

تکنیک نجات جنین ابزاری در دورگ‌گیری بین جنسی در خانواده بید (*Salix alba* X *Populus caspica*)

اکرم احمدی^{۱*}، داود آزادفر^۲ و علی جعفری مفیدآبادی^۳

*۱- نویسنده مسئول مکاتبات، کارشناس ارشد جنگل شناسی و اکولوژی جنگل دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،

پست الکترونیک: Ahmadi.1870@gmail.com

۲- دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۳- دانشیار، موسسه تحقیقات پنبه کشور، گرگان

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۲/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۱۰/۱۵

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی امکان دورگ‌گیری بین جنسی در خانواده بید از طریق بکارگیری روش‌های نوین بیوتکنولوژی انجام گرفت. بدین منظور تلاقی بین دو جنس صنوبر و بید با استفاده از گونه‌های *Salix alba* و *Populus caspica* بر روی تخمدان‌های ایزوله از گرده‌های بیگانه انجام گرفت. تکنیک نجات جنین (کشت تخمدان)، جهت جوانه‌زنی رویان‌ها بکار گرفته شد و تخمدان‌ها به محیط کشت MS جامد در فواصل ۱۰، ۱۴ و ۲۱ روز انتقال یافتند. پس از انتقال گیاهچه‌ها در ارتفاع ۳ سانتی‌متر به خاک استریلیزه جهت طی کردن مراحل تدریجی سازگاری، نمونه‌ها به فیتوترون انتقال داده شدند. نتایج نشان داد که دورگ‌گیری بین جنسی موفقیت‌آمیز بوده است و بین سنین مختلف کشت جنین، اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد وجود داشت. بیشترین درصد جوانه‌زنی در حدود ۶۹٪، ۱۴ روز پس از گرده‌افشانی و کمترین درصد جوانه‌زنی در حدود ۵۱٪ در تخمدان‌های ۲۱ روزه مشاهده گردید. مقایسه طول و عرض تخمدان و جنین و همچنین تعداد جنین در دو تلاقی *S. alba* x *P. caspica* و *S. alba* x *S. alba*، به عنوان شاهد، حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین ارتفاع و عرض تخمدان و همچنین طول و عرض جنین و عدم وجود اختلاف معنی‌دار در تعداد جنین بود. همچنین تنوع مورفولوژی بارزی در شکل بذرها حاصل از دو تلاقی ذکر شده مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: تکنیک نجات جنین، دورگ‌گیری بین جنسی، صنوبر و بید

مقدمه

معرض آب گرفتگی قرار دارند) که دیگر گونه‌ها توان رقابت با آنها را ندارند، بطور طبیعی رشد کنند. جنس بید پراکنش طبیعی وسیعتری نسبت به صنوبرها دارد و در نیمکره جنوبی هم پراکنش دارد. بیدها بطور عمده مناطق حاشیه‌ای در طول رودخانه‌ها و زمین‌های هموار که در معرض سیلاب قرار دارند را اشغال می‌کنند (FAO, ۱۹۷۲). بیدها از نظر گونه و ذخایر ژنتیکی غنی بوده و تلاقی دادن

جنس‌های صنوبر و بید متعلق به خانواده بید (Salicaceae) و راسته Salicales هستند (Zsuffa, ۱۹۷۵). جنس صنوبر بطور وسیعی در مناطق معتدله و شبه تروپیکال نیمکره شمالی گسترش یافته است (Schreiner, ۱۹۷۴). گونه‌های صنوبر می‌توانند در بعضی نواحی خاص (مانند نواحی حاشیه رودخانه‌ای که در

