



SY0200996

SYRIAN ARAB REPUBLIC
ATOMIC ENERGY COMMISSION (AECS)
DAMASCUS, P.O.BOX 6091



REPORT ON LABORATORY RECONNAISSANCE EXPERIMENT
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY

EFFECT OF IRRADIATION, PRUNING AND REMOVAL
OF *In vitro* FORMED ROOTS ON *Ex vitro* GROWTH
IN MICROPROPAGATED GRAPE

DR. T. CHARBAJI

ENG. Z. AYYOUBI

AECS – BARRRE 107

JUNE 2002

. . 33 / 38



SY0200996



الجمهورية العربية السورية
هيئة الطاقة الذرية

دمشق - ص.ب. ٦٠٩١

تقرير عن تجربة استطلاعية مخبرية

قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحيوية

تأثير الأشعة والتقليم وإزالة جذور نباتات الكرمة المستنبتة
في الزجاج على نمو هذه النباتات في مرحلة الأقامة

الدكتور طريف شرجي

المهندس زهير أيوبي

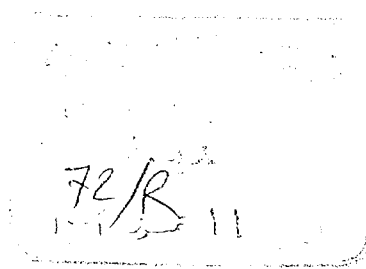
حزيران ٢٠٠٢

هـ.ط.ن.س. - ب.ت.ت. ١٠٧

الجمهورية العربية السورية

هيئة الطاقة الذرية

قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحيوية



تأثير الأشعة والتقليم وإزالة جذور نباتات الكرمة المستنبطة
في الزجاج على نمو هذه النباتات في مرحلة الأقلمة

الدكتور طريف شربجي

المهندس زهير أيوبي

حزيران ٢٠٠٢

هـ. ط. د. س. - ب. / ت. ت. ا. ١٠٧

حقوق النشر:

يسمح بالنسخ والنقل عن هذه المادة العلمية للاستخدام الشخصي بشرط الإشارة إلى المرجع، أما
النسخ والنقل لأهداف تجارية فغير مسموح بهما إلا بموافقة خطية مسبقة من إدارة الهيئة.

جدول المحتويات

المستخلص

1- المقدمة

2- المواد و الطرائق

2.1- المادة النباتية

2.2- البيئة المغذية

2.3- الاستزراع و النمو و التشجيع

2.4- الأقلمة

2.5- القياسات

2.6- الدراسة الإحصائية

3- النتائج

3.1- النمو الخضري

3.2- عدد الأوراق

3.3- المساحة الورقية

3.4- الوزن الجاف

4- المناقشة

5- التوصيات

كلمة شكر

المراجع

الملحق

Abstract

تم تعريض الأصل رو كشري 140 و الصنف حلواني المستنبتين في الزجاج (*in vitro*) لجرعات منخفضة من أشعة غاما قبل البدء بمرحلة الأقلمة (Acclimatization)، و كانت هذه الجرعات كالتالي: رو كشري (0-5 غري) و حلواني (0-7 غري)، ثم أجري ثلاث عمليات على جذور هذه النباتات: الاحتفاظ بالجذور كاملة (الشاهد) و تقليم الجذور مع الاحتفاظ ب 2-3 جذور و إزالة كافة الجذور، ثم نقلت النباتات إلى الوسط الخارجي (*ex vitro*) للأقلمة و بعد 45 يوماً من الأقلمة، تبين أن لعملية تقليم الجذور سواء كانت منفردة أو مترافقة مع تعريض النبات للأشعة تأثير إيجابي و معنوي على النمو الخضري و عدد الأوراق و الوزن الجاف لنباتات الأصل رو كشري 140 مقارنة مع الشاهد، بينما كان لعملية إزالة الجذور سواء كانت منفردة أو مترافقة مع تشيع النبات تأثير سلبي و معنوي على النمو الخضري و عدد و مساحة الأوراق و الوزن الجاف لنباتات هذا الأصل، كذلك كان لأشعة غاما تأثير إيجابي على هذه القياسات في النباتات المحتفظه بجذورها.

