

## ریازدیادی صنوبر گونه کبوده (*Populus alba*) ایرانی

سپیده توسلی عسگری<sup>۱</sup>، عباس قمری زارع<sup>۲\*</sup>، شکوفه شهرزاد<sup>۳</sup>، محمود خسروشاهی<sup>۴</sup> و منصوره صداقتی<sup>۵</sup>

۱- کارشناس ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران

۲- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، ژنتیک و اصلاح نباتات، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

پست الکترونیک: ghamari-zare@rifr-ac.ir

۳- کارشناس خبره، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

۴- استاد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران

۵- کارشناس ارشد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۰۴/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۸/۲۱

### چکیده

ایران جزو کشورهای با پوشش کم جنگل محسوب می‌شود. توسعه صنوبرکاری می‌تواند در حفظ و احیاء جنگل‌ها بسیار مفید باشد. کبوده (*Populus alba*) یکی از گونه‌های سریع‌الرشد و دارای چوب صنعتی است که در توسعه زراعت چوب بسیار حائز اهمیت است. این پژوهش به‌منظور تکثیر انبوی پایه‌های نخبه کبوده ایرانی در شرایط درون شیشه جهت تکثیر انبوی ارقام اصلاح شده و یا گزینش پایه‌های نخبه و همچنین در زمینه حفظ ذخایر ژنتیکی کلن‌های مطلوب در شرایط فراسرده انجام گردید. در این پژوهش، شاخه‌های صنوبر کبوده از باغ گیاه‌شناسی ملی ایران جمع‌آوری شدند. پس از سترون‌سازی و استقرار جوانه، با کلرید جیوه (W/V) ۰/۱٪ به مدت ۴ دقیقه سترون شدند و شاخه‌زایی در ۸ تیمار محیط کشت هورمون‌های رشد گیاهی در یک طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار بررسی شد. بهترین شاخه‌زایی در محیط کشت پایه DKW به همراه ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر 2iP ۰/۰ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر BA بدست آمد. بهترین تیمار ریشه‌زایی در محیط کشت DKW قادر هورمون با ۰/۸۰٪ موافقیت همراه بود. گیاهچه‌ها با ۱۰۰٪ موافقیت در گلخانه سازگار شدند.

واژه‌های کلیدی: کبوده، ریازدیادی، شاخه و ریشه‌زایی، جوانه، محیط پایه DKW.

صنعت و تکنولوژی می‌توان به اهمیت فوق العاده درختان جنگلی و نیاز به حفظ، حراست و تکثیر هر چه بیشتر آنان در کره زمین پی برد. بیوتکنولوژی گیاهی دریچه‌ای جدید به روی توسعه ژنتیکی گیاهان چوبی باز نموده است و سرده صنوبر به عنوان یک سیستم مدل جهت بهبود مطالعات درختان جنگلی به کار می‌رود. زیرا خواص ویژه

### مقدمه

سرانه جنگل در ایران یک سوم سرانه جهان است (۰/۲ در مقابله ۰/۶ هکتار)، از این‌رو ایران جزو کشورهای با پوشش کم جنگل محسوب می‌شود (Saqeb Tablebi et al., 2004) با توجه به گسترش روزافزون جوامع بشری و نیاز آنان به تمامی عوامل و ابزار پیشرفته تمدن، نظری

حد تولید گیاهچه و نهال موفقیت‌آمیز بود (Naraqi *et al.*, 2000). کشت جوانه انتهایی و ایجاد نهال *P. caspica* نیز با موفقیت انجام گردید (Emam *et al.*, 2001). در ضمن با موفقیت انجام گردید (Jafari Mofidabadi and Hemkaran, 1998) موفق به ایجاد دورگ دو جانبی بین پده و کبوده شدند. در تحقیق بر دورگ پده و کبوده Shahrzad (2011) بهترین تیمار با بیشترین ضریب ازدیاد شاخه‌زایی و مناسب‌ترین میزان Driver & DKW رشد طولی را در محیط کشت (DKW & Kuniyukui Walnut Medium, 1984) همراه با هورمون‌های BA و 2iP به میزان ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر و IBA به میزان ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر بدست آورد. به منظور ریشه‌زایی، شاخه‌های تولید شده به محیط کشت DKW فاقد هورمون منتقل شده و تمام آنها پس از دو هفته ریشه‌دار شدند. این پژوهش به تعیین بهترین تیمار هورمونی جهت شاخه‌زایی و ریشه‌زایی شاخه‌ها از جوانه گونه کبوده پرداخته و در نهایت درصد سازگاری گیاهچه‌های حاصل در گلخانه را ارزیابی نموده است.

