J. Plant Production, Mansoura Univ., Vol. 2 (9): 1183 - 1191, 2011

IN VITRO MICROPAGATION OF *Stevia rebaudiana* BY USING DIFFERENT MEDIA

Amro A. E.* and A. Baracat**
*** Fac. Agric., Aleppo Univ.**
**** General Organization For Seed Malty Application**

الإكثار المخبري لنبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* باستخدام بيئات غذائية

عبد المحسن السيد عمر* و أيمن بركات**
*** جامعة حلب – كلية الزراعة**
**** المؤسسة العامة لإكثار البذار**

الملخص

أجري هذا البحث على نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* المكاثر مخبرياً بهدف دراسة إمكانية تطبيق تقنية الإكثار الدقيق لهذا النبات وتحديد البيئة الغذائية الأمثل للإكثار الخضري الدقيق سجلت النتائج مخبرياً بعد زراعة بذور نبات الستيفيا في بيئة غذائية معقمة MS (Murashige and Skooge, 1962)

وبعد إنبات البذور ضمن البيئة تم إكثار النباتات الناتجة بواسطة العقل ضمن البيئة الغذائية المذكورة وبعد 30 يوم من الزراعة تم إكثار النباتات الناتجة في ستة بيئات مختلفة و بأربعة مكررات لكل منها وسجلت القراءات في نهاية الأسبوع الرابع و البيئات المستخدمة هي :

MS، MS+2mgKin+2mgIAA، MS+0.2mgBAP ، MS+0.5mgGA3 MS1/2MS Ph5

وكانت أهم النتائج المتحصل عليها:

١- لوحظ أن بيئة MS pH5 قد أعطت أعلى متوسط لطول النبات /5.12 سم/ في حين ان الزراعة في بيئة MS احتلت الترتيب الثاني في هذه القراءة وبدون فرق معنوي بين البيئتين .

٢- أما بالنسبة لمتوسط عدد الأفرع فكان التفوق لبيئة MS + 0.2mgBAP وبيئة MS + 2mg Kin + 2mgIAA وبقراءة 5.75 و 5.25 على التوالي وبدن فروق معنوية بينهما .

٣- بالنسبة لمتوسط عدد الأوراق فكان التفوق لبيئة MS + 2mgKin + 2mgIAA وبقراءة 17 وبدون فروق معنوية مع بيئة MS + 0.2mg BAP و التي كانت قراءتها 15.5 وبفروق معنوية مع باقي البيئات .

٤- في حالة متوسط طول الجذور فقد تفوقت بيئة MS على باقي البيئات وبقراءة /1.75 سم / وبدون فروق معنوية مع بيئة MS pH5 وبيئة MS + GA3 وبقراءة 1.5 لكل منهما .

الكلمات المفتاحية : الستيفيا – إكثار خضري دقيق – بيئة موراشيغ و سكوك – سيتوكينين – كينين – اندول استيك اسيد

المقدمة والأبحاث السابقة

يتبع نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* لعائلة *Astraceae* وهو نبات عشبي معمر يحتوي على حلاوة طبيعية من 200 - 300 مرة من السكروز و تعتبر أوراق الستيفيا هي مصدر لمواد الجليكوسايد والستيفوسايد والريبدسايد حيث يزرع النبات و تحش الأوراق للحصول على الستيفوسايد و الذي يعتبر مصدر الحلاوة الطبيعية وهو ذو مذاق جيد وثبات كيميائي و لايحتوي على حريرات ، و يستعمل كغذاء وكمنتج صيدلاني كما انه مهم جدا لمرضى السكري و الحمية ويمكن إضافة المنتج إلى الشاي والقهوة والمعجنات والعصائر و الطبخ (Ahmed *et al.*, 2007) واحد من 154 نوع من جنس *STEVIA* وهي عشبه حلوة المذاق استعملت من قبل الهنود الحمر كنبات طبي و اهتمت العديد من الدول بزراعتها وأجريت الكثير من الأبحاث عليها (Ramesh, *et al.*, 2006)

