جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات

الومض الكهربائي وتأثيره في تغايرات الـ DNA ونمو ومورفولوجيا لشتلات الصنوبر *Pinus brutia* Ten. والروبينيا *Robinia pseudoacacia* L. النامية من البذور المعاملة به

إخلاص داؤد سليمان السليم اللهيبي

أطروحة دكتوراه

علوم الغابات

(تنمية وتربية الغابات)

بإشراف

الدكتور	الدكتورة
ناظم ذنون سعيد	أديبة يونس شريف
أستاذ مساعد	أستاذ

1438 هـ
2017 م

الخلاصة

أُجريت هذه الدراسة في الظلة الخشبية التابعة لمشتل قسم الغابات / كلية الزراعة والغابات / جامعة الموصل. لمعرفة تأثير الومض الكهربائي في التركيب الوراثي والصفات المظهرية والكيموحيوية على بذور نوعين من أشجار الغابات هما الصنوبر البروتي *Pinus brutia* Ten. للمدة من منتصف أيلول 2012 ولغاية تشرين الثاني 2013، والروبينيا *Robinia pseudoacacia* L. للمدة من منتصف آب 2012 وحتى منتصف تشرين الأول 2013، في تجربتين منفصلتين لكل نوع باستخدام أربعة ترددات من التيار الكهربائي المتناوب AC بفولتيه 220 فولت وهي (4 و6 و8 و10) أمبير لمدد زمنيه (2 و4 و6 و8) دقيقة على التوالي فضلاً عن معامله المقارنة (من دون تيار كهربائي). باستخدام جهاز صُمِّمَ لهذا الغرض. عوملت البذور لكل من الصنوبر والروبينيا بالمعاملات المذكورة آنفاً بعد نقعها بمحلول كلوريد الصوديوم (ملح الطعام) بتركيز 1٪ لمدة ثلاث ساعات، ثم غسلت بالماء الجاري لمدة ثلاث ساعات أيضاً، وزرعت البذور في أكياس البولي أثيلين، ونفذت كل تجربة باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة بثلاث مكررات بواقع (20) شتلة لكل وحدة تجريبية، وتمت مقارنة متوسطات المعاملات البالغ عددها 17(التوافيق بين شدد التيار ومُدد التعريض مضافاً لها معاملة المقارنة) بطريقة دنكن متعدد الحدود، عند مستوى احتمال (0.05).

انَّ الدراسة الوراثية تضمنت تحديد العلاقة الوراثية والبعد الوراثي وإيجاد البصمة الوراثية للنوعين الصنوبر والروبينيا باستخدام تقنية الـ (RAPD) المعتمدة على تقانة PCR وهي مؤشر التضاعف العشوائي المتعدد الأشكال لسلسلة الدنا Randomly Amplified Polymorphic DNA التي اجريت في مختبر الوراثة الجزيئية لقسم علوم الحياة / جامعة تكريت، باستعمال بادئات عشوائية لكل من النوعين على وفق البرامج المعتمدة في هذا البحث، ثم الكشف عن التباينات بين القطع المتضاعفة لكل نوع بعد ترحيل العينات بجهاز الترحيل الكهربائي لأثبات التباينات الوراثية لهذه الأنسجة في المستوى الجزيئي.

الصنوبر (التجربة الأولى): أبرزت نتائج تعريض بذور الصنوبر لشدد تيار ومدد مختلفة، إلى حصول زيادة معنوية في معظم المعاملات المستخدمة، فقد أثر تعريض البذور للمعاملة (4 أمبير لمدة 8 دقائق) إلى تفوق نسبة النجاة لشتلات الصنوبر معنوياً بنسبة (75.240)٪ بنسبة زيادة مقدارها (20.786)٪ قياساً بمعاملة المقارنة (62.293)٪. في حين تفوقت المعاملة (6 أمبير لمدة 2 دقيقة) معنوياً بإعطاء أوسع قطر للساق الرئيس وأعلى معدل للوزن الرطب والجاف للمجموع الجذري وبنسبة زيادة بلغت (24.711 و47.233 و44.601)٪ على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة، كما تفوق نفس التيار (6 أمبير لمدة 4 دقائق) معنوياً بإعطاء أكبر قطر للجذر الرئيس وأعلى معدل للوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري وبنسبة زيادة قدرها (40.968 و 87.963 و 85.148)٪ على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة ونسبة الوزن الجاف للمجموع الخضري / الوزن الجاف للمجموع الجذري بمعاملة بذور الصنوبر البروتي بالومض الكهربائي بشدة (6 أمبير×4 دقائق) و(4 أمبير× 8 دقائق) إذ أعطتا هاتان المعاملتان أعلى معدل بفارق معنوي عن جميع المعاملات الأخرى لهذه الصفة بلغ في كل منهما (1.942) بنسبة زيادة قدرها (34.605)٪ قياساً بمعاملة المقارنة. والمعاملة (8 أمبير لمدة 2 دقيقة) تفوقت معنوياً في طول الجذر الرئيس وبنسبة زيادة (17.955٪) قياساً

