فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۱۵، شمارهٔ ٤، صفحهٔ ۳۰٤-۲۹٦ (۱۳۸٦)

تکثیر درون شیشه‌ای گونه اوجا (*Ulmus carpinifolia*)، از طریق کشت جوانه

میترا امام[۱]، شکوفه شهرزاد[۱] و طیبه سهیلا نراقی[۱]

۱- مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، صندوق پستی: ۱۱٦-۱۳۱۸۵، E-mail: memam@rifr-ac.ir

چکیده

با توجه به رو به انقراض بودن پایه‌های نارون در جنگلهای شمال ایران، به دلیل آلوده شدن به بیماری موسوم به مرگ نارون و این احتمال که بعضی از پایه‌های باقیمانده از نظر ژنتیکی مقاوم به بیماری شده باشند، تکثیر غیرجنسی پایه‌های مسن از طریق کشت بافت می‌تواند به تکثیر و حفاظت پایه‌های مقاوم به بیماری کمک نماید. از طرف دیگر، با استفاده از کشت بافت جوانه از پایه‌های نخبه مورد نظر، جهت حصول به درختان برتر و جلوگیری از تفرق صفات استفاده می‌گردد. در این تحقیق تکثیرغیرجنسی گونه اوجا از پایه بالغ منطقه کجور مازندران با کشت جوانه انجام شد. در مرحله سترون‌سازی ریزنمونه‌ها، استفاده از محلول ۰/۳ درصد کلرور جیوه در زمان ۱۲دقیقه و ابتدای فصل زمستان مناسب بود. در مرحله شاخه‌زائی و تکثیر، محیط کشت DKW با هورمونهای BA و IBA به‌ترتیب در غلظتهای ۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر به عنوان محیط بهینه رشد انتخاب گردید. پیش تیمار ریشه‌زایی در محیط پایه بدون هورمون برای یک ماه و سپس ریشه‌زایی در محیط DKW با IBA در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر با ۹۰ درصد موفقیت انجام شد. گیاهان حاصل در گلخانه مراحل سازگاری خود را طی نموده و در خاک مزرعه کشت گردیدند.

واژه‌های کلیدی: کشت جوانه، اوجا و تکثیر درون شیشه‌ای.

مقدمه

گونه اوجا (*Ulmus carpinifolia*) از سرده نارون (*Ulmus*) تیره (Ulmaceae) است. این گیاه متعلق به منطقه خزری بوده، در کشورهای اروپایی، ایران، ترکیه و شوروی منتشر و در جنگلهای شمال ایران از ارسباران و آستارا تا گرگان دیده می‌شود، همچنین در جنگلهای غرب و نقاط استپی کشور می‌روید. چوب این درخت در مصارف روستایی برای تیر و ستون خانه بکار می‌رود. با توجه به مشکل کنونی نارونها در ایران و جهان که عبارت است از خطر رو به انقراض بودن بیشتر گونه‌های این جنس از جمله، ملج و اوجا با بیماری موسوم به مرگ نارون، تکثیر غیرجنسی پایه‌های قطور و مسن مقاوم به بیماری مذکور از طریق کشت بافت، می‌تواند علاوه بر حفاظت از این منابع ژنتیکی با ارزش، منجر به یافتن و تکثیر پایه‌های مقاوم به بیماری شود.

آنچه باعث برتری این روش بر سایر روشها می‌باشد، سرعت تکثیر و امکان کاربرد آن در مورد گیاهان بالغ مسن است. در روشهای سنتی جهت اصلاح درختان فقط یک یا چند خصوصیت ویژه انتقال می‌یابد، اما در این روش کلیه خصوصیات درخت انتقال می‌یابد. اندام‌زایی از طریق کشت

جوانه موفق‌ترین و آسان‌ترین روش ممکن می‌باشد. زیرا جوانه بالقوه توانایی تکثیر و تولید اندامهای جدید را دارد و به همین دلیل این اندام از ثبات ژنتیکی کافی نیز برخوردار است و کمترین مقدار تغییرات ژنتیکی در تکثیر به این روش دیده می‌شود (Bonga & Aderkas, 1992).

با استفاده از کشت بافت جوانه از پایه‌های نخبه مورد نظر، جهت حصول به درختان برتر و جلوگیری از تفرق صفات استفاده می‌گردد. در این تحقیق تکثیرغیرجنسی گونه اوجا از پایه بالغ منطقه کجور مازندران با کشت جوانه انجام شد.

