بذرة واحدة في كل كيس وحسب مخطط الدراسة حيث حصل أول إنبات لبذور الروبينيا في ١١ نيسان من نفس العام واستمرت عمليتا السقي والإدامة للشتلات حتى نهاية التجربة . وفي نهاية شهر تشرين الأول أخذت النتائج النهائية لجميع المعاملات حيث اختيرت اكبر خمسة شتلات من كل وحدة تجريبية ولكل المعاملات ودرست الصفات التالية بعد تحليل بيانات كل صفة إحصائيا وفق تصميم التجربة وباستخدام جهاز الكمبيوتر وبرنامج (Anonymous ، ١٩٩٦) للتحليل الإحصائي وتم مقارنة الأوساط الحسابية باختبار دنكن متعدد الحدود Duncan's Multiple Range Test وتحت مستوى احتمال ٠.٠٥ (الراوي وخلف الله ، ٢٠٠٠) للعوامل المدروسة والتداخلات بينها

نسبة الإنبات % : حسب النسبة المئوية للشتلات الحية عند نهاية التجربة ولجميع المعاملات وحولت تحويلا زاويا .

معامل شكل الوريقة : أخذت اكبر ورقة من كل شتلة في الوحدة التجريبية واستعملت طريقة الاستنساخ لهذه الأوراق ثم اختيرت اكبر وريقة من كل اكبر ورقة وتم قياس طول النصل وعرض النصل بواسطة شريط القياس لأكبر وريقة وحسب عامل شكل الوريقة بالعلاقة التالية :

معامل شكل الوريقة = طول النصل / عرض النصل

طول الساق (سم) : تم قياس طول الساق لكل شتلة بواسطة شريط القياس من نقطة اتصال الساق بالجذر إلى نهاية القمة النامية للساق .

قطر الساق (ملم) : تم قياس قطر الساق على ارتفاع ٢ سم من نقطة اتصال الساق بالجذر بواسطة آلة القياس الدقيق (Vernia) .

عدد الثغور : حسب العدد في ٢٥ قراءة للشريحة الواحدة ثم استخراج المتوسط وتم حساب عدد الثغور في الملمتر المربع الواحد باستخدام شريحة مدرجة

طول الجهاز الثغري (ملم) : تم قياس طول ٢٥ جهاز ثغري للشريحة الواحدة واستخرج المتوسط ثم حسب طول الجهاز الثغري بالمليمتر باستخدام شريحة مدرجة

عرض الجهاز الثغري (ملم) : تم قياس عرض ٢٥ جهاز ثغري للشريحة الواحدة واستخرج المتوسط وباستخدام شريحة مدرجة حسب عرض الجهاز الثغري بالمليمتر. علما بان قياس صفات الجهاز الثغري الثلاثة والانفة الذكر تم باستخدام عينية Ocular micrometer قوة تكبيرها (7X) وعدسة شينية (40X)

النتائج والمناقشة

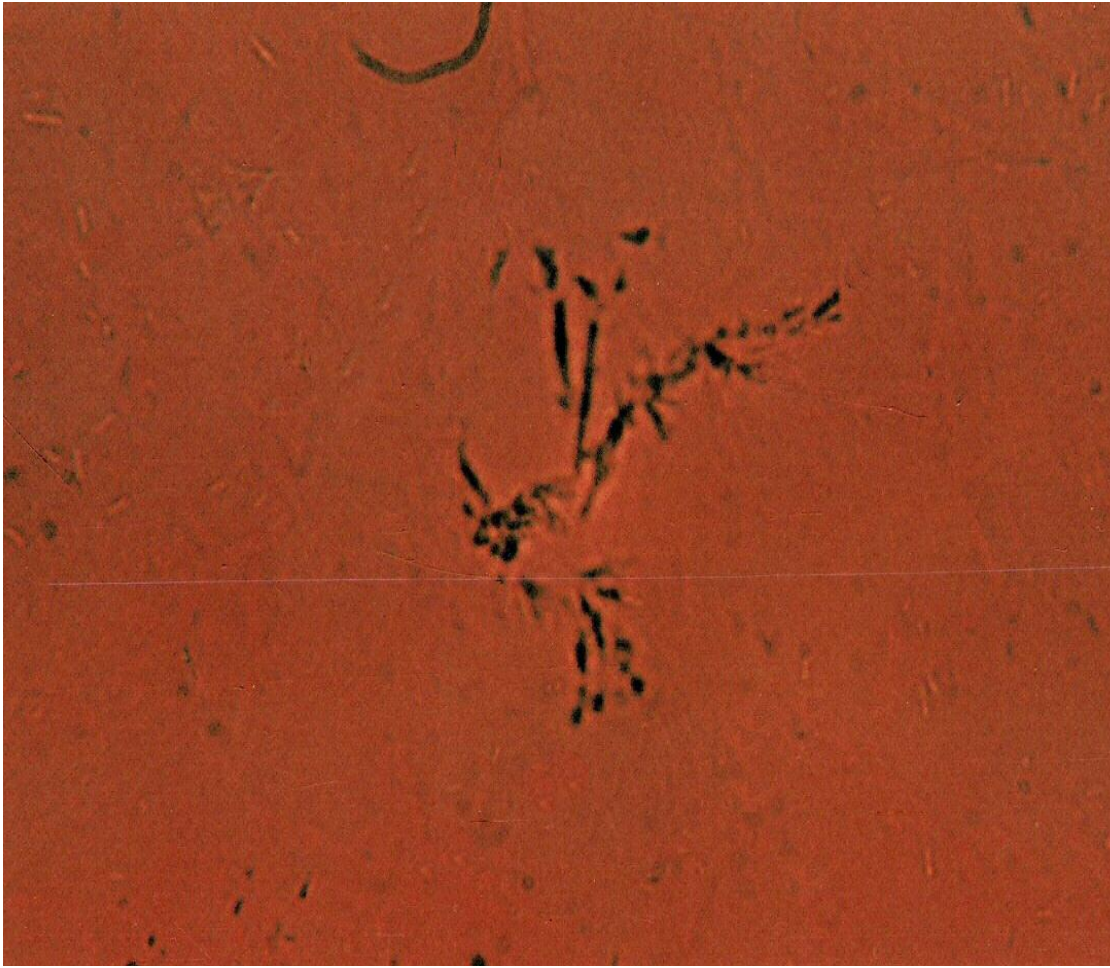
بالنسبة للفحص المختبري يشير الجدول ١ إلى إن أعلى نسبة لبذور الروبينيا النابتة كانت ٦٨.٣٣ % عند نقع البذور بالماء فقط ولفترة ٢٤ ساعة وقل نسبة لإنبات البذور كانت ٢٣.٣٣ % عند نقع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ ساعة واختلفت نسبة البذور النابتة لبقية المعاملات بين هاتين القيمتين، ويتضح من الجدول ذاته أن نسبة البذور النابتة تقل كلما زاد تركيز الكولشيسين وزادت فترة النقع ويرجع هذا إلى زيادة التأثير السمي للكولشيسين مما يؤدي إلى زيادة الفقد في البذور النابتة وتتفق هذه النتيجة مع ما ذكره Abdel Rahem (١٩٧٧) من أن نسبة الإنبات تنخفض في حالة زيادة تركيز الكولشيسين وزيادة فترة النقع مقارنة مع البذور غير المعاملة لبذور البرسيم المصري من خلال عمرها بالكولشيسين بتركيز ٠.١ و ٠.٢ و ٤ و ٦ و ٨ ساعة . ويبين الجدول ١ نسبة التضاعف الكروموسومي من خلال عد الكروموسومات لنويات القمم النامية للجذور لكل البذور النابتة حيث كانت أعلى نسبة

للتضاعف الكروموسومي الرباعي 4n والبالغ ٤٨ كروموسوم ٤٧.٨٢ % عند نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ ساعة ثم انخفضت إلى ٤١.٦٦ % عند نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ١٨ ساعة وتبعه نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ١٢ ساعة ثم الفترة ٦ ساعات اللذان سجلا ٣٠.٧٦ % و ١٨.٥١ % على التوالي كنسب للتضاعف الكروموسومي الرباعي ، أما نقع البذور بتركيز ٥٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ ساعة أعطى نسبة للتضاعف الرباعي قدرها ٢٢.٢٢ % يتضح من الجدول نفسه أن معدل حدوث التضاعف الكروموسومي الرباعي عند نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر بلغ ٣٤.٦٨ % وبالنسبة لنقع البذور بتركيز ٥٠٠ ملغم / لتر بلغ ٥.٥٥ % اللوحة (١) .

