

تأثير الشد الملحي في نمو كالس صنفين من قصب السكر *Saccharum officinarum* خارج الجسم الحي

حليمة جبار عبد الرزاق*، مؤيد فاضل عباس** وعباس مهدي جاسم**

*قسم الكيمياء البيئية البحرية، مركز علوم البحار، جامعة البصرة، بصرة، العراق

**قسم البستنة وهندسة الحدائق، كلية الزراعة، جامعة البصرة، بصرة، العراق

الخلاصة. أجري هذا البحث في المختبر التقني للزراعة النسيجية التابع للقطاع الخاص في محافظة البصرة بهدف استحداث الكالس لصنفين من قصب السكر وهما الصنف المحلي CO331 والأمريكي CP-72-2086 واستعملت البراعم القمية من النباتات الخالية من الإصابة المرضية والحشرية كمصدر للجزء النباتي إذ اختبرت طريقتين للتعميم الأولى باستعمال القاصر التجاري بتركيز % 20 والثانية باستعمال الكحول الايثيلي % 70 والقاصر التجاري % 20 ودرس تأثير عدة معاملات بالاكسين D - 2,4 لتحفيز الكالس واستحثائه وهي (0 , 1.5 , 3 , 4.5 ملغم / لتر) ومن ثم إكثاره على التركيز المناسب وتعرضه إلى تراكيز مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم وهي (0 , 30 , 60 , 90 , 120 , 150 , 180) ملي مولار وأظهرت نتائج الدراسة أن أفضل طريقة لتعميم الأجزاء النباتية هي بغمرها في الكحول الايثيلي لمدة عشر دقائق ثم تعقيمها بالقاصر التجاري % 20 والذي أعطى أقل نسبة من التلوث بلغت % 13 و % 7 ولكلا الصنفين على التوالي كما تبين أن جميع البراعم القمية المزروعة على الأوساط الغذائية المجهزة بالاكسين 2,4 D- كونسنت الكالس وأن أفضل تركيز هو 3 ملغم / لتر والذي أعطى أكبر كمية من الكالس في حين حدث نموًا للبرعم القمي فقط في معاملة المقارنة كما أظهرت نتائج الدراسة أن جميع معاملات إضافة ملح كلوريد الصوديوم إلى الوسط الغذائي أثرت في الوزن الرطب للكالس وبصورة معنوية إذ سجلت معاملة المقارنة أعلى قيمة بلغت 287.8 ملغم في حين تناقص الوزن تدريجياً مع زيادة تركيز كلوريد الصوديوم إذ بلغ (116.0 و 59.5 و 30.0 و 11.0 و 7.3 ملغم) بتأثير المعاملة 150 مليمولر وعلى طول فترة نمو الكالس في الأوساط الملحية.

الكلمات المفتاحية: قصب السكر، الكالس، الشد الملحي.

المقدمة

(15). ويعتبر من المحاصيل الصناعية المهمة على مستوى عالمي إذ إن حوالي % 70 من الانتاج العالمي للسكر يأتي من هذا المحصول (8 , 7) صنف على إنه محصول تجاري في 60 بلد تقريباً على امتداد العالم. نظراً لأن نبات قصب السكر من النباتات الحساسة للملوحة salt sensitive إذ يعتبر المستوى الملحي 1.7 ds.m^{-1} هو الحد الحرج للنمو والحاصل الاقتصادي وفوق هذا الحد يتأثر النمو بدرجة كبيرة إلى أن يصل الفقد بالحاصل إلى % 50 عند مستويات ملوحة قدرها 0.8 ds.m^{-1} . يتأثر نمو وتطور نبات قصب السكر بالشد الملحي إذ يسبب إعاقة للعمليات البايوكيميائية والتي تؤثر

بعد قصب السكر *Saccharum officinarum* L الذي ينتمي إلى العائلة النجيلية Poaceae من النباتات احادية الفلقة التي تمتاز بأنها نباتات مجهددة للتربة وقصب السكر هو الاسم الشائع الذي يعطى إلى أماكن التخزين في الجنس *Saccharum* والانواع الهجينة منه أنواع قوية تتكاثر خضرياً وهو من الحشائش المعمرة التي تزرع على طول السنة وبصورة عامة زراعته محدودة بخط عرض 30 درجة شمال وجنوب خط الاستواء وفي المناطق الساحلية أو الدافئة وتفضل زراعته خارج هذا النطاق

