Archive of SID

تکثیر درون شیشه‌ای نیشکر (*Saccharum officinarum*)

علی‌اکبر رامین[۱]

چکیده

به منظور ریزتکثیری گیاه نیشکر ریزنمونه‌هایی از نوک ساقه و جوانه‌های جانبی به کار رفت. شست‌شوی ریزنمونه‌ها از چهار رقم نیشکر به نام‌های CP-48-103، CP-57-614، CP-69-1062 و NCO-310 با الکل اتانول ۷۵ درصد برای یک دقیقه، و سپس ضدعفونی با محلول ۱/۵ درصد هیپوکلریت سدیم یا کلسیم برای مدت ۱۵ دقیقه، به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) موجب کاهش آلودگی ریزنمونه‌ها در محیط کشت شد. استفاده از محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) جامد و مایع برای رشد گیاهچه در شیشه به همراه یک میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید (IBA)، یک میلی‌گرم در لیتر کینتین، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر میواینوزیتول، یک میلی‌گرم در لیتر تیامین هیدروکلراید و دو درصد ساکارز، به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) نسبت به محیط MS با نصف غلظت نمک و هورمون و غیره برتری داشت. هم‌چنین، به منظور افزایش شاخساره در کشت درون شیشه‌ای، با کاربرد دو نوع محیط کشت جامد و مایع کامل MS همراه با یک میلی‌گرم در لیتر IBA، دو میلی‌گرم در لیتر کینتین و یک میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پیورین (BAP)، بیشترین شاخساره به دست آمد. گیاهچه‌های تولیدی در محیط غذایی شنک و هیلدبرانت (SH) همراه با پنج میلی‌گرم در لیتر IBA و یک میلی‌گرم در لیتر کینتین ریشه دادند. در تیماری که از ذغال فعال شده در محیط کشت SH استفاده شد نیز درصد زیادی از گیاهان ریشه‌دار شده، و وزن تر و شمار ریشه‌های بیشتری، در مقایسه با محیط کشت بدون ذغال فعال به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: *نیشکر، کشت درون شیشه‌ای، تکثیر شاخساره*

مقدمه

نیشکر (*Saccharum officinarum*) یکی از محصولات عمده خوزستان است که از هزاران سال پیش کشت و کار آن در این منطقه متداول بوده است. هم اکنون اراضی زیادی از جلگه گسترده خوزستان زیر کشت این گیاه قرار دارد (۲ و ۳). علاوه بر استخراج قند، از بقایای نیشکر در صنایع کاغذ سازی، صنایع چوب (نئوپان)، تولید الکل، غذای دام و غیره نیز استفاده می‌شود (۲).

۱. دانشیار باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

www.SID.ir

Archive of SID

یکی از عوامل محدود کننده کشت نیشکر در سطح گسترده، تکثیر آن است. تکثیر این گیاه به روش غیر جنسی (قلمه ساقه) صورت می‌گیرد، که غالباً آلوده بودن قلمه‌ها به انواع بیماری‌های ویروسی در هنگام کاشت، موجب انتقال بیماری به گیاه جدید می‌شود (۱ و ٤). از سویی، برای تکثیر از قلمه ساقه‌های رسیده استفاده می‌شود، که دارای مقادیر قابل توجهی شکر است. در این صورت بخش عظیمی از ساقه در کاشت و تهیه نهال به کار می‌رود. بنابراین، اگر بتوان از روش‌های دیگر تکثیر (مانند کشت بافت گیاهی) استفاده کرد، هم در مصرف ساقه و هم در زمان لازم برای تهیه آن، صرفه‌جویی خواهد شد.

تکثیر نیشکر و تولید گیاه عاری از بیماری‌های ویروسی و عوامل باکتریایی از سالیان پیش آغاز شده است. تکثیر نیشکر از روش کشت بافت، نخست در هاوایی در سال ۱۹٦۱ میلادی به وسیله نیکل (١٦) آغاز، و سپس به وسیله هینز و می (۸) در تایوان دنبال گردید. پژوهش در بارهٔ تکثیر و اصلاح گیاه نیشکر از طریق کشت بافت گیاهی، بعداً در برخی از کشورها از جمله فیجی، آمریکا، فرانسه و هند ادامه پیدا کرد، تا جایی که امروزه در بسیاری از مراکز برای تکثیر و اصلاح نیشکر از روش کشت بافت (*In vitro*) استفاده می‌شود.