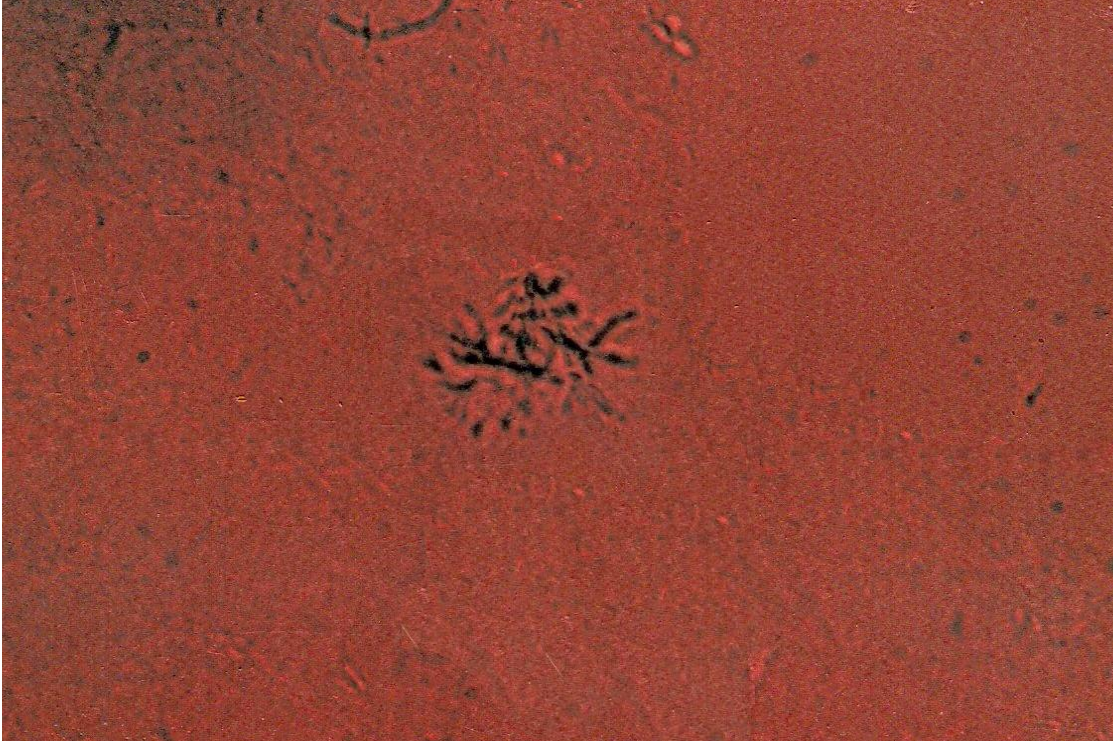
الجدول (١) : النسبة المئوية للإنبات ألمختبري والمتضاعفات لبذور الروبينا

تراكيز الكولشيسين ملغم / لتر	فترات النقع ساعة	عدد البذور النابتة	النسبة المئوية للبنود النابتة	عدد البذور المتضاعفة 4n 3n	% للبذور المتضاعفة 4n 3n
صفر	٦	٣٢	٥٣.٣٣	صفر	صفر
صفر	١٢	٣٣	٥٥.٠٠	صفر	صفر
صفر	١٨	٣٦	٦٠.٠٠	صفر	صفر
صفر	٢٤	٤١	٦٨.٣٣	صفر	صفر
٥٠٠	٦	٣١	٥١.٦٦	صفر	صفر
٥٠٠	١٢	٢٩	٤٨.٣٣	صفر	صفر
٥٠٠	١٨	٢٨	٤٦.٦٦	صفر	صفر
٥٠٠	٢٤	٢٧	٤٥.٠٠	4n ٦	٢٢.٢٢
١٠٠٠	٦	٢٧	٤٥.٠٠	4n ٥	١٨.٥١
١٠٠٠	١٢	٢٦	٤٣.٣٣	4n ٨	٣٠.٧٦
١٠٠٠	١٨	٢٤	٤٠.٠٠	4n ١٠	٤١.٦٦
١٠٠٠	٢٤	٢٣	٣٨.٣٣	4n ١١	٤٧.٨٢
٢٠٠٠	٦	١٩	٣١.٦٦	3n ٥	٢٦.٣١
٢٠٠٠	١٢	١٨	٣٠.٠٠	3n ٦	٣٣.٨٨
٢٠٠٠	١٨	١٧	٢٨.٣٣	3n ٧	٣٥.٢٩
٢٠٠٠	٢٤	١٤	٢٣.٣٣	3n ٥	٣٥.٧١

أما نقع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر فكان عدد الكروموسومات في نويات القمم النامية للجذور ٣٦ كروموسوم أي تضاعف ثلاثي 3n حيث كانت أعلى نسبة لهذا التضاعف ٣٥.٧١ % عند نقع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ ساعة ثم نقع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ١٨ و ١٢ و ٦ ساعة الذين سجلوا ٣٥.٢٩ % و ٣٣.٨٨ % و ٢٦.٣١ % كنسب للتضاعف الثلاثي . اللوحة (٢) ونلاحظ من الجدول نفسه إن معدل حدوث التضاعف الكروموسومي الثلاثي عند نقع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر بلغ ٣٢.٧٩ % أما بقية البذور والمعاملات الأخرى المستخدمة في الدراسة لم يظهر فيها التضاعف الكروموسومي أي بقيت ثنائية العدد الكروموسومي 2n = ٢٤ كروموسوم اللوحة (٣) وتتفق هذه النتيجة مع Mehta و Swaminathan (١٩٥٧) اللذين حصلوا على نسبة للنباتات الرباعية قدرها ٣٠ % من خلال معاملة البادرات لنبات البرسيم المصري بالكولشيسين بتركيز ٠.٠٥ و ٠.١ و ٠.٢ % وتتفق مع Chakraborti وآخرون (٢٠٠٤) اللذين حصلوا على نباتات رباعية التضاعف بنسبة ٤.٨ – ٣٩.٤ % من خلال معاملة البراعم القمية النامية لشتلات التوت الأبيض *Morus alba* بتركيز ٠.١ % ولمدة ٢٤ ساعة في حين أن هذه النسبة انخفضت عند التركيز ٠.٢ % من الكولشيسين وبلغت ٢.٣ – ١٦ % .



اللوحة (١) : عدد الكروموسومات في التضاعف الرباعي (4n) للروبينيا في طور الاستوائي



اللوحة (٢) : عدد الكروموسومات في التضاعف الثلاثي (3n) للروبينيا في الطور الاستوائي



اللوحة (٣) : عدد الكروموسومات في معاملة المقارنة الثنائية (2n) للروبينيا في الطور الاستوائي

صفات نمو شتلات الروبينيا : الجدول ٢ يشير إلى المدى ومعامل التباين والمعدل \pm الانحراف القياسي لصفات نمو ومورفولوجية شتلات الروبينيا وذلك في جميع المتغيرات ، ولما كانت هذه الشتلات ممثلة ضمن

العينة الكلية كعينة عشوائية للتباين الكلي لشتلات الروبينا لذلك تكون المعدلات ممثلة لها وعلى الأقل من الناحية النظرية إذا ما أخذنا بنظر الاعتبار أن أسلوب التباين واحد وان القيمة الأكبر لمعامل التباين دلالة على التشتت في هذه القيم ومعنى هذا أن الصفة ذات المدى الواسع (الفرق بين أكبر و اصغر معدل) ومعامل تباين عالي تمتلك مدى واسع من التباين والاختلاف وهذه النتيجة ايجابية توفر فرصة كبيرة لاستخدام هذه الصفة كأداة تقييم وغربلة Screening ومن ثم الانتخاب التحسيني النوعي Specific Selective Improvement وعلى العكس من ذلك تماما فان الانحراف القياسي سيكون ذو قيمة اقل (الراوي و خلف الله ، ٢٠٠٠ وأبو زيد عقل وآخرون (١٩٨١) .

وبناء على ما تقدم يبين الجدول ٢ إن المديات توزعت بين الصفات المدروسة من ١٠٢.٠٥ إلى ٠.٠٧٩ وتباينت الصفات المتبقية بين هاتين القيمتين حيث كان أوسع مدى ١٠٢.٠٥ عند صفة عدد الثغور للبشرة السفلى للوريقة في المليمتر المربع الواحد واصغر مدى كان ٠.٠٧٩ عند صفة عرض الجهاز الثغري (ملم) هذه النتيجة توضح أن صفة عدد الثغور تأثرت بدرجة كبيرة وعكست الجانب الايجابي حيث إن عدد الثغور يقل بالتأثير بالكولشيسين بالدرجة الأولى مما أدى إلى هذا المدى الواسع وهذا ما يعكس حدوث التضاعف الكروموسومي عند المعاملة بالكولشيسين وتتفق هذه النتيجة مع كل من Saeed وآخرون (٢٠٠٦) ومع Guofeng وآخرون (٢٠٠٧) ، Mensah وآخرون (٢٠٠٧) وجاءت صفة طول الساق بالمرتبة الثانية بالأهمية وأعطت مدى قدره ٧٣.٠٠ ثم تبعها المدى ٥١.٨٢ عند صفة نسبة الإنبات . أما بالنسبة لمعامل التباين يبين الجدول ٢ إن معامل التباين توزع بين ٣٩.٩٠ – ١٣.٥٧ % فكان أكبر معامل للتباين ٣٩.٩٠ % عند صفة عرض الجهاز الثغري في حين كان اقل معامل للتباين عند صفة عامل شكل الوريقة وجاءت صفة عدد الثغور بالمرتبة الثانية ثم صفة قطر الساق وطول الجهاز الثغري وأعطوا معامل تباين بلغ ٣٩.٩٠ و ٣٣.٤٧ و ٣١.٧٧ و ٣١.٥٠ % على التوالي وجميع هذه الصفات ذات معامل تباين عالي مما يدل على أنها تمتلك مدى واسع من التباين والتشتت .

