

بررسی علل فیزیولوژیکی ناسازگاری گیاهچه‌های گیلاس وحشی (*Prunus avium* L.) در محیط درون شیشه^(۱) و بیرون شیشه^(۲)

سعید کرم زاده^(۳) بروس آزیورن^(۴) گراهام ویلسون^(۵)

تاریخ دریافت: ۷۹/۲/۱۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۷۹/۸/۳۰

چکیده

گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت در محیطی غیرطبیعی رشد داده می‌شوند که این خود غالباً باعث نارسایی‌هایی در خصوصیات فیزیولوژیکی و آناتومیکی آنان گشته و در نتیجه در موقع انتقال به خاک قادر نیستند خود را با شرایط جدید سازگار نمایند. در این تحقیق خصوصیات فتوسنتزی گیلاس وحشی در دو محیط درون شیشه و بیرون شیشه (۲ و ۴ هفته بعد از انتقال به خاک) مورد بررسی قرار گرفت. میزان توان فتوسنتزی گیاهچه‌ها در محیط درون شیشه ۱/۳ میکرومول CO_2 بر متر مربع بر ثانیه یعنی حدود یک چهارم گیاهچه‌های بیرون شیشه بود. همچنین نقطه اشباع نوری فتوسنتز، تنفس تاریکی و نقطه موازنه نوری در درون شیشه پائین تر بود. در این آزمایش تجمع زیست توده^(۶) برگ و سطح برگ در درون شیشه کمتر بود و با میزان فتوسنتز همبستگی داشت، هر چند SLM (زیست توده ویژه برگ) در درون شیشه بیشتر از بیرون شیشه بود که با تغییرات فتوسنتز هماهنگی نداشت. رابطه‌ای بین میزان فتوسنتز در درون شیشه و غلظت کلروفیل (a+b) و نسبت کلروفیل a:b در بافت برگ مشاهده نگردید. میزان ازت برگ برخلاف انتظار در محیط درون شیشه بیشتر از بیرون شیشه بود. برآورد فعالیت آنزیم Rubisco^(۷) و همچنین ظرفیت انتقال الکترون میزان‌های پائین‌تری را در درون شیشه نشان داد. براساس غلظت بالای ازت برگ و میزان مشابه غلظت Rubisco (در محیط درون شیشه و بیرون شیشه) می‌توان نتیجه گرفت که چگونگی فعالیت Rubisco عامل اصلی محدودکننده توان فتوسنتزی گیاهچه‌ها می‌باشد. وجود غلظت بالای ساکارز در محیط کشت و غلظت پائین Mg^{2+} در برگ می‌تواند از عوامل محدودکننده فعالیت کاتالیزوری این آنزیم باشد. همچنین از غلظت پائین گاز CO_2 در ظرف کشت (کمتر از ۳۰۰ PPM) نیز می‌توان به‌عنوان عامل دیگری در عدم رشد کافی و محدود بودن فتوسنتز نام برد.

واژه‌های کلیدی: کشت بافت، گیلاس وحشی، فیزیولوژی، فتوسنتز، Rubisco

In vitro - ۱

ex vitro - ۲

۲-استاد یار پژوهش موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور - بخش ژنتیک فیزیولوژی