Steenackers؛ ۱۹۲۷؛ Sout *et al.* و کلاگری و همکاران، ۱۳۸۲) و بید (Schneider، ۱۹۲۱؛ Fritz، ۲۰۰۶؛ Fritz & Mosseler، ۱۹۸۹؛ Fritz & Orians، ۱۹۹۵؛ Papadopol؛ ۱۹۸۶ & Argus، ۱۹۷۴؛ Hardig *et al.*؛ ۲۰۰۰؛ Orians *et al.*، ۲۰۰۰) انجام گرفته است که علاوه بر دستیابی به دورگ‌های برتر در نتاج (هتروسیس)، موجب گسترش مخزن ژنی گونه‌های مزبور نیز شده است، اما تاکنون گزارشی در مورد دورگ‌گیری بین جنسی صنوبر و بید مشاهده نشده است. گاهی اوقات بذر حاصل از تلاقی‌های مختلف قادر به جوانه‌زنی نیست که این امر ممکن است به علت وجود ناسازگاری نظیر عدم تکامل رویان‌ها، تشکیل رویان‌های نارس، عدم توسعه بافت اندوسپرم یا ناکافی بودن آن در تغذیه رویان و یا تکامل ضعیف آن باشد (Jafari Mofidabadi، ۲۰۰۰؛ Modir & Jafari Mofidabadi، ۱۹۸۳؛ Li *et al.*، ۱۹۸۴؛ Rahmati؛ ۱۹۸۴؛ Kouider *et al.*، ۱۹۸۵؛ Li & Li، ۱۹۸۵؛ Noh *et al.*، ۱۹۹۳؛ Trousard؛ ۱۹۸۷؛ Savaka *et al.*، جعفری مفید آبادی، ۱۳۸۰، جعفری مفید آبادی و همکاران، ۱۳۸۵ و امام و همکاران، ۱۳۸۵). جهت رفع این ناسازگاری‌ها اغلب می‌توان از تکنیک نجات جنین (در قالب کشت تخمدان، تخمک، کشت جنین نارس و بالغ)، گرده‌افشانی و باروری درون شیشه‌ای، امتزاج گامت‌ها یا پروتوپلاستی استفاده نمود (جعفری مفید آبادی، ۱۳۸۵). هدف از این پژوهش ایجاد دورگ‌های بین جنسی صنوبر و بید به کمک تکنیک نجات جنین از طریق کشت بافت بوده تا از دورگ‌های حاصله در جهت گسترش گونه‌هایی جدید با خصوصیت سریع‌الرشد بودن صنوبر و گسترش مکانی بید سود برد.

و تکثیر رویشی آنها به سادگی امکان پذیر می‌باشد. پیشرفت‌های قابل توجه‌ای در طول چهل سال گذشته برای انتخاب کلن‌های برتر این گونه به دلیل سریع‌الرشد بودن برای تولید الوار، کلن‌های بید سبیدی به عنوان ماده اولیه سبذبافی و درختان زینتی بدست آمده است. بر اساس مطالعات انجام شده، چوب بید به علت وزن سبک بافت نرم برای خمیر کاغذ بسیار مناسب بوده ولی سختی مکانیکی بالایی دارد. در حال حاضر برنامه‌های اصلاحی بر روی توسعه دورگ‌گیری‌های درون و بین گونه‌ای بید و اصلاح کلن‌ها متمرکز شده است (Mingjian *et al.*، ۲۰۰۰).

امروزه گونه‌های صنوبر، بید و دورگ‌هایشان به‌عنوان منابع تولیدات چوبی در صنایع و همچنین جهت احیاء جنگل‌های پایین دست در نواحی معتدله دنیا بطور متمرکز کشت شده‌اند (Confalonieri *et al.*، ۲۰۰۳). تاریخچه اصلاح و کشت متمرکز صنوبر به حدود ۷۰ سال پیش بر می‌گردد. کمیته بین‌المللی صنوبر (IPC) در سال ۱۹۴۷ بدین منظور و برای ترویج حفظ و تبادل ژرم پلاسما در ۳۲ کشور عضو تاسیس شد (IPC، ۱۹۹۶). این کمیته در سال ۱۹۹۲ کشورهای عضو را موظف به انتخاب معیارهایی مناسب برای اطمینان از حفاظت منابع ژنتیکی گونه‌های صنوبر و بید موجود در توده‌های طبیعی و مصنوعی کرد. همچنین این منابع باید بطور صحیح حفاظت شوند. این کمیته بر نقش گونه‌های سریع‌الرشد در کاهش فشار بر روی عرصه‌های طبیعی در حال خطر و حساس تاکید کرده است (IPC، ۱۹۹۲).