إما المعدل \pm الانحراف القياسي يوضح الجدول ٢ إن صفة عدد الثغور تمتلك أعلى معدل قدره ١١١.٦٣ \pm ٣٣.٤٧ وهذا دليل على أن هذه الصفة ذات مدى واسع من التباين والاختلاف وجاءت صفة المساحة صفة طول الساق وسجلت معدل قدره ٦١.٧٨ \pm ١٧.٩٠ ، ان زيادة المعدل في صفة عدد الثغور لا تعني هي الأفضل بل بالعكس القيمة الأقل هي الأفضل مما يؤدي إلى مدى واسع من التباين والاختلاف ، ثم تبعها الصفات المتبقية بمعدلات مختلفة حتى وصلت إلى اقل معدل قدره ٠.٠٧٦ \pm ٣٩.٩٠ عند صفة عرض الجهاز الثغري . اما بالنسبة لقيم F المحسوبة للصفات المدروسة يوضح الجدول ٣ يوضح تأثير الموديل وتراكيز الكولشيسين و فترات النقع والتداخل بينها في صفات نمو ومورفولوجية شتلات الروبينا حيث اثر كل من الموديل وتراكيز الكولشيسين تأثيرا معنويا عاليا عند مستوى احتمال (٠.٠١) في جميع الصفات المدروسة في حين كان تأثير فترات النقع معنويا عاليا عند مستوى احتمال (٠.٠١) في عامل شكل الوريقة ، طول الساق ، قطر الساق ، عدد الثغور ، طول الجهاز الثغري وعرض الجهاز الثغري بينما لم يظهر أي تأثير معنوي في نسبة الإنبات أما تأثير التداخل بين تراكيز الكولشيسين وفترات النقع كان معنويا عند مستوى احتمال (٠.٠٥) في صفة عامل شكل الوريقة بينما كان التأثير معنويا عاليا عند مستوى احتمال (٠.٠١) في بقية الصفات المدروسة ، وبالرغم من عدم وجود تأثير معنوي في بعض الصفات إلا انه ظهرت فروق معنوية بين التداخلات لكل صفة عند تطبيق اختبار دنكن . وفيما يأتي نتائج كل صفة من الصفات المدروسة **نسبة الإنبات** : اختبار دنكن الجدول ٤ يبين الفروق المعنوية بين تأثير تراكيز الكولشيسين في نسبة الإنبات حيث اختلفت التراكيز معنويا فيما بينها بالتأثير وأعطت معاملة المقارنة النقع بالماء فقط أعلى نسبة إنبات بلغت ٥٦.٤٤ % وجاء التركيز ٥٠٠ ملغم / لتر بالمرتبة الثانية بالتفوق وأعطى ٤٥.٩٤ % ثم تبعه التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر الذي أعطى ٣٨.٨٥ % ثم سجل التركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر اقل نسبة إنبات قدرها ٢٨.٢٤ % وأدى هذا التركيز إلى خفض نسبة الإنبات معنويا بمقدار ٢٨.٢٠ % والذي يعادل ٤٩.٦ % مقارنة مع معاملة المقارنة التي سجلت أعلى نسبة إنبات وربما يرجع هذا إلى زيادة التأثير السمي للكولشيسين مما يؤدي إلى زيادة النقص في نسبة الإنبات . أما تأثير فترات النقع فلم يظهر الجدول ٥ أي اختلاف معنوي بين تأثير فترات النقع في هذه الصفة .

الجدول (٢) : يبين المدى ، معامل التباين والمعدل \pm الانحراف القياسي لصفات النمو ومورفولوجية شتلات الروبينا المدروسة .

الصفات	المدى	المتوسط	% معامل التباين	المتوسط ± النحرف القياسي
نسبة الإنبات %	١٨.٤٤ – ٧٠.٢٦	٥١.٨٢	٢٧.٣٣	١١.٥٨ ± ٤٢.٣٧
عامل شكل الوريقة	١.١٠ – ٢.٤٤	١.٣٤	١٣.٥٧	٠.٢٤ ± ١.٨٣
طول الساق سم	٢٥.٠٠ – ٩٨.٠٠	٧٣.٠٠	٢٨.٩٧	١٧.٩٠ ± ٦١.٧٨
قطر الساق ملم	٣.٦٣ – ١٠.٦٣	٧.٠٠	٣١.٥٩	١.٨٩ ± ٦.٠٠
عدد الثغور / ملم ^٢	٥٧.١٨ – ١٥٩.٢٣	١٠٢.٠٥	٣٣.٤٧	٣٣.٤٧ ± ١١١.٦٣
طول الجهاز الثغري ملم	٠.٠٦٠ – ٠.١٤١	٠.٠٨١	٣١.٥٠	٣١.٥٠ ± ٠.٠٩٤
عرض الجهاز الثغري ملم	٠.٠٤٣ – ٠.١٢٢	٠.٠٧٩	٣٩.٩٠	٣٩.٩٠ ± ٠.٠٧٦

الجدول (٣) : قيم F المحسوبة لصفات النمو ومورفولوجية شتلات الروبينيا المدروسة من حيث تأثير الموديل وتراكيز الكولشيسين وفترات النقع والتداخل بينهما.

الصفات	الموديل	تراكيز الكولشيسين ملغم/لتر	فترات الغمر ساعة	تراكيز الكولشيسين * فترات الغمر
نسبة الإنبات %	**٣٢.٩٣	**١٥٨.١٩	٠.١٦	**٩.٢٧
عامل شكل الوريقة	**٢٠.٢٩	**١٠١.١٨	**٦.٢٤	*٢.٤٣
طول الساق سم	**٥٥.٩٥	**٢٦٦.٩١	**٥.٠١	**٩.٠٧
قطر الساق ملم	**٩٤.٤١	**٤٩٩.٦٥	**١٧.٧٩	**٣.٧٥
عدد الثغور / ملم ^٢	**٩٧.١٨	**٤٣٢.٨٠	**٢٥.١٠	**٣٠.٩١
طول الجهاز الثغري ملم	**٥٠.٦١.٣٤	**٢٥٢٣.٤٦	**١٢٣٦.٤٧	**١٧٣٦.٦١
عرض الجهاز الثغري ملم	**٢٠.٥٧٥.٤	**١٠٤١.٤٣	**٣٧٧٣.٦١	**٢٨٩٢.٢٤

** وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ٠.٠١
* وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال ٠.٠٥

وبالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز الكولشيسين وفترات النقع في نسبة الإنبات اظهر الجدول ٦ اختلافات معنوية بالتأثير في هذه الصفة حيث تفوق نقع البذور بالماء فقط ولفترة ٢٤ ساعة معنوياً بالتأثير وسجل أعلى نسبة إنبات بلغت ٦٧.٣٢ % وتلته معاملة نقع البذور بالماء ولفترة ١٨ ساعة الذي أعطى ٥٧.٠٠ % كنسبة إنبات والذي لم يختلف معنوياً عن نقع البذور بالماء ولفترة ١٢ ساعة الذي بلغت عنده النسبة ٥٢.١٨ % في حين سجل نقع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر من محلول الكولشيسين ولفترة ٢٤ ساعة اقل نسبة إنبات بلغت ٢١.٠٣ % حيث أدت هذه المعاملة إلى خفض نسبة الإنبات بمقدار ٤٦.٢٩ % والتي تعادل ٦٨.٧٦ % إذا ما قورنت بنقع البذور بالماء فقط ولفترة ٢٤ ساعة التي بلغت عندها نسبة الإنبات أعلى معدلاتها .

