

## استفاده از تکنیک درون شیشه‌ای نجات جنین در تولید دورگ‌های

بین‌گونه‌ای صنوبر

*Populus euphratica* OLIV. × *P. alba* L.

و

*P. alba* L. × *P. euphratica* OLIV.

علی جعفری مفید آبادی<sup>(۱)</sup> و مدیر رحمتی علیرضا

### خلاصه

روش آزمایشگاهی نجات جنین به هدف جلوگیری از سقط جنین و تولید گیاه دو رگ، بین صنوبر کبوده و پده به صورت دو طرفه مورد استفاده قرار گرفت. تخمک و تخمدانهای تکامل یافته صنوبر کبوده پس از گرده افشانی به شیوه پیوند شاخه‌های گلدار بر روی نهال‌های یکساله و روش ترکه و آب جدا شدند. روش مشابه در مورد گرده افشانی شاخه‌های گلدار صنوبر پده با دانه‌های گرده صنوبر کبوده به هدف تلاقی معکوس انجام شد. تخمک و تخمدان جدا شده از هر دو نوع تلاقی جهت جوانه زنی جنین به درون محیط کشت MS جامد با غلظت نصف عناصر ماکرو و میکرو و فاقد هورمونهای رشد انتقال داده شدند. تخمدان و تخمک ۱۴ روزه صنوبر کبوده به عنوان پایه مادری در دورگ گیری *Populus alba* L. × *P. euphratica* OLIV. بیشترین گیاهچه را تولید نمودند. در حالی که تخمدان و تخمک صنوبر پده به عنوان پایه مادری در دو رگ *Populus alba* L. × *P. euphratica* OLIV. برای جوانه زنی و تولید گیاه دورگ به جنین‌های با بیش از ۴۵ روز سن نیاز داشتند. از هر تخمدان کاشته شده حداکثر دو تا سه گیاهچه از هر دو والد مادری بدست آمد و بیش از ۹۰٪ تخمکهای کبوده (والد مادری در تلاقی *Populus alba* L. × *P. euphratica* OLIV.) و

تخمکهای پده (والد مادری در تلاقی مشابه) تولید گیاه نمود، در صورتی که بازده تولید گیاه از کشت تخمدانهای متلاقی صنوبر کبوده ۷۰٪ و برای صنوبر پده ۶۷٪ بر آورد شده است. گیاهچه‌های بدست آمده قبل از انتقال به گلدان به درون شیشه های به اندازه شیشه مربای معمولی حاوی محیط کشت مشابه قبل، کشت شدند. ۷۵ عدد گیاه بدست آمده از تلاقی *Populus alba* L. x *P. euphratica* Oliv. و ۲۶ عدد گیاه حاصل از *P. euphratica* OLIV. x *Populus alba* L. پس از انجام موفق مرحله سازگاری تدریجی به گلخانه و سپس به مزرعه انتقال یافتند.

## مقدمه

دو رگ‌گیری به هدف ترکیب ویژگیهای مطلوب موجود در دو گونه متفاوت گیاهی و استفاده از پدیده قدرت دو رگ (هتروزیس) که به مفهوم برتری عملکرد تناج نسبت به عملکرد متوسط والدین است همواره مورد استفاده قرار می‌گیرد مدتهاست علاقه زیادی در دو رگ‌گیری بین گونه‌های مختلف که به نحو عمده بدلیل سودمندی ناشی از وقوع هتروزیس و امکان ترکیب صفات مطلوب وجود دارد که در نهایت منجر به بهبود صفات کمی و کیفی چوب منجر می‌شود (Settler, ۱۹۹۰).