بمعاملة المقارنة ، في حين تفوقت المعاملة (10 أمبير لمدة 4 دقائق) معنوياً في إعطاء أكبر عدد من الجذور الثانوية وبنسبة زيادة مقدارها (4.451)٪ قياساً إلى معاملة المقارنة. كما أدت المعاملة (10 أمبير لمدة 6 دقائق) إلى الزيادة المعنوية في طول الساق وعدد الأفرع للشتلات بنسبة زيادة مقدارها (55.915 و23.396)٪ قياساً بمعاملة المقارنة.

وتشير نتائج التحليل الكيميائي إلى أن محتوى أوراق الصنوبر البروتي من الكلوروفيل a و b والكلي والبروتين ونسبة الكلوروفيل الكلي/البروتين الكلي قد ازدادت معنوياً حيث سببت جميع شدات تيار الومض الكهربائي بمددها المختلفة تفوقا معنوياً في قيم جميع الصفات الكيميائية المدروسة قياساً بمعاملة المقارنة، وقد تفوقت المعاملة (6 أمبير لمدة 6 دقائق) معنوياً في زيادة محتوى أوراق الصنوبر من الكلوروفيل a و b والكلي وبنسبة زيادة بلغت (61.42 و75.862 و 64.789)٪ قياساً بمعاملة المقارنة، كما تفوق التيار نفسه لمدة (8) دقائق بإعطاء أعلى قيمة معنوية من البروتين لمحتوى الأوراق وبنسبة زيادة قدرها (18.79)٪ قياساً إلى معاملة المقارنة، في حين سببت شدتي التيار (4 أمبير لمدة 2 دقيقة) و (8 أمبير لمدة 6 دقائق) زيادة معنوية في نسبة كلوروفيل b/a ونسبة الكلوروفيل الكلي/البروتين الكلي وبنسبة زيادة قدرها (2.43 و 18.79)٪على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة.

أما نتائج التحليل الوراثي بمؤشر الـ RAPD، للحمض النووي DNA المضخم وحساب نسبة البعد الوراثي بين شتلات الصنوبر المعاملة بذورها بالومض الكهربائي وشتلات المقارنة أظهرت وجود تغايرات وراثية فيما بينها، إذ كان أكبر بعد وراثي بين المعاملة (10 أمبير لمدة 2 دقيقة) ومعاملة المقارنة بلغ 0.80602 في حين كان أقل بعد وراثي بين المعاملة (4 أمبير لمدة 6 دقائق) ومعاملة المقارنة وبلغ 0.20607، وانحصرت بقية القيم بين هذا المدى، كما لوحظ أن قيم معاملات الارتباط الخطي البسيط بين قيم البعد الوراثي وصفات الصنوبر البروتي المدروسة، كانت موجبة وبمعنوية عالية مع صفة النسبة المئوية للكلوروفيل الكلي الى البروتين (٪)، في حين كان ارتباطها سالباً وبمعنوية عالية مع صفة نسبة كلوروفيل a إلى كلوروفيل b عند مستوى احتمال 1٪ لكليهما، ومع صفتي نسبة النجاة للشتلات (٪) ومحتوى الأوراق للصنوبر البروتي من البروتين الكلي (ملغم.غم$^{-1}$ وزن رطب) عند مستوى احتمال 5٪، وكانت ارتباطات البعد الوراثي مع بقية الصفات موجبة أو سالبة إلا إنها لم تصل إلى الحد المعنوي. وأظهرت نواتج مؤشرات الـ RAPD في هذه الدراسة حزمتين رئيستين main bands كما تم تحديد البصمة الوراثية بظهور الحزمة الفريدة Unique band إذ تم الحصول على (27) حزمة فريدة ظاهرة وحزمة واحدة غائبة شخصت تسعة معاملات للشتلات المعاملة بذورها بالومض الكهربائي في ثلاثة عشر بادئاً، منها (5) حزم فريدة ظاهرة لمعاملة المقارنة التي شخصت بثلاث بادئات (3) حزم ظهرت مع البادئ OP-N05 وحزمة في البادئ OPA-11 وحزمة في البادئ OP-G16.