## مواد و روش‌ها

برای تهیه مواد گیاهی، جوانه‌ها از پایه‌گیاه کبوده (*P. alba*) موجود در مؤسسه برداشت شد. در مرحله پیش‌سترون‌سازی برای حذف آلودگی‌های سطحی، شامل ۲۰ دقیقه شستشو با آب معمولی به همراه ۱ تا ۲ قطره صابون و بعد برسکشی با آب و اتانل ۷۰٪ (v/v) و قرار گیری نمونه‌ها در زیر آب جاری به مدت ۲ ساعت و مرحله سترون‌سازی شامل سترون نمونه‌ها توسط کلرید جیوه در زمان‌های متفاوت بود. درصد نمونه حاوی مواد فنولیک (درصد نمونه‌های که مواد فنولیک ترشح

صنوبرها نظری سرعت رشد، سهولت تکثیر و بازده بالای محصولات متنوع چوبی، آنها را برای استفاده در سیستم‌های جنگل‌داری از سایر گونه‌های جنگلی تمایز کرده و از طرف دیگر امکان دورگ‌گیری و ترکیب خواص ممتاز گونه‌ای و سازگاری بیش از حد صنوبرها به شرایط نامطلوب آب و هوایی، توده‌های خالص یا مخلوط آنها را به عنوان گونه‌های پیش‌تاز، جهت جایگزینی با جنگل‌های واجد کیفیت فقیر و نامرغوب باز نموده است. برای پیشبرد این هدف فنون رو به تکامل کشت بافت و سلول می‌تواند در تهیه کلن‌های برگزیده این گونه جنگلی و تکثیر و ازدیاد نسل آنها به سریع‌ترین روش ممکن، کمک نماید و در نهایت از این نمونه‌ها می‌توان برای مقاصد مختلف از جمله، تهیه بانک‌های ژن گیاهی، تکثیر رویشی با صرفه‌جویی در هزینه‌های سوخت و فضای گلخانه‌ای و حفظ ثبات ژنتیکی نمونه‌ها در طی نسل‌های مختلف استفاده نمود.

سابقه تحقیق در اندام‌زایی شاخه و ریشه به انتشار اولین گزارش موفق اندام‌زایی در یک گونه صنوبر توسط Bawa و Stettler (1972) برمی‌گردد. در همین رابطه Venverloo (1973) از نمونه‌های میانگرهای ساقه صنوبر سیاه، با اولین تحریک رشدی کالوس نابجا بدست آورد. همینطور Gupta (1991) رشد درون شیشه‌ای گیاهچه از نمونه‌های جوانه‌های درختان ۲۵ ساله صنوبر اورامیریکانا را در محیط MS (Murashige & Skoog, 1962) نشان داد. کشت پروتوبلاست صنوبر سیاه توسط Lee (1987) در محیط WPM (McCown, 1981) انجام شد.

در ایران این نوع تحقیقات بر روی صنوبر در سال ۱۹۹۳ آغاز گردید و کشت جوانه انتهایی *P. tremula* تا

شاخه‌زایی به دو محیط DKW و MS بدون هورمون متقل و مورد بررسی آماری قرار گرفتند.

گیاهچه‌های تولید شده در محیط ریشه‌زایی، جهت سازگاری به گلدانهایی با سرپوش نایلونی در گلخانه متقل شدند که به تدریج منافذی در این سرپوش‌ها برای ایجاد تطابق گیاهچه‌ها با شرایط محیط طبیعی ایجاد شد و پس از یک ماه حذف کامل سرپوش‌ها انجام و درصد سازگاری آنها محاسبه گردید.