كان لعملية تقليم الجذور تأثير إيجابي و معنوي على النمو الخضري و عدد الأوراق و الوزن الجاف لنباتات الصنف حلواني مقارنة مع الشاهد، بينما كان لعملية إزالة الجذور تأثير سلبي و معنوي على كافة القياسات مقارنة مع الشاهد، و كان التأثير الإيجابي لأشعة غاما، واضحاً على النمو الخضري و الوزن الجاف للنباتات المحتفظه بجذورها فقط، و على عدد أوراق النباتات المحتفظه بجذورها و المقلمة الجذور لهذا الصنف.

كلمات مفتاحية: أقلمة، زراعة أنسجة، كرمة، تقليم الجذور

تعتبر عملية إكثار النباتات في الزجاج (*In vitro Micropropagation*) ناجحة عند الحصول على نبات كامل في الحقل، أي بعد عملية الأقلمة (Acclimatization) (Pious, 1998)، وهذه المرحلة التي يتم فيها نقل النباتات من الزجاج إلى الوسط الخارجي، هي من المراحل الحساسة جداً لكثير من النباتات، حيث أن النبات في الزجاج يتعرض لرتوية عالية و ينمو على بيئة لا تتوفر فيها المياه (Dhawan and Bhojwani, 1987) و إن تغيير هذه الظروف يؤثر سلباً على النبات في الوسط الخارجي (Ex vitro plant)، كذلك الأمر أثناء نقل هذه النباتات، يتم تكسير و تمشيم عدد من الجذور عند الغسل (Dami and Hughes, 1977) و عند إعادة الزراعة في الوسط الخارجي أيضاً يتم فقد عدد من النباتات، و قد قام عدد من الباحثين بإجراء تجارب عديدة لإنجاح الأقلمة، سواء بتأخير نمو النباتات باستخدام باكلوبوترازول (Lasko et al. 1986; Smith et al. 1992)، أو بتقليل نسبة الرطوبة و زيادة شدة الإضاءة في الزجاج (Preece and Sutter, 1991)، تمت أقلمة نبات الكرمة المستنبتة في الزجاج من قبل كثير من الباحثين و قد وجد Nozeran and Bancilhon, (1972) أن نجاح أقلمة نباتات الكرمة المستنبتة في الزجاج قد تصل حتى 60% غير أن هذه النسبة تبقى ضئيلة مقارنة مع نباتات أخرى (Fulks and Mudge, 1988)، و قد وجد Gribaud et al., (1995) أن نباتات الكرمة الجيدة التحذير في الزجاج أكثر قدرة على اجتياز هذه المرحلة و أسرع نمواً في الحقل، كما قام Pious and Ravindra, (1997) بتقليم جذور نباتات الكرمة المستنبتة في الزجاج لتقوية هذه النباتات وتنشيط نموها، وفي دراسات سابقة ثبت أن الجرعات المنخفضة من أشعة غاما ذو تأثير إيجابي على نمو نباتات المستنبتة في الزجاج كزيادة وزن الكالوس في الجزر و الفاصولياء و البرتقال (Al-Safadi and Simon, 1996) و بعض أصناف الكرمة المحلية المستنبتة في الزجاج (Charbaji and Nabulsi, 1999)، كما يشير بعض الباحثين إلى أهمية العضو النباتي الذي يخضع للأشعة، فقد نصح (Cambedes, 1992) و (Duron and Decourty, 1990) باستخدام نباتات نمت في الزجاج (*in vitro explants*) للتشجيع، وذلك لصغر حجم تلك النباتات، و بالتالي فإن المساحة التي ستعرض للأشعة تكون صغيرة، مما يحد من ظهور الكايميرا في النباتات المشعة.

و الهدف من هذه التجربة هو معرفة الجرعة المثلى من أشعة غاما و المعاملة الأنسب للجذور (الاحتفاظ بالجذور أو تقليم هذه الجذور أو إزالتها نهائياً) لإنجاح أقلمة النباتات المستنبتة بالزجاج و بالتالي الإقلال من عملية الفقد التي تحصل عند نقل النباتات من الزجاج إلى الوسط الخارجي في مرحلة الأقلمة (Acclimatization).

