مجلة البصرة للعلوم الزراعية 2012، 25(1): 13-21

تأثير معاملات مختلفة في توليد ونمو وأقلمة نبيتات الأناناس المنتجة بزراعة الأنسجة النباتية

1. الإكثار الدقيق من خلال توليد الأفرع العرضية من زراعة قطع أوراق نبيتات الأناناس *Ananas comosus* .L.Merr.cv.Del Mont

هدى عبد الكريم الطه

قسم البستنة وهندسة الحدائق، كلية الزراعة، جامعة البصرة

المستخلص. اجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية / كلية الزراعة / جامعة البصرة خلال العام 2011 بهدف الاكثار الدقيق عن طريق دراسة تأثير مستويات مختلفة من السايتوكاينين BA والاوكسين NAA في استحثاث الكالس الاولي ثم توليد الافرع العرضية وتكوين النبيتات من زراعة قطع اوراق نبيتات الاناناس (*Ananas comosus* .L.Merr) صنف Del Mont المنتجة بزراعة الانسجة النباتية. اظهرت نتائج الدراسة الى ان الكالس الاولي ازداد بزيادة تركيز BA في الوسط الغذائي فقد اعطت معاملتي (7و10) ملغم/ لتر اكبر كمية من الكالس الاولي وبوجود الـNAA بتركيز ثابت (0,5)ملغم/لتر في وسط MS واستمرت عملية اعادة زراعة الكالس مع قطع الاوراق على نفس الاوساط (2 و3 و5و7و10) ملغم/لتر BA مرتين خلال فترة الحضانة في الظلام. اظهرت النتائج ايضا عملية توليد الافرع العرضية من زراعة قطع الكالس الاولي في وسط غذائي MS ومزود بالـBA بتركيز 1ملغم/لتر مع الـNAA بتركيز (0,1) ملغم/لتر ولمدة 2 شهر بالضوء ، ثم استمرت عملية توليد الافرع العرضية لمدة (4 و6 و8) شهر من بداية زراعة الكالس الاولي على نفس الوسط لغرض الاكثار الغزير لنبات الاناناس ، وجذرت الافرع العرضية على وسط غذائي مزود بنصف القوة من MS وبوجود الفحم (1)غم والـNAA بتركيز (0,3) ملغم/لتر والـBA (0,1) ملغم/لتر لمدة ثلاثة اشهر في الضوء. اظهرت النتائج ايضا الى ان النبيتات التي تمت تقسيتها بواسطة وضعها بالماء المقطر اعطت جذور جديدة بيضاء اللون ونمت بعد ذلك عند زراعتها بالوسط الزراعي المكون من زميج : بيتموس بحجم 2 :1 وكانت نسبة البقاء 100%، في حين النبيتات التي لم يتم تقسيتها وزرعت مباشرة بالوسط الزراعي السابق، اصفرت اوراقها وماتت معضمها وكانت نسبة البقاء 30%.

Key word: Micropropagation, leaves culture, *Ananas comosus*. L.Merr

المقدمــة

نبات الاناناس *Ananas comosus*. L هو احد ثمــار العائلـــة (*Bromeliaceae*) التـــي تحتـــوي علـــى2000 نـــوع ، اغلبهـــا نباتـــات عطريـــة Aoramatic [13]. ويعد نبات الأناناس أهم نبات استوائي بعد نبات المانجو والموز و الحمضيات. وعصـــير ثمـــرة الانانـــاس يحتـــوي علـــى انـــزيم (Bromalin) الـذي يسـتعمل فـي تطريـة اللحـوم، فضلا" عن ذلك فأن عصيره لساعد على منع التبلور (Crystallites) و الحمى [12] ، الى جانب ذلك تنتج أوراق الأناناس 2-3 %من الألياف الحريرية البيضاء، إذ تستعمل الأوراق بثلاثة إشكال وهي اما طازجة او جافة او مخمرة (Insilage). [9]

تتطور الثمرة (الساق) والنورة الزهرية من نمو نقطة طرفية (Apical point) تسمى النورة الزهرية بمرحلة القلب الاحمر و تحتوي على 50 الى اكثر من 200 زهرة منقسمة و تغطى بوساطة التاج الذي يحتوي على عدد من الاوراق القصيرة [4].