كما أظهر تحليل العلاقة الوراثية أن هناك (3) مجاميع رئيسة، فالمجموعة الرئيسة الأولى ضمت ثلاث مجاميع ثانوية، والمجموعة الثانوية الأولى تفرعت إلى ثلاثة فروع، الفرع الأول: ضم معاملة المقارنة التي انفردت لوحدها بشكل خط واحد. والفرع الثاني: احتوى المعاملتين (4 أمبير لمدة 2 دقيقة) و (6 أمبير لمدة 2 دقيقة). أما الفرع الثالث: وضم المعاملتين (4 أمبير لمدة 4 دقائق) و (4 أمبير لمدة 6 دقائق) والمجموعة الثانوية الثانية: ضمت خطاً واحداً فقط وارتبطت برأس

المجموعة الأولى الرئيسة وهي (6 أمبير لمدة 8 دقائق) في حين ضمت المجموعة الثانوية الثالثة: فرعين: الفرع الأول: ضم المعاملة (4 أمبير لمدة 8 دقائق) والفرع الثاني: ضم المعاملة (6 أمبير لمدة 6 دقائق). في حين المجموعة الرئيسة الثانية ضمت المعاملة (8 أمبير لمدة 6 دقائق) فقط، وضمت المجموعة الرئيسة الثالثة مجموعتين ثانويتين الفرع الأول: شمل (6 أمبير لمدة 4 دقائق) والفرع الثاني: ضم كل من المعاملتين (8 أمبير لمدة 2و4) دقائق على التوالي. أما المجموعة الثانوية الثانية فضمت فرعين: الفرع الأول: انفردت المعاملة (8 أمبير لمدة 8 دقائق) الفرع الثاني: ضم المعاملات المعاملة بذورها بشدة الومض 10 أمبير في المدد (2 و4 و6 و8) دقائق على التوالي. مما يدل على أن المعاملات التي اشتركت بمجموعة واحدة متقاربة وراثياً ولم يحدث لها تغير كبير بالمادة الوراثية وذات بعد وتغايرات وراثية أقل فيما بينهما، في حين تكون ذات بعد وراثي أكبر وحدوث تغير كبير بالمادة الوراثية عن المعاملات التي اشتركت بمجموعة أخرى. وأن المجموعتان الرئيستان الاولى والثانية اشتركتا بتقارب واحد كمجموعة واحدة ثم اشتركت مع المجموعة الرئيسة الثالثة، وهذا يدل على أن معاملة بذور الصنوبر بالومض الكهربائي أحدث تغير بالمادة الوراثية الا انه حافظ على التركيب الوراثي الخاص بالجنس او النوع.

أما الروبينيا (التجربة الثانية): فقد ادت معاملة بذورها بشدة الومض الكهربائي 4 و 6 و 8 و 10 أمبير ومُدد التعريض للومض الكهربائي المختلفة، إلى إحداث زيادة معنوية في قيم جميع صفات النمو الخضري والجذري لشتلات الروبينيا قياساً بمعاملة المقارنة، وقد أظهرت نتائج المعاملات بالومض الكهربائي بمددها المختلفة تفوق المعاملة (10 أمبير لمدة 8 و6 دقائق) معنوياً بنسبة نجاة الشتلات وطول الجذر الرئيس بنسبة زيادة مقدارها (43.51 و24.22)٪ على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة، في حين أدت المعاملة (8 أمبير لمدة 8 دقائق) إلى زيادة معنوية بطول الساق الرئيس وعدد الأفرع وبنسبة مقدارها (47.79 و191.41)٪ عن معاملة المقارنة، كذلك اثر نفس التيار 8 أمبير لمدة 6 دقائق في الزيادة المعنوية لقطر الساق الرئيس والوزن الجاف للمجموع الجذري وبنسبة بلغت (29.07 و80.29)٪ قياساً بمعاملة المقارنة، كما تفوقت المعاملة (4 أمبير لمدة 2 دقيقة) معنوياً في إعطاء أكبر قطر للجذر الرئيس وعدد الجذور الثانوية وأعلى معدل للوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري وأكبر وزن رطب للمجموع الجذري وبنسب مقدارها (22.91 و90.20 و 79.60 و86.30 و53.83)٪ على التوالي قياساً بمعاملة المقارنة، وتفوق نفس التيار 4 أمبير لمدة 6 دقائق معنوياً في نسبة الوزن الجاف للمجموع الخضري/ الوزن الجاف للمجموع الجذري وصفة عامل شكل الوريقة وبنسبة زيادة بلغت (54.99 و 8.92)٪ عن معاملة المقارنة، في حين تفوقت المعاملة (6 أمبير لمدة 6 دقائق) معنوياً بإعطاء أكبر مساحة وريقة وبنسبة زيادة مقدارها (28.75)٪ قياساً بمعاملة المقارنة.