يعتبر الموطن الأصلي لنبات الستيفيا هو المناطق الشمالية من أمريكا الجنوبية (الباراغوي) وهو يعيش بشكل بري في الأراضي المرتفعة ، وينمو النبات البري في التربة الحامضية دائمة الرطوبة على أن لاتكون غدقة الستيفيا يمكن ان تعيش بنجاح في معظم المناخات . ففي أمريكا الشمالية تزرع الستيفيا في المناطق الدافئة كنباتات معمرة تعاد زراعتها كل عدة سنوات أما في المناطق الأبرد تزرع الستيفيا كنبات حولي بعد انتهاء وقت الصقيع (David, 1996) يتكاثر نبات الستيفيا بريا إما بالبذور حيث تنبت البذور الناتجة في الأرض أو أن ينمو مجموع خضري جديد من منطقة التاج في قاعدة النبات الأم بعد موت المجموع الخضري للنبات الأم . أما زراعيا فيتكاثر نبات الستيفيا إما بالبذور أو بالعقلة أو بتقنية زراعة الأنسجة . و زراعة البذور شائعة في المناطق المدارية حيث لا توجد ظروف مناخية تحد من طول فصل النمو أما في المناطق الباردة حيث فصل النمو قصير يتم إنبات البذور في البيوت الزجاجية وهذه الطريقة قليلة النجاح بسبب صعوبة إنبات بذور نبات الستيفيا (David *et al.* ,2002)

إن الإكثار الخضري لنبات الستيفيا يبقى محدود بعدد العقل الممكن الحصول عليها من النبات الواحد(Sakaguchi and Kan , 1982)

أما الإكثار بالبذور فلا يعطي نباتات لها نفس الصفات المورفولوجية و التكنولوجية كدرجة الحلاوة و المورفولوجية وتركيبها (Tamura et at. , 1984) كما أن نسبة الإنبات في بذور نبات الستيفيا منخفضة (Felippe and Lucas1971) لذلك يعتبر إكثار الستيفيا بتقنية إكثار الأنسجة أسرع و أفضل طرق الإكثار (Janarthanam *et al*,.2009)

وقد أجريت العديد من الأبحاث على إكثار نبات الستيفيا بتقنية إكثار الأنسجة حيث قام (Debnath,2008) بدراسة اثر إضافة الهرمونات إلى بيئة MS وبتراكيز مختلفة وتأثيرها على طول النبات وعدد الأفرع وبين ان إضافة BAP إلى بيئة MS أدى إلى زيادة عدد الأفرع ونقص طول الفرع الواحد أما التراكيز المرتفعة من BAP فقد أدت إلى تأثير سلبي على نمو الأفرع

أما (Muhammad *et al*,2007) فدرس الإكثار المخبري الدقيق لنبات الستيفيا وقارن بين إضافة BAP وبتراكيز مختلفة وإضافة Kin وبتراكيز مختلفة إلى بيئة MS وتأثيرهما على عدد و طول الأفرع حيث إن تأثيرهما متعاكس فقد كان BAP له تأثير أفضل في زيادة عدد الأفرع

أما (Hossain *et al*,2008) فقد أكد النتائج السابقة بالإضافة إلى دراسته تأثير تركيز العناصر الغذائية في بيئة MS على طول وتشكل الجذور . لكن (Ibrahim *et al*, 2008) من خلال أبحاثه على إكثار نبات الستيفيا بطريقة الإكثار المخبري الدقيق فقد بين إن بيئة MS بدون إضافة عوامل النمو أفضل لنمو و تطور نبات الستيفيا في حين اثبت (Aamir *et al*, 2010) إمكانية إكثار نبات الستيفيا بتقنية الإكثار المخبري الدقيق وتأثير إضافة BAP إلى بيئة MS على عدد الأفرع .وقد حدد (مهدي 2006) تركيز الستوكينين والكينين والاندول استيك اسيد المستخدم في إكثار نبات الستيفيا مخبرياً لإنتاج شتول مخبريه .