نیکل (١٦) ضمن شرح ویژگی تکثیر از طریق کشت بافت، تولید گیاه در زمان کوتاه‌تر و گیاه عاری از بیماری‌های ویروسی را از مزایای تکثیر گیاه از روش کشت بافت دانسته است. هینز و می (۸) توانستند از کشت پارانشیم ناشی از نوک ساقه (Shoot tip) در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (۱۵) تغییر یافته همراه با شیره نارگیل و هورمون Dichloro 2-4 (2,4-D) phenoxy acetic acid تهیه، و سپس از کالوس تمایز یافته، گیاهان جدیدی از نیشکر در شرایط استریل تولید کنند. هم‌چنین، شنک و هیلدبرانت (۱۹) با پیشنهاد و تولید محیط پایه‌ای جدید برای کشت نیشکر (SH)، توانستند میزان گیاهان تولیدی از طریق کشت کالوس را افزایش داده و روش ابداعی جدیدی را در کشت بافت به وجود آورند.

کشت بافت نیشکر نه تنها برای اصلاح و یا تکثیر، بلکه برای بررسی دیگر مسائل فیزیو لوژیک از قبیل مقاومت گیاه به سموم و علف‌کش‌ها و نیز تنش‌های محیطی استفاده شده است (۵، ۷، ۱۳، ١٤، ۲۰ و ۲۱). از سویی، در نتیجه تکثیر و اصلاح نیشکر از طریق کشت بافت، به دلیل کاهش عوامل بیماری‌زا، امکان افزایش درصد قند در ساقه نیز گزارش شده است (۲۱). پیشرفت فن تکثیر گیاه نیشکر از طریق کشت بافت به گونه‌ای است که توانسته‌اند گیاه نیشکر را حتی از کشت پروتوپلاسم سلول در کشت‌های تعلیقی وادار به تولید گیاه هیبرید کنند (٦، ۹، ۱۱ و ۲۳).

در ایران پژوهش مکتوب در بارهٔ ریزازدیادی نیشکر بسیار اندک بوده و آزمایش‌های انجام گرفته به وسیله سایر پژوهشگران بیشتر در ارقامی است که اکثراً در ایران کشت نمی‌شوند، و یا تحت شرایط آب و هوایی متفاوت قرار دارند. بنابراین، با توجه به اهمّیت اقتصادی-اجتماعی نیشکر در منطقه خوزستان، انجام پژوهش‌هایی به منظور ریزازدیادی ارقام قابل کشت در منطقه، ضروری به نظر می‌رسد.

مواد و روش‌ها

منابع گیاهی

به منظور تهیه منابع گیاهی و فراهم کردن شرایط مطلوب برای رشد گیاه (حداقل تنش)، قلمه‌های چهار رقم نیشکر به نام‌های CP-69-1062، NCO-310، CP-57-614 و CP-48-103 از شرکت کشت و صنعت امیرکبیر اهواز دریافت، و در اسفندماه ۱۳۷۸ در مزرعه آزمایشی گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز کشت گردید. برای کاشت درون شیشه‌ای، در هر نوبت چند ساقه از هر رقم قطع و برای انتخاب ریزنمونه‌ها، شامل جوانه‌های جانبی و انتهایی، به کار رفت.

نحوه کشت ریزنمونه در شیشه

درون لوله‌های در پیچ‌دار به ابعاد ۲/۵×۸ سانتی‌متر، پس از شست‌شو در آب مقطر و خشک کردن، ۱۰ سانتی‌متر مکعب محیط کشت پایه MS و یا SH (۱۵ و ۱۹) ریخته شد. برای

www.SID.ir

Archive of SID

جامد کردن محلول از دیفکوباکتو آگار (Difco-bacto-agar) با غلظت شش گرم در لیتر استفاده شد. ظروف حاوی محیط کشت به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر بر سانتی‌متر مربع در اتو کلاو استریل گردید. دیگر وسایل مورد نیاز نیز در آون در دمای ۱۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت استریل شدند. ریزنمونه‌ها پس از ضدعفونی اولیه (الکل اتانول ۷۵ درصد برای یک دقیقه)، به وسیله چاقوی تیز در زیر هود استریل (Laminar air flow cabinet) از ساقه جدا، و بافت‌های اضافی حذف و پس از ضدعفونی در شیشه‌ها کشت شدند. مواد ضدعفونی کننده هیپوکلریت کلسیم یا سدیم بود، که با غلظت ۱/۵ درصد و برای مدت ۱۵ دقیقه به کار رفت. شیشه‌های دارای نمونه در اتاقک رشد با دمای ثابت ۲۸ درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت نور با شدت ۳۱۰ $\mu mol\ m^{-2}s^{-1}$، نگه‌داری شد (۲۶).

آزمایش اول: بررسی محیط کشت برای تولید گیاهچه

در این آزمایش از ریزنمونه نوک ساقه (مریستم با ۲-۳ برگ اولیه) هر چهار رقم نیشکر استفاده گردید. تیمارهای محیط کشت عبارت بودند از محیط کشت پایه MS جامد، MS مایع و MS جامد با غلظت نصف، که هر کدام حاوی یک میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید (Indole butyric acid, IBA)، یک میلی‌گرم در لیتر کینتین (Kinetin)، ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر میواینوزیتول (Mio-inositol)، یک میلی‌گرم در لیتر تیامین هیدروکلراید (Thiamin-HCl) و دو درصد ساکارز بود.