محققان مختلفی در سطح جهان نحوه استریل و کشت جوانه‌ها، شاخه‌زایی و ریشه‌زایی گونه‌های مختلف این جنس را مورد بررسی قرار داده‌اند (Biroscikova & Spisakova, 2004; Mezzetti *et al*., 2007).

در ایران تحقیق موفقی بر روی ریزازدیادی گونه ملج (*Ulmus glabra*) از طریق کشت جوانه تا استقرار نهالهای کشت بافتی در مزرعه (ایزدپناه، ۱۳۸۲) صورت گرفت.

همچنین، در رابطه با مطالعه فنوتیپهای سالم و بیمار ملج برای شناسایی ژنوتیپهای مقاوم به بیماری مرگ نارون در قالب پایان نامه دکتری تحقیق جامعی (شیروانی، ۱۳۸۳) انجام شد.

مواد و روشها

نمونه‌گیری از پایه‌های برگزیده اوجا با سن تقریبی ۱۰۰ –۸۰ سال در جنگل کجور (استان مازندران) انجام و در فصول مختلف سال از سرشاخه‌های درختان برداشت شد.

مراحل سترون سازی جوانه‌ها عبارتند از:

الف- پیش تیمار سترون‌سازی

۱- برس‌کشی با مایع ظرفشویی و محلول الکلی ۷۰ درصد

۲- استفاده از قارچ‌کش تیرام ۰/۲ درصد

۳- تقسیم شاخه‌ها به قطعات کوچکتر

٤-قراردهی نمونه‌ها به مدت ۳۰ تا ٦۰ ثانیه در اتانل ۷۰ درصد

ب- تیمار سترون‌سازی

۱. استفاده از محلول کلرور جیوه در غلظتهای ۰/۳ و ۰/۵ درصد در زمانهای متفاوت (۳ تا ۵ دقیقه برای فصل بهار، ۳ تا ۷ دقیقه برای فصل پاییز و ۱۰ تا ۱۲ دقیقه برای زمستان)

۲. سه بار شستشو با آب مقطر استریل

ج- تهیه محیط کشت

از دو نوع محیط کشتDKW (Driver & Kuniyuki, 1984)، MS (Murashig & Skoog, 1962) به همراه سیتوکنینهای BA, 2ip و اکسین IBA در غلظتهای از ۰/۵ تا ۱ برای سیتوکنینها و ۰/۱ تا ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر برای اکسین استفاده شد.

واکشت جوانه‌ها به طور ماهیانه انجام شد و در انتهای هر ماه نمونه‌های آلوده و نکروزه حذف شد و جوانه‌های سالم و سبز واکشت شدند. عوامل مورد توجه عبارت بود از: میزان ضریب ازدیاد شاخه (تعداد جوانه و شاخه)، طول شاخه و سبزینگی آنها.

پس از استقرار و رشد جوانه‌ها سه واکشت با فاصله ٤ هفته انجام شد و تعداد تکرارها در هر تیمار ۳۰ عدد بود (۵ شیشه و در هر یک ٦ نمونه). جهت آزمون آماری،

اعداد مربوط به ضریب ازدیاد (متوسط تعداد جوانه و شاخه در هر تکرار) و رشد طولی شاخه‌ها انتخاب شد. نتایج در قالب طرح فاکتوریل GLM بر پایه طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت و مقایسه و دسته‌بندی میانگینها به روش توکی انجام و نمودار آنها ترسیم شد. آزمون نرمالیته داده‌ها با ضریب Anderson-Darling صورت گرفت. در مرحله پیش تیمار ریشه‌زایی از محیط کشت پایه DKW فاقد هورمونهای رشد برای یک‌ماه استفاده شد و سپس نمونه‌ها به همان محیط کشت با افزودن هورمون ریشه‌زایی IBA در غلظتهای مختلف ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر منتقل شدند.

بعد از ۲ تا ۳ واکشت ماهیانه، نمونه‌های ریشه‌دار به خاک مخلوط پیت/پرلیت/ورمیکولیت استریل (به نسبت ٤، ۱، ٤) در گلدانهای سرپوش‌دار منتقل شده و با انجام سازگاری تدریجی گیاهان با شرایط محیط (افزایش منافذ و کاهش رطوبت زیر سرپوش تا برداشت کامل آن) گیاهان به گلدانهای بزرگ حاوی خاک برگ/خاک زراعی (به نسبت ۱:۱) منتقل و در فصل مناسب در خاک مزرعه کشت شدند.