استعملت انواع مختلفة من اجزاء نباتية explants للحصول على المزارع النسيجية المطلوبة كأستعمال البراعم الابطية في استحثاث الكالس وتحفيز الاجنة الخضرية و تكوين النبيتات لنبات الاناناس [3]. الا ان استعمال الاوراق كأجزاء نباتية لغرض الاكثار لعدد من النباتات، اعطت نتائج مشجعة في هذا المجال لان معظم الاعضاءالنباتية مثل (اطراف الافرع الخضرية، اطراف الجذور، قطع الاوراق، القطع الساقية والانسجة النيوسيلية) [2] لها القدرة على النمو و التماييزأذ ما توفرت لها الظروف المعقمة فقد تم تحفيز الافرع الخضرية من زراعة الاوراق للنبات العطريPink cloud [1]. كذلك استعملت قواعد الاوراق فضلا عن انصال الاوراق Longitudinal parts لنبات الاناناس لغرض توليد الافرع العرضية بصورة مباشرة [7] كذلك سجل [18] عملية تحفيز الاجنة الخضرية من زراعة اوراق نبات الاناناس (العليا ، الوسطية ، القاعدية) واكدوا بان قواعد اوراق الاناناس فقط التي استجابت تحت ظروف الاضاءة لعملية التحفيز اما بقية الاجزاء (العليا والوسطية) فقد تلونت باللون البني وماتت .

نظرا" لعدم وجود دراسة حول توليد نبيتات الأناناس صنف Del Mont باستعمال قطع أوراق مأخوذة من نيتات معقمة ، فقد هدفت الدراسة الحالية الى وضع برنامج لتوليد نبيتات الأناناس من زراعة قطع أوراق لهذا النبات لسهولة الحصول عليها اذ ان نبيتة الاناناس تحتوي على أربعة إلى خمسة أوراق في حين يتم استئصال برعم طرفي واحد وعدد قليل من البراعم الابطية باعتبار هذا النبات من ذوات الفلقة الواحدة و باستعمال مستويات مختلفة من السايتوكانين BA والاوكسين NAA .لمعرفة التركيز الأفضل من BA في استحثاث الكالس و توليد الافرع العرضية بصورة غير مباشرة من تلك الأنسجة.

مواد العمل وطرائقه

أجريت هذه الدراسة في مختبر زراعة الانسجة النباتية – كلية الزراعة – جامعة البصرة – خلال عام 2011 ، اذ استعملت نبيتات الاناناس *Ananas comosus* (L). Merr.cv.DelMont المعقمة والتي تم الحصول عليها من تطور الاجنة الخضرية الى نبيتات لوحة (1) [3] وتضمنت الدراسة عدة تجارب شملت الاتي:

1- تأثير مستويات مختلفة من السايتوكانين BA في تحفيز الكالس الاولي

أخذت نبيتات اناناس معقمة و قطعت اوراقها الى اجزاء صغيرة Explants بطول (0.5 – 0.6) ملم تحت منضدة سريان الهواء الطبقي (Limmanr flow air).هذه الاجزاء النباتية لاتحتاج الى تعقيم كونها نامية تحت ظروف معقمة ، ثم زراعتها في وسط غذائي يحتوي على املاح MS [14] السكروز Sucrose بتركيز 30 غم/لتر وكبريتات الادنين Adenine sulphate بتركيز 40 ملغم /لتر و PVP (Poly vinyl pyrolidon) بتركيز 1 غم /لتر ومجموعة الفيتامينات و الاحماض الامينية بتركيز 2 ملغم /لتر مع وجود منظمي النمو السايتوكانين BA بتركيز (2و3و5و7و10) ملغم /لتر والاوكسين NAA بتركيز ثابت 0.5 ملغم/لتر وثبتت قيمة الاس الهيدروجيني (PH) بين (5.7 – 5.8) قبل اضافة Agar بتركيز 6 ملغم /لتر. عقم الوسط الغذائي بجهاز التعقيم (Autoclave) تحت ضغط 1.1كغم /سم2 وبدرجة حرارة 121 م° و لمدة 20 دقيقة.