۴-استاد دپارتمان علوم گیاهی - دانشگاه UCD - دوبلین - ایرلند

۵-استاد دپارتمان علوم گیاهی - دانشگاه UCD - دوبلین - ایرلند

Biomass - ۶

۷-ریبولوز، ۱-۵ بیوفسفات کربوکسیلازی اکسیژناز

مقدمه

شرایط خاص محیطی رشد گیاهان حاصل از کشت بافت در درون شیشه از جمله نورکم، هوای اشباع از رطوبت، تبادل گازی محدود بین درون و بیرون شیشه و وجود ساکارز در محیط کشت می‌تواند باعث تولید گیاهچه‌هایی گردد که بخصوص در زمان انتقال به محیط بیرون شیشه واجد سازگاری و رشد طبیعی نیستند (پریس و ساتر^(۱) ۱۹۹۱؛ دونلی و تیسدال^(۲) ۱۹۹۳). از دلایلی که برای این ناسازگاری گفته می‌شود می‌توان به محدود بودن فتوسنتز و عدم توانایی گیاهان در حفظ تعادل آبی اشاره نمود. ظرفیت پایین فتوسنتزی گیاهچه‌ها در محیط درون شیشه از گیاهچه‌های کلم، توت فرنگی، گل داوودی و سیب زمینی گزارش گردیده است (شرت^(۳) و همکاران ۱۹۸۴؛ گروت و پرایس^(۴) ۱۹۸۷؛ گروت ۱۹۸۸؛ پوسپیسو لوف^(۵) و همکاران ۱۹۸۸). هر چند یوئی^(۶) و همکاران (۱۹۹۳) میزان فتوسنتزی را برای گیاهان درون شیشه توت فرنگی گزارش نمودند که در حدود گیاهان طبیعی بود. تحقیقاتی به منظور یافتن عوامل مؤثر بر کارکرد دستگاه فتوسنتزی گیاه انجام گرفته است. از جمله به پایین بودن غلظت گاز CO_2 درون شیشه (فوجی و ارا^(۷) و همکاران ۱۹۸۷؛ کوزای و ایوانامی^(۸) ۱۹۸۸؛ جکسون^(۹) و همکاران ۱۹۹۴)، تابش نور (اسمیت^(۱۰) و همکاران ۱۹۶۸؛ ماتی سیاک و نواک^(۱۱) ۱۹۹۴؛ لیس^(۱۲) ۱۹۹۴)، استفاده از ساکارز در محیط کشت (گروت و پرایس ۱۹۸۷؛ لانگ فرد و واین رایت^(۱۳)، ۱۹۸۷؛ هایدن و دسجاردینز^(۱۴) ۱۹۹۴) و میزان کلروفیل برگها (دانلی و ویداور^(۱۵) ۱۹۸۴؛ گروت و دونکین^(۱۶) ۱۹۸۷؛ ون هویلن بروک و دبرگ^(۱۷) ۱۹۹۶) اشاره شده است. از آنجائی که در عرصه منابع طبیعی گیلان وحشی از جنبه نوع چوب جزو گیاهان باارزش می‌باشد، به نظر می‌رسد کشت بافت یکی از بهترین ابزارهای تولید سریع کلن‌های منتخب این گیاه باشد. بنابراین شناخت عوامل و دلایل رشد نامتعادل و عدم سازگاری گیلان وحشی و نحوه تاثیر آنها بر فرآیند فتوسنتز به انجام تکثیر موفقیت آمیز و اقتصادی کشت بافت این گیاه کمک فراوانی می‌کند.

مواد و روش‌ها

بعد از استقرار جوانه‌های جدا شده از یکی از کلن‌های برتر گیلان وحشی از غرب ایرلند و تولید ساقه‌های جوان در محیط کشت MS (Murashige & Skoog, 1962) تغییر یافته حاوی $GA_3/0.001 \text{ gdm}^{-3}$ و $BAP/0.01 \text{ gdm}^{-3}$ ، $IBA/0.01 \text{ gdm}^{-3}$ گیاهچه‌ها به محیط ریشه‌زائی حاوی 0.001 gdm^{-3} هورمون IBA منتقل شدند. در هر دو محیط ساقه و ریشه زایی از ۲۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷/۵ گرم در لیتر آگار استفاده شد. بعد از ریشه‌زایی و در زمان انتقال به خاک ۸ گیاهچه بطور تصادفی اندازه‌گیری شدند. پارامترهای اندازه‌گیری شده عبارت بودند از حداکثر توان فتوسنتزی (Pm)، واکنش فتوسنتزی گیاد به تغییرات نور، فلورسانس کلروفیل، میزان کلروفیل و همچنین سطح برگ، زیست توده برگ و غلظت عناصر ازت، کلسیم و منگنز در برگ. علاوه بر آن فعالیت و غلظت آنزیم Rubisco، ظرفیت انتقال الکترون و راندمان مصرف ازت محاسبه و اندازه‌گیری شد. Pm و واکنش آن به تغییرات نور (با دستگاه IRGA)، میزان فعالیت آنزیم Rubisco و ظرفیت انتقال الکترون با استفاده از منحنی واکنش Pm به تغییرات گاز دی‌اکسیدکربن (ون تیب^(۱۸) و همکاران ۱۹۹۴)، میزان کلروفیل فلورسانس با دستگاه PEA، میزان کلروفیل برگ‌ها با روش استفاده از