نتایج

در مرحله سترون سازی، مناسب‌ترین تیمار برای جوانه‌های اوجا عبارت از شستشو با محلول کلرور جیوه ۰/۳ درصد برای زمان ۱۲ دقیقه در فصل زمستان (جدول ۱) بود.

با مقایسه مقادیر مربوط به قدرت یونی کل در دو محیط کشت مورد استفاده (جدول ۲)، این نتیجه بدست آمد که بیشترین این ارقام مربوط به محیط کشت DKW بود. وضعیت رشد و تکثیر شاخه‌ها در محیط‌های کشت نیز نشان داد که آنها به محیط واجد غلظت یونی بالاتر پاسخ مناسبتری داده‌اند و علاوه بر رشد طولی و فعالیت جوانه‌های جانبی بر شاخه اصلی، اندامهای هوایی نیز شادابی و سبزینگی خود را در طول بازکشتهای مکرر و متعدد حفظ نموده‌اند، درحالی‌که در محیط کشت MS پس از چند واکشت، شاخه‌ها دچار افت رشد و پژمردگی شدند.

مقایسه میانگینهای عوامل رشد (ضریب ازدیاد و رشد طولی) تحت تأثیر تیمارهای محیط کشت و هورمون (جدول ۳) نشان داد که محیط DKW به همراه BA ۱ و IBA ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تعداد شاخه با سبزینگی بهینه را تولید نمود (شکل ۳) و میانگین رشد طولی در همان محیط با ترکیب هورمونی 2ip ۱ و IBA ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر، دارای بیشترین مقدار بود.

در مرحله ریشه‌زایی، بیشترین میزان ریشه‌دار شدن نمونه‌ها در تیمار مربوط به IBA در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (شکل ٤، جدول ٤). از نظر میزان سازگاری، گیاهان کشت بافتی پس از انتقال به خاک گلدان و در شرایط گلخانه‌ای حدود ٦۰ درصد سازگاری از خود نشان دادند (شکل ۵).

جدول ۱- مناسبترین روشهای سترون‌سازی جهت پایه‌های مختلف

محل، فصل و ژنوتیپ	تیمارسترون سازی M (دقیقه)	درصد آلودگی	درصد استقرار جوانه	درصد جوانه مرده و سوخته
کجور پایه ۵ - بهار	۵	۲	۸٤	۱۲
کجور پایه ۵-پاییز	۷	۵	۹۳	۲
کجور پایه ۵-زمستان	۱۲	٤	۹٦	صفر

M= محلول کلرور مرکوریک ۰/۳ درصد

جدول ۲- مقایسهٔ غلظت یونی نمکهای موجود در محیط‌های کشت

مواد شیمیایی	MS N/2	DKW
(mM) $NH4^{+}$	۱۰/۳۰	۱۷/۷
Mg^{++}	۱/۵	۳
Ca^{++}	۲/۹۹	۹/۳
Na^{+}	۰/۲۲٤	۰/۳
$NO3^{-}$	۳۰/۰۰۵	٤۲/۳
$PO4^{-}$	۱/۲۵	۲
$SO4^{-2}$	۱/۷٦	۱۲/۳
Cl^{-}	٦	۲
(µM) I^{-}	۵	-
Mn^{++}	۱۳۲	۱۹۸
Zn^{++}	۲۹	۵۷
B^{+++}	۱۰۰	۷۸
MO^{+++}	۱/۰۳	۱/٦
CO^{++}	۰/۱۰۵	-
Cu^{++}	۰/۱	۱
Fe^{++}	۱۰۰	۱۲۲
Ni^{++}	-	۰/۰۲
(Mm) NH_4/NO_3	۰/۵۲	۰/۲۲
قدرت یونی کل (mM)	۵٤/۹۱۸	۹٤/۰۷٤

جدول ۳- مقایسه میانگینهای عوامل رشد تحت تأثیر تیمارهای محیط کشت و هورمون در سطح ۰/۰۱