أظهر التحليل الكيميائي تأثير شدد مختلفة من التيار الكهربائي وبمدد زمنية مختلفة في المحتوى الكلوروفيلي والبروتيني لشتلات الروبينيا *Robinia pseudoacacia* L. بعمر سنة المعرضة بذورها للومض الكهربائي، أن محتوى أوراق الشتلات من الكلوروفيل a وb والكلي قد ازداد معنوياً مع زيادة شدة الومض الكهربائي، إذ تفوقت المعاملتان (8 أمبير لمدة 4 دقائق) و (4 أمبير لمدة 6 دقائق) اللذان لم يختلفا معنوياً فيما بينهما في الكلوروفيل a وb والكلي وبنسب زيادة مقدارها (12.72 و54.30 و23.31 و11.75 و49.22 و21.24) ٪ على التوالي، قياساً بمعاملة المقارنة

والمعاملة (4 أمبير لمدة 2 دقيقة) في نسبة كلوروفيل b/a وبنسبة زيادة قدرها (6.85)٪ قياساً بمعاملة المقارنة، وأزداد محتوى الأوراق من البروتين معنوياً مع شدة التيار (10 أمبير× 4 و8 و6) دقيقة بنسبة زيادة مقدارها (71.414 و47.068 و 42.251)٪ على التوالي قياساً للمقارنة، أما أعلى القيم معنوية للنسبة المئوية للكلوروفيل/البروتين فكانت في المعاملة (8 أمبير لمدة 2 دقيقة) وبنسبة زيادة قدرها (121.394)٪ عن المقارنة التي انخفضت معنوياً. ويتضح أن معاملة البذور بالومض الكهربائي أدت إلى تحسين خصائصها وصفاتها المدروسة بالمقارنة مع الشتلات غير المعرضة.

وأكدت نتائج الترحيل الكهربائي، في الأكاروز، للحمض النووي DNA المضخم والمعزول من أوراق شتلات الروبينيا المعاملة بذورها بالومض الكهربائي وشتلات المقارنة وجود تغايرات وراثية فيما بينها وفي هذه الدراسة بلغ أعلى بعد وراثي (0.91268) في المعاملة (10 أمبير لمدة 8 دقائق) قياساً مع معاملة المقارنة وأنعكس هذا التغاير الوراثي على الشكل المظهري للشتلات، أما أقل بعد وراثي فظهر بين معاملة المقارنة والمعاملة (10 أمبير لمدة 2 دقيقة) بلغ (0.48549) وانحصرت قيم البعد الوراثي لبقية التراكيب الوراثية للمعاملات المدروسة بقيمها بين المدى المذكور سابقاً، ولوحظ أن قيم البعد الوراثي ارتبطت إيجابياً وبمعنوية عالية عند مستوى احتمال 1٪ مع صفات طول الساق الرئيس للروبينيا، وقطر الساق الرئيس، وقطر الجذر الرئيس، والوزن الرطب والجاف للمجموع الخضري، والوزن الرطب للمجموع الجذري، في حين كان ارتباطها موجباً وبمعنوية عند مستوى احتمال 5٪ لصفتي الوزن الجاف للمجموع الجذري، ونسبة الوزن الجاف للمجموع الخضري/الوزن الجاف للمجموع الجذري، وكذلك كانت ارتباطات البعد الوراثي مع بقية الصفات موجبة أو سالبة الا أنها لم تصل إلى الحد المعنوي. كما يتضح أن علاقة البعد الوراثي مع الصفات المختلفة في الروبينيا أكثر وضوحاً مما هي عليه في الصنوبر. كذلك تم تميز الحزم الرئيسة Main Bands بنواتج تضاعف مشتركة لجميع المعاملات المدروسة التي ظهرت على شكل (5) حزم رئيسة مشتركة monomorphic والنوع الآخر من الحزم التي أظهرتها نتائج الـ PCR لمؤشرات الـ RAPD هي الحزم الفريدة Unique bands وأفرزت هذه الدراسة (32) حزمة فريدة منها (23) ظاهرة و (9) حزم غائبة، شخصت (13) معاملة مدروسة بالمقارنة مع (2) حزمة فريدة ظاهرة فقط لمعاملة المقارنة و (7) حزم فريدة غائبة شخصت (5) معاملات مدروسة بالمقارنة مع معاملة المقارنة التي أظهرت (2) حزمة فريدة غائبة فقط، وقد شخصت الحزم الفريدة بـ (11) بادئ شكلت نسبة (78.57٪) من مجموع البادئات المستخدمة للروبينيا في هذه الدراسة. ويتضح من تحليل العلاقة الوراثية وجود (5) مجاميع رئيسة main clusters تضم فروعاً ومجاميع ثانوية sub cluster احتوت معاملات الومض الكهربائي بمُددها المختلفة المدروسة، المجموعة الرئيسة الأولى: انفردت معاملة المقارنة عن باقي معاملات الومض الكهربائي، وكذلك المجموعة الرئيسة الثانية: انفردت المعاملة (4 أمبير لمدة 2 دقيقة) عن باقي المعاملات المدروسة أما المجموعة الرئيسة الثالثة: فانقسمت إلى مجموعتين ثانويتين: المجموعة الثانوية الأولى: تفرعت إلى فرعين، أما المجموعة الثانوية الثانية فضمت معاملتين، في حين ضمت المجموعة الرئيسة الرابعة: المعاملة (10 أمبير لمدة 8 دقائق) فقط، وضمت المجموعة الرئيسة الخامسة: مجموعتين ثانويتين، ولذلك فان التحليل التجميعي Dendrogram المعتمد على قيم الأبعاد الوراثية له ما يُسّوغه في كافة الدراسات التي تتوخى استنباط صنف جديد أو تحسين إنتاجه مع تقليص الفترة اللازمة لذلك في آن واحد، لأن ذلك يظهر التباين الوراثي بين معاملات الومض الكهربائي كخطوة أولى ومن ثم مقارنة الشتلات الناتجة