نموده نسبت به کل نمونه‌ها) و درصد آلودگی و درصد جوانه‌زنی محاسبه گردید.

ریزنمونه‌های سترون شده در محیط کشت پایه DKW به همراه  $1\text{ mgL}^{-1}$  IBA و  $0.5\text{ mgL}^{-1}$  BA مستقر گردیدند. پس از ۲۵ روز گیاهچه‌های حاصل به‌منظور ازدیاد شاخه مورد استفاده قرار گرفتند. شاخه‌های سترون شده با طول حدود  $1/5$  تا  $2$  سانتی‌متر، به‌منظور شاخه‌زایی به ۸ تیمار مختلف محیط کشت (جدول ۱) متقل شدند. برای انجام ریشه‌زایی شاخه‌های حاصل از مرحله

جدول ۱- تیمارهای هورمونی شاخه‌زایی در مرحله ریزازدیادی ( $\text{mgL}^{-1}$ )

کد تیمار	محیط	2iP	BA	IBA
T1	DKW	-	-	-
T2	DKW	-	$0/6$	$0/1$
T3	DKW	$0/6$	-	$0/1$
T4	DKW	$0/3$	$0/1$	$0/1$
T5	MS	-	-	-
T6	MS	-	$0/6$	$0/1$
T7	MS	$0/6$	-	$0/1$
T8	MS	$0/3$	$0/1$	$0/1$

(جدول ۱) قرار داشتن، گرچه اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی تیمار ۲ به دلیل سبزینگی بهتر بر سایر تیمارها ارجحیت داشت. بنابراین تفاوت در محیط پایه، می‌تواند در انتخاب هورمون مؤثر باشد. همچنین با مقایسه تیمارهای ۶ با ۷ و ۲ با ۳ (جدول ۱) مشاهده گردید که استفاده از هورمون BA به تنها ی مؤثرتر از 2iP به تنها ی است. بنابراین با مقایسه تیمارهای ۴ با ۲ و ۳، ۸ با ۶ و ۷ (شکل ۲-الف) نتیجه گرفته شد که وجود دو نوع هورمون سیتوکینین در شاخه‌زایی اثر مثبت داشته است. به‌طوری‌که از نظر ارتفاع شاخه نیز تیمارها با یکدیگر

## نتایج

بهترین تیمار سترون‌سازی استفاده از کلرید جیوه  $0.1\text{ mgL}^{-1}$  به مدت ۴ دقیقه بود (جدول ۲). به‌منظور ریزازدیادی گیاهچه‌های تولید شده از جوانه، از ۸ تیمار محیط کشت (جدول ۱) استفاده گردید. تیمار  $0.32\text{ mgL}^{-1}$  BA و  $0.1\text{ mgL}^{-1}$  IBA بهترین تیمار شاخه‌زایی بود (P $\leq 0.01$ ). در این تیمار میزان تولید ریشه در حد صفر و از نظر ارتفاع شاخه در رده چهارم قرار گرفت. از نظر تعداد شاخه T4 (شکل ۲-الف) در محیط پایه DKW بهترین تیمار بود و پس از آن به ترتیب تیمارهای ۲ و ۸

(جدول ۱) مشاهده گردید که وجود هورمون BA اثر 2iP را خستنی می‌کند و با مقایسه تیمارهای ۱ و ۳ با ۵ و ۷ (شکل ۲-ب) مشخص شد که وجود محیط پایه DKW در ریشه‌زایی مؤثرتر است. ریشه‌زایی شاخه‌های تولید شده در دو محیط MS و DKW بدون هورمون مورد بررسی قرار گرفت که ۸۲٪ ریشه‌زایی در محیط DKW و ۲۸٪ در محیط MS بدست آمد (شکل ۱ و ۲ و جدول ۳) و گیاهان منتقل شده به گلخانه ۱۰۰٪ سازگاری را از خود نشان دادند (شکل ۱، ت).