زرعت الأجزاء الورقية (Leaves segmemts) بحدود ثلاث قطع ورقية (عليا tip،

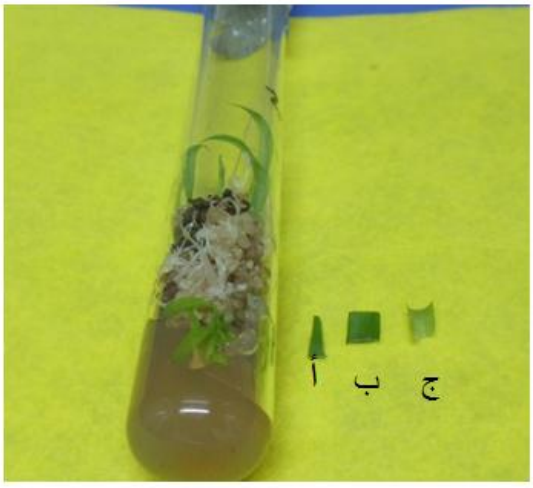
وسطية Middle، قاعدية base) في انبوبة زجاجية. احتوت ألأنابيب الزجاجية التي ابعادها(2.5 × 18 سم) على 12.5 مل من الوسط الغذائي الخاص بإعادة تمايز الأوراق (تكوين الكالس الأولي) والمذكور أعلاه وحفظت الزروعات في الحاضنة تحت درجة حرارة 25±1 م ° ولمدة ستة اشهر بالظلام تخللتها اعادة زراعة Reculture كل شهرين على والوسط الغذائي المذكور اعلاه.

2-توليد الافرع العرضية و تجذيرها .

جزء الكالس الناتج من التجربة السابقة وبواقع 100ملغم/ لكل انبوبة و زرع في وسط التضاعف والمؤلف من مكونات الوسط السابق نفسه مع وجود السايتوكانين BA بتركيز ثابت 1ملغم /لتر والاوكسين NAA بتركيز (0.1)ملغم /لتر ولمدة شهرينوحضنت الزروعات على درجة حرارة 25 ±1م° وشدة اضاءة 1000 لوكس ولمدة 16 ساعة. أجريت زراعة ثانوية (Subculture) للأفرع مع الكالس في نفس الوسط لمدة (4و6و8) شهر في الضوء من بداية زراعة الكالس الاولي. نقلت الافرع العرضية لنبات الأناناس بطول(2.5 – 3 سم) الى وسط تجذير يحتوي على مكونات الوسط الغذائي السابق نفسها مع وجود الفحم المنشط بتركيز (1)غم /لتر بدلا" من PVP والسايتوكنين BA بتركيز(0.1) ملغم/لتر وNAA بتركيز(0.3) ملغم /لتر و أملاح MS بنصف القوة . استعملت قناني زجاجية لغرض الزراعة احتوت على 25مل من الوسط الغذائي بدلا" من انابيب الاختبار. وحضنت الزروعات لمدة ثلاثة اشهر .وبنفس ظروف التحضين السابقة من درجة حرارة وشدة اضاءة.

3- الاقلمة (التقسية)

قسمت نبيتات الاناناس الناتجة من الزراعة النسيجية الى قسمين بعداخراجها من قناني الزراعة وغسل مجموعها الجذري في الماء الجاري ثم في الماء المقطرعدة مراة للتخلص من بقايا الوسط الغذائي، وغمس مجموعها الجذري بمحلول البنليت (Benlate) بنسبة 500 ملغم / لتر وضع القسم الاول في قناني زجاجية تحتوي على ماء مقطر لمدة عشرة الى اربعة عشر يوم مع مراعاة تبديل الماء كل 2-3 يوم، وزرع القسم الاخرمن النبيتات مباشرة في اصص تحتوي على وسط زراعي مكون من زميج : بتموس بحجم 1:2، ثم حضنت النباتات في غرفة التحضين سواء التي زرعت مباشرة بالتربة او التي وضعت بالماء لمدة اربعة عشر يوم ثم زرعت بالاصص تحت درجة حرارة 25 ±1 م° وشدة اضاءة 1000 لوكس.



لوحة (1): توضح الاجزاء النباتية المأخوذة من نبيتات الاناناس المعقمة الاجزاء الورقية (أ العليا، ب الوسطية، جـ القاعدية) المستعملة في الزراعة.