2-المواد و الطرائق:

2.1- المادة النباتية: استخدم الأصل ر وكشري 140 و الصنف حلواني , تم الحصول على هذه النباتات من مجموعة نباتات الكرمة الأم المكترة بالأنسجة و الموجودة في مخبر زراعة الأنسجة في قسم التقانات الحيوية في هيئة الطاقة الذرية، و هي نباتات مستنبتة بالزجاج و بحالة جيدة و بنفس العمر و الصفات المورفولوجية، حيث تم إكثار هذه النباتات على شكل قطع صغيرة بطول 4 سم و كل قطعة تحمل برعم واستزرعت في البيئة المغذية في الزجاج.

2.2- البيئة المغذية: إكثار هذه الأصناف في الزجاج على بيئة DSD1 لمدة 30 يوما

تركيب البيئة المغذية DSD1 (Lima Da Silva and Doazan , 1995)

الكمية (مغ/لتر)	الملح أو المركب	
1000	NH ₄ NO ₃	
100	KNO ₃	
100	MgSO ₄ 7H ₂ O	العناصر الكبرى
180	KH ₂ PO ₄	
500	Ca(NO ₃) ₄ H ₂ O	
الكمية (مغ/لتر)	الملح أو المركب	
27.5	CuSO ₄ 5H ₂ O	
0.025	Na ₂ EDTA	
37.5	MnSO ₄ 7H ₂ O	العناصر الصغرى
0.025	ZnSO ₄ 7H ₂ O	
1	CoCl 6H ₂ O	
1	H ₃ BO ₃	
27.5	FeSO ₄ 7H ₂ O	
الكمية (مغ/لتر)	فيتامين	
1	Myoinisitol	الفيتامينات
10	Acide Nicotine	
1	Pyridoxine	
1	Thiamine	
الكمية غ/لتر		
20	سكروز	سكر و آغار
10	آغار	

- PH = 6.4 و تعقم على 116 °C لمدة 25 دقيقة.

و لا تحتوي هذه البيئة على منظمات النمو و ذلك لتجنب المرور بمرحلة الكالوس وبالتالي تلافي حدوث تغيرات وراثية (Galzy, 1985).

2.3- الاستزراع و النمو و التشجيع : تم تقسم هذه النباتات إلى قسمين :

- القسم الأول و الذي يقسم إلى ثلاث مجموعات متماثلة النمو: الأولى تقلم جذورها و يحتفظ ب 2-3 جذور أساسية و الثانية تزال جذورها نهائيًا و الثالثة يحتفظ بجذورها و تبقى كشاهد.

-القسم الثاني : تم تشجيع النباتات في الزجاج بالجرعتين 5 و 7 غري بعد 3 أسابيع من الإكثار في الزجاج من منبع ^{60}Co (THERATRON 80) و كان معدل الجرعة 0.71Gy، ثم قسمت النباتات إلى ثلاث مجموعات متماثلة النمو: الأولى تقلم جذورها و يحتفظ ب 2-3 جذور أساسية و الثانية تزال جذورها نهائيًا و الثالثة يحتفظ بجذورها و تبقى كشاهد.

2.4- الأقلمة: تم نقل النباتات للأقلمة ضمن أنابيب بلاستيك سعة 50 مل مملئة 20مل تورب و معقمة و محكمة الإغلاق لمدة أسبوع، ثم تم فتح هذه الأنابيب لمدة 30 دقيقة في اليوم الأول ثم تطال فترة الفتح تدريجياً 30 دقيقة يومياً لمدة أسبوع في جو معقم تحت الخيمة العقيمة في المخبر مع مراعاة ترطيب التورب بماء معقم في حالة جفافه.

و بعد هذه المرحلة تم نقل هذه النباتات إلى أصص سعة 250 مل على مملئة بمادة التورب، ووضعت هذه الأصص في بيت زجاجي على درجة 22 °C و رطوبة 80% لمدة 30 يوماً.

2.5-القراءات: جرى أخذ قراءات النمو بعد انتهاء فترة الأقلمة كالتالي:

-طول المجموع الخضري(سم)

-عدد الأوراق.

-المسطح الورقي (سم 2): بواسطة جهاز (ADC, Bioscientific) Area meter AM 100 و ذلك بقياس هذه المساحة للأوراق الأولى و الثانية و الثالثة.

-الوزن الجاف للنبات (مغ)

2.6-الدراسة الإحصائية: اتبع في هذه التجربة التصميم العشوائي الكامل في 3 مكررات لكل معاملة, كل مكرر يضم 4 أنابيب , و كل أنبوب يحتوي على نبات واحد .