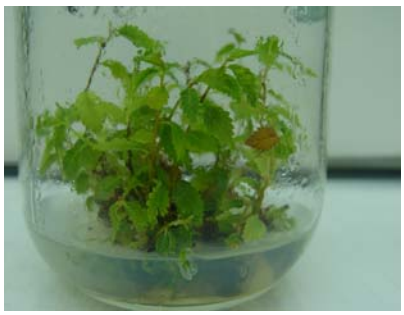
ردیف	تیمار	میانگین ضریب ازدیاد	میانگین رشد طولی
۱	MS N/2, BA 0.5	۲/۵۹۷d	۱/۸۷bc
۲	MS N/2, BA 1	۲/٤de	۲/۱۸b
۳	MS N/2, 2ip 1	۱/۷۷e	۱/۸۲bc
٤	MS N/2, 2ip 0.5	۲/۵۲de	۲/۳۲b
۵	DKW, BA 0.5	۳/۷۲bc	۲/۵۹ab
٦	DKW, BA 1	۵/٦۱a	۲/۷۹ab
۷	DKW, 2ip 1	۳/٤۹bc	۲/۹٤a
۸	DKW, 2ip 0.5	٤/۲۲b	۲/۸٦ab

میانگینهای با حروف مشابه در هر ستون، بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

جدول ٤- درصد ریشه‌زایی نمونه‌های بالغ اوجا در تیمارهای مختلف هورمونی اکسین

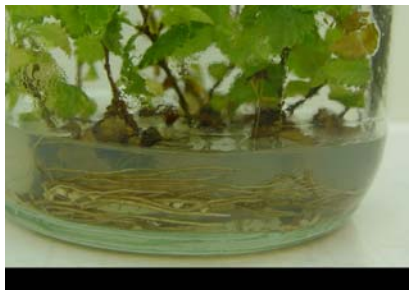
تیمار هورمونی ریشه‌زایی	درصد نکروزگی	درصد ریشه دهی
IBA 0.1	۳۰	۷۰
IBA 0.5	۱۰	۹۰
IBA 1	٤۰	٦۰

شکل ۱- پایه بالغ اوجا در منطقه کجور



شکل ۳- تکثیر شاخه اوجا در محیط کشت

شکل ۲- استقرار ریزنمونه در محیط کشت



شکل ٤- ریشه‌زایی اوجا در محیط کشت

شکل ۵- گیاه اوجا در خاک گلدان

بحث

در مورد گونه‌های پهن برگ نظیر اوجا، وجود لایه‌های محافظ پوششی (فلس مانند) بر روی جوانه‌ها و وضعیت فیزیولوژیکی حاکم بر بافتها و خفتگی جوانه‌ها به‌خصوص در اواخر فصل پاییز و ابتدای فصل زمستان امکان کاربرد غلظتهای بالاتر مواد سترون کننده را فراهم می‌کند، در حالی‌که در بهار و تابستان به دلیل رشد فعال جوانه‌ها و نبود پوسته محافظ در اطرافشان، سرعت نفوذ محلولهای ضدعفونی‌کننده در بافت زیاد بوده و غلظتهای زیاد محلول به پوسیدگی و مرگ بافت منجر شده و غلظت کم آنها تأثیری بر حذف آلودگیهای نمونه ندارد. به‌طوری‌که بالاترین درصد استقرار به همراه کمترین میزان قهوه‌ای شدن بافت بر نمونه کجور و در فصل زمستان با تیمار M بدست آمد. کاربرد محلول کلرور جیوه به عنوان ضدعفونی کننده اصلی، به این علت بود که مقادیر ضعیف این محلول در زمانهای کوتاه مدت تأثیر قوی و ماندگاری بر حذف آلودگیهای میکروبی داشته و باعث مرگ و قهوه‌ای شدن نمونه‌ها نیز نمی‌شود.

در مورد تأثیر عامل ژنوتیپ بر میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در تیمارهای استریل مشابه پایه شماره ۵ در منطقه کجور مازندران بالاترین درصد استقرار را نشان داد. علت این مسئله را می توان ناشی از این امر دانست که پایه‌های این منطقه همگی جوان، سالم و کمتر در معرض خطر بیماری موسوم به مرگ نارون بودند. علاوه بر آن، جوانه‌های گرفته شده از پایه مزبور از قسمت تنه جوش بوده که مشابه جوانه‌های درختان جوان است و میزان آلودگی آنها کمتر و استقرارشان در محیط کشت مناسبتر از جوانه‌های گرفته شده از قسمتهای اصلی درخت می‌باشد. Biondi و همکاران (۱۹۸٤) با استفاده از جوانه‌های گرفته شده از تنه جوش درختان بالغ نارون، تشکیل شاخه‌های متعدد را در محیط کشت القا نمودند.