اختلاف معنی‌داری نداشتند (شکل ۲-ج). در نتیجه نوع و میزان، وجود و عدم وجود هورمون در شاخض ارتفاع تأثیری نداشت. بنابراین بهترین محیط کشت جهت شاخه‌زایی و ارتفاع همان تیمار T4 بود. از این‌رو در بازکشت‌های بعدی از این تیمار هورمونی استفاده شد (شکل ۲). از لحاظ تعداد شاخه ریشه‌دار نیز تیمار ۱ بهترین تیمار بود و با مقایسه تیمار ۶ با ۷ و ۳ با ۲ (شکل ۲-ب) می‌توان به این نتیجه رسید که هورمون 2iP در ریشه‌زایی مؤثر است و با مقایسه تیمار ۵ با ۳ و ۸ با ۷



ب



الف



پ



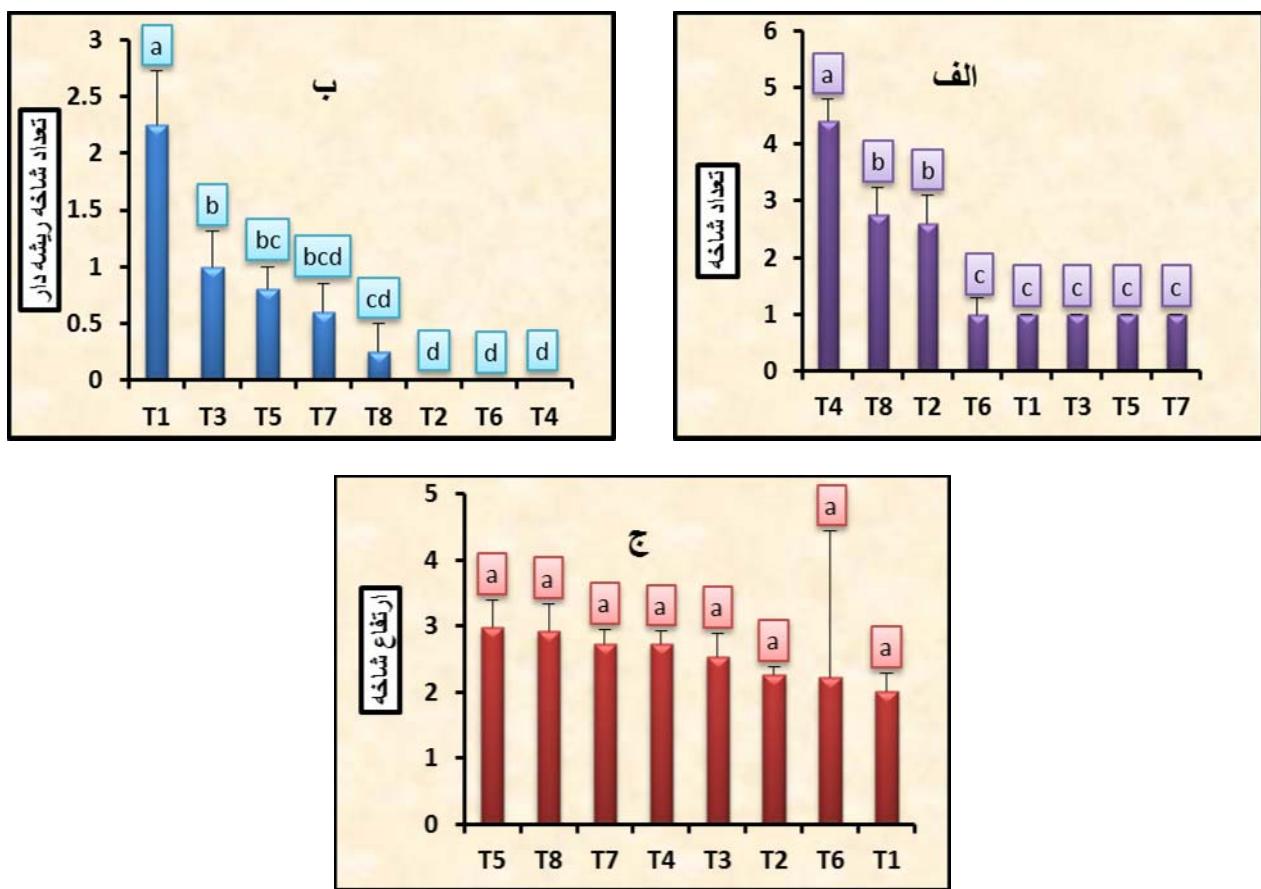
ت

شکل ۱-الف) نمایی از گیاه پایه، ب) ریشه‌زایی (شکل سمت راست در محیط MS و سمت چپ DKW)، پ) شاخه‌زایی (شکل سمت راست در محیط MS و سمت چپ DKW)، ت) گیاهچه‌های سازگار شده