دورگ‌گیری در خانواده بید به صورت درون گونه‌ای و بین گونه‌ای در جنس صنوبر توسط محققان بسیاری (Jafari Mofidabadi، ۲۰۰۰؛ Jafari Mofidabadi، ۱۹۹۸؛ Modir Rahmati & D'oultremont، ۱۹۷۳)

مواد و روشها

ابتدا سه اصله درخت *S. alba* به عنوان پایه مادری از جنگل توسکستان واقع در استان گلستان انتخاب شدند. پس از آن هر پایه چهار شاخه که هر کدام حامل ۸-۶ جوانه ماده باز نشده بودند بطور تصادفی انتخاب و به گلخانه ایزوله منتقل شدند. گردهها از یک پایه صنوبر سفید پلت و همچنین یک پایه نر بید جمع آوری و تا زمان آماده شدن کلاله برای پذیرش گردهها در یخچال نگهداری شدند. دمای گلخانه در زمان نگهداری شاخه‌های حامل جوانه گل، در دامنه بین ۱۵ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. گرده افشانی یک طرفه با سیستم Twig and Pot بر اساس روش جعفری مفیدآبادی و همکاران (۱۹۹۸) انجام گرفت. بعد از باز شدن جوانه‌ها و آماده گرده افشانی شدن گل ماده در گونه *S. alba*، گرده افشانی با قلم موی آغشته به گرده و به صورت گرد و غبار در یک محیط ایزوله در دو روز متوالی با دو بار تکرار در هر روز انجام گرفت (شکل ۱).

تخمندان‌های بارور شده در فواصل ۱۰، ۱۴ و ۲۱ روز بعد از تلقیح نمونه برداری شدند. محیط کشت MS فاقد هورمون حاوی سه درصد ساکارز و با اسیدیته ۵/۷ مورد استفاده قرار گرفت. محیط کشت‌ها در درون اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد سترون شدند. قبل از انتقال تخمدان‌ها به ارلن مایر حاوی محیط کشت MS جامد (Murashige & Skoog, ۱۹۶۲)، عملیات سترون‌سازی تخمدان‌ها با قراردادن در الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه، محلول هیپوکلریت سدیم به مدت ۵ دقیقه و سه بار شستشو با آب مقطر سترون به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. تخمدان‌های کشت شده در اتاق رشد با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و شدت

نور ۵۰۰۰-۴۵۰۰ لوکس و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. گیاهچه‌های حاصله با ارتفاع ۲-۱ سانتی‌متر به شیشه‌های مربایی حاوی محیط کشت مشابه منتقل شدند (شکل ۲). بعد از رسیدن گیاهچه‌ها به ارتفاع ۳ سانتی‌متر، جهت سازگاری تدریجی به خاک سترون غنی شده با عناصر ماکرو و میکرو منتقل و در فیتوترون نگهداری شدند (شکل ۳). همچنین ۲۱ روز پس از گرده افشانی، طول و عرض تخمدان، تعداد جنین و طول و عرض جنین در تلاقی *S. alba x P. caspica* در مقایسه با تلاقی شاهد (*S. alba x S. alba*) اندازه‌گیری شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تیمار دوره‌های تکاملی جنین شامل ۱۰، ۱۴ و ۲۱ روز انجام گرفت. همچنین به منظور انجام کلیه محاسبات آماری از نرم افزار SPSS استفاده گردید.