آزمایش به صورت فاکتوریل با سه محیط کشت و چهار رقم (۴×۳) در چارچوب طرح پایه کامل تصادفی با پنج تکرار انجام گردید. تقریباً هر ۱۵ روز یک بار نمونه‌ها به محیط کشت تازه و یکسان منتقل شده و پس از ۴۵ روز نمونه‌ها از شیشه خارج و شمار برگ‌های تشکیل شده روی گیاهچه و طول گیاهچه اندازه‌گیری شد.

آزمایش دوم: بررسی محیط کشت برای تولید شاخساره

در این پژوهش از گیاهچه‌های تولیدی هر چهار رقم در شیشه‌های به طول تقریبی پنج سانتی‌متر برای تولید شاخساره استفاده شد. محیط‌های غذایی پایه MS جامد، MS مایع و MS جامد با غلظت نصف، هر کدام همراه با یک میلی‌گرم در لیتر IBA، دو میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پیوریـــن (BAP یا Benzylamino purine) و یک میلی‌گرم در لیتر کینتین بود. مواد دیگر از قبیل شکر و ویتامین شبیه به آزمایش اول بود.

آزمایش به صورت فاکتوریل ۴×۳ و طرح پایه کامل تصادفی در پنج تکرار انجام شد. محیط کشت تقریباً هر هفته یک بار تعویض و سپس گیاهچه‌های حاصل پس از مدت سه ماه از شیشه‌ها خارج و شمار گیاهچه‌های تولیدی از هر شیشه شمارش گردید.

آزمایش سوم: محیط کشت برای تولید ریشه

گیاهچه‌های حاصل از آزمایش دوم (تولید شاخساره) برای ریشه‌زایی به محیط کشت SH همراه با پنج میلی‌گرم در لیتر IBA و یک میلی‌گرم در لیتر کینتین منتقل شد. گیاهچه‌های کشت شده هر چهار رقم به سه دسته تقسیم و تیمارهای زیر اعمال گردید:

- افزودن ذغال فعال شده، هفت روز نگه‌داری در تاریکی و ۳۸ روز در روشنایی (Charcoal+Dark+Light)
- هفت روز نگه‌داری در تاریکی و ۳۸ روز در روشنایی (Dark+Light)
- ۴۵ روز نگه‌داری در روشنایی (Light)

این آزمایش به صورت فاکتوریل ۴×۳ و در چارچوب طرح کامل تصادفی با پنج تکرار انجام شد. پس از ۴۵ روز، شمار گیاهچه‌های ریشه دار، شمار ریشه و وزن تر آنها شمارش و ثبت گردید.

آنالیز داده‌ها

داده‌های به دست آمده برای شاخص‌های مختلف به وسیله نرم افزار Minitab تجزیه گردید. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح پنج درصد انجام گرفت. برای رسم نمودارها از برنامه کامپیوتری Quatro Pro استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

محیط کشت برای تولید گیاهچه

پس از ٤٥ روز نگه‌داری نمونه‌ها در شیشه، نتایج آزمایش نشان داد که نوع محیط کشت به طور معنی‌داری هم بر درصد نمونه‌های مستقر در شیشه و هم در رشد آنها مؤثر بوده است (جدول ۱). درصد استقرار و طول گیاهچه‌های حاصل از کشت ریزنمونه در محیط جامد و مایع پس از ٤٥ روز از تاریخ کشت در شرایط آزمایشگاهی، حدود دو برابر گیاهچه‌های حاصل از کشت در محیط 1/2MS بود. این روند تقریباً در کلیه ارقام نیشکر کشت شده در شرایط مشابه دیده شد. به علاوه، رقم CP-48-103 در همه محیط‌های کشت نسبت به ارقام دیگر بیشترین طول را نشان داد (جدول ۱). از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در ارتفاع گیاهچه‌های تیمارهای مربوط به محیط‌های کشت جامد و مایع MS مشاهده نشد.

برگ‌های تشکیل شده تا پایان آزمایش نیز نشان داد که شمار برگ گیاهچه‌های کشت شده در محیط کشت MS جامد و مایع نسبت به محیط کشت 1/2MS به طور معنی‌داری بیشتر است (جدول۱). در شرایط یکسان، شمار برگ‌های تشکیل شده در ارقام نیشکر تقریباً شبیه به هم بوده و همواره محیط کشت MS جامد و مایع نسبت به محیط 1/2MS برتری داشته است. شمار برگ‌های تشکیل شده در محیط کشت مایع در تمام ارقام نسبت به جامد اندکی بیشتر بود، ولی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند. در واقع، اثر متقابل بین رقم و محیط کشت معنی‌دار نشد.