صنوبر پده بدلیل مقاوم بودن در برابر خشکی و شوری همواره به عنوان یکی از والدین در دو رگ‌گیریهای صنوبر بکار گرفته می‌شود. لیکن ناسازگاری بین این گونه با تعدادی از گونه‌های دیگر این خانواده مشاهده می‌شود (Pryor و Willing, ۱۹۷۶). در طول دهه‌های گذشته مطالعات زیادی پیرامون واکنش دانه‌گرده بر روی کلالة مادگی در دو رگ‌گیری بین گونه‌ای با تکیه برجنس Aigeiros, Leuce, Tacamahaca, صورت گرفته است (Gaget و همکاران, ۱۹۸۴, Stettler و Guries, ۱۹۷۶, Heslip - Harrison, ۱۹۷۵, Knox و همکاران, ۱۹۷۲). به استثناء ترکیب بین گونه‌ای بین صنوبرهای بخش Leuce و Tacamahaca و Aigeiros, اغلب دو رگ‌گیریها با بکارگیری سیستم اصلاحی ترکه و آب (Kouider و همکاران, ۱۹۸۴, Rajora و Zsuffa, ۱۹۸۴) موفق بوده‌اند. دلیل ناسازگاری در درختان به نحو عمده ریزش گلچه‌ها، شگفتن زود هنگام کپسول، مرگ و میر دانه‌های گرده، نا موفق بودن پیوندها جهت گرده افشانی و دلایل نا شناخته فیزیولوژیکی دیگر در گلهاذکر شده‌اند (Ramming, ۱۹۹۰). به علاوه در تلاقی‌های بین گونه‌ای و بین جنسی و تلاقی بین گونه‌های دیپلوئید و تتراپلوئید، بافت اندوسپرم اغلب تکامل نیافته و یا به طور بسیار ضعیفی تکامل می‌یابد. این مشکل با کشت جنین در شرایط سترون کامل در یک محیط غذایی بر طرف می‌گردد. این روش در بسیاری از تلاقیهای مختلف مورد استفاده واقع

شده و به نظر می‌رسد که می‌تواند با بازده بسیار زیاد در دو رگ‌گیری صنوبرها بکار گرفته شود (Li و همکاران، ۱۹۸۳، Kouider و همکاران، ۱۹۸۴، Li و Li، ۱۹۸۰، Noh و همکاران، ۱۹۸۶، Savka و همکاران، ۱۹۸۷). به هدف دو رگ بین صنوبر کبوده و پده یک روش درون شیشه‌ای ساده برای تکامل جنین و جوانه زنی آن بر اساس کشت تخمدان و تخمک در این مقاله ارائه می‌گردد. به هدف درک این نکته که کدام والد صنوبر در انتقال ژنهای مقاوم در برابر شوری و خشکی موثرتر عمل می‌کند، دو رگ‌گیری به صورت دو طرفه بین صنوبر کبوده و پده انجام شد.

### مواد و روشها

#### نحوه انجام تلاقیها

گرده افشانی مصنوعی بین صنوبر کبوده و پده به صورت دو طرفه انجام شد. به هدف تلاقی بین *Populus alba L.* x *P. euphratica OLIV.* شاخه‌های گلدار صنوبر کبوده از مرکز تحقیقات منطقه البرز کرج جمع آوری و در قالب دو فن اصلاحی پیوند شاخه‌های گلدار بر روی نهال‌های یک ساله و سیستم ترکه و آب مورد استفاده قرار گرفتند. جهت تهیه دانه گرده صنوبر پده ترکه‌های حامل گل پایه‌هایی از این گونه در گلخانه به ریزش زود هنگام دانه گرده وادار گردیدند. در مورد گرده افشانی مصنوعی تلاقی عکس ( *P. euphratica OLIV.* x *P. alba L.* )، بدلیل دوره طولانی تکامل جنین در صنوبر پده، علاوه بر دو روش گرده افشانی فوق (روش پیوند شاخه‌های گلدار روی نهال یک ساله و روش ترکه و آب) روی شاخه‌های گلدار درخت بالغ نیز پیش از پوشیده شدن با کاغذ شفاف (به منظور جلوگیری از ورود دانه‌های گرده ناخواسته) با دانه‌های گرده صنوبر کبوده تلاقی داده شد. عمل گرده افشانی کنترل *Populus.alba* نیز *Populus euphratica OLIV.* x *P.euphratica OLIV.* و *L. x P.alba L.* به شیوه‌های فوق انجام گرفت.