تم تحليل التباين اعتماداً على وسطي القيم باستخدام برنامج حاسوب شخصي statview حسب طريقة فيشر PLSD لتقدير فيما إذا كانت هناك فروق معنوية بين المعاملات على مستوى ثقة 95%.

3- النتائج

3.1- النمو الخضري: تبين من الجدول (1) أن النمو الخضري لنباتات الأصل رو وكشيري 140 الغير مشععة قد ازداد عند تقليم الجذور معنوياً مقارنة مع الشاهد أو النباتات التي أزيلت جذورها كاملة، أما عملية إزالة الجذور قبل الأقامة فقد كان لها نتائج سلبية على النمو الخضري لهذا الأصل، كما لوحظت هذه النتيجة أيضاً عند النباتات المشععة بالجرعة 5 غري، وعند مقارنة نتائج النباتات المشععة مع غير المشععة تبين أن للأشعة تأثير معنوي على نباتات الشاهد والنباتات التي قلمت جذورها.

تبين أن تقليم الجذور في الصنف حلواني كان له أثراً إيجابياً على النمو الخضري لها الصنف مقارنة مع الشاهد، و كان هناك تأثير سلبي لإزالة الجذور نهائياً على هذا النمو لهذا الصنف. و كان هناك تأثير إيجابي لأشعة غاما على الشاهد (النباتات المحتفظه بجذورها) فقط، و لكن كان هناك تأثير سلبي للجرعة 7 غري على النمو الخضري للنباتات التي تم إزالة جذورها نهائياً (جدول 2).

3.2- عدد الأوراق: كان لعملية تقليم الجذور تأثير إيجابي على عدد أوراق الأصل ر وكشيري 140 و الصنف حلواني سواء المشععة أو غير المشععة مقارنة مع الشاهد و النباتات التي أزيلت جذورها كاملة، أما عملية إزالة الجذور قبل الأقامة فقد كان لها نتائج سلبية على هذا العدد سواء تم تعريض النبات للأشعة أو لم يتم ذلك، و كان لأشعة غاما تأثير إيجابي أيضاً على عدد الأوراق سواء للشاهد أو النباتات التي تم تقليم جذورها مقارنة مع النباتات الغير مشععة (جدول 1 و 2).

3.3- المساحة الورقية: لم يظهر أي تأثير لعملية تقليم الجذور على المساحة الورقية للنباتات مقارنة مع الشاهد الصل رو وكشيري 140 و الصنف حلواني بينما كان لإزالة الجذور تأثير سلبي على المساحة الورقية للنبات مقارنة مع الشاهد، و لم يظهر أي تأثير للأشعة على هذه النباتات المدروسة و لكافة العمليات التي تمت على الجذور (جدول 1 و 2).

3.4- الوزن الجاف: كان للجرعة 5 غري و لتقليم الجذور تأثير إيجابي على الوزن الجاف لنباتات الأصل رو وكشيري 140 مقارنة مع الشاهد المشعع و النباتات التي تم إزالة جذورها، أما ما يتعلق بالنباتات التي لم تتعرض للأشعة، فقد كان هناك اختلاف معنوي بين النباتات التي تم تقليم جذورها و النباتات الشاهد، و ظهر التأثير السلبي لعملية إزالة الجذور على الوزن الجاف لهذا الأصل مقارنة مع الشاهد (جدول 1).

تبين أن لتقليم الجذور تأثير إيجابي و معنوي و لعملية إزالة الجذور تأثير سلبي معنوي على الوزن الجاف للصنف حلواني سواء عرضت النباتات لأشعة غاما أم لم تعرض مقارنة مع الشاهد، و كان لأشعة غاما تأثير إيجابي على الوزن الجاف للنباتات التي احتفظ بجذورها، على عكس النباتات التي تم إزالة جذورها نهائياً حيث كان الأشعة غاما تأثير سلبي على وزنها الجاف (جدول 2).

جدول 1: تأثير معاملات أجريت على جذور الأصيل روكشري 140 المستنبت في الزجاج و الذي تعرض لجرعات منخفضة لأشعة غاما على النمو الخضري و عدد الأوراق و المساحة الورقية والوزن الجاف لنباتات هذا الأصيل في مرحلة الأقلمة.