الجاري والصابون قطعت القصبه من الاعلى بطول 15سم واستعملت طرق التعقيم الآتية :

1- تم استئصال البرعم القمي مباشرة وبطول (2 - 4) ملم ووضعها في محلول مضاد للأكسدة (Anti oxidant solution) المتكون من حامض الستريك وحامض الاسكوربيك بتركيز 100 و 150ملغم/ لتر على التوالي واجريت عملية التعقيم في منضدة انسياب الهواء الطبقي laminar airflow cabinet باستعمال القاصر التجاري بتركيز % 20 مع اضافة قطرتين من المادة الناشرة (Tween 20).

2- قطع القصبه بطول (15) سم ووضعها في الايثانول بتركيز % 70 ولمدة (5) دقائق وبعدها وضعت في محلول مضاد للأكسدة ولمدة (10) دقائق اخرى ثم تم استئصال البرعم القمي بطول 4 (2 -) ملم وعقم كما في الطريقة الاولى في منضدة انسياب الهواء الطبقي . أما فيما يخص الوسط الغذائي فقد استعمل وسط مكون من مجموعة أملاح (19) MS ثم الحصول عليها من شركة (ZAS) Zist Arman Sabz استعملت بمقدار 4.6غم / لتر واضيف اليه السكروز بمقدار 30 غم /لتر والفيتامينات وتراكيز مختلفة من الاوكسين D₂-4 وهي (0 و 1.5 و 3 و 4.5ملغم/لتر) وبعد وضع جميع مكونات الوسط في دورق حجمي Volumetric flask سعة (2) لتر ضبطت قيمة PH الوسط الى 5.7 - 5.8 بواسطة PH-meter باستعمال (0.1) (HCl, NaOH) عياري بعدها اضيف الاكار بمقدار (6) غم / لتر) واكمل الحجم بالماء المقطر الى العلامة وسخن الوسط على هيتز ممغنط (Hot plate stirrer) حتى وصول درجة الحرارة الى (90 - 91 م) ثم توزيع الوسط في انابيب اختبار وبمعدل (15مل / انبوية) وغلقت الانابيب بواسطة قطع من الاسفنج ورقائق الالمنيوم ووضعت في جهاز التعقيم البخاري Autoclave

على النمو ونوعية العصير . وعلى هذا الأساس فمن الضروري العمل على تحسين التحمل الملحي للنبات . ونظراً لأن طرق تربية النبات التقليدية تعتبر من الطرق البطيئة في إنتاج نباتات متحملة للشدود البيئية لذلك فإن أفضل وسيلة لذلك يكون في استنباط أصناف جديدة متحملة للملوحة إلا إن هذا الهدف صعب التحقيق في الوقت الحاضر لأن صفة تحمل الملوحة هي صفة متعددة من الناحية الوراثية إذ يسيطر عليها العديد من الجينات multigenic trail يصعب نقلها حتى باستعمال تقنيات هندسة النبات الوراثية (18 , 10) لذا يصبح من الضروري استعمال تقانات بديلة لتحقيق هذا الهدف وأهم هذه التقانات هي الاكثار الدقيق خارج الجسم الحي *in vitro* والتي تهدف الى تحسين التحمل الملحي للنبات عن طريق انتخاب خلايا مقاومة للشد الملحي خارج الجسم الحي . وقد استعملت هذه التقانة في تحسين التحمل الملحي للعديد من المحاصيل الزراعية (17 , 13 , 12 , 11 , 5 , 4) إن الهدف من تعريض خلايا الكالس الى المستويات الملحية العالية قيد الدراسة هو قتل حوالي % 90 من الخلايا الحساسة للملوحة وبقاء الخلايا المقاومة والتي تستمر بالنمو في الاوساط الملحية وبذلك يتم انتخاب خلايا مقاومة للملوحة من خلايا هي في الاساس حساسة للملوحة يتم اخلافها لاحقاً الى نباتات مقاومة للملوحة يمكنها النمو والاستمرار في البيئات الملحية.