بشتلات المقارنة أو تضريب هذه التراكيب الوراثية (الشتلات الناتجة من معاملات الومض الكهربائي) في عمليات التربية والتحسين.

اتضح من هذه الدراسة كذلك أن معاملات الومض الكهربائي قد أثرت بشكل كبير في تغيير التركيب الوراثي للشتلات المعاملة مما أنعكس على صفاتها المظهرية، وهذا ما أظهره التحليل الاحصائي للصفات المظهرية والكيميائية المدروسة لكل من الصنوبر البروتي والروبينيا باختلافها معنوياً عن معاملة المقارنة، كما أختلف البعد الوراثي بين المعاملات نفسها من جهة وبين المعاملات ومعاملة المقارنة من جهة أخرى، وهذا يعد مؤشراً جيداً لبرامج التربية والتحسين اللاحقة بالاستفادة من قيم البعد الوراثي بين المعاملات ولاسيما التربية بالانتخاب للصفات الجيدة الموجودة بالشتلات، إذ قد يتم اختيار أبعد نوعين عن بعضهما وراثياً كإباء لأجراء عمليات التربية للسماح بالحصول على أكبر عدد ممكن من التغايرات، وفي حالات أخرى فقد يرغب المربي ادخال صفة معينة يسيطر عليها جين أو مجموعة جينات لصنف معين دون تغير كبير بالمادة الوراثية لذلك الصنف الذي يحتوي على الصفات المرغوبة، ففي هذه الحالة يتم اختيار أقرب بعد وراثي يحمل تلك الصفة، فضلاً عمّا حققته هذه المعاملات في النشاط الوظيفي للشتلات الناتجة من معاملات الومض إذ تفوق أغلبها في صفات النمو الخضري مقارنة مع شتلات المقارنة، على الرغم من دورة الحياة لأشجار الغابات طويلة وقد تكون أطول من عمر الانسان أو الباحث كما في نباتات البستنة ونباتات المحاصيل الحقلية لذلك فلا تظهر التغيرات المظهرية بشكل جلي في السنة الأولى من عمر الشتلة التي قد تظهر في السنوات اللاحقة أو في الأجيال اللاحقة التأثيرات الإيجابية لمعاملات الومض لأشجار الغابات كالصنوبر البروتي والروبينيا الداخلة في هذه الدراسة.