جدول ۲- اثر ۵ تیمار سترونسازی روی جوانه گیاه کبو得

زمان استفاده از کلرید جیوه (دقیقه)	تعداد کل ریزنمونه	آلوگی (%)	سوختگی (%)	مواد فنولیک* (%)	جوانهزنی (%)
۱	۳۰۰	۳۶	۳۰	۱۳	۲۱
۲	۳۸۷	۲۷/۹۰	۲۶/۳۵	۳/۳۲	۴۲/۳۷
۳	۳۱۴	۱۴/۳۳	۶۸/۴۷	۷/۳۲	۹/۸۷
۴	۱۶۱	۲۶/۰۸	۱۲/۴۲	۰	۶۱/۴۹
۶	۴۶	۱۵/۲۱	۷۸/۲۶	۰	۶/۵۲

\*: درصد نمونه‌های دارای مواد فنولیک نسبت به کل نمونه‌ها



شکل ۲ - بررسی اثر تیمارهای هورمونی ریزازدیادی بر: (الف) تعداد شاخه، (ب) تعداد شاخه ریشه‌دار و (ج) ارتفاع شاخه

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمارهای محیطکشت و هورمونهای مختلف بر ارتفاع شاخه (cm)، تعداد شاخه و تعداد شاخه ریشه‌دار

میانگین مربعات	مجموع مربعات	ضریب تغییرات	درجه آزادی	منابع تغییرات
۰/۴۲ <sup>ns</sup>	۰/۴۲	۱۹/۷۰	۱	اثر محیطکشت بر ارتفاع شاخه
۰/۵۷ <sup>ns</sup>	۱/۷۳	۱۹/۷۰	۳	اثر هورمون بر ارتفاع شاخه
۰/۳۸ <sup>ns</sup>	۱/۱۴	۱۹/۷۰	۳	اثر متقابل محیطکشت و هورمون بر ارتفاع شاخه
۱*	۱	۸۰/۸۹	۱	اثر محیطکشت بر تعداد شاخه ریشه‌دار
۳/۶۹**	۱۱/۰۸	۸۰/۸۹	۳	اثر هورمون بر تعداد شاخه ریشه‌دار
۱/۱۶**	۲/۴۹	۸۰/۸۹	۳	اثر متقابل محیطکشت و هورمون بر تعداد شاخه ریشه‌دار
۴/۳۰**	۴/۳۰	۳۰/۸۴	۱	اثر محیطکشت بر تعداد شاخه
۱۲/۶۶**	۳۷/۹۸	۳۰/۸۴	۳	اثر هورمون بر تعداد شاخه
۱/۳۹*	۴/۱۸	۳۰/۸۴	۳	اثر متقابل محیطکشت و هورمون بر تعداد شاخه

\*: میانگین‌ها در سطح  $P \leq 0.05$  اختلاف معنی‌دار دارند و \*\*: میانگین‌ها در سطح  $P \leq 0.01$  اختلاف معنی‌دار دارند و ns: میانگین‌ها اختلاف معنی‌دار ندارند.

کردند که به علت وجود آلدگی زیاد برای سترون‌سازی ریزنمونه‌ها از محلول کلریدجیوه  $1/0.1\text{ (W/V)}$  و در مدت طولانی‌تر استفاده نمودند. نتایج بدست‌آمده از تیمارهای مطلوب سترون‌سازی با نتایج Mahmoodi Kordi (2001) جهت ضدغوفنی نمودن جوانه‌های زایشی باز نشده صنوبر پدید با اتابول ۷۰ به مدت ۳۰ ثانیه تا ۱ دقیقه و بعد از محلول هیپوکلریدسیدیم به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه مطابقت نسبی داشت.