المواد وطرائق العمل

استعمل في هذا البحث صنفين من قصب السكر احدهما محلي Co331 والآخر امريكي CP-72-2086 تم الحصول عليها من الشركة العامة لصناعة السكر في ميسان , اجريت الدراسة في المختبر التقني للزراعة النسيجية في منطقة الفيحاء التابع للقطاع الخاص . اختيرت النباتات الخالية من الاصابة المرضية والحشرية وبعد غسلها بالماء

نفذت تجربة النسبة المئوية حسب اختبار مربع كاي اما التجارب الاخرى نفذت باستعمال التصميم العشوائي الكامل Complat Random Desing (CRD) وقرنت النتائج احصائياً بموجب اختبار اقل فرق معنوي معدل (RLSD) وعلى مستوى احتمال 0.05 (1).

النتائج والمناقشة

توضح النتائج في جدول (3) مدى فعالية الطريقة الثانية باستعمال الكحول الايثيلي % 70 والقاصر التجاري % 20 في الحصول على اقل نسبة من تلوث مزارع الكالس والتي وصلت الى % 13 و % 7 والتي تفوقت معنوياً على الطريقة الاولى ولكلا الصنفين على التوالي ، ان فعالية الطريقة الثانية في الحصول على اقل نسبة من التلوث مقارنة بالطريقة الاولى تكمن في التخلص من معظم الكائنات الحية الدقيقة وذلك عند غمس العقل في الكحول الايثيلي بتركيز % 70 وبما ان العملية اجريت في منضدة انسياب الهواء الطبقي لذلك فإن تشريح العقل الخالية من مسببات التلوث ومن ثم تعقيم البراعم في محلول القاصر التجاري % 20 قلل من النسبة المئوية للتلوث وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه (6) اذ وجد ان استعمال الكحول الايثيلي % 70 فعال في تعقيم الاجزاء النباتية لقصب السكر اذ حصل على نسبة تلوث قليلة جداً وصلت الى % 2.5 كذلك تتفق مع ما توصل اليه (2) عند استعماله الكحول الايثيلي % 95 في تعقيم الاجزاء النباتية لثلاثة اصناف من قصب السكر إذ حصل على اقل نسبة تلوث وصلت الى % 15 و % 8.8 عند استعماله الكحول الايثيلي بتركيز % 95 ولمدة 2 و 4 دقائق على التوالي كما تتفق هذه النتائج مع (14, 3) والذين أشاروا الى ان استعمال الكحول الايثيلي % 70 لمدة 5 دقائق فعالة في تعقيم القمم النامية والبراعم الجانبية لنبات قصب السكر .

لمدة 20 دقيقة وعلى درجة حرارة مقدارها 121 م² وضغط مقداره 1.04 كغم / سم² وتركت لتبرد لحين موعد الزراعة . ثم زرعت البراعم القمية المعقمة في الانابيب المحتوية على الوسط الغذائي وبمعدل برعم واحد لكل انبوبة مع مراعاة وضع البرعم القمي بشكل عمودي مع غمس الجزء القاعدي للبرعم بداخل الوسط وبعد اكتمال عملية الزراعة وضعت الزروع في ظلام تام داخل الحاضنة وعلى درجة حرارة 28 ± 2 م² , اجريت عملية إعادة الزراعة على التركيز 3 ملغم / لتر كل ست أسابيع لغرض إكثار الكالس المتكون والبدء بإجراء التجارب الخاصة بانتخاب الكالس المتحمل للملوحة.

استحثاث الكالس وانتخابه لتحمل الملوحة

1- تأثير الاوكسين (D - 2,4) في استحثاث الكالس اختبرت اربعة تراكيز من الاوكسين

D - 2,4 وهي على التوالي 0 , 1.5 , 3 , 4.5 (ملغم / لتر) وزعت البراعم القمية على الاوساط المحتوية على الاوكسين واستمرت التجربة 50 يوماً تم بعدها قياس الوزن الرطب للكالس المتكون وعلى هذا الاساس تم اختيار التركيز الامثل من الاوكسين D - 2,4 وهو 3 ملغم / لتر وتم بعدها عملية اكنار الكالس على هذا التركيز فقط.