### ضد عفونی سطحی و کشت تخمک و تخمدانهای بارور شده

کپسول تخمدان چسبیده به محور کاتکین (Katkin) با محلول Calcium hypochlorite به مدت ۱۲ دقیقه و بعد با سه بار شستشو با آب مقطر سترون (هر بار ۵ دقیقه) ضد عفونی سطحی گردید. به هدف نجات جنین‌های بارور شده، تخمکها و تخمدانهای جدا شده در پتری دیش 100x15mm حاوی محیط کشت Half-MS جامد کشت شدند (جدول شماره ۱). کشتها به اطاق رشد تحت شرایط نوری ۴۰۰۰ الی ۵۰۰۰ Lux با استفاده از لامپ های ۴۰ وات مهتابی به صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل و نگهداری گردیدند. سپس گیاهچه به ارتفاع ۱ الی ۲ سانتیمتری به داخل ظروف شیشه‌ای با ابعاد شیشه مربا حاوی محیط کشت مشابه با ترکیبهای پیشین انتقال داده شدند و مدت دو ماه تا قبل از انتقال به گلدان و انجام مراحل سازگاری تدریجی در درون این ظروف نگهداری شدند.

### تهیه محیط کشت

محیط MS (Skoog, Murashige, ۱۹۷۲) با نصف غلظت مورد نیاز نمکهای غیر آلی و همراه FeEDTA با غلظت  $10^{-4} M$  و با دو غلظت ساکارز (۰/۱۷M و ۰/۰۶M) و با pH برابر ۵/۷، برای جوانه زنی جنین ها و رشد گیاهچه ها مورد استفاده گرفت. محیطهای کشت بمدت ۲۰ دقیقه در ۱۲۰ درجه سانتیگراد در اتو کلاو سترون شده و پس از آن جهت کشت به ترتیب به میزان ۱۰ الی ۲۰ میلی لیتر، در پتری دیش و شیشه‌های مربایی سترون شده ریخته شدند.

## نتایج و بحث

جوانه زنی جنین ها، با کشت کپسولهای تخمدان و تخمک گرده افشانی شده صنوبر کبوده والد مادری در تلاقی *Populus alba* L. × *P.euphratica* OLIV. صنوبر پده در تلاقی عکس آن *Populus euphratica* OLIV. × *P.alba* در محیط کشت جامد شروع شد.

جوانه زنی جنین در حالت کشت تخمک یک هفته پس از انتقال به محیط کشت مشاهده شد. در حالی که به دلیل محصور بودن جنین در عمق تخمدان، زمان جوانه زنی جنین در حالت کشت تخمدان، نسبت به کشت تخمک با تاخیر همراه بود. در مقایسه با کشت تخمدان، هر تخمک تنها یک گیاه را در هر دو نوع تلاقی، تولید نمود. بازده تولید گیاهچه در کشت تخمدان، به دلیل دارا بودن ۲ الی ۳ تخمک در هر تخمدان کشت شده نسبت به کشت تخمک بیشتر بود (جدول شماره ۱). در هر دو نوع تلاقی (اصلی و متقابل)، گیاهچه‌های بدست آمده از کشت تخمک اغلب ضعیف بودند لیکن با رشد سریعتر و با ساقه‌های بلندتر ظاهر شدند. بیشترین جوانه زنی جنین در محیط کشت Half - MS حاوی ۰/۱۷ محلول ساکارز برای هر دو نوع کشت تخمک و تخمدان و برای هر دو نوع تلاقی مشاهده شد (شکل شماره ۱). میانگین اثر متوسط تخمدان و تخمک و همچنین سن جنین (تعداد روزهای پس از گرده افشانی) در تولید گیاهچه مربوط به تلاقی های *Populus* و *Populus alba* L. × *P.euphratica* OLIV. مورد مقایسه قرار گرفتند. اختلاف قابل ملاحظه‌ای در میانگین جوانه زنی بین کشت تخمدان و تخمک وجود داشت. جوانه زنی جنین در تلاقی *Populus alba* L. × *P. euphratica* OLIV. برای هر سه دوره سن جنین (۱۰، ۱۴ و ۲۱ روز) اتفاق افتاد، لیکن بیشترین جوانه زنی در کشت جنین، ۱۴ روز پس از گرده افشانی حاصل شد. به نظر می‌رسد که جنین‌ها با سن ۱۴ روز در جوانه زنی جنین برای هر دو نوع کشت (تخمدان و تخمک) در تلاقی که صنوبر کبوده به عنوان والد