نتایج

مقایسه طول و عرض تخمدان و جنین و همچنین تعداد جنین در تخمدان در دو تلاقی *S. alba x P. caspica* و *S. alba x S. alba* در ۲۱ روز پس از گرده افشانی در شکل ۵ نشان داده شده است. مقایسه آماری داده‌ها با آزمون T حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۹ درصد اطمینان در مورد ارتفاع تخمدان و در سطح ۹۵ درصد اطمینان در مورد عرض تخمدان، طول و عرض جنین و همچنین عدم وجود اختلاف معنی‌دار در تعداد جنین بود. طول و عرض تخمدان و همچنین جنین در تلاقی *S. alba x P. caspica*، بیشتر از *S. alba x S. alba* بود ولی تفاوت معنی‌داری در تعداد جنین حاصله در تخمدان تلاقی‌های مذکور دیده نشد. همچنین تفاوت شکل‌شناسی بارزی در شکل جنین‌های حاصل از دو

تفاوت در شکل و اندازه جنین‌های حاصله باشد. شکل جنین دورگ بین جنسی صنوبر و بید با وجود این‌که پایه مادری این دورگ از گونه بید بود به جنین گونه صنوبر شبیه بود. بطوری‌که مشابه جنین حاصل از تلاقی *P. alba L.* و *P. euphratica Olive.* جمع شدگی در محل اتصال به تخمدان بود که در جنین بید مشاهده نمی‌شود (توسلی و مدیر رحمتی، ۱۹۷۳).

نتایج بدست آمده در این تحقیق، حاکی از سبز شدن جنین‌های دورگ بین جنسی صنوبر و بید (*S. alba x P. caspica*) یک هفته پس از انتقال تخمدان‌ها به محیط کشت بود که همسویی با مطالعات جعفری مفیدآبادی و همکاران (۱۳۷۸) و همچنین کلاگری و همکاران (۱۳۷۸) داشت. نتایج مشابه در خصوص بیشترین میزان جوانه‌زنی در تخمدان ۱۴ روزه توسط جعفری و همکاران (۱۳۷۸) و Raquin & Troussard (۱۹۹۳) نیز گزارش شده است. همچنین کمترین درصد جوانه‌زنی جنین در کشت تخمدان ۲۱ روزه پس از گرده‌افشانی مشاهده شد که مشابه نتایج جعفری مفیدآبادی و همکاران (۱۳۸۵) و (۱۹۹۸) می‌باشد. دلیل این کاهش تشکیل بافت‌های رشته‌ای شکل سفید رنگ در اطراف تخمک می‌باشد که در اواخر تکامل تخمدان بوجود می‌آید و مانع تماس تخمک‌ها با محیط کشت می‌شود. این رشته‌های سفید رنگ در شکل ۴ بخوبی قابل مشاهده است.

این پژوهش بطور کلی نشان داد که امکان دورگ‌گیری بین جنسی صنوبر و بید با استفاده از روش‌های نوین بیوتکنولوژی وجود دارد که در این‌جا تکنیک نجات جنین برای رفع ناسازگاری بعد از لقاح بکار گرفته شد و دورگ بین جنسی صنوبر و بید برای اولین بار در ایران و شاید جهان امکان پذیر گشت.

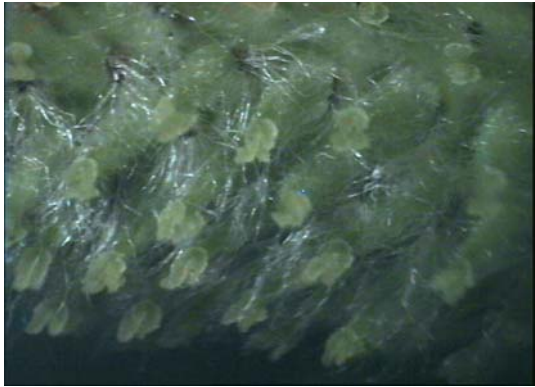
تلاقی *S. alba x P. caspica* و *S. alba x S. alba* مشاهده شد (شکل ۴).