الجرعة (غري)	النمو الخضري (سم)	عدد الأوراق	المساحة الورقية (سم ²)	الوزن الجاف (مغ)
	معاملة 1 معاملة 2 معاملة 3	معاملة 1 معاملة 2 معاملة 3	معاملة 1 معاملة 2 معاملة 3	معاملة 1 معاملة 2 معاملة 3
0	B 2.53a	A 7.66b	B 6.00b	A 111.66b
	A 8.94b	A 7.66b	A 4.38a	A 120.00b
	C 2.53a	C 1.66a	B 2.35a	B 26.66a
5	B 8.58a	A 9.33a	A 7.33a	A 147.33a
	A 9.89a	C 1.33a	B 1.73a	A 190.33a
	C 1.16b	C 1.33a	C 1.73a	C 21.66a

تختلف المتوسطات المشار إليها بأحرف كبيرة ضمن السطر و بأحرف صغيرة ضمن العمود معنوياً على مستوى $P < 0.05$

المعاملة 1 = النباتات المتحفظة بجذورها المعاملة 2 = النباتات المقلمة الجذور المعاملة 3 = نباتات أزيلت جذورها

النمو الخضري: L.S.D.(0-5 Gy) = 0.73 , L.S.D. (1, 2, 3) = 0.90

عدد الأوراق: L.S.D.(0-5 Gy) = 0.68 , L.S.D. (1, 2, 3) = 0.83

المساحة الورقية: L.S.D.(0-5 Gy) = 0.75 , L.S.D. (1, 2, 3) = 0.93

الوزن الجاف: L.S.D.(0-5 Gy) = 11.96 , L.S.D. (1, 2, 3) = 14.

جدول 2: تأثير معاملات أحرقت على جذور الصنف حلواني المستنبت في الزجاج و الذي تعرض لجرعات منخفضة لأشعة غاما على النمو الخضري و عدد الأوراق و المساحة الورقية و الوزن الجاف لنباتات هذا الصنف في مرحلة الأقلمة.

الجرعة (غري)	النمو الخضري (سم)	عدد الأوراق	المساحة الورقية (سم ²)	الوزن الجاف (مغ)
	معاملة 1 معاملة 2 معاملة 3	معاملة 1 معاملة 2 معاملة 3	معاملة 1 معاملة 2 معاملة 3	معاملة 1 معاملة 2 معاملة 3
0	C A B 3.46a 9.15a 8.20b	C A B 1.66a 8.08b 5.75b	B A A 2.53a 8.83a 8.52a	C A B 60.66a 175.00a 136.33b
7	C A B 2.13b 9.58a 8.95a	C A B 1.66a 9.25a 6.75a	B A A 3.33a 8.00a 8.83a	C A B 42.33b 180.66a 164.00a

تختلف المتوسطات المشار إليها بأحرف كبيرة ضمن السطر و بأحرف صغيرة ضمن العمود معنوياً على مستوى $P < 0.05$

المعاملة 1 = النباتات المحفوظة بظورها ، المعاملة 2 = النباتات المقلمة الجذور ، معاملة 3 = نباتات أزيلت جذورها

النمو الخضري: L.S.D. (0-5 Gy) = 0.44 ، L.S.D. (1, 2, 3) = 0.54

عدد الأوراق: L.S.D. (0-5 Gy) = 0.69 ، L.S.D. (1, 2, 3) = 0.85

المساحة الورقية: L.S.D. (0-5 Gy) = 1.10 ، L.S.D. (1, 2, 3) = 1.35

الوزن الجاف: L.S.D. (0-5 Gy) = 8.27 ، L.S.D. (1, 2, 3) = 10.13

4- المناقشة:

كان لعملية تقليم الجذور في هذه التجربة تأثير إيجابي على نمو نباتات الأصل روكشري 140 و الصنف حلواني، و هذا ما يتوافق مع نتائج Pious and Ravindra, (1997) على الكرم.