مادری انتخاب شده بود روش مناسبی در ایجاد دورگهای بین گونه‌ای باشد. در حالی که در تلاقی معکوس تنها جنین ۴۵ روزه گیاه به رشد و نمو و جوانه زنی قادر بوده و تخمدان و تخمک با دو سن ۱۰ و ۳۰ روز، به دلیل طولانی بودن دوره تکامل جنین در صنوبر پده به عنوان والد مادری هیچ گیاهی بدست نیامد. همین موضوع نیز عدم موفقیت گرده افشانی و باروری را در دو شیوه اصلاحی پیوند شاخه‌های گلدار بر روی نهالهای یکساله (Bottel grafdtng) و شیوه کشت در آب (Tap water culture) برای تلاقیهای که صنوبر پده به عنوان والد مادری در نظر گرفته شده است در پی داشت. به طور متوسط ۷۰٪ تخمدانهای کشت شده و ۹۰٪ تخمکهای کشت شده مربوط به تلاقی *Populus alba L. x P. euphratica OLIV.* گیاه تولید نمودند. در حالی که این مقدار بسیاری کشت تخمدان و تخمک تلاقی *Populus euphratica OLIV. x P. alba L.* به ترتیب ۶۷/۵ و ۹۰٪ بر آورد شد. روش تحقیقی پیشنهادی Kouider و همکاران، (۱۹۸۴)، Li و Li، (۱۹۸۵)، Savka و همکاران، (۱۹۸۷) و Li و همکاران، (۱۹۸۳) مستلزم جدا کردن جنین ها به صورت انفرادی و کشت آنها در محیط کشت بود که به نظر می رسد روشی وقت گیر است و به دقت و رعایت اصول فنی درباره لطمه زدن به مکملهای جنین در هنگام جدا نمودن آنها نیازمند است. به ویژه این موضوع در تلاقی *P. euphratica OLIV. x P. alba L.* که به دلیل کوچک بودن تخمدان والد مادری در صنوبر پده اهمیت پیدا می کند. در روش حاضر، جدا سازی و جوانه زنی جنین بر اساس کشت تخمدان و تخمک و بسیار آسان صورت گرفت و تعداد زیادی گیاه تولید شد. محیطهای کشت مورد استفاده در کشت جنین بوسیله سایر محققین در منابع خارجی محیط کشت MS همراه ترکیبهایی از هورمونهای رشد (Induie-3- aceticacid) IAA و (6- Benzylaminoputine) BAP و ویتامین ها بود که این نوع محیط های کشت به دلیل استفاده از هورمون ها اغلب منجر به تشکیل

کالوس و تولید چندین شاخسار نموده است که برای ریشه زایی نیاز به محیط کشت ریشه زایی جهت دست یابی به گیاه کامل، داشتند (Kouider و همکاران (۱۹۸۴)، Li و Li (۱۹۸۵). Raquin و Troussard (۱۹۹۳) به منظور ساده کردن ترکیبهای محیط کشت مورد استفاده سعی کرد تا از محیط کشت MS با عناصر اصلی پایه (نمکهای معدنی، آب و ساکارز) استفاده کند و از بکارگیری هورمونهای رشد گیاهی به هدف جلوگیری از تشکیل کالوس و ایجاد تنوع ژنتیکی و اخلاص در رشد طبیعی جنین زایگوت، خوداری نماید. در روش حاضر بمنظور هرچه ساده تر نمودن محیط کشت برای هر دو نوع تلاقی، علاوه بر عدم استفاده از هورمونهای رشد گیاه، از محیط کشت Half - MS (غلظت نیمه عناصر پیشنهادی عناصر ماکرو - میکرو) جهت جوانه زنی جنین استفاده شد. و تعداد زیادی گیاهچه نیز بدست آمد. بر عکس دو رگ گیری بین صنوبر کبوده در پده (*Populus alba L. × P. euphratica OLIV.*) که گرده افشانی مصنوعی به طور موفقیت آمیز در روش اصلاحی ترکه - آب انجام شد و روش پیوند شاخه های گلدار بر روی نهالهای یکساله صورت گرفت (Jafari و همکاران (۱۹۹۸)، در دورگ گیری بین صنوبر پده در کبوده، گرده افشانی روی گلهای صنوبر پده به عنوان والد مادری، تنها بر روی درخت بالغ با موفقیت همراه بود. دوره تکاملی جنین در صنوبر پده به عنوان والد مادری موجب عدم جوانه زنی جنین و تولید گیاهچه در دو روش گرده افشانی مصنوعی ترکه - آب و روش پیوند شاخه های گلدار بر روی نهالهای یکساله شد. ۳۲/۵٪ تخمدانهای کشت شده در تلاقی نوع اول و ۲۳٪ برای تلاقی معکوس به مرور به رنگ قهوه‌ای روشن تغییر حالت دادند و به تولید گیاهچه‌ها قادر نبودند (نکروزه). کشتهای غیر طبیعی در کشت تخمک از قبل در مورد درختان دیگر نظیر گیلان Furokawa و Bukovac (۱۹۸۹)، تیپخمکهای بارور شده و بارور نشده زردآلو (Eaton و Jamont ۱۹۹۲) گزارش شده است. در مجموع تعداد ۲۶