محیط کشت برای تولید شاخساره

شمار شاخساره‌های حاصل از محیط کشت مایع و جامد MS (کامل)، به طور بسیار معنی‌داری بیشتر از محیط کشت MS با نصف غلظت بود، ولی اختلافی بین دو محیط کشت جامد و مایع MS دیده نشد. هم‌چنین، بین ارقام تفاوت معنی‌داری از نظر تولید شاخساره وجود نداشت. تأثیر نوع محیط کشت و نیز رقم در تولید شاخساره در شکل ۱، نشان می‌دهد که شمار شاخساره‌های حاصل از یک شاخه نیشکر در محیط کشت 1/2MS تقریباً یک پنجم گیاهچه‌های تولیدی از دیگر محیط‌های کشت بوده است. بنابراین، با توجه به شکل ۱، به نظر می‌رسد که بهترین محیط کشت برای تولید شاخساره (تکثیر شاخساره)، محیط‌های MS کامل جامد و مایع همراه با ویتامین و یک میلی‌گرم در لیتر IBA ، دو میلی‌گرم در لیتر کینتین و یک میلی‌گرم در لیتر BAP باشد. اثر متقابل ارقام و محیط‌های کشت در سطح ۵٪ معنی‌دار نبود.

تولید ریشه

شکل ۲ نشان می‌دهد که شرایط محیطی استقرار گیاهچه تأثیر زیادی بر تولید ریشه دارد. بیشترین گیاهانی که ریشه‌دار شده‌اند در تیماری است که در آن ذغال استفاده شده و ابتدا برای مدت یک هفته در شرایط کاملاً تاریک نگه‌داری شده‌اند. کمترین گیاهچه‌های مولد ریشه در تیماری است که پس از کاشت نمونه در برابر نور (۱۲ ساعت) قرار گرفته‌اند. از نظر آماری اختلافی بین ارقام دیده نشد. هم‌چنین، بین ارقام و تیمارها اثر متقابل مشاهده نشد. بنابراین، با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که اگر نمونه‌ها پس از کشت نخست در تاریکی قرار گیرند، ریشه‌دهی در تمام ارقام افزایش خوا هد یافت؛ به ویژه اگر ذغال فعال هم به محیط کشت افزوده شود.

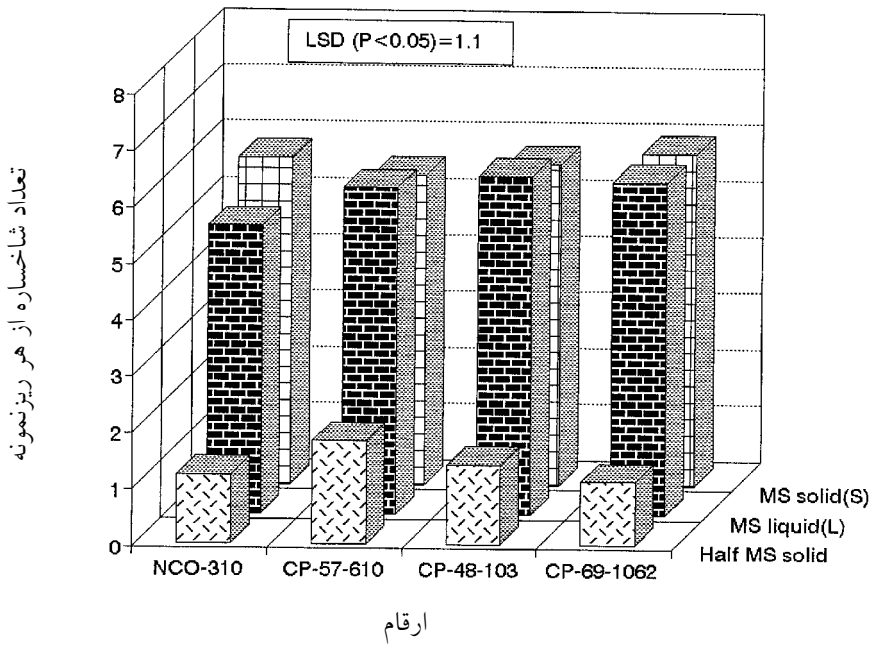
شمار ریشه‌ها در هر تیمار نیز نشان می‌دهد که بیشترین ریشه‌های نابجای تولیدی مربوط به تیماری است که محیط کشت دارای ذغال فعال بوده و نمونه‌ها ابتدا یک هفته در تاریکی و سپس در شرایط ۱۲ ساعت نور قرار گرفته‌اند (شکل ۳). کمترین ریشه تولیدی مربوط به تیماری است که مستقیماً در برابر نور قرار گرفته است. هم‌چنین، مقایسه وزن تر ریشه‌های تولیدی نشان می‌دهد که تیمار تاریکی و سپس روشنایی به همراه ذغال نسبت به سایر تیمارها برتر بوده، و وزن تر ریشه‌ها تقریباً پنج برابر تیمار روشنایی و ۱/۵ برابر تیمار تاریکی و سپس روشنایی می‌باشد. از نظر آماری، اختلاف در سطح پنج درصد معنی‌دار بود (شکل ٤).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. تأثیر محیط کشت MS مایع (L) و جامد (S) بر درصد استقرار گیاهچه، طول و شمار برگ در گیاهچه‌های ارقام نیشکر پس از ٤٥ روز نگه‌داری در شیشه