2- دراسة تأثير تراكيز مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم في نمو الكالس .استعملت عدة تراكيز من ملح كلوريد الصوديوم تم إضافتها إلى الوسط الغذائي اثناء التحضير هي (0,30,60,90,120,150,180) (ملي مولر زرعت كمية من الكالس 200 ملغم / أنبوبة تقريباً وبمعدل 30 مكرر لكل معاملة استمرت التجربة 50 يوماً تم خلالها قياس الوزن الرطب للكالس كل 10 أيام لتقدير منحنى النمو .

التحليل الاحصائي

جدول (3). تأثير طريقة تعقيم الأجزاء النباتية في النسبة المئوية لتلوث مزارع الكالس.

الصفة	عدد النماذج المزروعة	قاصر تجاري 20%	قاصر تجاري 20% + كحول 70%
Co331	100	33	13
Cp-72-2086	100	40	7

$$X^2 = 19.84$$

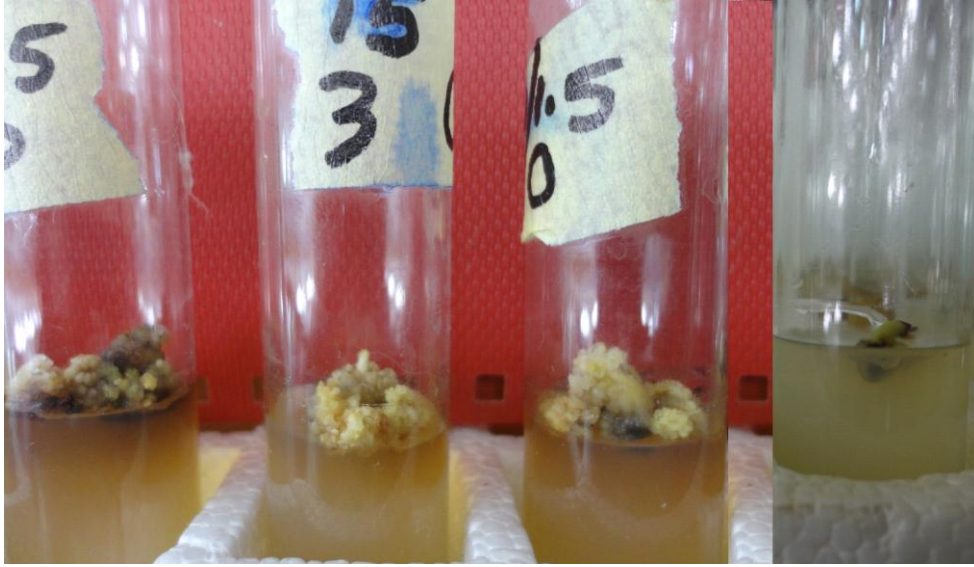
تفوق معنويا ً على الصنف الاخر , أما فيما يخص تداخل التراكيز مع الاصناف فيلاحظ بأن التراكيزين 1.5 و 3 ملغم / لتر للصنف Co331 لم يختلفا معنويا فيما بينهما ولكنهما تفوقا معنويا ً على جميع التداخلات الاخرى , وهذه النتائج تتفق مع ما توصل اليه (16) الذي بين ان افضل الاوكسينات المستعملة لاستحثاث الكالس هي D - 2,4 بتركيز 3 ملغم / لتر وهذا ما اكده (6 , 21 , 11) .

وتوضح اللوحة (1) والجدول (4) تأثير الاوكسين D - 2,4 في الوزن الرطب للكالس الاولي بعد مرور 50 يوم من الزراعة ويتضح من الجدول بأن اضافة الـ D,4-2 بتركيز 3 ملغم / لتر سجل اعلى معدل للوزن الرطب للكالس الاولي اذ بلغ 1018 ملغم والذي تفوق معنويا على بقية المعاملات، اما فيما يخص معاملة المقارنة فقد حدث فيها نمو للبرعم القمي فقط دون الحصول على الكالس، كذلك يتضح ان الصنف Co331 سجل اعلى معدل للوزن الرطب بلغ 754 ملغم والذي

جدول (4) تأثير تراكيز مختلفة من الاوكسين D - 2,4 وصنفين من قصب السكر في الوزن الرطب للكالس الاولي (ملغم) بعد مرور 50 يوما ً من الزراعة.