معامل شكل الوريقة : يشير اختبار دنكن للمقارنة بين تأثير تراكيز الكولشيسين في صفة عامل شكل الوريقة (طول النصل / عرض النصل) الجدول ٤ إلى أن التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر اختلف معنوياً بالتأثير عن باقي التراكيز الأخرى وأدى إلى انخفاض معنوي في هذه الصفة حيث بلغ عنده معامل الشكل ١.٥١ وبفارق معنوي قدره ٠.٣٥ والذي يعادل ١٨.٨١ % إذا ما قورن بمعاملة المقارنة بدون الكولشيسين التي أعطت ١.٨٦ كعامل للشكل والتي لم تختلف معنوياً بالتأثير عن التركيز ٥٠٠ ملغم / لتر الذي سجل عامل شكل قدره ١.٨٤ والذي جاء بالمرتبة الثانية بالانخفاض المعنوي بعد التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر في حين سبب التركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر أعلى معدلات هذه الصفة وصل إلى ٢.١٣ . يتضح من

الجدول (٤) : تأثير تراكيز الكولشيسين في صفات النمو ومورفولوجية شتلات الروبينيا المدروسة

الصفات	صفر ملغم/لتر	٥٠٠ ملغم/لتر	١٠٠٠ ملغم/لتر	٢٠٠٠ ملغم/لتر
نسبة الإنبات %	أ ٥٦.٤٤	ب ٤٥.٩٤	ج ٣٨.٨٥	د ٢٨.٢٤

عامل شكل الوريقة	١.٨٦ ب	١.٨٤ ب	١.٥١ ج	٢.١٣ أ
طول الساق سم	٥٩.٩٠ ب	٦٠.٢٤ ب	٨٥.٩٩ أ	٤٠.٩٩ ج
قطر الساق ملم	٥.٤٧ ج	٥.٧٤ ب	٨.٨٦ أ	٣.٩١ د
عدد الثغور / ملم ^٢	١٤٤.٦٧ أ	٩٨.٢٨ ج	٦٤.٦٥ د	١٣٨.٩١ ب
طول الجهاز الثغري ملم	٠.٠٦٩ د	٠.١٠٠ ب	٠.١٣٧ أ	٠.٠٧١ ج
عرض الجهاز الثغري ملم	٠.٠٥٢ ج	٠.٠٨٤ ب	٠.١١٩ أ	٠.٠٤٩ د

أفقياً : الأرقام ذات الحروف المتشابهة لا تختلف معنوياً حسب اختبار دنكن

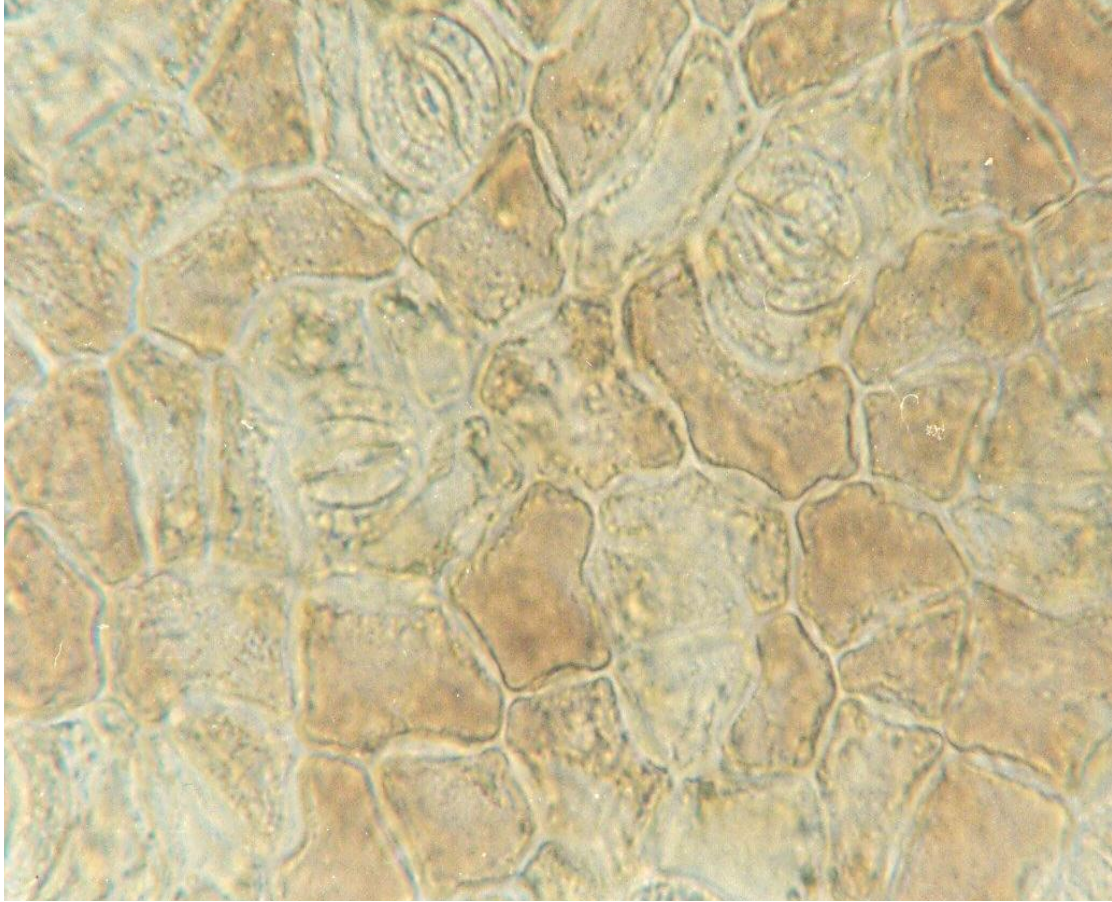
هذا إن التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر أعطى أقل نسبة (طول النصل / عرض النصل) مقارنة ببقية التراكيز الأخرى وهذا يعني أن عرض النصل يقترب بالقياس من طول النصل مما يؤدي إلى اقتراب شكل الوريقة إلى الشكل الدائري بعكس شكل الوريقة عند بقية التراكيز الأخرى الذي يقترب فيها إلى الشكل البيضوي هذا مما يدل على حدوث التضاعف الكروموسومي في هذا التركيز وهذه النتيجة تتفق مع Nguyen Thi Phuong Thao وآخرون (٢٠٠٣) من أن هنالك تبايناً في شكل الورقة بين الثنائيات والرباعيات حيث إن أوراق النباتات الثنائية استطالة في حين أن أوراق النباتات الرباعية تميل إلى الشكل الدائري في هذه الحالة يقترب عرض النصل من طول النصل عندما حصلوا على نباتات رباعية التضاعف من خلال نباتات استنتجت في المختبر التي كانت ثنائية Alocasia من خلال معاملة القمة النامية للأفرع الخضرية بالكولشيسين أو الأورزالين . وتتفق أيضاً مع Kermani وآخرون (٢٠٠٥) الذين ذكروا أن عامل شكل الوريقة (طول النصل/عرض النصل) قل معنوياً من الثنائيات إلى الرباعيات التضاعف عندما حصلوا على نموات خضرية متضاعفة رباعية لنبات الورد Rosa من خلال معاملة القمة النامية بمادة الأورزالين وبتركيز ٥ ملغم / مول ولفترة ١٤ يوم . وبالنسبة لتأثير فترات النقع في عامل شكل الوريقة يتضح من اختبار دنكن الجدول ٥ يظهر إن أقل عامل للشكل ظهر عند فترة النقع ٢٤ ساعة الذي بلغ ١.٧٤ واختلفت هذه الفترة معنوياً عن باقي الفترات الأخرى التي لم يظهر أي فرق معنوي بينها حيث أعطت فترة النقع ٦ ساعات أعلى معامل للشكل قدره ١.٨٩ وأدت فترة النقع ٢٤ ساعة إلى انخفاض معنوي في هذه الصفة مقداره ٠.١٥ والذي يعادل ٧.٩٣ % مقارنة بفترة النقع ٦ ساعات ، يتضح من هذا إن عامل شكل الوريقة يقل كلما زادت فترة النقع مما يدل على حدوث التضاعف الكروموسومي في الفترة الأطول بنسب أكثر إذا ما قورنت بفترة النقع الأقصر . أما تأثير التداخل بين تراكيز الكولشيسين وفترات النقع يشير اختبار دنكن الجدول ٦ إلى إن نفع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ ساعة أعطى أقل المعدلات ١.٣٢ وأدى إلى انخفاض معنوي في هذه الصفة قدره ٠.٦٠ والذي يعادل ٣١.٢٥ % عند مقارنته بنقع البذور بالماء ولفترة ١٢ ساعة الذي بلغ عنده طول النصل / عرض النصل ١.٩٢ في حين وصل أعلى عامل للشكل إلى ٢.٢٤ عند نفع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ١٨ ساعة والذي لم يختلف معنوياً بالتأثير عن نفع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٦ ساعات ونلاحظ من الجدول والشكل أيضاً إن طول النصل/عرض النصل عند التركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر ولجميع الفترات كان أعلى من جميع التداخلات الأخرى حتى نفع البذور بالماء فقط ولجميع الفترات ، ونلاحظ أيضاً ضمن التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر يقل عامل شكل الوريقة كلما زادت فترة النقع وهذا يعود إلى حدوث التضاعف الكروموسومي بنسب مختلفة باختلاف فترات النقع .