الهدف من البحث

1 – دراسة إمكانية تطبيق تقنية الإكثار الخضري المخبري في إكثار نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana*

2 – تحديد البيئة الغذائية الأمثل للإكثار الخضري المخبري لنبات الستيفيا *Stevia rebaudiana*

مواد البحث وطرائقه

مكان تنفيذ البحث: مخابر المؤسسة العامة لإكثار البذار – مختبرات زراعة الأنسجة

المادة النباتية: بذور نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana*

وسط الزراعة : استخدمت بيئة موراشيج و سكوج 1962 في كل مراحل التجربة كما تم استخدام بيئات معدلة من حيث كمية العناصر الغذائية و الهرمونات ودرجة الحموضة وزرع الوسط الغذائي في أنابيب اختبار بطول 20 سم وقطر 2.2 سم وزرع فيها 10 مل من البيئة ثم تم تغطيتها بالقطن و تعقيمها بجهاز التعقيم بالحرارة الرطبة (اوتوكلاف) على درجة حرارة 121 درجة مئوية وضغط 1 بار وزمن 20 دقيقة

1 – الزراعة التأسيسية:

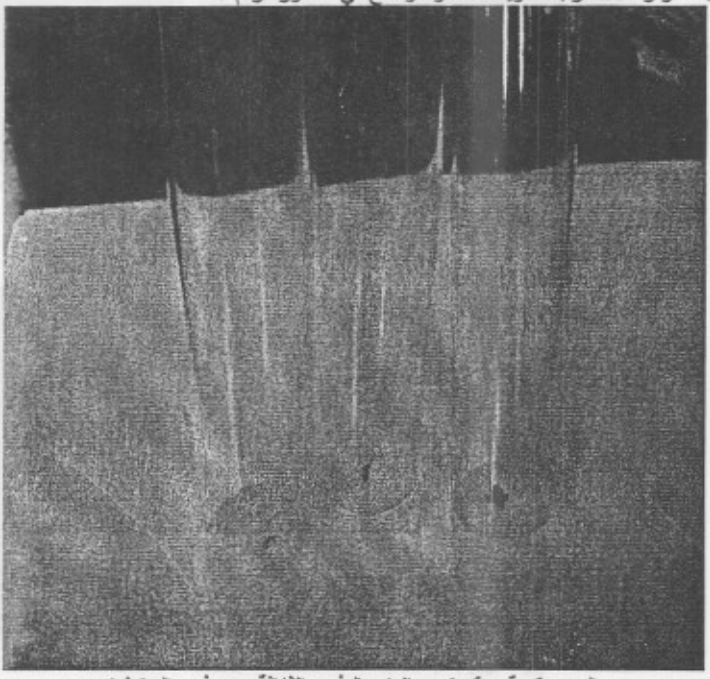
أخذت 10 بذور من نبات الستيفيا *Stevia rebaudiana* وغمست في محلول هيبوكلوريت الصوديوم تركيزه 5% لمدة 5 دقائق ثم غسلت البذور بالماء المعقم ثلاث مرات لمدة 10 دقائق ثم زرعت

البذور في بيئة MS في أنابيب كل بذرة في أنبوب كما أخذت 10 بذور وغسلت بالماء المعقم ثلاث مرات لمدة 10 دقائق ثم زرعت في بيئة MS

وضعت البذور المزروعة في الظلام على درجة حرارة 25 درجة مئوية وبعد 20 يوم بدأ إنبات البذور وبدأت تظهر الأوراق الفلقية و ذلك في البذور التي لم تغمر بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم وذلك فقط في 3 بذور أي أن نسبة إنبات البذور المعاملة بالماء المعقم 30%

أما البذور التي غمرت بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم فانتبجت و تلونت بالأبيض ولم تنبت بالرغم من أن مادة هيبوكلوريت الصوديوم تستعمل كمادة للتطهير السطحي في العديد من النباتات المزروعة مخبرياً (Pevalek and Jelaska 1987) إذ تتميز بفاعلية في تطهير المادة النباتية وبتركيز ٥% إلا أن استعمالها لإنبات بذور الستيفيا كان له دور سلبي وهذا يؤكد حساسية أجنة بذور الستيفيا لوسط التعقيم .