جنین‌های دورگ بین جنسی صنوبر و بید (*S. alba x P. caspica*) یک هفته پس از انتقال تخمدان‌ها به محیط کشت شروع به سبز شدن نمودند. درصد جوانه‌زنی و عدم جوانه زنی تخمدان‌ها در دورگ بین جنسی صنوبر و بید در جدول ۱ ارائه شده است. بر اساس مشاهدات صورت گرفته، بیشترین میزان جوانه‌زنی در تخمدان ۱۴ روزه مشاهده شد (۶۹٪). همچنین کمترین درصد جوانه‌زنی جنین در کشت تخمدان ۲۱ روزه پس از گرده‌افشانی به میزان ۵۱٪ مشاهده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک آزمون F نشان داد که بین جوانه‌زنی تخمدان‌های حاصل از دورگ بین جنسی در سنین مختلف جنین (۱۰، ۱۴ و ۲۱ روز) اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ وجود دارد (جدول ۲). بر اساس مقایسات چندگانه دانکن نیز جنین‌های ۱۴ روزه دارای بالاترین میزان جوانه‌زنی هستند و جنین‌های ۱۰ و ۲۱ روزه از این نظر مشابه هم هستند. بیشترین میزان عدم جوانه‌زنی در تخمدان‌هایی با جنین ۲۱ روزه دیده شد (شکل ۶). همچنین هیچ گونه اختلاف معنی‌داری در وجود آلودگی در تیمارهای مختلف زمانی دیده نشد. قابل ذکر است که تعداد ۵۴ نهال هیبرید پس از طی مراحل تدریجی سازگاری به گلخانه منتقل شدند.

بحث

اندازه طول و عرض تخمدان‌های حاصل از تلاقی *S. alba x P. caspica* بیشتر از تلاقی *S. alba x S. alba* بود بطوری‌که جنین حاصل از دورگ بین جنسی بزرگتر از جنین درون گونه‌ای بید بود که می‌تواند به علت



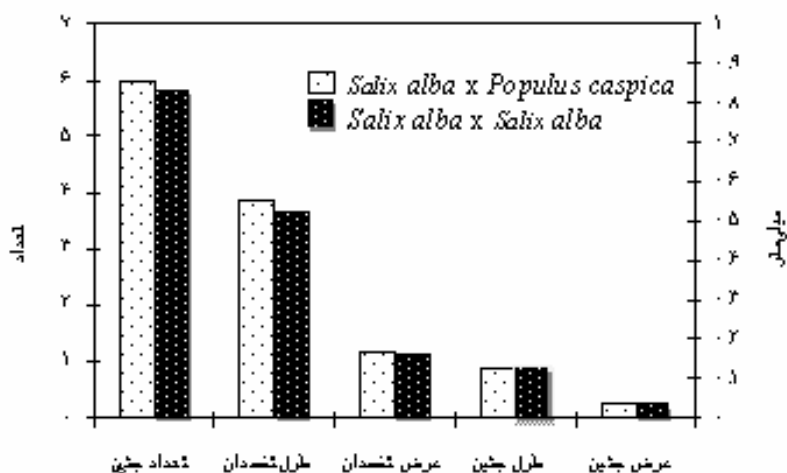
شکل ۱- شاخه‌های دارای جوانه ماده پایه بید (*Salix alba*) (سمت راست) و جوانه‌های ماده باز شده و آماده برای گرده‌افشانی (سمت چپ)



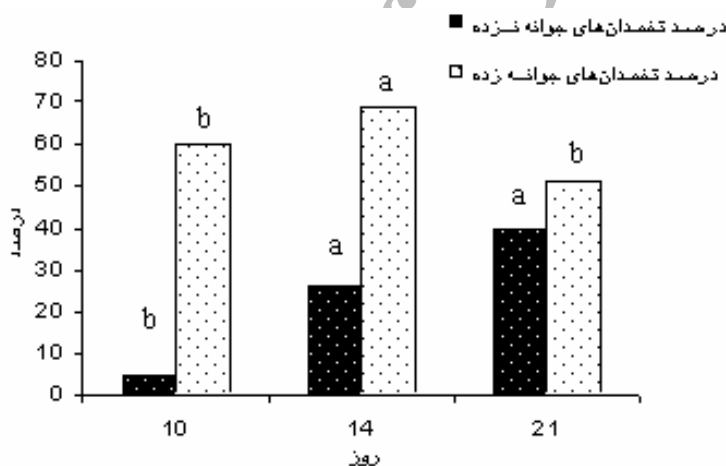
شکل ۲- گیاهچه آماده انتقال به شیشه مربایی حاوی محیط کشت مشابه
شکل ۳- گیاهچه‌های حاصله در حال طی کردن مراحل سازگاری تدریجی در فیتوترون