طول وقطر الساق : يشير اختبار دنكن الجدول ٤ إلى إن تراكيز الكولشيسين اختلفت معنوياً بالتأثير في صفة طول الساق حيث تفوق التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر معنوياً بالتأثير عن بقية التراكيز الأخرى في هذه الصفة وسجل أعلى المعدلات بلغ ٨٥.٩٩ سم بفارق معنوي قدره ٢٦.٠٩ سم والذي يعادل ٤٣.٥٥ % إذا ما قورن بمعاملة المقارنة التي سجلت ٥٩.٩٠ سم والتي لم تختلف معنوياً بالتأثير عن التركيز ٥٠٠ ملغم / لتر الذي أعطى ٦٠.٢٤ سم كمعدل لهذه الصفة والذي جاء بالمرتبة الثانية بالتسلسل بعد التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر في حين سبب التركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر أقل معدلات هذه الصفة بلغ ٤٠.٩٩ سم . أما بالنسبة للمعدل لصفة قطر الساق فبيّن اختبار دنكن الجدول ٤ إلى إن التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر قد تفوق معنوياً بالتأثير عن بقية التراكيز الأخرى حيث أعطى أعلى المعدلات لقطر الساق وصل إلى ٨.٨٦ ملم وبفارق معنوي قدره ٣.٣٩ ملم والذي يعادل ٦١.٩٧ % مقارنة بنقع البذور بالماء فقط الذي أعطى ٥.٤٧ ملم كمعدل لهذه الصفة وجاء التركيز ٥٠٠ ملغم / لتر بالمرتبة الثانية بالأهمية وسجل معدل لقطر الساق مقداره ٥.٧٤ ملم بعد التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر بينما أعطى التركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر أقل المعدلات لهذه الصفة بلغ ٣.٩١ ملم ، نلاحظ مما تقدم إن التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر أدى إلى زيادة صفتي طول وقطر الساق معنوياً مقارنة ببقية

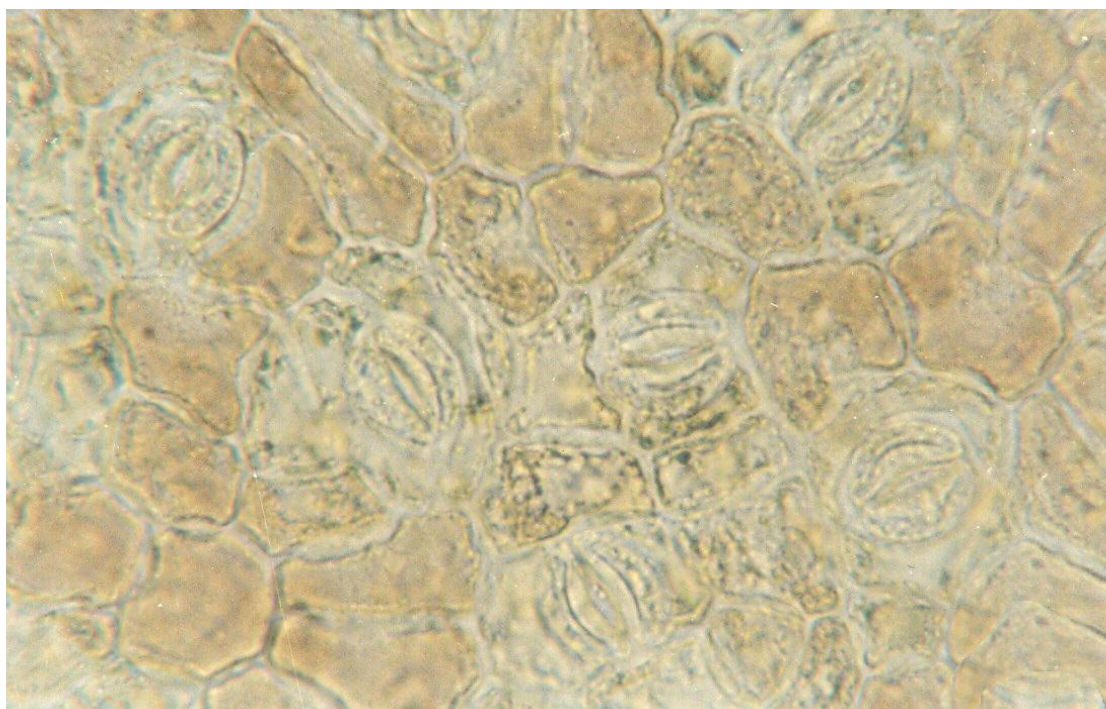
التراكيز الأخرى ويعود السبب في هذا إلى حدوث التضاعف الكروموسومي عند هذا التركيز وبنسبة عالية حيث إن حجم الخلايا في المتضاعفات يزداد مما يؤدي إلى زيادة طول وقطر الساق وهذه النتيجة تتفق مع الباحثة محمد (١٩٨٥) التي ذكرت أن قطر الساق لنبات البرسيم المصري ازداد عند معاملة بذوره بمحلول الكولشيسين بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر والذي أدى إلى حدوث التضاعف الكروموسومي ، كما أكد Mensah وآخرون (٢٠٠٧) إن نسبة تكرار الطفرة يزداد مع زيادة التراكيز المطفرة عندما عاملوا بذور *Sesame indicum L*. بتراكيز مختلفة من محاليل Sodium azid والكولشيسين وبتراكيز صفر - ٠.٢٥ % وتتفق أيضا مع سعيد ودخيل (٢٠٠١) عند ما حصلوا على زيادة في طول الساق لشتلات البوكالبتوس نتيجة معاملة البذور بالمحلول المائي للكولشيسين . الجدول ٥ للمقارنة بين تأثير فترات النقع في صفة طول الساق ظهر عدم وجود اختلاف معنوي بالتأثير بين فترتي النقع ٢٤ و ١٨ ساعة وأعطيا على التوالي ٦٥.٠٢ سم ، ٦٢.٤٢ سم وسجلت فترة النقع ٢٤ ساعة أعلى معدل لطول الساق وأدت إلى زيادة معنوية قدرها ٥.٨٢ سم والتي تعادل ٩.٨٣ % عند مقارنتها بفترة النقع ٦ ساعات والتي سجلت أقل المعدلات بلغ ٥٩.٢٠ سم والتي لم تختلف معنويا بالتأثير عن فترة النقع ١٢ ساعة التي أعطت ٦٠.٤٩ سم . أما تأثير فترات النقع في صفة قطر الساق يشير اختبار دنكن الجدول ٥ عند مستوى احتمال (٠.٠٥) إلى تفوق فترة النقع ٢٤ ساعة بالتأثير في هذه الصفة وأعطت أعلى معدل لقطر الساق بلغ ٦.٥١ ملم وبزيادة معنوية قدرها ٠.٨٦ ملم والتي تعادل ١٥.٢٢ % إذا ما قورنت بفترة النقع ٦ ساعات التي أعطت أقل المعدلات ٥.٦٥ ملم والتي لم تختلف معنويا بالتأثير عن فترة النقع ١٢ ساعة التي سجلت معدل قدره ٥.٧٤ ملم ، وجاءت فترة النقع ١٨ ساعة بالمرتبة الثانية بالتفوق وسجلت ٦.٠٩ ملم كمعدل لهذه الصفة . يتضح من النتائج ازدياد حدوث التضاعف الكروموسومي بزيادة فترة النقع بالمحلول المائي للكولشيسين والذي اثر في صفتي طول وقطر الساق . أما بالنسبة لتأثير التداخل بين تراكيز الكولشيسين وفترات النقع في صفتي طول وقطر الساق يبين اختبار دنكن الجدول ٦ تفوق نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفتره ٢٤ ساعة معنويا بالتأثير على باقي التداخلات الأخرى وأعطى أعلى المعدلات لهاتين الصفتين بلغا ٩٥.٢٧ سم و ٩.٦١ ملم بزيادة معنوية بلغت ٢٩.٨٣ سم و ٣.٣٨ ملم والتي تعادل ٤٥.٥٨ % و ٥٤.٢٥ % مقارنة مع نقع البذور بالماء فقط ولفتره ٢٤ ساعة والتي أعطت ٦٥.٤٤ سم و ٦.٢٣ ملم في حين سجل أقل معدلات هذه الصفة ٣٢.٨٣ سم و ٣.٧٧ ملم عند نقع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر ولفتره ٢٤ ساعة أما نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترات ١٨ و ١٢ و ٦ ساعة جاءت بالمرتبة الثانية بالأهمية بالنسبة لصفة طول الساق والتي لم تختلف معنويا بالتأثير فيما بينها ، أما صفة قطر الساق جاء نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترتي ١٨ و ١٢ ساعة بالمرتبة الثانية بالأهمية واللذان لم تختلفا بالتأثير معنويا عن بعضهما ثم تبعها نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفتره ٦ ساعة ونلاحظ من الجدول والأشكال نفسها أن معدلات هاتين الصفتين في كل تركيز من تراكيز الكولشيسين صفر و ٥٠٠ و ١٠٠٠ تزداد بزيادة فترة النقع في حين أنها قلت بزيادة فترة النقع عند التركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر .