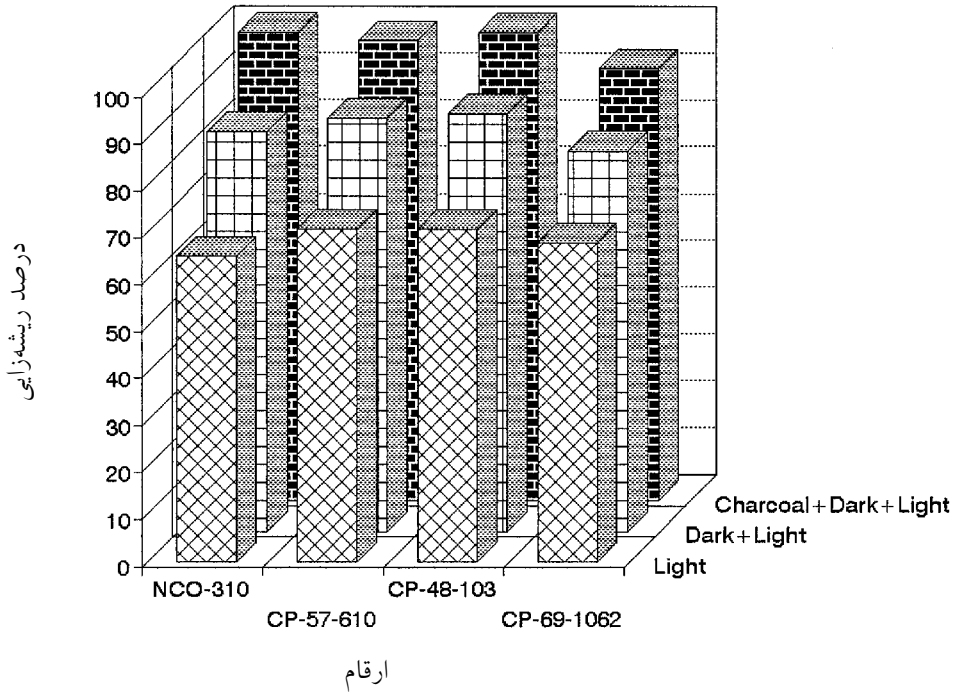
محیط کشت	ارقام نیشکر	درصد استقرار	طول (cm)	شمار برگ
MS (S)	NCO-310	۸۵	٤/۲	۳/٦
	CP-57-614	۸٤	٤/۲	۳/۲
	CP-48-103	۸۰	٥/۱	۳
	CP-69-1062	۸۲	٤/۱	۳/۲
MS (L)	NCO-310	۸۷	٤/٤	۳/۸
	CP-57-614	۸٦	٤/۸	۳/۸
	CP-48-103	۸۳	٦/۰	۳/۷
	CP-69-1062	۸۲	٤/۹	۳/۷
1/2MS (S)	NCO-310	٤٤	۲/۱	۱/۸
	CP-57-614	٤٥	۲/۱	۱/۹
	CP-48-103	۳۹	۳/۰	۲/۰
	CP-69-1062	٤۲	۲/۹	۲/۰
LSD (P<0.05)		۱۲/٥	۱/۸	۰/٤٥