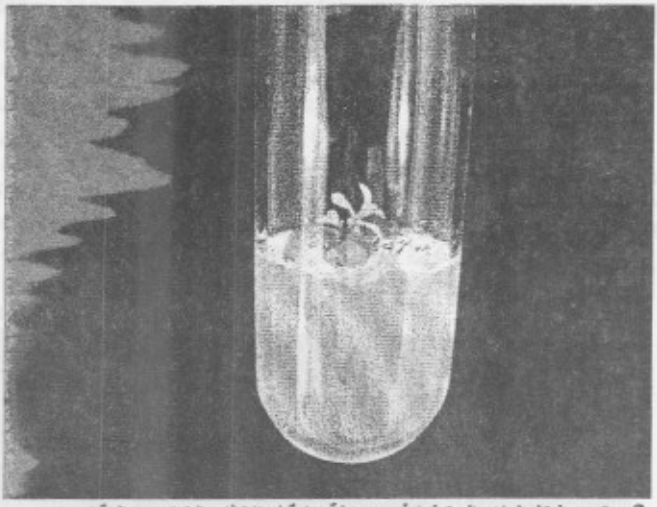
ثم نقلت الأنابيب الثلاثة النابتة إلى الإضاءة ضمن الحاضنة 16 ساعة إضاءة 8 ساعات ظلام وعلى درجة حرارة 25 درجة مئوية كما هو موضح في الصورة رقم 1.



الصورة رقم 1 :تبين إنبات البذور الثلاثة من بذور الستيفيا

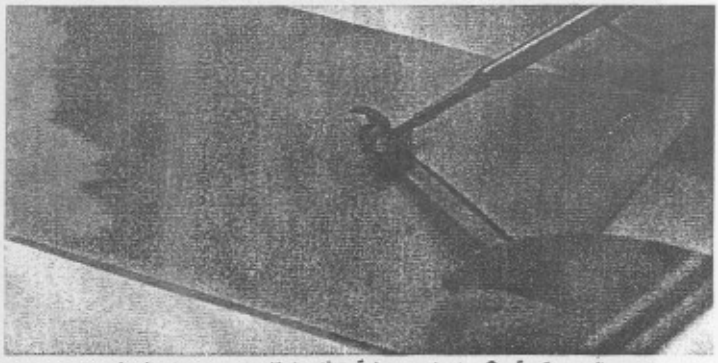
2 – إكثار الشتول :

عند وصول النبتة إلى طول 3 سم بدأت عملية الإكثار المخبري الدقيق وذلك بإكثار النبات بواسطة العقل وزراعة كل عقلة في أنبوب اختبار يحوي بيئة MS كما في الصورة رقم 2.



الصورة رقم 2 : تبين شكل نبات الستيفيا في مرحلة ما قبل الإكثار الخضري الدقيق

وقد كان الإكثار ضمن جهاز العزل كما هو موضح بالصورة رقم 3.



الصورة رقم 3 : توضح عملية إكثار العقل ضمن جهاز العزل

و زرعت العقل ضمن وسط غذائي MS مضافا إليه 30 غ سكر و5.5 غ اجار وضبطت درجة الحموضة على 5.7 وبعد نمو العقل ضمن الوسط الغذائي تم إكثارها مرة ثانية حيث استخدمت البيئة السابقة كشاهد بالإضافة إلى معاملات أخرى شملت على:-

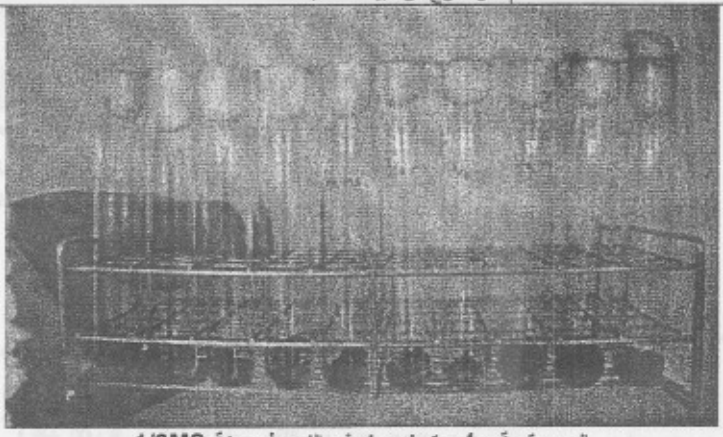
1/2MS, MS+0.2mgGA3, MS + 0.2BAP, MS+ 2mg Kin + 2mgIAA and MS pH 5

ودرس نمو العقل المزروعة ضمن البيئات المذكورة وقد حضنت النباتات على حرارة 25 درجة مئوية ورطوبة 65% وشدة ضوئية 3000 لوكس وبمعدل 16 ساعة إضاءة و 8ساعات ظلام ، إن عملية الإكثار المخبري لنبات الستيفيا في بيئة MS تأخذ وقت طويل رغم نجاح العملية فتم البحث عن أفضل بيئة غذائية لإكثار نبات الستيفيا من بين البيئات المذكورة و تم تسجيل الملاحظات وفقا" للجدول رقم 1.