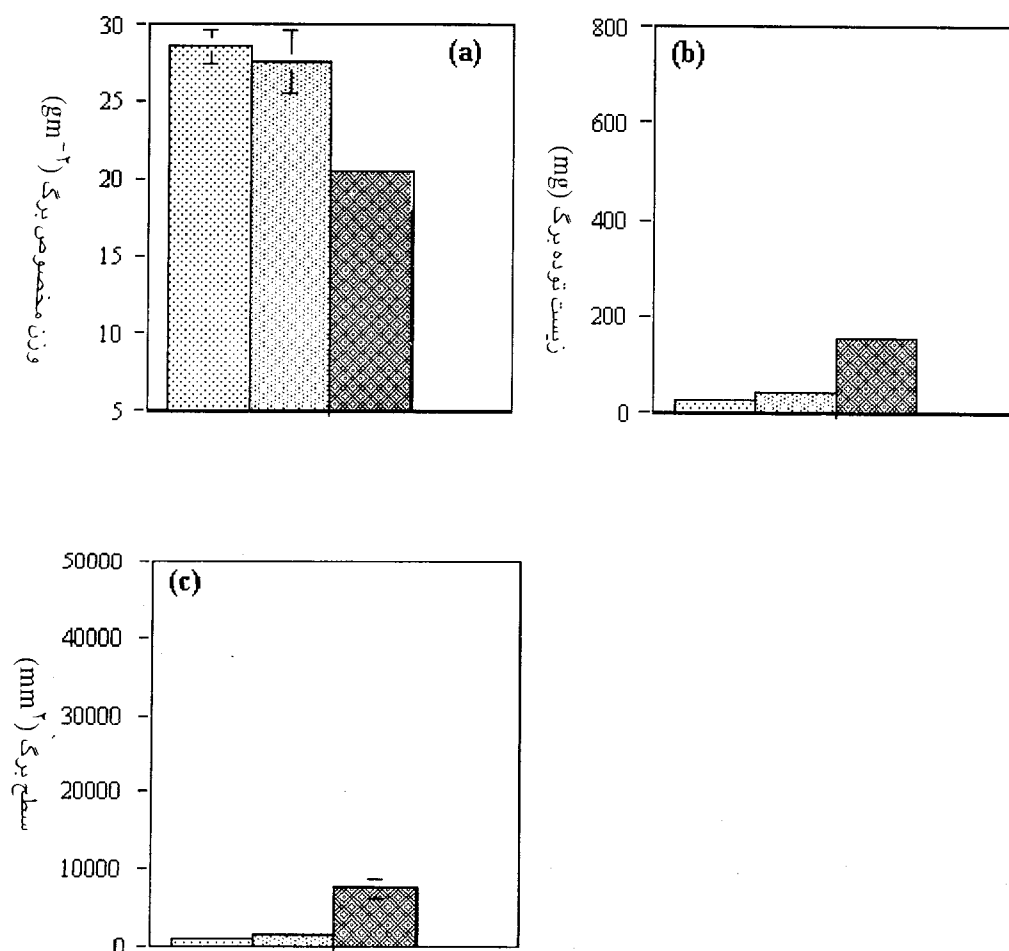
- ۱- Preece & Sutter
- ۲- Donnelly & Tisdall
- ۳- Short
- ۴- Grout & Price
- ۵- Pospisilova
- ۶- Yue
- ۷- Fujiwara
- ۸- Kozai & Iwanami
- ۹- Jackson
- ۱۰- Smith
- ۱۱- Matysiak & Novak
- ۱۲- Lees
- 13- Longford & Wainwright
- ۱۴- Hdidar & Desjardins
- ۱۵- Donnelly & Vidaver
- ۱۶- Grout & Donkin
- ۱۷- Van Huylenbroeck & Debergh
- ۱۸- Wantabe