عدد گیاه (P. euphratica OLIV. × P. alba L.) و ۷۵ عدد گیاه (P. alba L. × P. euphratica OLIV.) پس از انجام سازگاری تدریجی با موفقیت به گلخانه و بعد به مزرعه انتقال داده شدند (شکل شماره ۳).

جدول شماره ۱:

الف. اثر سن جنین (تعداد روزهای پس از گرده افشانی تا نمونه گیری) در جوانه زنی جنین مربوط به دورگیری

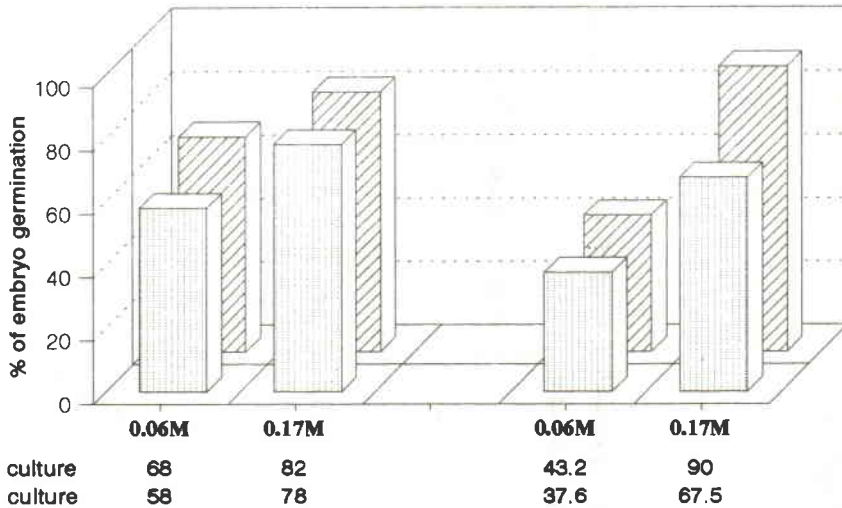
*Populus alba* L. × *P. euphratica* OLIV.

کراس‌ها	تعداد روزها پس از گرده افشانی	تعداد کپسول تخمدان و تخمک ایزوله شده		نهال‌ها							
		تخمک	تخمدان	تعداد تخمک به گیاه رفته	تعداد تخمدان به گیاه رفته	% تخمک‌های به گیاه رفته	% تخمدان‌های به گیاه رفته	تعداد کل گیاه		ضرب تولید تخمدان	
								تخمک	تخمدان		
<i>P. alba</i> × <i>P. euphratica</i>	۱۰	۲۰	۶۲	۱۴	۳۷	۷۰	۵۹/۷	۱۴	۷۶	۰/۷	۱/۲
<i>P. alba</i> × <i>P. euphratica</i>	۱۴	۳۰	۱۳۰	۳۰	۱۲۶	۱۰۰	۹۶/۹	۳۰	۱۶۸	۱	۱/۳
<i>P. alba</i> × <i>P. euphratica</i>	۲۱	۲۵	۷۸	۲۵	۴۱	۱۰۰	۵۲/۵	۲۵	۸۱	۱	۱/۱
<i>P. alba</i> × <i>P. alba</i>	۱۴	۲۵	۳۰	۲۵	۲۸	۱۰۰	۹۳/۳	۲۵	۳۰	۱	۱

ب. اثر سن جنین (تعداد روزهای پس از گرده‌افشانی) در جوانه‌زنی جنین مربوط به دورگیری

*Populus euphratica* OLIV. × *P. alba* L.