با مقایسه مقادیر مربوط به قدرت یونی کل در دو محیط کشت مورد استفاده (جدول ۲)، این نتیجه بدست آمد که بیشترین این ارقام مربوط به محیط کشت DKW بود. وضعیت رشد و تکثیر شاخه‌ها در محیط‌های کشت نیز نشان داد که آنها به محیط واجد غلظت یونی بالاتر پاسخ مناسب‌تری داده‌اند و علاوه بر رشد طولی و فعالیت جوانه‌های جانبی بر شاخه اصلی، اندامهای هوایی نیز شادابی و سبزینگی خود را در طول بازکشتهای مکرر و متعدد حفظ نموده، درحالی‌که در محیط کشت MS پس از چند واکشت، شاخه‌ها دچار افت رشد و پژمردگی شدند.

در بین تنظیم‌کننده‌های رشد مورد استفاده در مرحله شاخه‌زایی، بیشترین میانگین ضریب ازدیاد در محیط کشت DKW و با ترکیب هورمونی BA ۱ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد، در حالی‌که، رشد طولی مناسب شاخه‌ها در همان محیط ولی با 2ip در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد.

6-BAP از قویترین مواد محرک رشد و تکثیر شاخه بود و تأثیر قوی و ماندگاری بر ریزنمونه‌ها داشت. Cornu (۱۹۹۱) در مورد گردوی هیبرید و امام (۱۳۷۹) در مورد گردوی ایرانی نتایج مشابهی را در محیط کشت DKW

واجد BA بدست آوردند. Fening و همکاران (۱۹۹۳) در تلاش برای ریزازدیادی از سرشاخه‌های *Ulmus Procera Salisbury* به این نتیجه رسید که در محیط DKW نسبت به MS و WPM شاخه‌زایی مناسب‌تری بدست آمد.

Bonga و Aderkas (۱۹۹۲) نتیجه گرفتند که تیمار سیتوکنین به همراه اکسین با غلظتهای ضعیف در ایجاد شاخه‌های نابجا، به‌خصوص در آغاز شاخه‌زایی مؤثر بوده است. در پژوهش اخیر نیز این مسئله بخوبی نمایان بود. Mezzeti و همکاران (۲۰۰۷) در طی گزارشی اعلام نمودند، ریزنمونه‌های اپی‌کوتیل بذرهای *Ulmus carpinifolia* با وجود هورمون BA در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر شاخه‌زایی مناسبی از خود نشان دادند. Biroscikova و Spisakova (۲۰۰٤)، ریزازدیادی از درختان بالغ ملج را در محیط WPM و هورمونهای BA و TDZ بدست آورد. به نظر می‌رسید رشد چند شاخه‌ای گیاهان به مقدار BA استفاده شده در محیط کشت مربوط بود. Biondi و Canciani (۱۹۸٤) عنوان کردند که غلظتهای بالاتر BA منجر به تولید شاخه‌های نابجا می‌شود. Evers و همکاران (۱۹۸۸)، نیز رشد بوته‌ای و چند شاخه‌ای شدن گیاهان ملج ایجاد شده در غلظت بالای BA را به ذخیره شدن این هورمون در جوانه‌های جانبی پایین تنه منتسب کردند. در این تحقیق نیز رشد طولی مناسب شاخه، در تعویض هورمون BA با 2ip، حاصل شد.

ریشه‌زایی آسان گیاه ملج در محیط بدون هورمون یا حاوی IBA ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر توسط Cheng و Shi (۱۹۹۵) و Chalupa (۱۹۸۷) گزارش شد (مشابه تحقیق اخیر). Fening و همکاران (۱۹۹۳)، صددرصد موفقیت ریشه‌زایی را برای ملج در این غلظت، گزارش کردند.

سپاسگزاری

از رئیس محترم گروه آقای دکتر عباس قمری زارع و نیز از آقای دکتر علی‌اشرف جعفری به خاطر راهنماییهای ارزشمندشان در پیشبرد اهداف طرح، نهایت قدردانی و تشکر را می‌نماییم.

منابع مورد استفاده

امام، م.، ایزد پناه، م.، ۱۳۷۹. ریزازدیادی گردوی بالغ ایرانی (*Juglans regia*) به شیوه کشت بافت، فصلنامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گاهان مرتعی و جنگلی ایران (۱): ۷۳-۵۳.