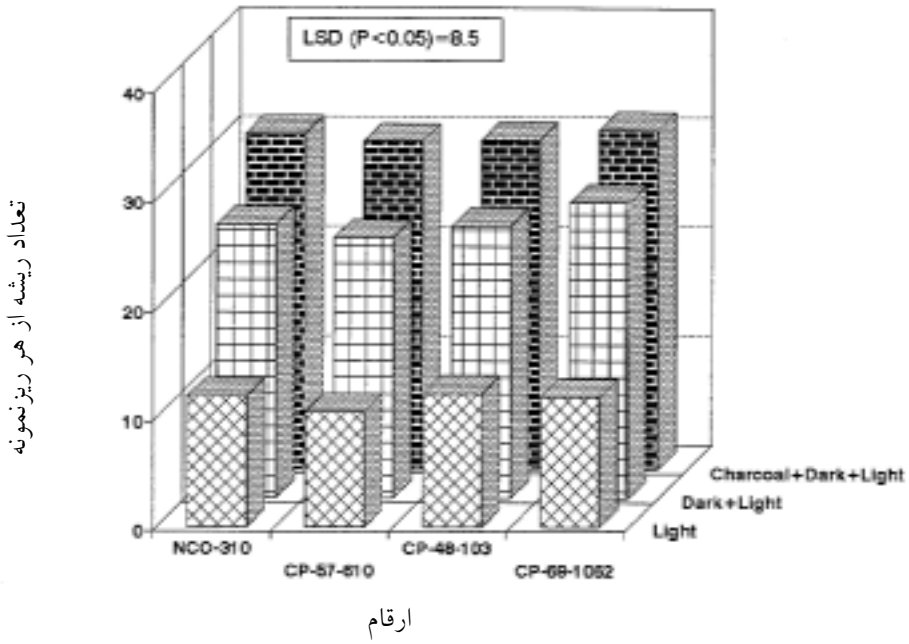
شکل ۱. تأثیر نوع محیط کشت (MS جامد، MS مایع و 1/2MS) بر تولید شاخساره‌های جانبی در ارقام نیشکر

www.SID.ir

Archive of SID



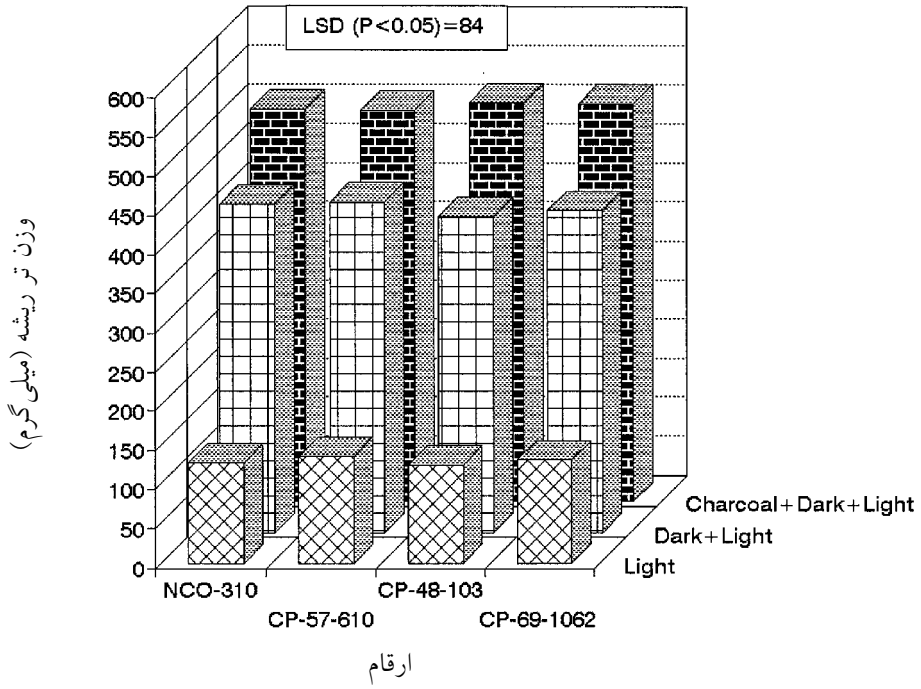
شکل ۲. تأثیر شرایط کشت (نور کامل، یک هفته در تاریکی و سپس در نور، و ذغال فعال و یک هفته در تاریکی و سپس در نور) بر درصد تولید ریشه در ارقام نیشکر



شکل ۳. تأثیر شرایط کشت (نور کامل، یک هفته در تاریکی و سپس در نور، و ذغال فعال و یک هفته در تاریکی و سپس در نور) بر شمار ریشه‌های تولید شده در ارقام نیشکر

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٤. تأثیر شرایط کشت (نور کامل، یک هفته در تاریکی و سپس در نور، و ذغال فعال و یک هفته در تاریکی و سپس در نور) بر وزن تر ریشه‌های تولید شده (میلی‌گرم) در ارقام نیشکر

بحث

با توجه به جدول ۱، مقایسه محیط کشت کامل مایع و جامد MS، با MS جامد با غلظت نصف، نشان داد که در محیط کشت کامل حداکثر استقرار گیاهچه در شیشه به دست می‌آید. البته اگرچه در محیط کشت مایع درصد نمونه‌های مستقر اندکی بیشتر از محیط کامل MS جامد بود، ولی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. محیط کشت کامل MS جامد برای تکثیر گیاه نیشکر قبلاً به وسیله پژوهندگان بسیاری به کار رفته و اغلب آن را برای ارقام نیشکر مناسب دانسته‌اند (۸، ۱۰، ۱۲ و ۲۱). ولی به هر حال، گاهی در گزارش‌ها محیط کشت MS مایع را برای تکثیر برخی ارقام نیشکر پیشنهاد می‌کنند (۲٦).