شکل ۴- جنین حاصل از تلاقی *S. alba* x *S. alba* (سمت راست) و تلاقی *S. alba* x *P. caspica* (سمت چپ)



شکل ۵- میانگین طول و عرض تخمدان و جنین و همچنین تعداد جنین در دو تلاقی *Salix alba x Salix alba* با *Salix alba x Populus caspica*



شکل ۶- مقایسه درصد جوانه زنی و عدم جوانه زنی تخمدان‌ها در جنین‌های ۱۰، ۱۴ و ۲۱ روزه دورگ‌های بین جنسی *Salix alba x Populus caspica*

جدول ۱- درصد تخمدان‌های جوانه زده، جوانه نزده و آلوده شده دورگ بین جنسی *S.alba x P. caspica*

تخمندان‌های آلوده شده	تخمندان‌های جوانه نزده	تخمندان‌های جوانه زده	دوره تکامل جنین
۳۵	۵	۶۰	۱۰ روزه
۵	۲۶	۶۹	۱۴ روزه
۹	۴۰	۵۱	۲۱ روزه

جدول ۲- تجزیه واریانس تعداد تخمدان‌های جوانه‌زده، نزده و آلوده شده جنین‌های دورگ بین جنس *S. alba* x *P. caspica* در دوره‌های تکاملی ۱۰، ۱۴ و ۲۱ روز

متغیر	جمع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	میزان F	سطح معنی داری
تخمدان جوانه زده	بین گروهی	۲	۱۶۴/۸	*۸/۲۸۵	۰/۰۱۹
	درون گروهی	۶	۱۹/۹		
	کل	۸			
تخمدان جوانه نزده	بین گروهی	۲	۲۸	*۹/۳۳۳	۰/۰۱۴
	درون گروهی	۶	۳		
	کل	۸			
تخمدان آلوده شده	بین گروهی	۲	۱۰/۱	NS۴/۳۳۳	۰/۰۶۸
	درون گروهی	۶	۲/۳		
	کل	۸			

*معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ (با احتمال ۹۵٪) و NS: غیرمعنی‌دار

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقایان مهندس علی محمد صادقیان و علی ناصری (ریاست محترم بخش جنگلکاری و پارک‌های اداره کل منابع طبیعی گرگان) که در مراحل مختلف این تحقیق همکاری‌های لازم را مبذول داشته‌اند، کمال تشکر را داریم.

منابع مورد استفاده

- جعفری مفید آبادی، ع.، مدیر رحمتی، ع.، توسلی، ا.، کاظمی سعید، ف.، کلاگری، م و اسدی، ف. ۱۳۷۸. کاربرد تکنیک نجات جنین (کشت تخمک و تخمدان) در دورگ‌گیری بین‌گونه‌ای صنوبر (*Populus alba* L. x *P. euphratica* Olive). پژوهش و سازندگی شماره ۴۳: ۴۱-۳۸.
- جعفری مفید آبادی، ع.، زرین بال، ا.، اعتماد، ع. و شریعت نژاد، ش. ۱۳۸۵. استفاده از روش کشت تخمدان در تولید دورگ بین گونه‌ای سفید پلت (*Populus caspica* X *Populus alba* L.). مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۶: ۳۶-۱۳.
- کلاگری، م.، جعفری مفید آبادی، ع.، طبری، م. و حسینی، س. م. ۱۳۸۲. دورگ‌گیری درون گونه‌ای در صنوبر پده *P. euphratica* Olive. با استفاده از روش درون شیشه‌ای نجات رویان. پژوهش و سازندگی شماره ۶۱: ۹-۶.
- Argus G. W. 1974. An experimental study of hybridization and pollination in *Salix* (willow). Can. J. Bot. 52: 1613-1619.
- Argus G. W. 1986. The genus *Salix* (Salicaceae) in the southeastern United States. Syst. Bot. Monogr., 9: 1170.
- Confalonieri, M., Balestrazzi, A., Bisoffi, S. and Carbonera, D. 2003. *In vitro* culture and genetic engineering of *Populus* spp.: synergy for forest tree
- امام، م.، شهرزاد، ش.، نراقی، ط.س.، خان حسنی، م.، حمزه پور، ی. ۱۳۸۵. تکثیر گونه کیکم (*Acer cinerascens*) به روش کشت جنین بذری. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۴: ۱۷۰-۱۷۵.
- توسلی، ا. و مدیر رحمتی، ع. ۱۳۷۳. گزارش نتایج مقدماتی از تلاقی دو گونه جنس صنوبر (*Populus euphratica* Olive. & *Populus alba* L.). پژوهش و سازندگی شماره ۲۴: ۵۵-۵۲.
- جعفری مفید آبادی، ع. ۱۳۸۰. تکثیر سفیدپلت از طریق کشت تخمدان بالغ (*Populus caspica*). تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۳: ۲۹-۳۶.

- Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15: 473-479.
- Noh, E. R., Kao, Y. B. and Lee, S. K. 1986. Hybridization between incompatible popular species through ovary and embryo culture. *Res. Rep. Inst For. Genet.* 22: 9-14.
- Orians, C. M., Griffiths, M. E., Roche, L.B. and Fritz, R. S. 2000. Phenolic glycosides and condensed tannins in *salix sericea*, *S. eriophala* and their F1 hybrids: not all hybrids are created equal. *Biochem. Syst. Ecol.* 28: 619-632.
- Orians, C.M. and Fritz, R.S. 1995. Secondary chemistry of hybrid and parental willows: Phenolic glycosides and condensed tannins in *Salix sericea*, *S. eriophala*, and their hybrids. *J. Chem. Ecol.* 21: 1245-1253.
- Raquin C. and Troussard, L. 1993. *In vitro* ovary embryo culture as a tool for poplar hybridization. *Can. J. Bot.* 71: 1271-1275.
- Savaka, M. A., Dawson, J. O., Jokela, J. J. and Skirvin, R. M. 1987. A liquid culture method for rescuing immature embryos of eastern cottonwood. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 10: 221-226.
- Schneider, C. K. 1921. Notes on American willows. XII. A Systematic enumeration of the sections, species, varieties and forms of American willows. b. Some remarks on the hybrids hitherto observed among American willows. c. Some remarks on the geographical distribution of the American willows. d. Analytical keys to the species of American willows. *J. Arnold Arb.* 3: 61-125.
- Schreiner, E.J. 1974. *Populus L.* Poplars. In *Seeds of Woody Plants in the United States*. Edited by C.S. Schopmeyer. Agricultural Handbook No. 450, Forest Service, USDA, Washington, DC. Pp. 645-655.
- Sout, A. B. ; Mckee, R. and Shreiner, F. 1927. The breeding of forest trees for pulpwood. *N. Y. Bot. Gar.* 28: 49-63.
- Stanton, B. J., and Villar, M. 1996. Controlled reproduction of *Populus*. In *Biology of Populus and Its Implications for Management and Conservation*. Edited by R.F. Stettler, H.D. Bradshaw Jr., P.E. Heilman and T.M. Hinkley. NRC Research Press, National Research Council Canada, Ottawa, ON. pp. 113-138.
- Zsuffa, L. 1975. A summary review of interspecific breeding in the genus *Populus L.* In *Proceedings 14th Meeting of the Canadian Tree Improvement Association, part 2*. Dept. Environment, Canadian Forestry Service, Ottawa. pp. 107-123.
- improvement. *Journal of Plant cell, Tissue and Organ Culture*. Springer Netherlands, 72: 109-138.
- D'oultremont, L. C. and steenackers. V. ,1973. A propos des nouvelles varietes de peupliers inscrites au controle varietal. *Bull. Soc. R. for. Belg.*,80: 110-121.
- FAO, 1972. *Poplars and willows*, Published under the auspices of the International Poplar Comission.
- Fritz, R. S., Hochwender, C. G., Alberctsen, B. R., and Czesak, M. E. 2006. Fitness and genetic architecture of parent and hybrid willow in common gardens. *Evolution Int. J. Org. Evolution*; 60: 1215-27.
- Hardig, T. M., Brunfeld, S. J., Fritz, R. S., Morgan, M. and Orians, C. M. 2000. Morphological and molecular evidence for hybridization an introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. *Mol Ecol.* 9: 9-24.
- IPC (International Poplar Commission). 1992. *Proceeding Working Party on Breeding and Selection of Polars and Willows*, 19th Section IPC, Zaragoza, Spain.
- IPC (International Poplar Commission). 1996. *Synthesis of national reports on activities related to poplar and willow area, production, consumption and the functioning of the National Poplar Commissions*. Secretariat Note, 20th Section, Budapest, Hungary.
- Jafari Mofidabadi. A. ; Modir Rahmati, A. and Tavassoli, A. 1998. Application of ovary and ovule culture in *Populus alba L.X. P. euphratica Olive*. *Hybridization, Silvae Genetica*, 47: 332-334.
- Jafari Mofidabadi.A. and Modir Rahmati, A. 2000. Production of *Populus euphratica Olive. X p. alba L.* hybrid poplars through ovary and ovule cultures. *Plant Genetic Newsletter*.122:13-15.
- Kouider M., Skirvin, R. M. and Saladin, K. P. 1984. Culture immature embryo of *Populus deltoides* In *Vitro*. *Can. J. For. Res.* 14:956-958.
- Li W. and Li, J. 1985. *In vitro* culture of hybrid ovules in *Populus*. *Sci. Sliv.* 21: 339-346.
- Li, W., Wang, R. and Zhu, X. 1983. On the embryo development and ovule culture of interspecific hybrids between *Populus simonii* and *P. pyramidalis* Barkh. *Acta Bot Sin.* 25: 409-417.
- Mingiian, P., Zhongyu, T., Baosong, W. and Qun, G. 2000. The Potential of willow genetic improvement. International Poplar Commission. Abstract of papers and presented at the 21st Session of the Commission: 118-119.
- Mosseler, A. and Papadopol, C.S. 1989. Seasonal isolation a reproductive barrier among sympatric *Salix* species. *Can. J. Bo.*, 67: 2563-2570.