عدد الثغور / ملم^٢ : ويشير اختبار دنكن الجدول ٤ إلى اختلاف تأثير تراكيز الكولشيسين فيما بينها وتفق التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر بالانخفاض المعنوي لعدد الثغور وأعطى أقل المعدلات بلغ ٦٤.٦٥ ثغرة اللوحه (٤) بفارق معنوي بالانخفاض قدره ٨٠.٠٢ ثغرة والذي يعادل ٥٥.٣١ % مقارنة مع نقع البذور بالماء فقط الذي أعطى أعلى معدل لهذه الصفة مقداره ١٤٤.٦٧ ثغرة اللوحه (٥) وجاء التركيز ٥٠٠ ملغم / لتر بالمرتبة الثانية بالانخفاض المعنوي وسجل ٩٨.٢٨ ثغرة كمعدل لعدد الثغور في المليمتر المربع الواحد ثم تبعه التركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر الذي أعطى معدل لهذه الصفة بلغ ١٣٨.٩١ ثغرة تتفق هذه النتيجة مع Robert و Peter (١٩٧٤) حينما ذكروا أن عدد الثغور في البشرة السفلى لوريقه الروبينا *Robinia pseudoacacia L* في الأشجار الصغيرة بلغ ١٢٥ ثغرة / ملم^٢ وفي الأشجار المتوسطة ١٩١ ثغرة / ملم^٢ وتتفق أيضا مع Guofeng وآخرون (٢٠٠٧) الذين وجدوا أن النباتات المتضاعفة من الجنار *Platanus acerifolia* تميزت باحتوائها على ثغور بكثافة منخفضة مقارنة مع النباتات الثنائية . اختبار دنكن لمقارنة تأثير فترات النقع في عدد الثغور الجدول ٥ يوضح تفوق واختلاف تأثير فترة النقع ٢٤ ساعة معنويا بالانخفاض وأعطت أقل معدل لهذه الصفة بلغ ٩٩.٨٠ ثغرة بفارق معنوي بالانخفاض مقداره ٢١.٢٨ ثغرة والذي يعادل ١٧.٥٧ % مقارنة بفترة النقع الأقصر ٦ ساعات التي سجلت أعلى المعدلات ١٢١.٠٨ ثغرة وختلفت معنويا عن الفترتين ١٨ و ١٢ ساعة اللتان لم تختلفا معنويا بالتأثير عن بعضهما وأعطيا ١١٥.٣٤ ثغرة و ١١٠.٢٩ ثغرة على التوالي كمعدلات لعدد الثغور . عند اختبار تأثير التداخلات بين تراكيز الكولشيسين وفترات النقع في عدد الثغور في المليمتر المربع الواحد باختبار دنكن الجدول ٧ ظهر

عدم وجود فرق معنوي بين تأثير نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ و ١٨ و ١٢ و ٦ ساعة ونقع البذور بتركيز ٥٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ و ١٨ ساعة وتفوقوا بالانخفاض المعنوي في معدلات هذه الصفة عن بقية التداخلات الأخرى حيث سجل نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ ساعة اقل عدد من الثغور بلغ ٦١.١٧ ثغرة بفارق معنوي بالانخفاض مقداره ٧١.٣٧ ثغرة والذي يعادل ٥٣.٨٤ % إذا ما قورن بأقل معدلات نقع البذور بالماء فقط وهو عند فترة النقع ١٢ ساعة قدره ١٣٢.٥٤ ثغرة ويلاحظ من هذا الاختبار إن أعلى معدلات عدد الثغور كانت عند نقع البذور بالماء فقط ونقع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر ولجميع فترات النقع .



اللوحة (٤) : عدد الثغور عند نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر لأوراق الروبيانيا



اللوحة (٥) : عدد الثغور في معاملة المقارنة لأوراق الروبينيا

الجدول (٥) : تأثير فترات النقع في صفات النمو ومورفولوجية شتلات الروبينيا المدروسة .

الصفات	٦ ساعة	١٢ ساعة	١٨ ساعة	٢٤ ساعة
نسبة الإنبات %	٤٢.٨٢ أ	٤٢.٤٩ أ	٤٢.١٩ أ	٤١.٩٧ أ
عامل شكل الوريقة	١.٨٩ أ	١.٨٦ أ	١.٨٤ أ	١.٧٤ ب
طول الساق سم	٥٩.٢٠ ب	٦٠.٤٩ ب	٦٢.٤٢ أب	٦٥.٠٢ أ
قطر الساق ملم	٥.٦٥ ج	٥.٧٤ ج	٦.٠٩ ب	٦.٥١ أ
عدد الثغور / ملم ^٢	١٢١.٠٨ أ	١١٥.٣٤ ب	١١٠.٢٩ ب	٩٩.٨٠ ج
طول الجهاز الثغري ملم	٠.٠٨٨ ج	٠.٠٨٩ ج	٠.٠٩٥ ب	٠.١٠٣ أ
عرض الجهاز الثغري ملم	٠.٠٧٢ ج	٠.٠٧٠ د	٠.٠٧٧ ب	٠.٠٨٤ أ

أفقياً : الأرقام ذات الحروف المتشابهة لا تختلف معنوياً حسب اختبار دنكن

طول الجهاز الثغري (ملم) : اختبار دنكن للمقارنة بين تأثير تراكيز الكولشيسين في هذه الصفة الجدول ٤ يبين اختلاف التراكيز معنوياً بالتأثير فيما بينها حيث تفوق التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر معنوياً بالتأثير في طول الجهاز الثغري وأعطى أعلى معدل ٠.١٣٧ ملم وأدى إلى زيادة معنوية قدرها ٠.٠٦٨ ملم والتي تعادل ٩٨.٥٥ % إذا ما قورن بنقع البذور بالماء فقط الذي سجل اقل المعدلات بلغ ٠.٠٦٩ ملم وجاء التركيز ٥٠٠ ملغم / لتر بالمرتبة الثانية بالتفوق المعنوي وأعطى ٠.١٠٠ ملم كمعدل لهذه الصفة ثم التركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر الذي سبب معدل قدره ٠.٠٧١ ملم ، يتضح مما تقدم حصول التضاعف الكروموسومي نتيجة لنقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر والذي أدى إلى زيادة في طول الجهاز الثغري بنسبة ٤٩.٦٣ % أي ما يقارب ضعف ما كان عليه عند نقع البذور بالماء فقط وتتفق هذه النتيجة مع Guofeng وآخرون (٢٠٠٧) الذين ذكروا أن النباتات المتضاعفة من الجنار *Platanus acerifolia* تميزت باحتوائها على أجهزة ثغرية أكبر إذا ما قورنت بالنباتات الثنائية وتتفق أيضاً مع Cohen وآخرون (٢٠٠٦) الذين وجدوا أن النباتات رباعية التضاعف الكروموسومي من نباتات *Zantedeschia* ذات طول جهاز ثغري أكبر مما هو عليه في النباتات الثنائية . وأكد Robert و smith (١٩٧٤) أن طول الجهاز الثغري في البشيرة السفلى لوربينة الروبينيا *Robinia pseudoacacia* L. في الأشجار الصغيرة كان ٠.٠٨ ملم وفي الأشجار المتوسطة ٠.٣٩ ملم . عند اختبار تأثير فترات النقع في طول الجهاز الجدول (٦) تأثير التداخل بين تراكيز الكولشيسين وفترات النقع بالماء ومحلول الكولشيسين في نسبة الانبات ، عامل شكل الوريقة ، طول الساق وقطر الساق لشتلات الروبينيا