نتایج

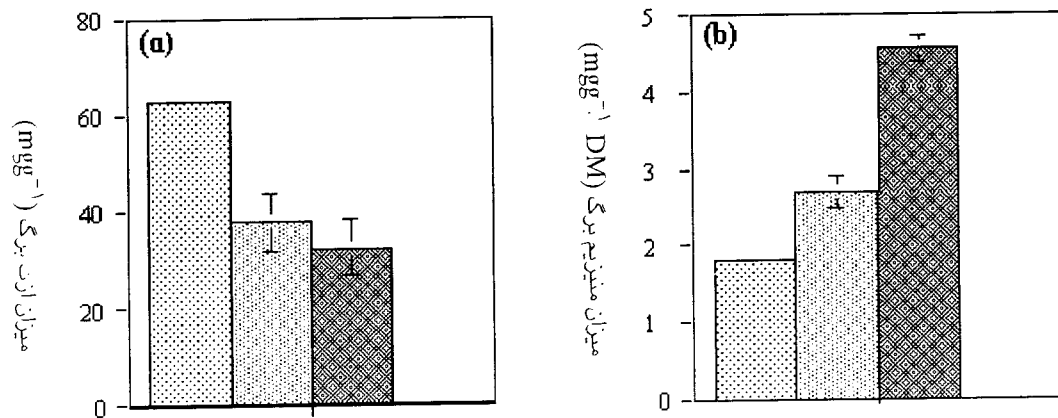
۱- رشد و تولید زیست توده

کمترین وزن ماده خشک و سطح برگ بطور معنی‌داری مربوط به گیاهچه‌های درون شیشه بود (شکل ۱b,c). بالاترین وزن مخصوص برگ (SLM) در گیاهچه‌های درون شیشه دیده شد و این با رشد در محیط بیرون شیشه کاهش یافت (شکل ۱a). میزان ازت برگ در گیاهچه‌های درون شیشه بطور قابل توجهی از بیرون شیشه بیشتر بود. در حالیکه میزان منیزیم (Mg^{2+}) برگ‌های درون شیشه از بیرون شیشه بطور معنی‌داری کمتر بود (شکل ۲a,b).

استون (هندری و پرایس^(۱) ۱۹۹۳)، ازت با دو روش میکروکجدال (هندرشات^(۲) ۱۹۸۵) و منیزیم و کلسیم با روش هضم بمبی (وارد^(۳) ۱۹۹۵) و با استفاده از اسپکترومتر اندازه‌گیری گردیدند. این اندازه‌گیری‌ها ۲ و ۴ هفته بعد از انتقال به گلدان تکرار شد. آزمایش در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی انجام و برای مقایسه میانگین تیمارها (محیط درون شیشه و محیط بیرون شیشه بعد از ۲ و ۴ هفته) از آنالیز واریانس (ANOVA) و نرم افزار آماری (Data Desk, V.4.1) استفاده گردید.



شکل ۱- مقایسه میزان وزن مخصوص برگ SLM (a)، زیست توده برگ (b) و میزان سطح برگ (c) در برگ‌های گیاهچه‌های گیلان وحشی در سه محیط درون شیشه (●)، بیرون شیشه بعد از ۲ هفته (■) و بیرون شیشه بعد از ۴ هفته (■).