النتائج والمناقشة

1- تأثير مستويات مختلفة من BA في تحفيز الكالس الاولي من زراعة قطع أوراق الأناناس

توضح النتائج في (لوحة -2أ) عملية تحفيز الكالس الاولي من زراعة قطع اوراق نبيتات الاناناس المعقمة ،في الوسط الغذائي المزود بالسايتوكانين BA بتراكيز (2 و3 و5 و7 و10) ملغم/لتر مع

وجـــود NAA بتركيـــز ثابـت (0.5) ملغم /لتر بعد مرور (2) شهر بالظلام اذ لوحظ تكون الكالس حول القطع الورقية لنبيتات الاناناس على شكل عقد صغيرة بيضاء الى مسمرة اللون و منفصلة عن بعضها البعض وغطى الكالس سطح الاجزاء الورقية بصورة كاملة في جميع التراكيز المدروسة بعد مرور ستة اشهر من بداية الزراعة في الظلام مع عمل اعادة زراعة في نفس الوسط السابق مرتين خلال تلك المدة، وزادت كمية الكالس بزيادة تركيز BA في الوسط الغذائي، بينما بقيت اجزاء من القطع الورقية لم يتكون عليها الكالس اذ تلونت باللون البني (لوحة – 2ب) وقد يعود سبب تكوين الكالس في بعض الاجزاء الورقية دون الاخرى الى وجود حقيقة هي ان قواعد اوراق نبات الاناناس هو الجزء الوحيد من الورقة الذي يستجيب الى عمليات اعادة تمايز الاوراق والتوليد فقط باعتبارها واقعة قرب المرستيم الابطي (Axillary meristem) والذي يحتوي على مناطق مرستيمية او تمتلك انسجة متطورة حديثة والتي تكون خلايا سريعة الانقسام [8]، اما بقية الاجزاء الورقية (الوسطية والعلوية) تلونت باللون البني وماتت وهذا مايؤيد ماجاء به [18] وهذه ناتجة عن اكسدة المواد الفينولية وتكوين الكوانينات والتي تعد مواد سامة ومثبطة للانسجة النباتية نفسها.

2- تاثير السايتوكاينين BA والاوكسين NAA في توليد الافرع العرضية وتجذيرها

توضح النتائج ايضا في (لوحة 2- جـ) توليد الافرع العرضية من زراعة قطع الكالس الاولي المستحث من قواعد اوراق نبات الاناناس في وسط غذائي مزود بمكونات الوسط الغذائي السابق نفسه مع وجود الـ BA بتركيز (1) ملغم /لتر والـ NAA بتركيز (1, 0) ملغم /لتر اذ يلاحظ ظهور افرع صغيرة جدا تغطي سطح الكالس الاولي وعند عمل الزراعة الثانوية للكالس مع الافرع في الوسط الغذائي نفسه ولفترة ثلاث مرات بعد مرور (4 و6و8) شهر من بداية زراعة الكالس على ذلك الوسط ، تم انتاج اعداد كثيرة من الافرع العرضية بطول (1-1,5) سم (لوحة 2 د-هـ- و) وكانت النسبة المئوية لتوليد الافرع العرضية 100%. وقد يعود سبب توليد افرع عرضية كثيرة كلما زادت فترة التحضين كما في (8,6,4) شهر الى ان هناك عوامل تؤثر في تشكل البراعم التي تكون الافرع من النسيج الورقي منها الاوكسين والفترة او الوقت الذي يتعرض فيها النسيج الى BA [11] تتفق هذه النتائج حول زيادة استحثاث الكالس بزيادة تركيز السايتوكاينين (BA) بالوسط الغذائي من زراعة اوراق بعض النباتات مع عدد من الباحثين ومنهم ماشاروا اليه [6] الى عملية تحفيز الكالس الاولي من زراعة قواعد اوراق الشليك Duch *Fragaria* × *ananassa* صنف (vilanova) في اوساط غذائية تحتوي على تراكيز مختلفة من الـBA بتراكيز (صفر و5و10و15و20) مايكرومول وتوليد الافرع العرضية من ذلك الكالس عند زراعته في وسط غذائي مزود بالـBA بتركيز (5) مايكرومول. كذلك تم تحفيز الكالس الاولي من زراعة قطع الاوراق وتوليد نبيتات Plantlets من نبات (*Hyericum perforatum*) في وسط (MS) مع وجود (2,4-D) والـBA بالضوء والظلام ثم تم توليد الافرع العرضية في وسط غذائي مزود بالـ BA بتركيز (4,4) مايكرومول [16] وكذلك اتفقت هذه النتيجة مع [17]في تحفيز الكالس وتوليد الافرع العرضية من زراعة قطع اوراق (raspberry) في وسط غذائي مزود بالـBAبتركيز (13,3) مايكرو مول والـ2,4-D بتركيز (2,2) مايكرومول وكانت النسبة المئوية لتوليد الافرع 100%. كذلك اتفقت مع [15]