به‌منظور تعیین بهترین محیط کشت شاخه‌زایی، Redebbaugh و همکاران (۱۹۸۷) نسبت اکسین پایین و سایتوکینین بالا را برای شاخه‌زایی لازم دانستند که مطابقت آن با نتایج این پژوهش آشکار است. همچنین Mahmoodi (2000) نسبت مناسب سایتوکینین به اکسین را در

### بحث

بررس‌کشی سطح جوانه‌ها با مایع ظرفشویی در حذف کرک‌ها و ترشحات صمجی سطح فلس‌ها مؤثر بود و امکان وجود آلدگی‌های سطحی را به حداقل خود رساند. محلول کلریدجیوه  $1/0.1\text{ (W/V)}$  که از سرمی‌ترین محلول‌های سترون‌سازی می‌باشد باید در غلظت پایین یا زمان کوتاه بر جوانه‌ها اثر بگذارد تا از انهدام و مرگ بافت‌ها توسط آن جلوگیری شود. نتایج در مورد روش سترون‌سازی و فصل نمونه‌برداری با نتایج Emam و همکاران (۲۰۰۱) در گونه *P. caspica*، Gupta و Agrawal (۱۹۹۱) در گونه *P. euramericana* مشابه بود. با این تفاوت که Emam و همکاران (۲۰۰۱) در گونه سفیدپلت از سرشاخه‌های درخت بالغ جنگلی برداشت

- Driver, J.A. and Kuniyuki, A.H., 1984. *In vitro* propagation of Paradox walnut root stocks (*J. hindisii* x *J. regia*). Hort. Science, 9: 507-509
- Emam, M., Shahrzad, Sh. 2001. "Micropropagation of white pellets (*Populus caspica*)": Journal of Research and Development in Natural Resources. 53:84-90.
- Farsi, M., Zolali, J. 2007. Principles of Plant Biotechnology: Ferdowsi publications. (Translation, Writer: Chavla, J.S.), Pp. 43-12.
- Gupta P.K., and Agraval, V. 1991. *In vitro* plantlet development for explants of 15 years old trees of *Populus euramericana* a hybrid poplar. Plant Science, 78: 99-105.
- Jafari Mofidabadi, A., Modir-Rahmati, A. and Tavasoli, A., 1998. Application of ovary and ovule culture in *Populus alba* L. × *P. euphratica* Oliv hybridization. Silvae Genetica, 47: 5-6.
- Lee, J.S., and Lee, S.K., 1987. Plantlets regenerated from callus protoplasts of *P. nigra*. Inst. for Genet. Res. Rep., 23:143-148.
- Mahmoodi Kordi, F., 2000. "Anther Culture and Haploid Production in Poplar Soil and analyzing the anatomical comparison of diploid plants caused by natural diploid": Master's thesis, Faculty of Sciences, TMU, Tehran, Iran.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15: 473 –597.
- Naraqi, T.S., Vayaz Panah, M. 2000. Asexual Reproduction of Poplar (*Populus tremula*): "According to Tissue Culture Method", Iranian Journal of Genetics And Plant Breeding Rangelands and Forests, 3: 87-108.
- Redebbaugh, K., Slade, D., Viss, P. and Fujii, A.J., 1987. Encapsulation of somatic embryos in synthetic seed coats. Hort. Science, 22: 803-809.
- Saqeb Tablebi, Kh., Sajedi, T., Yazdyian, F. 2004. A glance at the jungles of Iran. Research Institute of Forests and Rangelands. Pp. 339. P 27.
- Shahrzad, Sh., and Emam, M., 2000. Soil asexual reproduction (*Populus euphratica*): "according to tissue culture method". Iranian Journal of Genetics And Plant Breeding Rangelands and Forests, 2:11-23
- Vevnerloo, C.J., 1973. The formation of adventitious organs. Acta. Bot. Neerl, 22: 390-398.
- McCown, B.H. and J.C. Sellmer, 1982. Media and physical environment. In: Bonga, J.M. and D.J. Durzan. Cell and Tissue Culture in Forestry. VoL 1, General principles and Biotechnology. Martinus Nijhoff Publishers, Pordrecht. pp 4-17