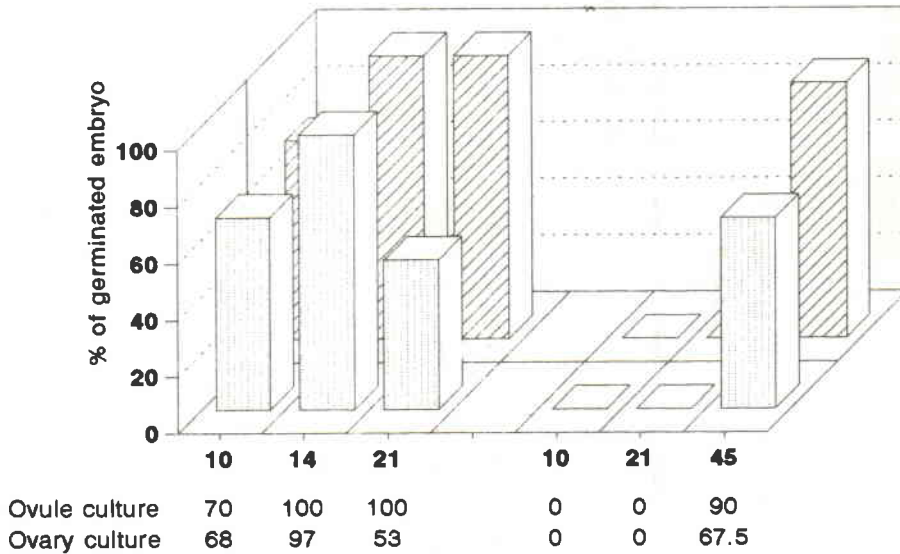
کراس‌ها	تعداد روزها پس از گرده‌افشانی	تعداد کسول تخمدان و تخمک ایزوله شده		نهال‌ها								
		تخمک	تخمدان	تعداد تخمک به گیاه رفته	تعداد تخمدان به گیاه رفته	% تخمک‌های به گیاه رفته	% تخمدان‌های به گیاه رفته	تعداد کل گیاه		ضرب تولید		
								تخمک	تخمدان	تخمک	تخمدان	
<i>P. euphratica</i> × <i>P. alba</i>	۱۰	۷۰	۱۲۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>P. euphratica</i> × <i>P. alba</i>	۲۱	۷۰	۱۲۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
<i>P. euphratica</i> × <i>P. alba</i>	۳۵	۷۰	۸۰	۱۸	۵۲	۹۰	۶۷/۵	۱۳	۷۳	۰/۶۱	۱/۳۵	۱/۳۵
<i>P. euphratica</i> × <i>P. euphratica</i>	۳۵	۷۰	۸۰	۱۷	۶۱	۸۰	۷۶/۳	۱۱	۸۱	۰/۶۱	۱/۳۵	۱/۳۵



شکل ۱: اثر توأم غلظت ساکارز و نوع کشت (تخمدان و تخمک)

بر روی جواهره‌زنی جنین در تلاتی

*P. euphratica* OLIV. × *Populus alba* L. و *Populus alba* L. × *P. euphratica* OLIV.



شکل ۲: اثر سن جنین در تولید گیاهچه

*P. euphratica* OLIV. × *Populus alba* L. و *Populus alba* L. × *P. euphratica* OLIV.

در کشت تخمدان و تخمک بر روی محیط کشت MS حاوی ۰/۱۷ ساکارز



شکل ۳: A: نهال یکساله دورگ *P. euphratica* OLIV. × *Populus alba* L. B: نهالهای دوساله دورگ *Populus alba* L. × *p. euphraticu* OLIV.