SUMMARY

The current work was done at wooden shed of Forestry Dep./ College of Agriculture and Forestry / Mosul University during the period of mid-September 2012 until November 2013 for *Pinus brutia* Ten. and from mid-August 2012 until the middle of October 2013 for *Robinia pseudoacacia* L. in two separate experiments for each species using electric shock by (electric current AC with 220 voltage) 4 ,6 ,8 and 10 amperes at different periods of 2 ,4 ,6, and 8 minutes including control treatment (without shock). This was by using an instrument done with specially designed and manufactured for this purpose. So pine and *Robinia* seeds were treated with above mentioned treatments after soaking them in cooking salt (1%) for (3hours), then washed by tap water for 3 hours too. Then these seeds were sowed in plastic bags. A complete randomized block design (RCBD) was applied with three replications on 20 transplants in each treatment unit: At the level of probability that is (0.05), and by applying Duncan's multiple ranges method, a comparison of the mean of 17 treatments (Combinations between different currents for different periods plus the compared treatment) was made.

The genetic study included determining the genetic relationship, genetic distance, and DNA fingerprints for both species by using DNA markers based on Polymerase Chain Reaction (PCR) which applied Randomly Amplified Polymorphic DNA technology (RAPD). The study was carried out at the Molecular Genetics Laboratory / Department of Biology / University of Tikrit. Genomic DNA of treated and untreated leaves were amplified using random primers for each of the two types according to the approved programs in this research, then detecting the variations between the amplified pieces for each type of samples after electrophoresis to prove the genetic variations of these tissues at the molecular level.

Results from both experiments could be summarized as follows:

The results of subjection of Pine and Robinia seeds electrical shock positively improve the survival rates for both type's seedlings and significantly increase in most vegetative and root systems for Pine and Robinia treatment.

In ***Pinus brutia*** **Ten. (first experiment):** The exposure of *pine* seeds to different currents for different periods showed a significant increase in most of the treatments used, treatments (4Amp.×8min.), it showed an increase in the percentage survival (75.240)% with an increase of (20.786)% comparing the control which is (62.293)%. But (6Am.×2min.) showed an increase in

diameter of the main stem and the highest rate in fresh and dry root system weight, with an increase of (24.711 , 47.233 and 44.601)% respectively, comparing the control, the same current (6Amp.×4min.) showed significant stem diameter superiority with the highest rate of the fresh and dry shoot weight with an increase of (40.968, 87.963 and 85.148)% respectively, comparing the control, and weight ratio dry total vegetative / dry weight (6Amp.×4min.) and (4Amp.×8min.) gave a higher rate of these two treatments with a significant difference from all other treatments of this characteristic reached (1.942) in each of them with an increase of (34.605)% as compared to the control. Treatment (8Amp.×2min.) significantly affected the main root length and increased by (17.955)% comparison with control, while (10Amp.×4min.) was significantly superior as it gave the largest number of secondary roots with an increase of (4.451)% when compared to the control treatment. Also the treatment (10Amp.×6min.) caused an increase in stem length and the number of branches of seedlings by an increase of (55.915 and 23.396)% respectively comparing with the control.

The results of the chemical analysis of *Pinus brutia* Ten. concerning the the values of each the leaves content of chlorophyll a and b, total chlorophyll, total protein and the ratio of total chlorophyll / total protein), indicated a significant increase in all these characteristics due to all electric shock powers and different duration parameters in comparison with the control. The treatment effect in (6Am.× 6min.) was revealed significantly in (chl. a, chl. b, and total chlorophyll) showing an increase of (61.42, 75.862 and 64.789)% respectively as compared to the control, also treatment (6 Amp.× 8 min.) gave the highest significant increase for leaves protein content and an increase of (18.79)% as compared to the control. Whereas that the treatment of (4 Amp.× 2min.) and (8Am.×6min.) had a significant effect for (chl. a/chl. b ratio and total chlorophyll / total protein) with an increase of (2.43 and 18.79) % respectively as compared to the control.

The results of genetic analysis using indicators of the RAPD marker for nucleic acid DNA and by calculation of the genetic distance between electric shock pine-treated seedlings seeds and untreated seedlings (control) showed genetic variations among them, the largest genetic distance between treatment was shown after treatment (10 Am. for 2 min.) and the control treatment was in 0.80602 while the lowest distance was shown by the treatment (4 Amp. for 6 min.) of 0.20607. The remaining values ranged between them. It was also observed that the values of the simple linear correlation between the values of

the genetic distance and the characteristics of the studied pine were significantly positive and high with the ratio of total chl./ protein (%), while their correlation was significantly negative and high with the ratio of chl. a/chl. b at 1% probability level for both, with the survival rate of the seedlings (%) and the leaf content of the total protein (mg^{-1}.g) at 5% probability level. The genetic distance links with the other characteristics were positive or negative but did not reach the significant limit. RAPD marker showed two main bands. DNA fingerprints were detected through the appearance of unique band, where (27) obvious unique bands were obtained and (1) absent band, nine deliberate treatments of electric shock treated seedlings seeds in the first thirteen primers were identified, (5) unique bands appeared which were identified by three primers, (3) bands appeared with the primer OP-N05, a band in OPA-11 initiator, and initiator band in OP-G16.