تركيز D-2,4 الصنف	0	1.5	3	4.5	معدل الاصناف
CO331	نمو البرعم القمي فقط	1240 ^a	1358 ^a	416 ^c	754.0 ^a
Cp72-2086	/	308 ^c	678 ^b	269 ^c	314 ^b
معدل تركيز-2,4 D	/	774 ^b	1018 ^a	343 ^c	

$$L.S.D \ 0.05 = \text{الاصناف} = 160.6 \quad \text{تركيز D-2,4} = 227.1 \quad \text{الاصناف} \times \text{تركيز} = 321.1$$



لوحة (1): تأثير الاوكسين 2,4-D في الوزن الرطب للكالس الأولي ملغم بعد مرور 50 يوما من الزراعة المعاملات من اليمين إلى اليسار 0, 1.5, 3, 4.5 ملغم/ لتر.

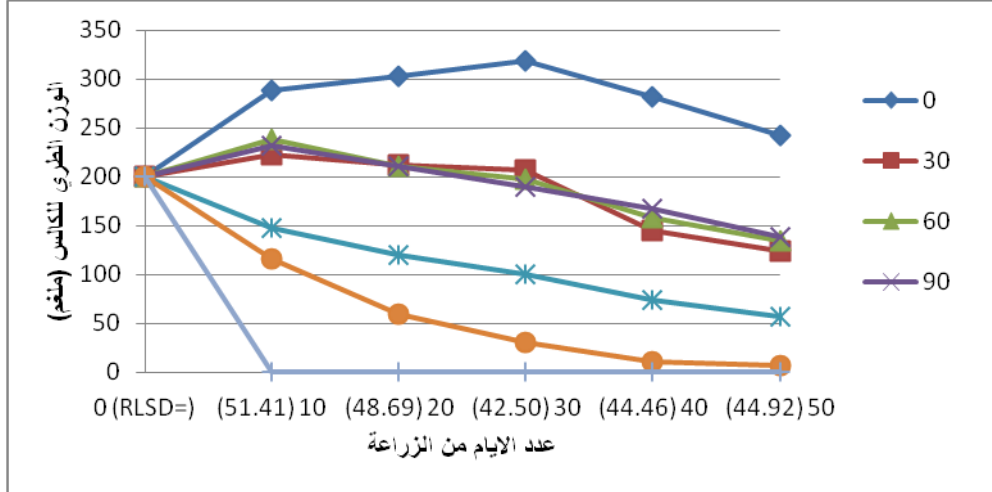
تتفق مع ما توصل اليه (2) من ان ملح كلوريد الصوديوم أثر معنويا في الوزن الطري للكالس المستحث من ثلاثة اصناف من قصب السكر وهي ميسان و Co.J.64 و Co.J.086 وانخفض وزن الكالس معنويا بزيادة تركيز الملح في الوسط الغذائي حتى وصل الى 233.5 ملغم في الوسط الحاوي على 2 % من ملح NaCl , كما وتتفق هذه النتائج مع (20) الذي بين ان نمو الكالس يثبط عند اضافة ملح كلوريد الصوديوم الى الوسط الغذائي وتتفق ايضا مع (12) في حين بين الباحثين (13) امكانية الحصول على كالس متحمل للملوحة بتركيز 68 ملي مولار من صنف حساس للملوحة لقصب السكر (Cp-65-357) بواسطة عملية الانتخاب خارج الجسم الحي *in vitro* اذ لم يلاحظ اختزالا في النمو في الكالس المنتخب لتحمل الملوحة بينما وصل الاختزال في النمو للكالس غير المنتخب الى 32 % عند معاملة الكالس بالتركيز الملحي اعلاه ونتائج مشابهة توصل اليها (9) .