في دراستهم حول توليد الافرع العرضية من كالس مستحث من زراعة اوراق نبات (*Dianthus barbatus*). ايضا بين [8] عملية توليد الافرع غير المباشر من زراعة قواعد اوراق نبات الاناناس في وسط MS ومزود NAA بتركيز 27 مايكرومول BA بتركيز 1 مايكرومول عن طريق انتاج عقد ذو تركيب كروي اولا ثم يتبعها توليد الافرع الخضرية وكذلك اتفقت مع [10] عند زراعة اوراق نبات (*Torenia fournieri*)على وسط غذائي مزود بتراكيز مختلفة من الـBA (صفرو 1و 3و 5) ملغم/لتر مع وجود الـNAA بتركيز (0,5) ملغم/ لتر اذ ازدادت كمية الكالس المستحث مع زيادة تركيز السايتوكاينين في الوسط وفي نفس الوقت ازدادت عدد الافرع المتكونة من الكالس عند نقله الى وسط غذائي مزود بالـBA (3) ملغم /لترو الـNAAبتركيز (0,1)ملغم/لتر اذ بلغت (3,4 ±0.8).

توضح النتائج ايضا في(لوحة 2ز-ح) ظهور جذور بيضاء اللون وعددها (3-4) جذر / لكل نبات اسفل الفرع الخضري للاناناس والذي تم زراعته في الوسط الغذائي المزود بنصف القوة من املاح (MS) وبوجود الفحم المنشط (1)غم /لتر والـNAA بتركيز (0,3)ملغم/لتر والـBA بتركيز (0,1) بعد مرور (3) اشهر بالضوء تتفق هذه النتيجة مع ماشارت اليه [5]حول تجذير الافرع العرضية لنبيتات الاناناس صنف (Smooth Cayenne) في وسطين احدهما مزود بالـNAAوالاخر مزود بالـ(IBA) بتركيز (0,3)ملغم/لتر كل منهما بالاضافة الى وجود املاح (MS).

3- عملية التقسية والاقلمة

تمت تقسية النبيتات واقلمتها في غرفة التحضين تحت درجة حرارة 25± 1 م° وشدة اضاءة 1000 لوكس عن طريق اخراج نبيتات الاناناس من انابيب الزراعة وغسلها بالماء الجاري تحت الحنفية ثم بالماء المقطر عدة مرات للتخلص من بقايا اثار الوسط الغذائي الملتصق على الجذور والذي يسبب تعفنها وذلك بسبب احتواء الوسط الغذائي على السكريات ، ثم تم تغطيس جذور النبيتات في مبيد فطري (بنليت) منعا من اصابة النبيتات بالفطريات. ولوحظ من خلال عملية التقسية عن طريق وضع قسم من النبيتات في قناني زجاجية والتي احتوت على ماء مقطر لمدة 10- 14 يوم مع تبديل الماء كل 2-3 يوم (لوحة 2 ط) ادى ذلك الى اعطاء الوقت الكافي لنمو الجذور وتطورها اذ تكونت جذور بيضاء جديدة كذلك ازداد سمك وطول الجذور المتكونة سابقا في وسط تجذير الافرع فضلا عن ذلك فان عملية التقسية فسحت المجال للنبيتات بالاعتماد على نفسها في تصنيع الغذاء وبذلك تتحول من التغذية الرومية الى التغذية الذاتية .

وتوضح النتائج ايضا (لوحة 2 ي) نمو النباتات التي اجريت عليها عملية التقسية اذ كونت اوراقا جديدة بعد مرور خمسة اشهر على زراعتها في وسط زرعي مكون من 2:1 زميج :بيتموس وكانت النسبة المئوية لبقاء النباتات واجتيازها مرحلة الاقلمة واستمرارها في العيش الحر 100%، اما القسم الاخر من النبيتات والتي لم تتم عليها عملية التقسية اذ زرعت مباشرة بنفس الوسط الزرعي السابق بعد غسلها بالماء الجاري وتغطيس مجموعها الجذري بالميد الفطري، لوحظ ان اغلب النباتات في هذه الحالة قد ظهر عليها الضعف وذلك من خلال عدم تكون اوراق جديدة وعدم تطور مجموعها الجذري مع ظهور اصفرار في بعض اوراقها ادى ذلك الى موت اغلبها وكانت النسبة المئوية لبقاء النباتات في تربة الاصص 30 كنسبة مئوية وقد يعود سبب ذلك الى ان عملية التقسية سببت تكوين

مجموع جذري جيد ساعد على تثبيت النباتات بالوسط الزرعي. تتفق هذه النتيجة مع ماذكرته [2] حول اجراء عملية التقسية لنبيتات البرتقال المحلي عن طريق وضعها في قناني زجاجية تحتوي على ماء مقطر.