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که گیاهچه‌ها در محیط‌های MS مایع و جامد بهتر از 1/2MS رشد کرده، پس از گذشت سه ماه از ارتفاع بیشتری برخوردار بوده و شمار زیادتری برگ تولید کرده‌اند. افزایش رشد بیشتر در محیط کشت کامل مایع و جامد MS، احتمالاً به دلیل استقرار بهتر گیاه در محیط کشت و سطح تماس بیشتر با محیط کشت است، که نهایتاً موجب جذب بیشتر آب و مواد غذایی می‌شود. هم‌چنین، به دلیل کافی بودن غلظت عناصر معدنی در محیط‌های کامل MS، گیاه بهتر تغذیه شده و رشد بیشتری خواهد داشت (۱۵، ۲۲ و ۲٤).

با توجه به شکل ۱، همواره محیط کشت MS جامد و مایع نسبت به محیط کشت 1/2MS از نظر تولید شاخساره برتر بود. قبلاً استفاده از محیط کشت کامل MS برای تولید شاخساره برای نیشکر به وسیله واکر و همکاران (۲٦) در رقم H62-467 گزارش شده است. آنها از یک شیشه حاوی محیط کشت MS کامل و مایع توانسته‌اند طی مدت سه ماه شش شاخساره تولید کنند. در آزمایش حاضر به طور میانگین از هر شیشه حدود پنج شاخساره به دست آمد، که با گزارش‌های دیگر پژوهشگران هم‌خوانی دارد.

www.SID.ir

Archive of SID

از نظر ریشه‌دار شدن گیاهچه‌ها و با توجه به نتایج به دست آمده، می‌توان نتیجه گرفت که اگر محیط اطراف ریشه‌های تولیدی تیره بوده، و از تابش نور برای چند روز اول به محیط ریشه جلوگیری شود، پیدایش و رشد ریشه‌ها افزایش یافته (شکل ۲)، و نهایتاً در صورتی که بعداً به محیط آزاد منتقل شوند از توانایی بیشتری برای استقرار و رشد برخوردار خواهند بود. تولید و رشد ریشه در گیاهان دیگر نیز از همین قاعده پی‌روی می‌کند. دلیل امر مربوط به فعالیت هورمون اکسین است، که بیشترین مسئولیت را در پیدایش و رشد ریشه داشته و چنانچه در برابر نور شدید قرار گیرد اکسیده و تبدیل به مواد بی‌اثر گشته، موجب کاهش رشد ریشه می‌شود. تأثیر هورمون اکسین و شرکت داشتن این تنظیم کننده رشد در تولید و رشد ریشه به وسیله دیگر پژوهشگران تأیید و اثبات گردیده است (۱۸، ۲۱ و ۲۵).

شمارش ریشه‌های تشکیل شده و وزن تر آنها در تیمارهای مختلف، که در شکل‌های ۳ و ٤ نشان داده شده، گویای این مطلب است که محیط کشت تیره (ذغال فعال) و به وجود آوردن شرایطی نظیر آنچه گیاه در محیط خارج از شیشه (مزرعه) نیاز دارد، پیدایش و رشد ریشه‌ها را در گیاهچه افزایش می‌دهد، که این پدیده بعداً برای انتقال گیاه به محیط اصلی (مزرعه) می‌تواند بسیار مؤثر واقع شده و استقرار و رشد اولیه گیاه را بهبود بخشد (۱۳، ۱٦ و ۱۷).

هم‌چنین، افزودن ذغال فعال به محیط کشت موجب جذب رنگ‌دانه‌های سمی (سیاه و قهوه‌ای)، که از ترکیبات فنلی هستند، شده و در نتیجه ادامه رشد گیاهچه را در محیط کشت امکان‌پذیر می‌سازد (۸ و ۲٤). ولی بعضی از ترکیبات هورمونی از جمله اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها و برخی از ویتامین‌ها و املاح مانند آهن و روی از دیگر موادی هستند که به وسیله ذغال جذب می‌شوند. بنابراین، باید این مواد به مقدار کافی در محیط کشت منظور گردند (۱۸). از سویی، ذغال فعال برخی از مواد مثل اتیلن تولید شده به وسیله گیاهچه درون شیشه را، که می‌تواند مانع ادامه رشد گیاهچه شود، نیز جذب می‌کند (۱۹ و ۲٤).

سپاسگزاری

بدین وسیله از سازمان مدیریت برنامه و بودجه استان خوزستان و دانشگاه شهید چمران اهواز، به خاطر قبول هزینه‌های این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

۱. امیری، ف. و ک. ایزدپناه. ۱۳۷۳. میزان آلودگی ارقام نیشکر به موزاییک در خوزستان و نحوه ایندکس کردن قلمه‌ها. بیماری‌های گیاهی ۲۹(۳ و ٤): ۱۹۲.