Genetic relationship analysis also showed that there are (3) main groups, the first included three secondary groups. The first secondary group was branched into three branches; the first branch included only the control group in a single line. The second branch contained the treatments (4Am. for 2min,) and (6Amp. for 2min.). While the third branch included the treatments (4Am. for 4min.) and (4Amp. for 6min.), the second secondary branch included one line. IT branched from the first main group namely, (6Amp. for 8min.), while the third secondary subset included two sections: section one, includes the treatment (4Amp. for 8min.) and the second contained treatment (6Amp. for 6min.). While the second main group includes only the treatment (8Amp. for 6min.), the third main group included two subsections, the first branch included: (6Am. for 4min.) and the second branch: involved the treatments (8Amp. for 2 and 4) minutes respectively. The second secondary group included two branches: the first branch contains the treatment (8Amp. for 8min.) alone, while the second branch contained the seeds treated with 10 Amp. for the periods (2, 4, 6 and 8) minutes respectively. Hence the treatments that were collected in one group that was genetically similar were not changed much in the genetic material and had less genetic variations between them, while there was a higher genetic distance, in different to a significant change in genetic material than those that were shared with another group. The main groups I and II were collected in one link as one group and then joined with the third group. This indicated that the treatment of pine seeds with electric shock changed the genetic material, but maintained the genotypes of the sex or type.

Concerning ***Robinia pseudoacacia*** **L. (second experiment):** The treatment of its seeds by electric current at 4, 6, 8 and 10 Amp., and the different periods of exposure of seeds to electric shock caused a significant increase in the values of all characters of vegetative and root growth of seedlings Robinia compared to the control. Results of treatment of currents with durations showed that seeds exposed to (10Amp. for 8 and 6min.) increased the survival rate and the main root length with an increase of (43.51 and 24.22)% respectively as compared to the control, while treatment with (8Amp. for 8min.) significantly increased main stem length and branched number percentage (47.79 and 191.41)% as compared to the control, the same current (8Amp. for 6min.) caused a significant increase in the main stem diameter and dry root system weight percentage (29.07 and 80.29)% as compared to the control. The treatment (4Amp. for 2min.) significantly increased main root diameter, the number of secondary roots and gave the higher mean of wet and dry weight of total vegetative and the highest wet weight of root system percentage (22.91, 90.20 , 79.60 , 86.30 and 53.83)% respectively as compared to the control. Also the same current (4 Amp. for 6 min.) significantly increased the ratio of the dry weight of the vegetative / dry weight of the root and leaflet shape factor percentage (54.99 and 8.92)% respectively when compared to the control, while the treatment (6Amp. for 6min.) showed superiority in giving the largest leaflet area percentage (28.75)% as compared to the control.

The chemical analysis for the effect of different currents for different periods and their treatment in chlorophyll and protein contents *Robinia pseudoacacia L.* on the leaves, show a significant superiority shocking power and duration. Treatment effect between electric shock power and duration showed that chlorophyll contents for (chl. a, chl. b and total chlorophyll) was the best in comparison with all other treatments at (8Am.×4min.) and this did not differ from significantly treatment of (4Amp.×6min.) percentage (12.72, 54.30, 23.31, 11.75, 49.22 and 21.24)% respectively when compared to the control. Also the treatment (4Amp.×2min.) yielded highest value of the ratio of chl. a/chl.b percentage (6.85)% and this was significantly different from the control. But protein content increased at treatment of (10Amp.×4 , 8 and 6min.) and this was significantly different with control percentage (71.414, 47.068 and 42.251)% respectively, but the highest percentage for the ratio of (total chl./ protein) was recorded for the treatment (8Amp.×2min.) percentage (121.394) % and this is significantly different from the control and all other treatments. Finally, we concluded that the improvement in chemical

characteristics was due to the subjection of Robinia seeds to different electric shocks for different periods.