يتبين من المشاهدات المذكورة في الجدول رقم 1. إمكانية تطبيق تقنية الإكثار الخضري الدقيق في إكثار نبات الستيفيا وان استعمال البيئة الغذائية MS بدون إضافات أعطت نموات جيدة للعقل المزروعة لكن نموها بطيء أما بيئة 1/2MS أدت إلى نموات متقزمة وضعيفة كما هو موضح بالصورة رقم 4 .

جدول رقم 1 : يبين بعض الملاحظات على البيئات المستخدمة في البحث

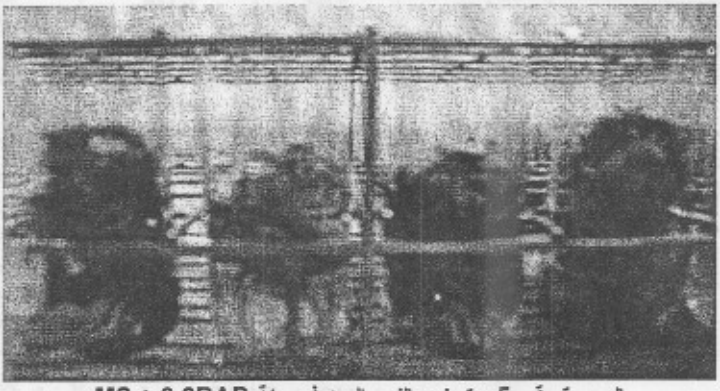
MS	كانت مناسبة لنمو العقل ولو أن النمو بطيء
MS + 0.5mgGA3	تم إضافة الجبريليك للبيئة للمساعدة في استطالة النبات لكن استجابة النباتات ضعيفة
1/2MS	أدت إلى تقزم النباتات الناتجة وبطء في النمو
MS + 0.2BAP	أعطت تفرعات صغيرة مغموسة في البيئة دون استطالة للنموات الخضراء كما أدت إلى إفرازات بلون اخضر لونت البيئة باللون الأخضر
MS + 2mg Kin + 2mgIAA	أعطت نموات وتفرعات متفرقة وإفرازات بلون اخضر
MS (pH5)	النمو أسرع من البيئات السابقة



الصورة رقم 4 : توضح ضعف النمو في بيئة 1/2MS

إن استعمال الجبريليك مع بيئة MS للمساعدة في استطالة النباتات الناتجة من نمو العقلة لم يعطي نتيجة إنما بقي نمو النباتات بطيئاً

أما إضافة BAP أدت إلى تفرعات صغيرة ضمن البيئة ونمو كثيف بدون استطالة لتلك النموات وتوضح ذلك الصورة رقم 5 .



الصورة رقم 5 : توضح النمو الجيد في بيئة MS + 0.2BAP

أما إضافة الكينتين و الاندول استيك اسيد إلى البيئة أدى إلى نموات متفزمة وقصيرة ولم تعطي نتيجة ويوضح ذلك الصورة رقم 6 .

الصورة رقم 6 : تبين النبات الناتج من الزراعة في بيئة MS + Kin + IAA

التحليل الإحصائي :

استخدم برنامج التحليل الإحصائي MSTAT وسجلت الفروق المعنوية على مستوى 5%

النتائج و المناقشة

يوجز الجدول رقم 2 . نتائج التحليل الإحصائي MSTAT المتبع في هذا البحث مبينا" أفضل بيئة لكل صفة من الصفات المدروسة لنبات الستيفيا *Stevia rebaudiana*

الجدول رقم 2 : يبين تأثير استخدام عدة بيئات غذائية على كل من متوسط طول النبات و عدد الأفرع وعدد الأوراق و طول الجذور وذلك من خلال الإكثار المخبري لنبات الستيفيا ***Stevia rebaudiana***