ان تأثير الشد الملحي على كالس قصب السكر يكمن في التأثير السام لأيونات Na^+ و Cl^- على الاغشية الخلوية وعلى نشاط العديد من الانزيمات

ويلاحظ من الشكل (1) بأن الوزن الرطب للكالس الاولي بدأ بالانخفاض تدريجيا مع زيادة تركيز ملح كلوريد الصوديوم في الوسط الغذائي حتى وصل ادناه بعد مرور 50 يوما من الزراعة ولكلا الصنفين ويلاحظ بأن أعلى معدل لوزن الكالس بلغ 287.8 ملغم سجل عند معاملة المقارنة في حين سجلت المعاملة 150 ملي مولار من NaCl أقل معدل لوزن الكالس ولكلا الصنفين أما المعاملة 180 ملي مولار فقد سببت موت الخلايا *nicroses* وتحول الكالس الى اللون الاسود وتلون الوسط باللون البني الغامق وذلك بعد مرور 10 أيام من الزراعة واستمرت زيادة الوزن الرطب للكالس الاولي لمعاملة المقارنة حتى بعد مرور 30 يوماً من الزراعة بعدها بدء الوزن الرطب للكالس بالانخفاض تدريجيا حتى مرور 40 يوماً من الزراعة وقد يعود السبب الى استنفاد مكونات الوسط الغذائي من الفيتامينات والاملاح المعدنية والاكسين الـ 2,4-D اما الوزن الرطب لبقية المعاملات فقد تناقص تدريجيا وبلغ ادناه في نهاية فترة الزراعة على الاوساط الملحية وخاصة المعاملة 150 ملي مولار من NaCl الذي بلغ الوزن الرطب للكالس عندها (7.3) ملغم وذلك بعد مرور 50 يوما من الزراعة. وهذه النتائج

الخلية وضرر بالاحماض النووية ، وهذا يحدث في حالة النباتات غير المتحملة للملوحة أو النباتات السكرية (glycophyte) مثل نبات قصب السكر.

المضادة للأكسدة وخاصة انزيم البيروكسيداز peroxydase التي تحمي الخلية من التأثير السام للجذور الحرة عالية الفعالية التي تسبب تدمير



شكل (1): تأثير ملح كلوريد الصوديوم ملي مولار في الوزن الرطب للكالس الاولي خلال 50 يوما من الزراعة في الاوساط الملحية.

البرتقال المحلي . اطروحة دكتوراه . كلية الزراعة . جامعة البصرة.

5-الكعبي، حسين خلف زاير . (2004) دراسة تأثير كلوريد الصوديوم والبرولين في نمو نخلة التمر صنف البرحي المزروعة خارج الجسم الحي . اطروحة دكتوراه . كلية التربية . جامعة البصرة.

6 - عبد الفتاح، عبد العزيز عبد الرحمن الجنابي ؛ علاء صالح وحسين وفاء ابراهيم. (2004) اكنار قصب السكر بوساطة الزراعة النسيجية ، مجلة الزراعة العراقية ، مجلد 9 (1) : 30-38.

7- Ali , S. ; Iqbal , J. and Khan , M. (2010) . Genotype independent in vitro regeneration system in elite varieties of sugarcane .Pak. J. Bot. 42 : 3783 – 3790 .

المصادر

1- الراوي، خاشع محمود وخلف عبد العزيز محمد . (1980) تصميم وتحليل التجارب الزراعية. التجارب الزراعية .دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.

2-الشمري، ابراهيم عبد الله حمزه . (2001) استجابة ثلاثة اصناف من قصب السكر لاستحداث الكالس وتقويمها لتحمل الملوحة . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة بغداد.

3-الطرفي، زينب شنيور مهدي . (2000) استجاب ثلاث اصناف من قصب السكر في زراعة الانسجة . رسالة ماجستير . كلية القائد للتربية للنبات. جامعة الكوفة.

4-الطه، هدى عبد الكريم عبد الودود . (2008) استعمال تقنية زراعة الانسجة النباتية في اكنار نباتات مقاومة للملوحة من اشجار