يعتبر بعض الباحثين أن تنشيط النمو عند النباتات باستخدام الأشعة هو من الطرق المثلى و ذات المردود العالي جداً (Lima Da Silva, 1995) ، و في ما يتعلق بنبات الكرم المستنبت في الزجاج فقد وجد سابقاً أن لأشعة غاما تأثير إيجابي على نموه عند إجراء عملية الإكثار في الزجاج و هذا التأثير يختلف بين الأصل و الصنف (Charbaji and Nabulsi, 1999)، و في هذه التجربة وجد أن تشجيع النبات (الأصل) قبل الأقلمة يؤدي إلى نتائج جيدة في ما يتعلق بالنمو الخضري و عدد الأوراق و الوزن الجاف لنباتات الشاهد و النباتات التي قلمت جذورها و هذا ما

يتوافق مع نتائج سابقة على الكرمة (Lima Da Silva, 1995؛ Charbaji and Nabulsi, 1999) و على بذور الذرة (Bakr et al., 1976)، و هذا يعود إلى الأثر التحريضي للأشعة المؤينة على النشاط الأنزيمي (Cabela and Altamann, 1971) و خصوصاً النشاط الأنزيمي المرتبط بالأوكسينات و على الاصطناع الحيوي لبعض الأحماض الأمينية في النبات مثل الميسين و الفينيل ألانين (Antonov, 1985)، لكن هذا الأثر الإيجابي لأشعة غاما على نباتات الأنسجة لم يظهر على الصنف حلواني عند مرحلة الأقلمة في أغلب الأحيان إلا في الشاهد المحتفظ بجذوره و يعود هذا الاختلاف في الاستجابة إلى أشعة غاما بين الأصل و الصنف إلى اختلاف الطرز الوراثية و هذا يتفق مع نتائج (Lima Da Silva, 1995) على الأصلين غرافيساك و فيركال و مع نتائج Charbaji and Nabulsi, (1999) على بعض الأصول و الأصناف حيث أثبت أن لكل مادة نباتية جرعتها المثلى التي تحرض نموها.

إن عملية إزالة الجذور نهائيًا سواء عرض النبات للأشعة أم لم يعرض، كانت نتائجها سلبية على النبات في مرحلة الأقلمة مقارنة مع الشاهد، كما أن النباتات كانت صغيرة و عدد أوراقها و وزنها الجاف أقل من الشاهد و تتصف بلونها المصفر و هذا ناتج عن عوز السيستوكينات (Thomas and Stoddart, 1980) و إلى قلة امتصاص العناصر المعدنية من قبل النبات و خصوصاً الحديد (Carter and Myers 1973)، و ارتفاع نسبة الأنتوسيانين نتيجة لقلة امتصاص النترات (Do and Cormier, 1991).

5- التوصيات:

- 5.1- يمكن تقليم الجذور و تعريض الأصل روكشري 140 لأشعة غاما بالجرعة 5 غري قبل الأقلمة لتنشيط النمو عند النبات في هذه المرحلة
- 5.2- يمكن تعريض الصنف حلواني للجرعة 7 غري قبل الأقلمة لتنشيط النمو عند النبات
- 5.3- يمكن تقليم جذور الصنف حلواني بدون تعريضه للأشعة قبل الأقلمة لتنشيط النمو عند النبات
- 5.4- لا ينصح بعملية إزالة الجذور نهائيًا للأصل أو الصنف المدروسين.

كلمة شكر:

نتوجه بجزيل الشكر للسيد الأستاذ الدكتور إبراهيم عثمان المدير العام لقيمة الطاقة الذرية، والسيد الدكتور نجم الدين شرايبي رئيس قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانات الحيوية لتشجيعهم الدائم للعمل، ونشكر أيضاً كل من المهندسين عثمان سراقبي و انتصار قره حولي وأمينة شعيب و م.م ناورز ظاهر لمساهماتهم القيمة في إنجاز هذه التجربة.