شکل ۲- مقایسه میزان ازت (a) و میزان منیزیم (b) در برگ‌های گیاهچه‌های گیلای وحشی در سه محیط درون شیشه (●)، بیرون شیشه (■) بعد از ۲ هفته و بیرون شیشه بعد از ۴ هفته (□)

۲- فتوسنتز و پارامترهای مربوطه

طور معنی‌داری بالاتر بود (شکل ۳d). نقطه موازنه نوری پایین‌تری (۱۲ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه) و همچنین نقطه اشباع نوری بسیار کمتری (۳۱۵ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه) در گیاهچه‌های درون شیشه ثبت گردید (شکل ۴).

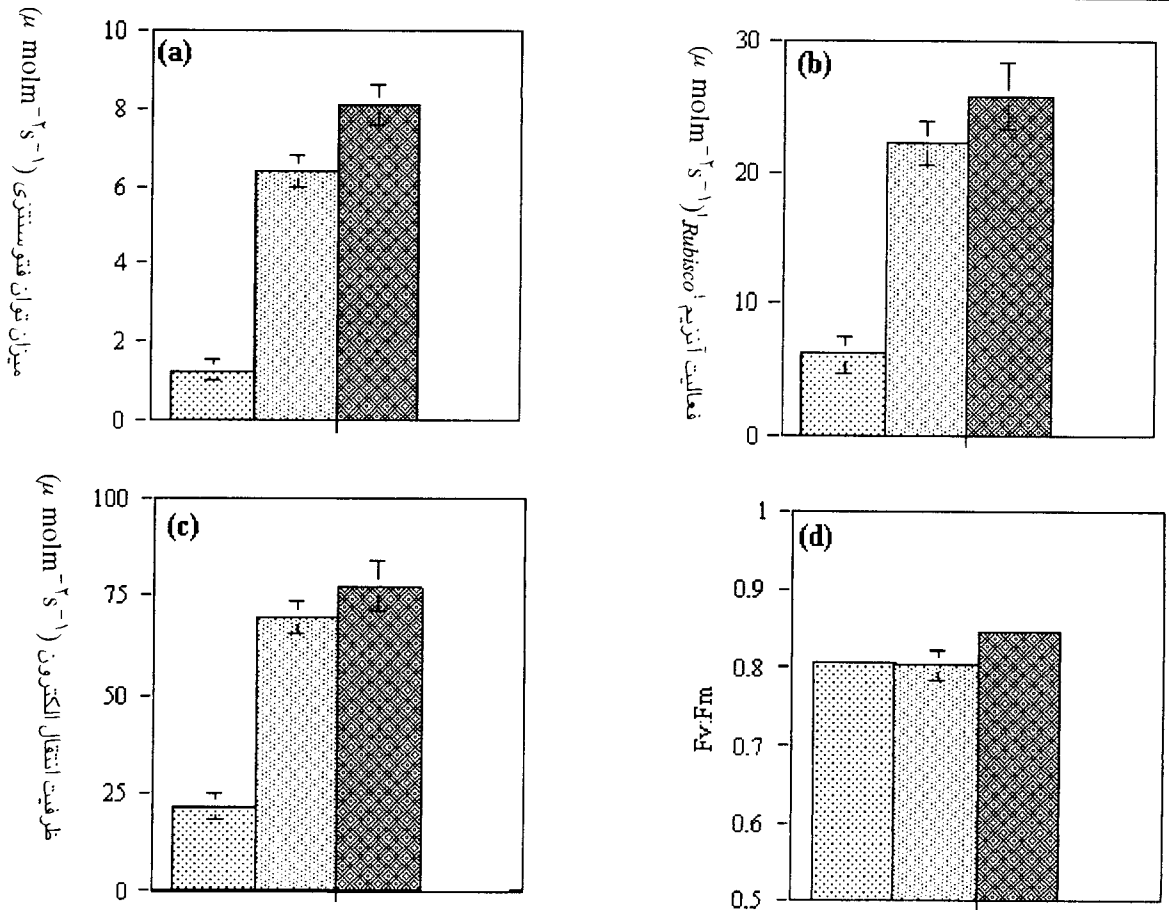
راندمان فتوسنتزی مصرف ازت (NUE) و آب (WUE) هر دو تحت شرایط درون شیشه کمتر بودند (شکل ۵). کل کلروفیل (a+b) برگ‌های درون شیشه میزان مشابهی را در مقایسه با بیرون شیشه نشان دادند. هر چند تفاوت معنی‌داری در نسبت کلروفیل a:b بین برگ‌های درون شیشه و بیرون شیشه بعد از ۴ هفته دیده شد (شکل ۶). اندازه‌گیری میزان غلظت گاز CO_2 در ظروف کشت محتوی گیاهچه‌های گیلای وحشی نشان داد که میزان غلظت ۵۰ تا ۱۰۰ ppm از غلظت طبیعی (۳۵۰ ppm) در هوای اتمسفر) کمتر است (جدول ۱).