تراكيز الكولشيسين ملغم/لتر	فترات الغمر ساعة	نسبة الإنبات %	عامل شكل الوريقة	طول الساق سم	قطر الساق ملم
صفر	٦	٤٩.٢٦ ج د	١.٨٦ هـ و	٥٢.٩٤ هـ	٥.٠٥ و
صفر	١٢	٥٢.١٨ ب ج	١.٩٢ د هـ	٥٥.٤٢ د هـ	٥.٠٣ و
صفر	١٨	٥٧.٠٠ ب	١.٧٧ هـ ز	٦٥.٨٣ ج	٥.٥٧ هـ و
صفر	٢٤	٦٧.٣٢ أ	١.٨٧ د-و	٦٥.٤٤ ج	٦.٢٣ د
٥٠٠	٦	٤٧.٧٦ ج-هـ	١.٨٨ د-و	٥٣.٢٧ هـ	٥.١٩ و
٥٠٠	١٢	٤٦.٥٠ ج-هـ	١.٨٥ هـ و	٦٠.٢٢ ج د	٥.٤٢ هـ و
٥٠٠	١٨	٤٥.٢٠ د-و	١.٨٦ هـ و	٦٠.٩٤ ج د	٥.٩٢ د هـ
٥٠٠	٢٤	٤٤.٣٢ د-و	١.٧٥ و ز	٦٦.٥٥ ج	٦.٤٣ د
١٠٠٠	٦	٤٢.٥٤ هـ ز	١.٦٣ ز ح	٨٠.٨٨ ب	٨.٢٦ ج
١٠٠٠	١٢	٤٠.٢٩ و-ح	١.٥٨ ح	٨٣.٦٦ ب	٨.٥٥ ب ج
١٠٠٠	١٨	٣٧.٣٦ ز-ط	١.٥٠ ح	٨٤.١٦ ب	٩.٠٥ ب
١٠٠٠	٢٤	٣٥.٢١ ح-ي	١.٣٢ ط	٩٥.٢٧ أ	٩.٦١ أ
٢٠٠٠	٦	٣١.٧٤ ط-ك	٢.١٩ أ ب	٤٩.٧٢ هـ	٤.١٠ ز
٢٠٠٠	١٢	٣٠.٩٨ ي ك	٢.٠٨ ب ج	٤٢.٦٦ و	٣.٩٧ ز
٢٠٠٠	١٨	٢٩.٢١ ك	٢.٢٤ أ	٣٨.٧٧ و ز	٣.٨٢ ز
٢٠٠٠	٢٤	٢١.٠٣ ل	٢.٠٣ ج د	٣٢.٨٣ ز	٣.٧٧ ز

عموديا : الأرقام ذات الحروف ألتشابهه لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن

الثغري بطريقة دنكن الجدول ٥ ظهر اختلاف وتفوق فترة النقع ٢٤ ساعة معنويا بالتأثير عن باقي الفترات الأخرى وسجلت معدل قدره ٠.١٠٣ ملم وأدت إلى زيادة معنوية قدرها ٠.٠١٥ ملم والتي تعادل ١٧.٠٤ % إذا ما قورنت مع فترة النقع الأقصر ٦ ساعة والتي أعطت ٠.٠٨٨ ملم كمعدل لهذه الصفة والتي لم تختلف معنويا بالتأثير مع فترة النقع ١٢ ساعة والتي سجلت معدل قدره ٠.٠٨٩ ملم وجاءت فترة النقع ١٨ ساعة بالمرتبة الثانية بالتفوق المعنوي وأعطت معدل لطول الجهاز الثغري بلغ ٠.٠٩٥ ملم . عند مقارنة تأثير التداخلات بين تراكيز الكولشيسين وفترات النقع في طول الجهاز الثغري باختبار دنكن الجدول ٧ ظهر اختلاف وتفوق نفع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر وفترة ٢٤ ساعة معنويا بالتأثير على باقي التداخلات الأخرى وأعطى أعلى معدل لطول الجهاز الثغري قدره ٠.١٤٠ ملم وأدى إلى زيادة معنوية بلغت ٠.٠٦١ ملم والتي تعادل ٧٧.٢١ % إذا ما قورن بأعلى معدلات نفع البذور بالماء فقط وهو عند فترة النقع ٢٤ ساعة الذي بلغ ٠.٠٧٩ ملم ويشير اختبار دنكن أيضا إلى أن نفع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفتره ١٨ و ١٢ ساعة احتلا المرتبة الثانية بالتفوق المعنوي بالتأثير ولم يختلفا معنويا عن بعضهما واختلقتا عن التداخلات الأخرى وأعطيا ٠.١٣٧ ملم و ٠.١٣٨ ملم على التوالي وجاء نفع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفتره ٦ ساعة بالمرتبة الثانية بالتفوق المعنوي وسجل ٠.١٣٢ ملم كمعدل لهذه الصفة ، ونلاحظ من نفس الاختبار أن أقل المعدلات كانت عند نفع البذور بالماء فقط ولجميع الفترات ونفع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر ولجميع الفترات أيضا .

عرض الجهاز الثغري (ملم) : يشير الجدول ٧ واختبار دنكن لمقارنة تأثير تراكيز الكولشيسين في هذه الصفة الجدول ٤ إلى أن هذه التراكيز اختلفت معنويا بالتأثير فيما بينها وتفوق التركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر معنويا وأعطى أعلى معدل لعرض الجهاز الثغري بلغ ٠.١١٩ ملم وأدى إلى زيادة معنوية قدرها ٠.٠٦٧ ملم والتي تعادل ١٢٨.٨٤ % مقارنة مع نفع البذور بالماء فقط الذي أعطى ٠.٠٥٢ ملم كمعدل لهذه الصفة وجاء التركيز ٥٠٠ ملغم / لتر بالمرتبة الثانية بالتفوق المعنوي وسجل معدل قدره ٠.٠٨٤ ملم في حين كان أقل المعدلات ٠.٠٤٩ ملم عند نفع البذور بتركيز ٢٠٠٠ ملغم / لتر . عند اختبار تأثير فترات النقع بطريقة دنكن الجدول ٥ يبين اختلاف تأثير هذه الفترات معنويا فيما بينها حيث تفوقت الفترة ٢٤ ساعة معنويا بالتأثير وأعطت أعلى معدلات هذه الصفة قدره ٠.٠٨٤ ملم بفارق معنوي قدره ٠.٠١٢ ملم والذي يعادل ١٦.٦٦ % مقارنة مع فترة النقع الأقصر ٦ ساعة التي أعطت ٠.٠٧٢ ملم كمعدل لهذه الصفة وجاءت فترة النقع

١٨ ساعة بالمرتبة الثانية بالتفوق المعنوي وسجلت معدل لعرض الجهاز الثغري قدره ٠.٠٧٧ ملم في حين أعطت فترة النقع ١٢ ساعة اقل معدلات هذه الصفة بلغ ٠.٠٧٠ ملم . عند اختبار دنكن لتأثير التداخلات بين تراكيز الكولشيسين و فترات النقع في هذه الصفة الجدول ٧ يبين إن نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ ساعة تفوقت معنويا بالتأثير وأعطت أعلى المعدلات بلغ ٠.١٢٢ ملم وأدى إلى زيادة معنوية قدرها ٠.٠٦٦ ملم والتي تعادل ١١٧.٨٥ % إذا ما قورن بأعلى معدلات نقع البذور بالماء فقط وهو عند فترة النقع ٢٤ ساعة الذي أعطى ٠.٠٥٦ ملم وجاء نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ١٢ ساعة بالمرتبة الثانية بالتفوق المعنوي وسجل ٠.١١٩ ملم كمعدل لهذه الصفة وتبعه بالمرتبة الثالثة نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ١٨ ساعة الذي أعطى معدل قدره ٠.١١٨ ملم وتبعه بالمرتبة الرابعة نقع البذور بتركيز ١٠٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٦ ساعة الذي سجل ٠.١١٧ ملم كمعدل لهذه الصفة ثم تبعه نقع البذور بتركيز ٥٠٠ ملغم / لتر ولفترة ٢٤ ساعة الذي بلغت عنده هذه الصفة ٠.١٠٨ ملم ويلاحظ من هذا الاختبار أن بقية التداخلات الأخرى جميعها ذات معدلات قليلة ومقاربة مع بعضها .

الجدول (٧) تأثير التداخل بين تراكيز الكولشيسين وفترات النقع بالماء ومحلول الكولشيسين في عدد الثغور ، طول الجهاز الثغري وعرض الجهاز الثغري لشتلات الروبينيا .