البيئات	متوسط طول النبات سم	متوسط عدد الأفرع	متوسط عدد الأوراق	متوسط طول الجذور سم
M S	4.63 A	1.5 B	5.75 B	1.75 A
1/2 MS	1.38 C	2.0 B	6.0 B	0.38 B
MS + GA3	3.63 AB	1.75 B	5.0 B	1.5 A
MS + BAP	2.5 BC	5.75 A	15.5 A	0.13 B
MS + Kin + IAA	1.63 C	5.25 A	17.0 A	0.25 B
MS pH 5	5.12A	2.0B	9.0B	1.5A
L S D at 0.05 %	1.49	1.8	3.76	0.67

تشير النتائج إلى ما يلي :

1- متوسط طول النبات : بينت نتائج هذا البحث تفوق بيئة MS pH5 على كل البيئات في متوسط طول النبات وكانت القراءة 5.12 إلا أنه لا يوجد فرق معنوي بينها و بين بيئة MS بينما لا يوجد فارق معنوي بين بيئة Ms وبيئة MS + GA3 حيث كانت القراءات فيهما(4.63–3.63) على التوالي كما توضح الصورة رقم 7 و هذا تطابق مع(Ibrahim *et al*, 2008) الذي أكد إن بيئة MSبدون إضافة عوامل النمو أفضل لنمو و تطور نبات الستيفيا

كما لوحظ إن بيئة MS + BAP جاءت في المرتبة الرابعة مما يشير إلى انخفاض متوسط طول النبات مع إضافة BAP وهذا يؤكد نتائج الباحث (Debnath,2008) الذي بين بان زيادة تركيز BAP عن 0.5 مغ/ل المضافة إلى بيئة MS أدت إلى انخفاض حاد في طول التفرعات و قد يؤدي إلى توقف النمو تماما". مع الإشارة إلى أن اقل المتوسطات نتج عن بيئة 1/2 MS وبقراءة 1.38

2- متوسط عدد الأفرع : كان التفوق في بيئة MS + BAP على باقي البيئات 5.75 إلا أنه لم يوجد فرق معنوي بينها وبين بيئة MS + Kin + IAA والتي قراءتها 5.25 وهذا ما أكده (Debnath,2008) الذي أوضح إن إضافة BAP إلى بيئة MS زاد عدد الأفرع عن البيئة المضاف إليها Kin ، كذلك

الباحث(Muhammad *et al*,2007)الذي أكد إن إضافة BAP إلى بيئة MS زاد عدد الأفرع كما إن (Hossain *et al*,2008) أكد هذه النتائج

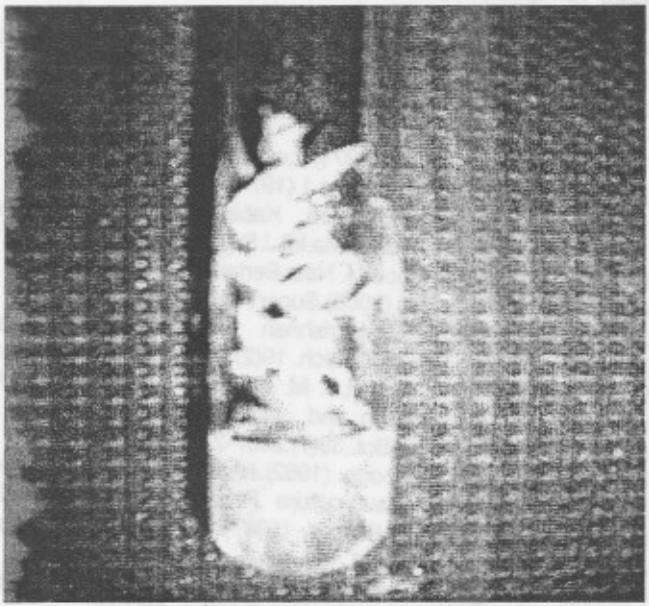
كما إن أبحاث (Aamir *et al*, 2010) أكدت أن البيئة المضاف إليها BAP كان عدد الأفرع فيها أكثر من البيئة المضاف إليها Kin وبزيادة كبيرة عن بيئة MS