میانگین حداکثر فتوسنتز خالص (Pm) گیاهچه‌های درون شیشه ۱/۳ میکرومول CO_2 بر متر مربع در ثانیه بود که بطور معنی‌داری از تیمارهای بیرون شیشه کمتر بود. در حالی‌که در فاصله ۲ هفته بعد از انتقال گیاهچه‌ها به بیرون شیشه میزان فتوسنتز برگها ۴-۵ برابر گردید، در فاصله هفته دوم تا چهارم کمی افزایش در فتوسنتز دیده شد (شکل ۳a). برآورد غلظت آنزیم Rubisco برگ‌های گیاهچه‌ها، با استفاده از الکتروفورز ژل، میزان‌های نسبتاً مشابهی را در تیمارها نشان داد. در حالی‌که میزان فعال بودن Rubisco و ظرفیت انتقال الکترون تغییراتی مشابه روند تغییرات Pm در محیط درون و بیرون شیشه نشان دادند (شکل ۳b,c). اندازه‌گیری شاخص نسبت FV/Fm که نشان‌دهنده فلورسانس و راندمان فتوشیمیایی گیاد می‌باشد در گیاهچه‌های بیرون شیشه (بعد از ۴ هفته) به

جدول ۱- میزان غلظت گاز CO_2 درون ظرف کشت بافت محتوی گیاهچه‌های گیلای وحشی تحت رژیم‌های