۲. بی‌نام. ۱۳۷۸. طرح توسعه نیشکر و صنایع جانبی. وزارت کشاورزی، معاونت نظام بهره برداری.

۳. حاج رسولیها، ش. ۱۳۵۰. *نیشکر و فیزیولوژی آن*. شرکت سهامی سازمان آب و برق خوزستان.

٤. مجیدی هروان، ا. ۱۳۷۳. مقدمه‌ای بر بیوتکنولوژی گیاهی و کاربرد آن در زراعت نیشکر. شرکت توسعه نیشکر و صنایع جانبی.

5. Alam, M. Z., S. A. Haider, R. Islam and O. I. Joarder. 1995. High frequency *In vitro* plant regeneration in sugarcane. Sugar Cane 20-27.

6. Bajaj, Y. P. S. 1997. Biotechnology in Agriculture and Forestry. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

7. Dhaliwal, R. K., C. P. Malic, S. S. Gosal and L. S. Dhaliwal. 1997. Studies on hardening of micropropagation sugarcane plantlets. I. Leaf parameter and biochemical estimation. Ann. Biol. 13: 15-20.

8. Heinz, D. J. and G. W. P. Mee. 1969. Plant differentiation from callus tissue of *Saccharum* species. Crop Sci. 9: 346-348.

www.SID.ir

Archive of SID

9. Hendre, R. R., M. Kotwal, S. S. Khupse and A. F. Mascarenhas. 1983. Rapid multiplication of sugarcane by tissue culture. Sugar Cane 5-7.
10. Lal, N. and H. N. Singh. 1991. Correlation of fresh weigh callus to corresponding volumes in sugarcane. Indian J. Plant Physiol. 3: 261-263.
11. Liu, M. C. 1981. *In vitro* methods applied to sugar cane improvement. PP. 299-323. *In*: T. A. Thorpe (Ed.), Plant Tissue Culture, Methods and Applications in Agriculture. Academic Press, N. Y., USA.
12. Liu, M. C. 1984. Sugarcane. PP. 575-605. *In*: W. R. Sharp, D. A. Evans, P. V. Ammirato and Y. Yamada (Eds.), Handbook of Plant Cell Culture. Vol. II. Crop Species. Macmillan, New York.
13. Lourens, A. G. and F. A. Martin. 1987. Evaluation of *In vitro* propagated sugarcane hybrids for somaclonal variation. Crop Sci. 27: 793-796.
14. Maretzki, A. 1987. Tissue culture: its prospects and problems. PP. 343-384. *In*: D. J. Heinz (Ed.), Sugarcane Improvement Through Breeding. Elsevier Science Publisher, The Netherlands.
15. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.
16. Nickell, L. G. 1977. Crop improvement in sugarcane: studies using *In vitro* methods. Crop Sci. 17: 717-719.
17. Opropera, M. and E. Garcia. 1996. Somaclonal variant resistant to sugarcane mosaic virus and the agronomic characterization. Tissue Culture 32: 25-30.
18. Pierik, R. L. M. 1997. *In vitro* Culture of Higher Plants. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
19. Schenk, R. U. and A. C. Hildebrandt. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. Can. J. Bot. 50: 199-204.
20. Siddiqui, S. H., I. A. Khan, A. Khatri and G. S. Nizamani. 1994. Rapid multiplication of sugarcane through micropropagation. Pakistan J. Agric. Res. 15: 134-136.
21. Sreenivasan, T. V. and J. Sreenivasan. 1997. Micropropagation of sugarcane varieties for increasing cane yield. SISSTA 4: 61-64.
22. Taiz, L. and E. Zeiger. 1998. Plant Physiology. 2nd ed., Sinauer Associates, Inc. Publishers, Massachusetts.
23. Taylor, P. W. J., H. L. Ko, S. W. Adkins, C. Rathus and R. G. Brich. 1992. Establishment of embrogenic callus and high protoplast yielding suspension cultures of sugarcane. Plant Cell Tissue and Organ Culture 28: 69-78.
24. Thorpe, T. A. 1981. Plant Tissue Culture: Methods and Applications in Agriculture. Academic Press, N. Y., USA.
25. Visessuwan, R., W. Korpraditskul, S. Attathom and S. Kinking. 1988. Production of virus-free sugarcane by tissue culture. Kasetsart J. (Nat. Sci. Suppl.) 22(5): 30-36.
26. Walker, P. N., J. P. Harris and L. D. Gautz. 1991. Optimal environment for sugarcane micropropagation. Trans. ASAE 34(6): 2609-2614.

www.SID.ir