تراكيز الكولشيسين ملغم/لتر	فترات الغمر ساعة	عدد الثغور / ملم ^٢	طول الجهاز الثغري ملم	عرض الجهاز الثغري ملم
صفر	٦	١٤٨.٨٣ أ ب	٠.٠٦٢ ع	٠.٠٤٨ م
صفر	١٢	١٣٢.٥٤ ج-هـ	٠.٠٧١ ك	٠.٠٥٤ ي
صفر	١٨	١٥٥.٦٢ أ	٠.٠٦٣ ص	٠.٠٤٩ ل
صفر	٢٤	١٤١.٧١ ب ج	٠.٠٧٩ ح	٠.٠٥٦ ط
٥٠٠	٦	١٣٧.٢٤ ج د	٠.٠٨٣ و	٠.٠٦٨ ز
٥٠٠	١٢	١٢١.٣٩ هـ	٠.٠٨١ ز	٠.٠٦٤ ح
٥٠٠	١٨	٧٠.٣٠ و	٠.١١٥ هـ	٠.٠٩٧ و
٥٠٠	٢٤	٦٤.٢٢ و	٠.١٢١ د	٠.١٠٨ هـ
١٠٠٠	٦	٦٨.١٤ و	٠.١٣٢ ج	٠.١١٧ د
١٠٠٠	١٢	٦٥.٢٣ و	٠.١٣٨ ب	٠.١١٩ ب
١٠٠٠	١٨	٦٤.٠٨ و	٠.١٣٧ ب	٠.١١٨ ج
١٠٠٠	٢٤	٦١.١٧ و	٠.١٤٠ أ	٠.١٢٢ أ
٢٠٠٠	٦	١٣٠.١٤ د هـ	٠.٠٧٨ ط	٠.٠٥٦ ط
٢٠٠٠	١٢	١٤٢.٢٠ ب ج	٠.٠٦٥ م	٠.٠٤٤ ص
٢٠٠٠	١٨	١٥١.١٧ أ ب	٠.٠٦٦ ل	٠.٠٤٣ ع
٢٠٠٠	٢٤	١٣٢.١٣ ج-هـ	٠.٠٧٤ ي	٠.٠٥٢ ك

عموديا : الأرقام ذات الحروف أمتشابهه لا تختلف معنويا حسب اختبار دنكن

INDUCTION OF CHROMOSOMAL POLYPLOIDY AND EARLY EVALUATION OF *Robinia pseudoacacial*. TRANSPLANTS

N. Th. Saieed

O. M. Omar

College of Agric. And Forestry
Mosul Univ. Iraq

ABSTRACT

A study was conducted at the nursery and silviculture laboratory in forestry Department for the period from the 1st of February until the end of November 2007 . This study aimed to achieve chromosomal polyploidy in *Robinia pseudoacacia* L. by soaking their seeds in different Colchicine solution concentrations and different periods. The treated seeds were sown in plastic bag poly ethelen containing sandy loam soil bag were placed in shaded woody shelter . other seed lots treated with colchicine were placed in incubator after sowing them in petri – dishes to count seed germination percentages followed by chromosome counts in root apices as following :

Colchicine concentration effect : The experiment shows chromosomal tetraploidy 48 chromosome = 4n when seeds soaked in colchicine solution with concentration 1000 mg / l . the value recorded was 34.68 % at a same time that the mean of this ratio when soaking seed in solution colchicine 500 mg / l was 5.55 % . also soaking seeds in a solution of 2000 mg / l induced a triploid plants 36 chromosome = 3n with ratio of 32.79 % . But other remaining treatments chromosome number had their original diploid number 24 chromosome = 2n . In characteristics studied concentration of colchicine 2000 mg / l caused a reduction in seeds germination percentage 28.20 % in comparison with control 0.00 mg / l . also 1000 mg / l solution of colchicine reduced the mean value for traits : leaf shape factor and stomata number / mm² as follows 18.81 . 55.31 % respectively . while this concentration 1000 mg / l resulted in increasing the mean values of shoot length 30.43 % . shoot diameter 38.26 % . stomata length 49.63 % and stomata width 56.30 % when compared with values of control treatment 0.00 mg / l colchicine .

Soaking periods effects : Period of 24 hr. soaking in solution gave significant effect in most traits studied while a reduction of means was recorded for germination ratio . leaflet shape ratio and stomata number .

Interaction effect of colchicine concentration & soaking Periods :

Soaking seeds in colchicine solution 2000 mg / l for period of 24 hr. resulted in a reduction of the means of seeds germination ratio 31.23 % . when soaking those seeds in 1000 mg / l colchicine for 24 hr. increases the values of shoot length . shoot diameter . stomata length and stomata width traits. this significant increases was 31.31 . 35.17 . 43.57 and 54.90 % respectively also this interactions causes reduction in values of leaf let factor ratio 31.25 % . and stomata numbers / mm² 53.84 % in comparison with control treatment 0.00 mg / l colchicine .

المصادر

- نحال ، ابراهيم واديب رحمة ومحمد نبيل شلبي (٢٠٠٢) الحراج والمشاكل الحراجية ، منشورات جامعة حلب ، كلية الزراعة .
الراوي ، خاشع محمود وعبد العزيز خلف الله (٢٠٠٠) . تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر ، الطبعة الثانية ، جامعة الموصل
داؤد ، داؤد محمود . (١٩٧٩) . تصنيف أشجار الغابات ، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل

- سعيد ، ناظم ذنون وموفق دخيل (٢٠٠١) . تأثير معاملة بذور اليوكالبتوس قبل الزراعة بمادة الكولشيسين على تباين مورفولوجيا ونمو الشتلات . مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد ١ ٢ . ٤٩-٦٢
- محمد ، عدنان حسن (١٩٨٢) . اساسيات في علم الوراثة ، مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر – جامعة الموصل .
- محمد ، شهلاء محمود (١٩٨٥) . مقارنة النباتات الرباعية والثنائية المجموعة الكروموسومية في البرسيم المصري *Trifolium alexandrinum* L . صنف مقاوي . رسالة ماجستير . كلية الزراعة ، جامعة صلاح الدين .
- ابو زيد عقل ، احمد محمد رسوال ، طاهر نجم وسعيد مصلح محمد (١٩٨١) . تربية النباتات البستانية . مؤسسة دار الكتب . جامعة الموصل – العراق .
- Anonymous..(1996).StatisticalAnalysis System .Washington .USA . Sebastiamphill . A . R . and Jones . K . 1976 . Improved techniques for induction and isolation of polyploids in the genus fragaria . Euphytica . 25 : 725 – 732 .
- Abdel Rahem . A . T . (1977) . cytological studies induced tetraploid of egyption clover including fahl . saidi forms and their hybrid . M . Sc . thesis . fac . . agric . minia . univ . egypt .
- Chakraborti . S . P . ; Roy . B . N . and Qadri . S . M . H . (2004) . In vitro Induction of tetraploidy in mulberry (*Morus alba*) Plant Cell Reports . Vol. 17 : 799 – 803 .
- Cohen . D . and Yao . (2006) . In vitro chromosome doubling of nine Zantedeschia cultivars . Plant Cell . Tissue and Organ Culture . 47 : 43 – 49 .
- Guofeng Liu . Zhineng Li and Manzhu Bao . (2007) . Colchicine induced chromosome doubling in *Platanus acerifolia* and its effect on plant morphology . Euphytica . 157 . 1-2 . 145 – 154 .
- Jackson . R . C . (1976) . Evolution and systematic significance of poly – ploidy . Annual Review of Ecology and Systematics . 7 : 209 – 234 .
- Joseph . M . C . . Randall . D . D . and C . J . Nelson . (1981) . Photosynthesis in polyploid tall fescue . 11 photosynthesis and RuBP of polyploid tall fescue . Plant Physiol . 68 . 894 – 898 .
- Kermani . M . J . ; Sarasan . V . ; Robert . A . V . ; Yakaya . K . ; Wentworth and . V . R . Sieber (2005) . Oryzalin induced chromosome doubling in rosa and plant morphology and viability . Theor and Applied Genetics . 107 . 1195 – 1200 .
- Mehta . R . K . M . S . Swaminathan . (1957) . Studies on induced polyploid in forage crops . I survey of previous work . 1nd . J . Genet . Pl . Breed . 17 : 27 – 57 .
- Mensah . J . K . . Obadoni . B . O . ; Akomeah . P . A . ; Ikhajiagbe . B . and Aijbolu . Janet .(2007) . The effect of sodium azide and colchicine treatments on morphological and yield traits of sesame seed *Sesam indicum* L . . African Journal of Biotechnology . 6 (5) . 534 – 538 .
- Nguyen Thi Phuong Thao . Kenji Ureshino . Ikuo Miyajima . Yukio Ozaki and Hiroshi Okubo . (2003) . Induction of tetraploids in ornamental *Alocasia* through colchicine and oryzalin treatments . Plant Cell . Tissue and Organ Culture . 72 . 19 – 25 .

- Poskuta . J . W . and C . J . Nelson . (1986) . Role of photosynthesis and photorespiration of leaf area in determining yield of tall fescue genotypes . photosynthica 20 2 : 94 – 101 .
- Robert . T . Lange and Peter . H . Smith . (1974) . Ctenosporites and other Paleogene Fungal Spores . Department of Botany . University of Adelaide . North Terrace . Adelaide . 5001 . South Australia .
- Poskuta . J . W . and C . J . Nelson . (1986) . Role of photosynthesis and photorespiration of leaf area in determining yield of tall fescue Genotypes . Photosynthica 20 2 : 94 – 101 .
- Saeed RAUF ; Iftikhar Ahmad KHAN and Farooq Ahmad KHAN . (2006) . Colchicine – Induced Tetraploidy and changes in Allele Frequencies in Colchicine Treated Populations of Diploids Assessed with RAPD Markers in *Gossypium arboreum* L . Department of Plant Breeding and Genetics . University of Agriculture . Faisalabad 38040 – PAKISTAN .
- Sharma . A . K .and Sharma . A . (1980) . Chromosome Techniques . Theory and Practice Butterworths Lond .