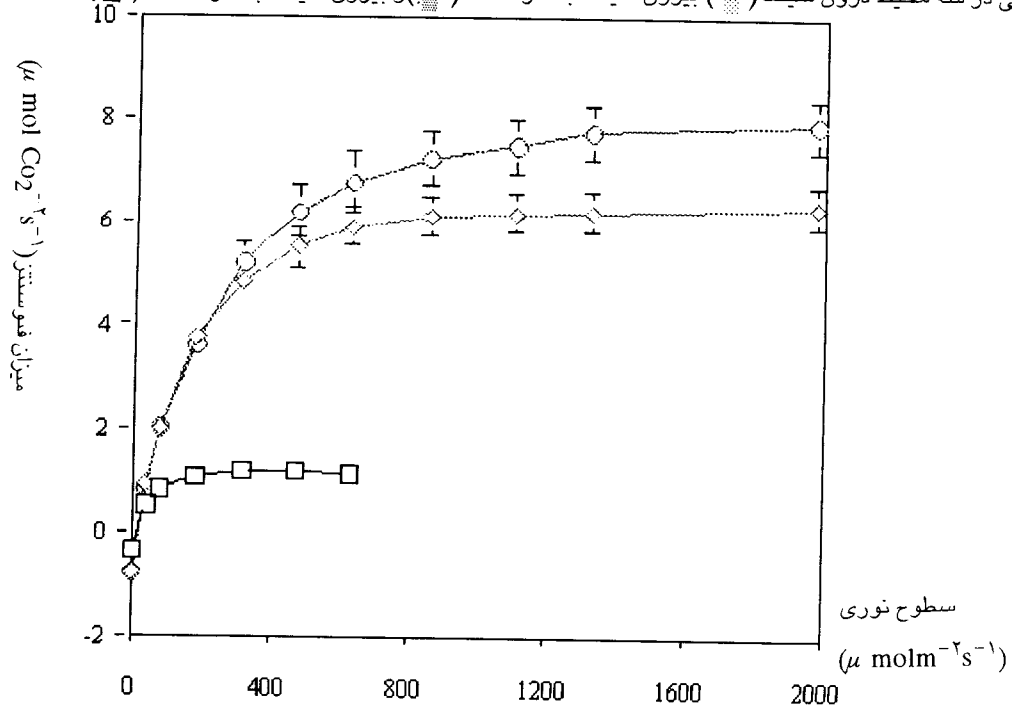
مختلف نوری

میزان نور	تاریکی	نور ۵۰ $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$	نور ۲۰۰ $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$
غلظت Pmm	۴۶۰	۳۰۰	۲۰۰



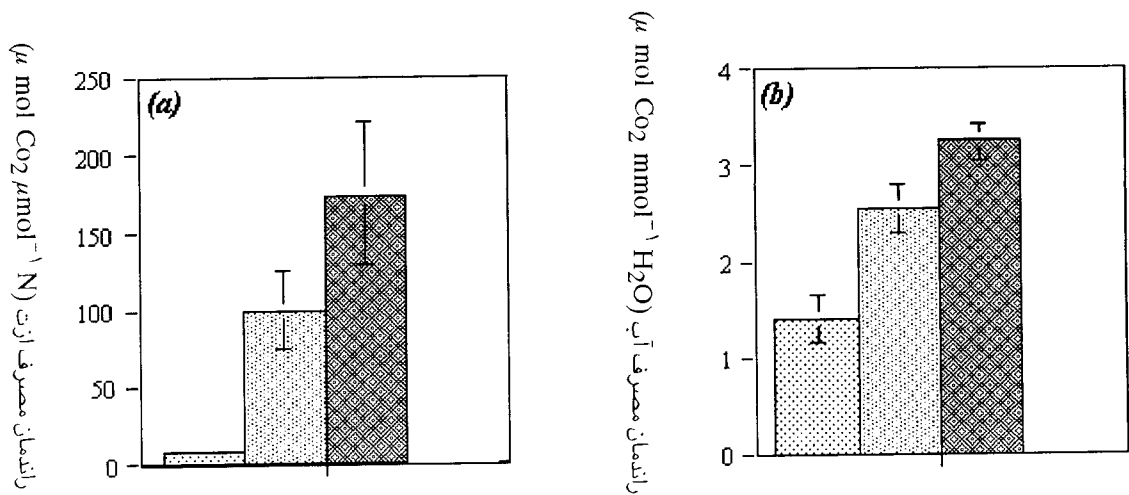
شکل ۳- مقایسه میزان توان فتوسنتزی (a)، فعالیت آنزیم Rubisco (b)، ظرفیت انتقال الکترون (c) و شاخص Fv/Fm (d) در برگهای گیاهچه‌های

گیلاس وحشی در سه محیط درون شیشه (□) بیرون شیشه بعد از ۲ هفته (▨) و بیرون شیشه بعد از ۴ هفته (■)