کشت بساک ها پلورید صنوبر پده ۲ به ۱ می داند. دلیل این تفاوت ها را می توان تفاوت در نسبت تنظیم کننده های رشد گیاهی در بافت ها و اندام های مختلف گیاهی دانست که می تواند در شاخه زایی اثرگذار باشد (Farsi et al., 2007) محققان مختلف در تکثیر گیاهان چوبی مقادیر متفاوتی از ۰/۱ تا ۶ میلی گرم در لیتر BA را مورد آزمایش قرار دادند اما در تیمارهای شاخه زایی این پژوهش، BA در حد ۰/۳ میلی گرم در لیتر استفاده گردید. اما به دلیل اثرهای نامطلوب استفاده از BA زیاد، از جمله رشد چند شاخه ای؛ و همکاران (۱۹۸۴) مقادیر کمتر BA یا تعویض آن با سیتوکنین مناسب دیگر را برای تکثیر توصیه نمودند که در این آزمایش، از ۰/۳ ۲ip میلی گرم بر لیتر به جای مقادیر بیشتر BA استفاده شد.

در بررسی تأثیر محیط کشت بر روی ریشه زایی، مقایسه محیط کشت های DKW و MS نشان داد که احتمالاً به دلیل بیشتر بودن غلظت عنصر فسفر در محیط DKW ریشه زایی در این محیط کشت بیشتر بوده است.

## سپاسگزاری

این پژوهش در گروه تحقیقات زیست فناوری منابع طبیعی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور انجام شده است. مؤلفان از همکاران گروه مذکور و حمایت های مؤسسه متبع نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

## منابع مورد استفاده

- Biondi, S., Canciani, L. and Bagni, N., 1984. Uptake and translocation of benzyladenine by elm shoots cultured in vitro. Canadian Journal Botany, 62: 2385–2390.
- Bawa, K.S., and Stettler, R.F., 1972. Organ culture with black cottonwood: morphogenetic response of female catkin primordial. Canadian Journal Botany, 50: 1627-1631

## Micropropagation of Iranian *Populus alba* species

S. Tavassoli Asgari<sup>1</sup>, A. Ghamari Zare<sup>\*2</sup>, Sh. Sharzad<sup>3</sup>, M. Khosroshahli<sup>4</sup> and M. Sedaghati<sup>5</sup>

1- M.Sc., Biotechnology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, I.R. Iran.

2\*- Corresponding author, Assoc. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, I.R. Iran.

E-mail: ghamari-zare@rifr.ac.ir

3- Senior Researcher, Biology Science, Research Institute of Forests and Rangelands, I.R. Iran.

4- Prof., Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran.

5- M.Sc., Biology Science, Research Institute of Forests and Rangelands, I.R. Iran.

Received: 30.06.2012      Accepted: 11.11.2012

### Abstract

Iran is considered to be amongst the low forest cover countries. The development of poplar farming can be effectively helpful for conserving and restoring the forests. *Populus alba* is one of the useful fast growing species with industrial wood which can significantly contribute to development of wood farming. Unfortunately, the seedling production of elite trees by classic techniques could not be enough for papules farming demand. This work was done for micropropagation of Iranian's selected elite *Populus alba* trees for demand of papules farmers and, also, for cryopreservation program on the shoots of *Populus alba* trees collected from the National Botanical Garden of Iran. The buds sterilized and settled in 8 treatments of hormones and culture mediums. The shoot induction rates recorded from 8 hormonal treatments and 5 replicates in a complete randomized design. The best shoot induction attributed to the basal culture medium of DKW combined with the hormones of 2iP, IBA and BA at a concentration of  $0.3 \text{ mg l}^{-1}$ ,  $0.1 \text{ mg l}^{-1}$  and  $0.3 \text{ mg l}^{-1}$ , respectively. The best treatment for root growth gained in the DKW free hormone medium with 80% root production. Seedlings 100% survived in greenhouse after adaptation.

**Key words:** *Populus alba*, Micropropagation, Shoot and root induction, Seedling, Basal medium of DKW.