لوحة (2): الاكثار الدقيق لنبات الاناناس *Ananas comosus* .L. Merr.cv.Del Mont. (أ) تحفيز الكالس الاولي من زراعة قطع اوراق نبيتات الاناناس في الوسط MS و BA (10 و7و5 و3و2) ملغم/ لتر مع NAA (0،5) ملغم/لتر بعد مرور شهرين بالظلام من اليمين الى اليسار.(ب) اكثار الكالس الاولي في نفس الوسط السابق بعد مرور ستة اشهر من بداية الزراعة في الظلام مع ملاحظة وجود تلون بني في بعض اجزاء الاوراق. (جـ – د –هـ – و) .توليد الافرع العرضية في وسط MS و BA (1) ملغم/ لتر و NAA (0.1) ملغم / لتر بعد مرور (2 و4 و6 و8) شهر من الزراعة في الضوء. (ز– ح) تجذير الافرع العرضية لنبيتات الاناناس في وسط مزود بنصف القوة من MS و NAA (0.3) ملغم / لترو BA (0.1)ملغم /لتر والفحم المنشط (1) غم/ لتر بعد مرور ثلاثة اشهر في الضوء. (ط) تقسية النبيتات بعد وضعها بالماء المقطر لمدة عشرة الى اربعة عشر يوما. (ي) زراعة نباتات الاناناس في وسط زراعي مكون من (1:2) زميج: بيتموس بعمر خمسة اشهر.

المصادر

1- Ahmed, E.U., Hayashi, T. and Yazawa, S. (2004). Auxins increase the occurrence of leaf-color in Caladium regenerated from leaf. Explanls. Scienta Hortriculturae, 100: 153-154.

2- الطه، هدى عبد الكريم عبد الودود (2009). استعمال تقنية زراعة الانسجة النباتية في اكثار نباتات مقاومة للملوحة من اشجار البرتقال المحلي *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.cv.Local orang اطروحة دكتوراه/ قسم البستنة والنخيل/ كلية الزراعة/ جامعة البصرة / العراق.

3- الطه، هدى عبد الكريم عبد الودود، ماجد عبد الحميد ابراهيم، انسام مهدي صالح (2012). تأثير الاوكسينان 2.4-D وNAA في استحداث الكالس وتحفيز الاجنة الخضري من زراعة البراعم الابطية لنبات الاناناس *Ananas comosus* (L.) Merr.cv DelMonte. البحث مقبول للنشر، المجلة الاردنية في العلوم الزراعية/ الاردن

4- Crane,J.H.(2006).Pineapple growing in the Florida home Landscape. University of Florida IFAS Extension Cited from http/www/edis.ifas.ufl.edu/MGO55. On: 6/11/2008

5- Diab, S.M.A.M. (2009). *In vitro* Rooting and Acclimatization of pineapple *(Ananas comosus* (L.) Merr.) Smooth cayenne cultivar. PhD Thesis. Faculty of Agriculture, Univiersity of khartoum. PP121.

6- Flores, R.; Peters, J.A; Fortes, G.R DEL.; Oliveira , M.D.E(2000). Morphogenesis of strawberry *(Fragaria xananassa Duch.)* cv. Vila Nova leaf discs.Revista Cientifica Rural .5(1): 8-12.

7- Firoozabady, E. and Gntterson , N. (2003). Cost effective *In vitro* Propagation methods for pineapple – plant cell Report , 21: 844-850.

8- Firoozbady, E. and Moy,y.(2004). Regeneration of pineapple plants via Somatic embryogenesis and orgenogenesis. *In vitro* cell Dav. Biolplant ,40:67-74.

9- Geocoppens, (2001). Pineapple.Cited from: http/www.ciat.cgiar.org/ coppens d Eeckenbrugge and Dimary Libreros Ferie. on: 5/8/2008

10- Kanchanapoom.,K.Buntin.,N.and kanchanapoom. (2009) . Microprpagation through adventitious Shoot regeneration frome Leaf culture of *Torenia fournieri* Lind .Songk lava Karin J.sci.Technol .31 (6) ,507-590.