## منابع مورد استفاده

- Eaton, G.W. and A.M. Jamont, 1992. Embryo sac development in the apricot, *Prunus armeniaca* L. cv. Constan. Journal of Horticultural Science 86: 95-101.
- Furokawa, Y. and M.J. Bukovac, 1989. Embryo sac development in sour cherry during the pollination period as related to fruit set. Hort Science 24: 1005-1013.
- Gaget, M., C. Said, C. Dumas, and R.B. Knox, 1984. Pollen pistil interaction in interspecific crosses of *Populus* (sections Aigeiros and Leuce), pollen adhesion hydration and callose responses. J. Cell Sci. 72: 184-192.
- Guries, R.P., R.F. Stettler, 1976. Pre-fertilization barriers to hybridization in the poplars. Silvae Genet. 25: 37-44.
- Heslop-Harrison, J. 1975. Incompatibility and the pollen-stigma interaction. A. Rev. Pl. Physiol. 26: 403-4425.
- Knox, R. B., R.R. Willing, and L.D. Pryor, 1972. Interspecific hybridization of poplars using recognition pollen. Silvae Genet. 21: 125-128.
- Kouider, M., R. Skirvin, and K.P. Saladin, 1984. A Method to culture immature embryo of *Populus deltoides* in vitro. Can. J. For. Res. 14: 956-958.
- Li, W. and J. Li, 1985. In vitro culture of hybrid ovules in *Populus*. Sci. Silv. Sin. 21: 339-346.
- Li, W., R. Wang, and X. Zhu, 1983. On the embryo development and ovule culture of interspecific hybrids between *Populus simonii* and *P. pyramidalis* Borkh. Acta Bot. Sin. 25: 409-417.
- Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid

- growth and bioassays with tobacco tissue cultures.  
*Physiol. Plant* 15: 473-497.
- Noh, E.R., Kao, Y.B. and S.K. Lee, 1986. Hybridization between incompatible poplar species through ovary and embryo culture. *Res. Rep. Inst. For. Genet.* 22: 9-14.
- Rajora, O.P. and L. Zsuffa, 1984. Interspecific crossability and its relation to the taxonomy of the genus *populus*.  
In: *Proceedings of the 17th session of the international poplar commission, Ottawa.*
- Ramming, D.W. 1990. The use of embryo culture in fruit breeding. *Hort. Science* 25: 393-398.
- Raquin, C. and L. Troussard, 1993. In - ovary embryo culture as a tool for poplar hybridization. *Can. J. Bot.* 71: 1271-1275.
- Savka, M.A., J.O. Dawson, J.J. Jokela, and R.M. Skirvin, 1987. A liquid culture method for rescuing immature embryos of eastern cottonwood. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 10: 221-226.
- Stettler, R.F. 1980. Interspecific crossability studies in poplars. *Theor. Appl. Genet.* 58: 273-282.
- Willing, R.R. and L.D. Pryor, 1976. Interspecific hybridization in poplar. *Theoretical and Applied Genetics.* 47: 141-151.

## Interspecific hybridization between *Populus alba* L. × *P. euphratica* OLIV. using *In vitro* technique

A. Jafari Mofidabadi, A.R. Modir-Rahmati

Research Institute of Forests and Rangelands, Genetic and plant physiology Department P.O.

Box 13185-116 Tehran Iran

### Abstract

An *in vitro* method was used to produce hybrid poplar plants between *Populus alba* L. and *P. euphratica* OLIV in two directions. Developed ovaries and ovules were isolated from *P. alba* L. female branches, which had been, pollinated with *P. euphratica* pollen grains by using twig and pot breeding technique. The same procedure were carried out for isolation of developed *P. euphratica* OLIV ovaries and ovules which had been pollinated with *Populus alba* L. pollen grain on mature trees. Isolated ovaries and ovules of both crosses were then transferred to growth regulator free half concentrated MS agar medium for embryo germination. Fourteen days old *Populus alba* L. ovary and ovule embryos produced the highest number of plantlets, while 45 days old ovary and ovule embryos of *P. euphratica* OLIV were necessary to obtain hybrid plants. Maximum two to three plantlets were observed per both *Populus alba* L. and *P. euphratica* OLIV ovary culture. Ninety percent of pollinated *P. euphratica* OLIV and *Populus alba* L. ovules successfully produced plantlets, whereas the efficiency of pollinated ovaries to produce plantlets was 70% for *Populus alba* L. and 67% for *P. euphratica* OLIV. Plantlets were cultured in the same medium in jars, before being transferred to potting soil. Seventy-five interspecific *P. alba* L. × *P. euphratica* OLIV. and twenty-six of *P. euphratica* OLIV. × *Populus alba* L. hybrid plants were successfully acclimatized in greenhouse.