Embryo culture as a tool in intergeneric hybridization of Salicaceae (*Salix alba* X *Populus caspica*)

A. Ahmadi^{*1}, D. Azadfar² and A. Jafari Mofidabadi³

1*- Corresponding author, M.Sc. in Forestry, Azad University, Gorgan, I.R.Iran.

E-Mail: Ahmadi.1870@gmail.com

2- Assoc. Prof., Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, I.R.Iran.

3- Assoc. Prof., Cotton Research Institute, Gorgan, I.R.Iran.

Received: 04.01.2008

Accepted: 19.05.2008

Abstract

This research was carried out using biotechnology methods in order to investigate possibility of intergeneric hybridization to achieve heterosis in Salicaceae. Crossing was performed between poplar and willow genera with *Salix alba* x *Populus caspica* species on ovaries isolated of unwanted pollens. Embryo rescue method was used for germinating 10, 14, 21 days old hybrid embryos by transferring to MS medium. Then 3 centimeter plantlets were transferred to sterilized soil for acclimatization stage in phytotron. Results showed successful intergeneric hybridization and there was significant differences between cultured embryos of different ages ($p=0.05$). The highest (69%) and the lowest (51%) percentage of germination observed in 14 and 21 days periods after pollination respectively. Comparing length and width of ovary and embryo and also number of embryos between *S. alba* x *P. caspica* and *Salix alba* x *Salix alba* crosses indicated significant differences for length and width of ovary and embryo but no significant differences for number of embryos. Morphological variation in seed shape was observed among the progeny of the two crosses.

Key words: Embryo Rescue, Intergeneric Hybridization, Poplar and Willow