أما (Ibrahim *et al*, 2008) فقد أكد أن إضافة Kin إلى البيئة أدى إلى زيادة عدد الأفرع عن البيئة بدون إضافات لكن زيادة تركيز Kin في البيئة يؤدي إلى دور عكسي له في هذه الصفة

جاء في المرتبة الثالثة كل من بيئة MS 1/2 وبيئة MS pH5 ولم يلاحظ وجود فرق معنوي بينهما وكانت القيمة متساوية. تلا ذلك بيئة MS + GA3 والتي قراءتها 1.75 وكانت أقل القراءات في بيئة MS ولم يلاحظ فروق معنوية في هذه الصفة بين البيئات الأربعة السابقة.

3- متوسط عدد الأوراق : كان التفوق واضحا في بيئة MS + Kin + IAA على كل البيئات ومتوسط عدد الأوراق فيها 17 وعلى العكس من عدد الفروع فقد كان التفوق في هذه البيئة على بيئة MS + BAP والتي قراءتها 15.5 ودون وجود فرق معنوي بين البيئتين، تلاهما بيئات MS pH5 ، MS 1/2 ، MS + GA3 ، وبقراءات (9 ، 6 ، 5.75 ، 5) على التوالي و بدون فروق معنوية بين البيئات الأربعة الأخيرة .

4- متوسط طول الجذور : بين جدول التحليل الإحصائي رقم 2 تفوق بيئة MS ومتوسط طول الجذور فيها 1.75 ، تلاها كل من البيئتين MS + GA3 و MS pH5 ومتوسط طول الجذور فيهما 1.5، إلا أنه لم يكن يوجد فرق معنوي بين البيئات الثلاثة السابقة، ويليهم بيئة MS 1/2 حيث أن متوسط طول الجذور فيها 0.38 ثم بيئة MS + Kin + IAA قراءتها 0.25، وبيئة MS + BAP متوسط طول الجذور فيها 0.13 مع عدم وجود فرق معنوي بين البيئات الثلاثة المذكورة أخيراً وهذا يتوافق مع (Hossain, *et al*,2008) حيث اثبت إن تشكل و طول الجذور في بيئة MS أعلى منه في بيئة MS 1/2



الصورة رقم 7 : توضح النمو الجيد في بيئة MS (pH5)

المقترحات والتوصيات :

1- استخدام الماء المعقم مرتين لغسر بذور نبات الستيفيا لمدة 10 دقائق قبل زراعتها ضمن الوسط الغذائي كان مناسبا لإنبات البذور حيث أن معاملة بذور نبات الستيفيا بمادة هيبوكلوريت الصوديوم أدت إلى فقدان البذور لحيويتها وقدرتها على الإنبات

2- استخدام تقنية الإكثار المخبري الدقيق للإكثار السريع لنبات الستيفيا .

3- استخدام بيئة MS pH5 لإكثار نباتات الستيفيا و التي أدت إلى نمو العقل ضمن الأنابيب بشكل أفضل من البيئات المضاف إليها BAP أو KIN + IAA أو GA3 أو 1/2 MS كذلك تفوقها على الشاهد MS .

4-استمرار الأبحاث في تحديد البيئات الغذائية التي تؤدي إلى نمو نبات الستيفيا مخبريا بشكل أفضل