Data of electrophoresis of amplified DNA extracted from seedlings leaves of treated Robinia seeds by electric shock and control seedlings (without treatment) in agarose gel show genetic variations among them. In this study, the highest genetic distance was (0.91268) using RAPD marker registered on seedling of seeds treated with (10 Amp. for 8 min.) as compared to the control, this genetic variation was reflected on the morphology of seedlings, while the lowest genetic distance between control and treatments (10Amp. for 2min.) was (0.48549). The values of genetic distance ranged for the rest of the genotypes between these mentioned values. It was noticed that the values of the genetic distance were positively and strongly correlated with the 1% probability level with the characteristics of the *Robinia pseudoacacia* of the main stem length, the main stem diameter, the root diameter, the wet and dry weight of the vegetative, and the wet weight of the root systems, while their correlation was positive and significant at the 5% probability level for the dry weight of the root systems. The ratio of the dry weight of the vegetative / dry weight of the root systems, the links of the genetic distance with the other treatments were positive or negative but did not reach the significant limit. It is also evident of mention that the relationship of the genetic distance with the different characteristics in the Robinia is more pronounced than in the pine. PCR results using the RAPD marker in this study showed (5) main monomorphic bands with combined amplification products for the whole treatments which appeared as (5) main combined bands. The other PCR results for RAPD markers were the unique bands phenomenon. The result indicated (32) unique bands of which (23) appeared bands, (9) absent bands, (13) bands were identified when compared with control with (2) unique bands appeared in the control and (7) unique bands were absent, (5) bands were diagnosed as compared with the control. The treatment showed (2) bands were absent, only a unique band was shown with (11) primers constituting a percentage of (78.57%) of the total premiers used for Robinia in this study. It is clear from the genetic relationship (dendrogram) analysis that there are (5) main clusters, including secondary sub cluster containing electric shock treatments studied, the first main group contained the treatment of control alone, the second main group included the treatment (4 Amp. for 2 min.) alone, while the third main group was divided into two subsections: Subset first: branched into two branches, the second secondary group included two treatments, while the fourth main group included only treatment (10Amp. for 8min.), and the fifth

main group included two secondary subgroups. Dendrogram, based on genetic distance values, is therefore justified in all studies that envisaged the development of a new class or the improvement of its production while reducing the time required for it simultaneously, because this show the genetic variation between the electric shock treatments as a first step and then comparing the seedlings produced by compared seedlings or the mixing of these genotypes (seedlings resulting from electrical shock treatments) in the processes of breeding and improvement.

It is clear from this study that the treatments of electric shock significantly affected influence the variation in genetic contents of the seedlings treatments, which was reflected on its morphological characteristics. This was confirmed by statistical analysis of the morphological qualities and chemical studies for each of *Pinus brutia* Ten. and *Robinia pseudoacacia* L. which differed significantly in the control treatment. Also the genetic distance differed between treatments itself on one hand and between the treatments and the control on the other hand. This was considered as a good indicator for breeding programs and subsequent improvement to benefit from the genetic distance values between treatments for special breeding by electing good qualities in seedlings. This is a good indicator of breeding programs and subsequent improvement by taking advantage of the values of genetic distance between the treatments, especially breeding for the good qualities found in the seedlings, since the two genetically different types may be chosen as parents to conduct breeding to allow the greatest possible number of variations, and in other cases, the breeder may hope to introduce a certain characteristic controlled by a gene or a group of genes of a given species without significantly changing the genetic material of that species containing the required characteristic. In this case, the nearest genetic distance bearing that status is chosen, as well as the achievements of these treatments in the functional activity of the seedlings resulting from electric shock treatments as superiority of most of them in qualities of vegetative growth compared to the control seedlings, although the life cycle of forest trees may be longer than the age of human or researcher, such as in gardening plants and field crops plants, so there is no phenotypic changes clearly appear in the first year of the age of the seedling that the positive effects of electric shock treatments of forests trees, such as pine and Robinia included in this study, may appear in later years or in later generations.

University of Mosul
College of Agriculture and Forestry

ELECTRIC SHOCK AND ITS EFFECTS ON DNA VARIATIONS, GROWTH AND MORPHOLOGY OF *Pinus brutia* Ten. AND *Robinia pseudoacacia* L. INDUCED FROM TREATED SEEDS

Ekhlass Dawood Suleiman Al-Saleem Al-Lehebe

Ph. D. Thesis
in
Forest Science
(Silviculture and Breeding)

Supervised by

Dr.
Nathim Thanoon Saieed
Assist Professor

Dr.
Adeeba Y. Shareef Al- Nouman
Professor

2017 A. D. **1438 A. H.**