ایزدپناه ، م. ۱۳۸۲. تکثیر ملچ از طریق کشت درون شیشه‌ای، فصلنامه پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی ۵۸، جلد ۱٦ (۱): ٦٦-۷٤.

خاتمساز، م.، ۱۳٦۹. فلور ایران شماره ٤ (تیره نارون): ۲۵.

شیروانی، ا.، ۱۳۸۳. مطالعه فنوتیپهای سالم و بیمار ملج (*Ulmus glabra Hudson*) به منظور شناسایی ژنوتیپهای مقاوم به بیماری مرگ نارون در چهار منطقه شمال ایران. پایان‌نامه دکتری، دانشکده منابع طبیعی دانشگاه تهران.

Biondi, S., Canciani, L. and Bagni, N., 1984. Uptake and translocation of benzyladenin by elm shoots cultured *in vitro*. Can .J. Bot. 62:2385 -2390.

Biroscikova, M. and Spisakova, K., 2004. Micropropagation of mature Wych elm (*Ulmus glabra*). Plant cell Reports. 22: 640 - 644.

Bonga, J.M. and Aderkas, P.V., 1992. *In vitro* Culture of Trees. Kluwer Academic Publishers: 236.

Cheng, Z.M. and Shi, N.Q., 1995. Micropropagation of mature Siberian elm. Plant cell, tissue and organ culture. 41: 197-199.

Chalupa, V., 1987. European Hardwood. In: J.M, Bonga and D.J. Durzan (eds) Cell and Tissue Culture in Forestry, vol 3: Gymnosperms, Angiosperms, Palms, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht: 224-246.

Cornu, D., 1991. Maturation and germination of Walnut Somatic embryos. Plant cell tissue and organ Culture. 9: 59-62.

Driver, J.A. and Kuniyuki, H., 1984. *In vitro* propagation of *Paradox walnut* root stocks (*J. hindsii* J. regia*). Hort Science, 19:507-509.

Evers, P.W., Donkers. J., Prat, A. and Vermeer, E., 1988. Micropropagation of forest trees through tissue culture. Centre for agricultural publishing and documentation (pudoc), Wageningen. In: *In vitro* culture of trees, 1992, J.M. Bonga & Aderkas: 98.

Fening, T., Gartland, K.M.A. and Birasier, C.M., 1993. Micropropagation and regeneration of English elm (*Ulmus procera*). J.Exp.Bot.26: 1211-1217.

Mezzetti, G., Minotta, O., Navacechi, P. and Rosuti, D., 2007. *Invitro* propagation of *Ulmus carpinifolia*. Acta Horticulturae 227.

Murashige, T. and Skooge, F., 1962. A revised Medium for rapid growth and bio- assays with *tobacco* Tissue Culture. Physiologia plantarum. 15: 473-597.

In vitro propagation of *Ulmus carpinifolia* through bud culture

M. Emam[1], SH. Shahrzad[1] and T.S. Naraghi[1]

1- Research Institute of Forests and Rangelands, P.O. Box: 13185-116, Tehran, Iran. E-mail:Emam@rifr-ac.ir

Abstract

Ulmus carpinifolia is an important forest tree species for timber and wood production. For investigation of asexual regeneration of *Ulmus carpinifolia*, apical buds from old adult trees (from kojor- Mazandaran province) were gathered in 3 seasons. After surface sterilization treatments, the best method for sterilizing of buds was identified as pretreatment, cleaning and brushing of buds with tween and 70% ethanol solution, dipping in ethanol 70 % for 1 minutes and sterilizing buds with HgCl2 0.3% solution in different times (5 for spring, 7 for fall and 12 minutes for winter). The suitable medium for establishment was DKW with 1mg.l^{-1} BA. Established explants is subcultured in 2 media (MS, DKW) supplemented with 2ip, BA (0 to 1 mg.l^{-1}) + IBA (0.01 mg.l^{-1}). Following 3 subcultures of buds in these media, the means of shoot proliferation and shoot length growth were used as the data for analysis of variances. The best medium for shoot regeneration was DKW with 1 mg.l^{-1} BA, 0.01 mg.l^{-1} IBA (100%). Rooting of shoots occured in DKW medium supplemented with 0.5 mg.l^{-1} of IBA (%90). These plantlets were transferred successfully in field.

Key words: Bud culture, *Ulmus carpinifolia* and *in vitro* propagation.