المراجع

- Al-Safadi, B. and Simon, P.W.. (1996): Gamma irradiation induced variation in carrot, J. Amer. Soc. Hort. Sci. 12: 599-603.
- Antonov, M.. (1985) : Effect of gamma irradiation and storage duration of maize seeds on certain biochemical changes in the grain, Pastenieve D.Nauki, 19-24.
- Bakr, A. M., Ashour, N. E., El-Basyouni, S.Z. and Saed, A M.. (1976): Response of the phitisynthetic apparatus of corn (*Zea mays*) to preswing seed treatment with gamma rays and ammonium molybdate. Envr. Exp. Bot. 21: 325-332.
- Cabela, E. and Al-Tamann, H.. (1971): Influence of gamma irradiation on the glucose-6-phosphate dyhydrogenase isozymes of synchromesh chlorella cell kerntechnic 13: 556-557.
- Cambededes, J.. (1992): Methodologie de la mutagenese *in vitro* du genre *Lonicera organogenese* et caracterisation de mutants. These de Doctorat. Uni. D'Anger.
- Charbaji T. and Nabulsi I. (1999): Effect of low doses of gamma irradiation on *in vitro* growth grapevine. Plant cell, tissue and organ culture, 57: 129-132.
- Carter, D. and Myers, V.. (1973): Proc. Amer. Soc. hort. Sci., 82. 217p.
- Dami, I . and Hughes, H. G.. (1997): Effect of PEG-induced water stress on *in vitro* hardening of Valiant grape. Plant cell, Tissue and Organ Culture, 47:97-101.
- Dhawan, V. and Bhojwani, S. S.. (1987): Hardening *in vitro* and morpho-physiological changes in the leaves during acclimatization of micro propagated plants of *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit. Plant Sci. 53:65-72.
- D0, C. B. and Cormier, F.. (1991): Effect of low nitrate and high sugar concentration on anthocyanin content and composition of grape (*Vitis vinifera* L.) cell suspension. Plant Cell, Rep.9: 500-504.
- Duron, M. and Decourty, L.. (1990): *In vitro* variation in *Weigela*. In: Biotechnology in Agriculture and forestry, Vol. II- Somaclonal variation in crop improvement I(ed BAJAJ Y. p. S.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 606-623.
- Fulks, L. and Mudge, K. W.. (1987): Optimisation of environmental conditions of stage IV micropropogated grapes. HortScience 23: 757.
- Galzy, R.. (1985): Les possibilitees de conservation *in vitro* d'une collection de clones de vignes. Bull.O. I. V. 650.
- Gribaud, I., Morte, M. A. and Schubert, A ..(1995): Use of gentian violet to differentiate *in vitro* and *ex vitro*-formed roots during acclimatization of grapevine, Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 41: 187-188.
- Lasko, A. N., Reish, B. I., Mortensen, J. and Robert, M. H .. (1986): Carbon dioxide enrichment for stimulation of growth of *in vitro* propagated grapevines after transfer from culture. J. Amer. Soc. Hort. Sci.111:634-638.
- Lima Da Silva, A.and Doazan, J. P .. (1995): Une methode d'irradiation aux rayon gamma appliquees a des porte-greffes de vigne *in vitro*. J.Int. Sc. Vigne.Vin. 29:1-9.
- Lima Da Siva, A.. (1995): Mutagense *in vitro* de port-greffes de la vigne: Methodologie d'irradiation , d'isolment et caracterisation de mutants. These Doc. Uni. Bordeaux II.No375.
- Nozeran, R.and Bancilhon, L .. (1972): Les culture *in vitro* en tant que technique pour l'approch de problemes poses par l'amelioration des plants. Ann. Amelio. Plantes. 22:167-185.

- Pious, T. and Ravindra, M. B.. (1997): Effect of pruning or removal of in vitro formed roots on ex vitro root regeneration and growth in micropropagated grapes. *Plant Cell, Tissue and Organ culture*. 51: 177-180.
- Pious, T.(1998): Humid incubation period and plantlet age influence acclimatization and establishment of micro propagated grapes. *In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 34: 52-56.
- Preece, J. and Sutter, E. G.. (1991): Acclimatization of micropropagated plants to the glasshouse and field. In: Debergh, P.C.; Zimmerman, R.H., eds. *Micropropagation technology and application*. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers: 71-93.
- Smith, F. E., Gribaud, I., Roberts, V. A. and Mottely, J.. (1992): Paclobutrazol and reduced humidity improved resistance to wilting of - microporpagated grapevine. *Hort. Science*.27: 111-113.
- Thomas, H. and Stoddart, J. L.. (1980): Leaf senescence. *Annu. Rev. Plant Physiol*. 31:83-111.