- J. Am. Soc. Sugarcane. Technol. 9: 97 – 102 .
- 15- Hussian , A. ; Khan , Z. ; Ghafoo , K. Ashraf , M.; praveeu , R. and Rashid , M. (2004) Sugarcane sugar metabolism and some a biotic stresses. International J. Agric . Biol . 6 : 732 –742.
- 16- Mamun , M. ; Sikdar , M. B. ; Paul , D. : Rahman , M. and Islam, M. (2004). In vitro micro propagation of some important sugarcane varieties of Bangladesh. Asian Journal of plant sciences 3; 666 – 669 .
- 17- Munir , N. and Aftab , F. (2009). The role of poly ethylene glycol (PEG) pretreatment in improving sugarcane salt (Nacl) tolerance. Turk . J. Bot . 33 : 407 – 415.
- 18- Munns , R. and Tester , M. (2008) .Mechanism of salinity tolerance. Ann . Rev . plant Biol. 59 : 651 – 681 .
- 19- Murashige ,T. and Skoog , F. (1962) .Arevised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. physiologia plantarum 15: 473 – 497.
- 20- Ramagopal , S. and carr , J. (1991). Sugarcane proteins and messenger RNAs regulated by salt in suspension cells. plant, cell and environment 14 : 47 – 56 .
- 21- Ramanand , K. ; Subhanand , N.; Lal , M. and Singh, S. (2006). Plantlet regeneration through leaf callus culture in sugarcane. Sugar Tech.8 : 85 – 87 .
- 8- Carson , D. and Both , F. (2002). Genes expressed in sugarcane maturing intermodal tissue . plant cell Reb. 20 : 1075 –1081.
- 9-Errabii, T.; Bernard Gandonou , C. ; Essalmani , H; Abrini , J. ; Idaomar , M. and Skalisehaji , N. (2007). Effects of Nacl and mannitol induced stress on sugarcane (*Saccharum* sp.) callus cultures. Act a physiologia plantarum, 29 : 95 – 102 .
- 10-Flowers,T.J.(2004). Improving crop salt tolerance. Journal of Experimental Botany. 55 : 307 –319 .
- 11- Gandonou , Ch. ; Abrini , J; Idaomar, M. and Skali, N. (2005 a).Response of sugarcane (*Saccharum* sp.) varieties to embryogenic callus induction and in vitro salt stress. African Journal of Biotechnology 4 : 350 – 35
- 12-Gandonou, Ch.; J.; Idaoma, M. and Skali, N. (2005b). Effects of Nacl on growth, ion and proline accumulation in sugarcane (*Saccharum* sp.) callus culture. Belgian Journal of Botany 138 : 173 – 180 .
- 13- Gandonou , Ch. ; Errabii , T. ; Abrini , J. ; Idaomar , M. and Skali , N. (2006). Selection of callus culture of sugarcane (*Saccharum* sp.) tolerant to Nacl and their response to salt stress. Plant cell tissue and organ culture 87: 9 – 16 .
- 14- Grisham , M. and Burner, D. (1995) . Efficiency of in vitro propagation of sugarcane plants by direct regeneration from leaf tissue and by shoot tip culture.

Effect of salt stress on callus growth of two sugarcane cultivars *saccharum officinarum* cultured in vitro

Haleema J. Abdul-Razzak¹, Muyed F. Abbas² and Abbas M. Jasim²

¹ Marine Science Center, University of Basrah, Basrah, Iraq

² Department of Horticulture and landscaping, College of Agriculture, University of Basrah, Basrah, Iraq

Abstract. A study was conducted at Biotechnology lab. belong to private sector in Basra province. The objective was to induce callus from two sugarcane cultivars which were ; Co 331 and Cp-72-2086. Apical buds from plants that were free of diseases and insects were used as a source of explants. Two methods were used for surface sterilization , the first was by commercial bleach (20 % v/v) and the second method was by ethanol (70 %) plus commercial bleach (20 %). 2,4 -D were used at (0 , 1.5 , 3 , 4.5) mg/L to study their effect on callus initiation and induction. The suitable 2,4 -D concentration then used to grow callus under different concentration of NaCl (0 , 30 , 60 , 90 , 120 , 150) mM. Results showed that the best sterilization method was by ethanol for ten minutes then commercial bleach (20 %) which gave lowest percent of contamination (13 % and 7 %) for both cultivars respectively. Results also showed all 2,4 - D concentration gave rise to callus but best concentration was 3 mg/L which gave higher quantity of callus whereas ; control treatment caused growth of apical bud with no callus formation. All sodium chloride treatments effected on callus fresh weight. The highest callus fresh weight was on control treatment and then it decreased as sodium chloride concentration increased for both cultivars on culture on salt culture medium.

Key word: Sugarcane, callus, salt stress.