11- Lakshmanan P, Ng sk, Loh cs , Gou Cj (1977) . Auxin cytokinin And ethylene differeutially regulate speci ®c development stat associated with shoot bud morphogenesis in leatf tissue of mangosteen (Gareiuia mangostana L.) cultured in vitro . plant cell physiol.38:59-64.

12- Medina ,J.D.C. and Garcia ,H.S. (2008). Pineapple postharvest Operations. Instituto Tecnologico de Veracruz. Cited from: http://www.fao.org/inpho/content/compend textch 33//AE614,o1.html. On: 7/8/2008.

13- Morton ,J.(1987).Tropical plant pineapple *(Ananas comosus)*.In: Pineapple in fruits warm climates .p.18-28. Cited from: http/www.hort.purdue.edu/new crop/marton/pineapple.htm. On: 12/3/2008.

14- Murashige, Tand & Skoog, F (1962). A revised medium .for rapid grow and Bioassays with tobaco tissue cutture. physiol. Plant, 15: 473-497-

15- Pareek, Aand Pareek ,L.k. (2005). De-novo differentiation of shoot of *Dianthns baratusfrom* callus cultures. Journal of cell and Tissue Research 5: 327-329.

16- Pretto, F.R; Santarem, E.R. (2000) Callus Formation and plant regeneration from *Hypericum perforatum* Leaves Plant Cell. Tissue and Organ culture 62(2): 107-113.

17- Popescus, A.N.; Lsac, V. (1999). High frequency shoot regeneration from leaf-derived callus in rasbeery *(Rubus idaus* L.*)* in proceedings of the EUCARPIA symposium on fruit Breeding and Genetics, volume 2,Dresden, Germany.6-10 september. 1999. (Edited by Geibel, M, fischer, M., fischer. C. J. Acta.

18- Sripaoraya, S.; R. Marchant; j. B. Power; and M. R. Davey. (2003). Plant regeneration by somatic embryogenesis and Organogenesis in commercial pineapple *(Ananas comosus* L.) *In Vitro* cellular and Developmental Biology – Pland 39(5): 450-454.

Basrah J. Agric. Sci. 2012, 25(1): 13-21

EFFECT OF DIFFERENT TREATMENTS ON REGENERATION, GROWTH ANDACCLIMATIZATION OF PINEAPPLE PLANTLETS PRODUCED BY PLANT TISSUE CULTURE
1-MICROPROPAGATION VIA ADVENTITIOUS SHOOT REGENERATION FROM LEAVES SEGEMENTS CULTURE OF *Ananas comosus* .L.Merr.cv.Del Mont

HUDA. A.Al-TAHA
Department of horticulture and Lande Scape design, College of Agriculture, University of Basrah

Abstract. This study was conducted at laboratory of plant tissue culture - department of Horticulture and land scape design –College of Agriculture- Basra University, during the year of 2011. The aim was to find out the effect of two different levels of cytokins (BA) and oxins (NAA) on primary callus induction ,and then adventitious shoot initiation and formation of plantlet from leaf segments of pineapple plant produced through tissue culture protocol. Results revealed that the primary callus formation was increased with increasing of BA concentration in callus media. However, large quantity of primary callus was obtained in media supplemented with 7 and 10mg/l BA with constant level (0.5 mg /l) of NAA in solid media of MS .The subculture of calli was continued in the same media (2,3,5,7,and 10 mg / l) of BA three times during incubation in dark. Adventitious shoots were also regenerated from primary callus that was derived from leaf segments cultured in MS media with BA at concentration of 1 mg/l with NAA at concentration 0.1mg for two months in light. The Adventitious shoots regeneration was continued for 4, 6 and 8 months from beginning of primary callus culture in the same media for mass production of Ananas plant. Adventitious shoots were rooted in media contained half strength MS , 1 gm activated charcoal, 0,3 mg /l NAA and 0.1mg/l BA, for three months in light. Results also showed, that plantlets which were hardened in distilled water produced new white roots and then grown when they were planted in a medium of soil: Petmos 2; 1 and the survival rate was 100%, whereas, non-hardened plantlets had yellowish colored leaves with 30% surviving rate when they were cultured in the same media.

Key word :Micropropagation, leaves culture, *Ananas comosus* L.Merr