الملحق

جدول 1 : تحليل التباين للنمو الخضري للأصل روكشري 140

التباين	درجة الحرية f	مجموع المربعات	مربع المتوسطات	قيمة F	قيمة P
الجرعة	1	0.510	0.510	0.996	0.338
العملية	2	191.775	95.888	187.193	<0.0001
الجرعة X العملية	2	6.708	3.354	6.548	0.0120
المتبقي	12	6.147	0.512		

جدول 2 : تحليل التباين لعدد الأوراق للأصل روكشري 140

التباين	درجة الحرية f	مجموع المربعات	مربع المتوسطات	قيمة F	قيمة P
الجرعة	1	3.556	3.556	8.000	0.0152
العملية	2	158.111	79.056	177.875	<0.0001
الجرعة X العملية	2	3.444	1.722	3.875	0.0503
المتبقي	12	5.333	0.444		

جدول 3 : تحليل التباين للمساحة الورقية للأصل روكشري 140

التباين	درجة الحرية f	مجموع المربعات	مربع المتوسطات	قيمة F	قيمة P
الجرعة	1	0.061	0.61	0.112	0.7436
العملية	2	36.200	18.100	33.108	<0.0001
الجرعة X العملية	2	1.240	0.620	1.134	0.3539
المتبقي	12	6.560	0.547		

جدول 4 : تحليل التباين للوزن الجاف للأصل روكشري 140

التباين	درجة الحرية f	مجموع المربعات	مربع المتوسطات	قيمة F	قيمة P
الجرعة	1	5100.500	5100.500	37.611	<0.0001
العملية	2	57829.778	28914.889	213.219	<0.0001
الجرعة X العملية	2	4265.333	2132.667	15.726	<0.0004
المتبقي	12	1627.333	135.611		

جدول 5 : تحليل التباين للنمو الخضري لتصنف حلواني

التباين	درجة الحرية f	مجموع المربعات	مربع المتوسطات	قيمة F	قيمة P
الجرعة	1	0.011	0.011	0.060	0.8108
العسبة	2	154.197	77.098	410.280	<0.0001
الجرعة X العسبة	2	3.781	1.890	10.060	0.0027
الخطي	12	2.255	0.188		

جدول 6 : تحليل التباين لعدد الأوراق لتصنف حلواني

التباين	درجة الحرية f	مجموع المربعات	مربع المتوسطات	قيمة F	قيمة P
الجرعة	1	2.347	2.347	5.121	0.0430
العسبة	2	151.694	75.847	165.485	<0.0001
الجرعة X العسبة	2	1.194	0.597	1.303	0.3075
الخطي	12	5.500	0.458		

جدول 7 : تحليل التباين للمساحة الورقية لتصنف حلواني

التباين	درجة الحرية f	مجموع المربعات	مربع المتوسطات	قيمة F	قيمة P
الجرعة	1	0.263	0.263	0.227	0.6420
العسبة	2	133.898	66.949	57.952	<0.0001
الجرعة X العسبة	2	0.981	0.491	0.425	0.6634
الخطي	12	13.863	1.155		

جدول 8 : تحليل التباين لوزن الجاف لتصنف حلواني

التباين	درجة الحرية f	مجموع المربعات	مربع المتوسطات	قيمة F	قيمة P
الجرعة	1	102.722	102.722	1.582	0.2324
العسبة	2	53127.111	26563.556	409.020	<0.0001
الجرعة X العسبة	2	1587.111	793.556	12.219	0.0013
الخطي	12	779.333	64.94		

Abstract

In vitro rootstock (Ru 140) and Helwani variety were cultured on DSD1 media, were irradiated at low doses of gamma irradiation before acclimatization. Ru 140 were exposed to 0-5 Gy, while Helwani was exposed to 0-7 Gy. Then, the plants were divided into three different groups 1)- the plant roots were pruned, 2)- the plant roots were completely removed, 3)- the plant roots were kept intact (control). The *ex vitro* plants were observed after 45 days of planting. Shoots growth, leaf number and dry weight of Ru 140 were significantly higher than those of the control when roots were pruned and 5 Gy was applied. Those parameters were negatively affected by root removal. Gamma irradiation had a positive effect on the control comparing to unirradiated plants.

Root pruning had positive effects on shoot growth, leaf number and dry weight of Helwani variety, while root removal had a contrary effect on this variety. Gamma irradiation positively affected shoot growth and dry weight of control comparing to unirradiated plants. similar effect was observed on leaf number of control and pruned plant of Helwani.

Key words: Acclimatization, grapevine, root pruning and tissue culture.