REFERENCES

١. الفاتح محمد مهدي الدوحة قطر(2006) بحوث و دراسات مختبر زراعة الأنسجة النباتية

2. Aamir, A.; G. Irum. ; N Shagufta.,and A Shahid.; (2010).Biochemical investigation different stage of in vitro propagation of *Stevia rebaudiana* Pak. J. Bot.,42(4):2827-2837
3. Ahmed M.B. ;Salahin M. ;Karim R. ;Razvy M.A. ;Hannan M.M. ;Sultana R. ;Hossain M. and Islam R.(2007)American Eurasian Journal of Scientific Research IDOSI Publications,2(2):121-125
4. Brandle,J.EandN.Rosa.(1992).Heritability for yield,leaf.stemratio and stevioside contentestimated from landrace cultivar of *Stevia rebaudiana*Can.J.Plant Sci.,72:1263-1266
5. David J. ;Mid More and Andrew H Rank August (2002). (A new rural industry Stevia To replace imported chemical sweeteners A report forth Rural Industries Research And Development Corporation.
6. David, R (1996) *Steviarebaudiana*, Natures sweet secret. published by Blue Heron Press.P.O.BOX 544 Bloomingdale, IL 60108.pp 56.
7. Debnath,M,.(2008). Journal of Medicinal Plants Research 2(2), 045-051, February, (2008)
8. Felippe, G.M.and N.M.C. ,(1971) Lucas Estudo da viabilidade dos fructos de Stevia rebaudiana Bert, Hoehnea 1 (1971), pp. 95–105.4
9. Hossain,M.A.; A.H.M; Shamim Kabir, T.A.; Jahan. and M.N.;Hasan (2008).Micropropagation of Stevia.Int.J.Sustain.Crop Prod. ,3(3):1-9
10. Ibrahim A. Ibrahim,Mahmoud I. Nasr,Berlanti R. Mohammedand and Mohammed M. El-Zefzafi (2008).SugarTech. Springer India 10,(3): 254-259
11. Janarthanam B.;M.; Gopalakrishnan ;G.; Lakshmi Sai and T . Sekar (2009).Plant Tissue Cult. & Biotech. 19(2): 133-141, (2009) (December)
12. Muhammad R.; M. U. Dahot,S. M. Mangrio;H. A.Naqvi andI.A.Qarshi (2007). In vitro Clonal Propagation and biochemical analysis of field establishe *Stevia rebaudiana*. Pak.J.Bot.,39(7):2467-247
13. Murashige,T. and ,F.Skooge (1962).Arevised medium for rapid growth and bioassays with tabacco tissue culture .Physiol plant ,15:273-497
14. Pevalek,K.K.B. and ,S. Jelaska, (1987) .Microclonal propagation of Prunus avium Acta Hort.212:599-601
15. Ramesh K.;Singh Virendra and MegejiNW W. (2006). Cultivation of stevia rebaudiana a comprehensive review,91(1):1 -27
16. Sakaguchi, M. and T.Kan,(1982). Japanese researches on stevia rebaudiana Bertoni and stevoside .Ci Cult.,34:235-248

IN VITRO MICROPAGATION OF *Stevia rebaudiana* BY USING DIFFERENT MEDIA

Amro A. E.* and A. Baracat**
*** Fac. Agric., Aleppo Univ.**
**** General Organization For Seed Malty Application**

ABSTRACT

This research aimed at study the possibility of multiplying *Stevia rebaudiana* by micro propagation techniques and defining suitable media for in vitro propagation of stevia shoots .

Stevia seeds have been planted in sterilized media MS (Murashige,and skooge,F 1962) to obtain seedlings.

After seed germination, the produced shoots have been in vitro propagated by node in same media. After 30 days the new plants was propagated in six different media and four replicates for every media . All the data was recorded after four weeks

The six media were :

MS, 1/2MS, MS + GA3 , MS + 0.2mgBAP , MS + 2mg kinetin + 2mgIAA and MS pH5

The obtained results could be summorizeci as follows :

1- Plants which grown on MS ps H5 media were superior in terms of mean of stem length(5.12cm), while plants which grown on MS media occupied the second rank in this reading, without significant difference between the two media.
2- As for the average number of shoots, MS + 0.2mg BAP and MS + 2 mg Kin + 2mgIAA were the superior media and recording 5.75 and 5.25, respectively, without significant difference between them.
3- As for the average number of leaves, the superiority was to the media MS + 2 mg Kin + 2 mgIAA recording 17, without significant differences, with the media MS + 0.2mg BAP which recorded 15.5 , with significant differences with other media .
4- As for the length of the root, MS medium was surpassed to all other media, recording / 1.75 cm /, and without significant differences, with MS pH 5 and MS + GA3, recording 1.5 for both of them.

Keywords: *Stevia rebaudiana* , in vitro propagation , MS , BAP , Kin ,IAA

قام بتحكيم البحث

أ.د / محسن عبد العزيز بدوى	كلية الزراعة – جامعة المنصورة
أ.د / أميمة محمد عبد الكافي	كلية الزراعة – جامعة المنصورة