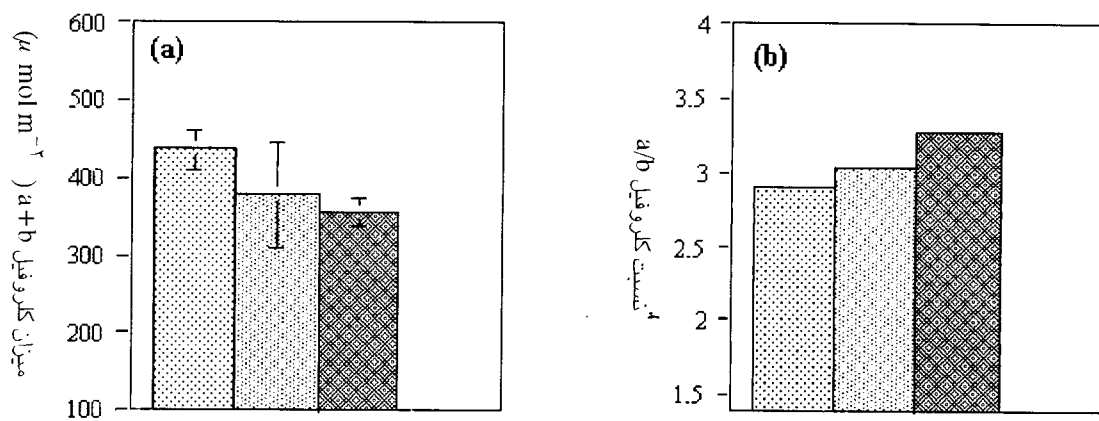


شکل ۴- واکنش فتوسنتزی گیلاس وحشی به تغییرات نور در محیط درون شیشه (□)، بیرون شیشه بعد از ۲ هفته (◇) و بیرون شیشه

بعد از ۴ هفته (○)



شکل ۵- مقایسه میزان راندمان فتوسنتزی مصرف ازن (a) و راندمان فتوسنتزی مصرف آب (b) در برگهای گیاهچه‌های گیلان وحشی در سه محیط درون شیشه (▩)، بیرون شیشه بعد از ۲ هفته (▨) و بیرون شیشه بعد از ۴ هفته (■)



شکل ۶- مقایسه میزان کلروفیل a+b (a) و نسبت کلروفیل a/b (b) در برگهای گیاهچه‌های گیلان وحشی در سه محیط درون شیشه (▩)، بیرون شیشه بعد از ۲ هفته (▨) و بیرون شیشه بعد از ۴ هفته (■)

بحث و نتیجه‌گیری

Pm برگ‌های گیلاس وحشی حاصل از کشت بافت در درون شیشه به مراتب از برگ‌های گیاهچه‌های سازگار شده و رشد یافته در بیرون شیشه کمتر بود. این نتیجه با نتایج گزارش شده توسط دانلی و ویداور (۱۹۸۴) و پوسپسی لوف و همکاران (۱۹۸۸) درباره به تمشک، سیب زمینی و تنباکو مشابهت دارد. همچنین نقطه اشباع نوری، تنفس نوری و نقطه موازنه نوری در گیاهچه‌های درون شیشه کمتر بود. این خصوصیات شبیه گیاهان سایه دوست می‌باشد (سالیس بوری و رس^(۱) ۱۹۹۲). تغییرات وزن خشک برگ و سطح برگ با تغییرات Pm در تمام تیمارها هماهنگی داشت. در حالی که SLM در درون شیشه بیشتر بود و با تغییرات Pm هماهنگی نداشت. رابطه منفی بین SLM و Pm که برخلاف عموم گیاهان می‌باشد (جوریک^(۲) ۱۹۸۶) می‌تواند ناشی از تجمع نشاسته در برگ‌های با Pm کم باشد. مشاهدات متضاد روتر^(۳) (۱۹۸۸) و اسمیت و همکاران (۱۹۹۰) که برگ‌های نازکتری را در محیط درون شیشه یافته‌اند می‌تواند دلالت بر این نکته باشد که این صفت ممکن است وابسته به خصوصیات خود گونه باشد تا شرایط درون شیشه. وجود کلروفیل کافی در برگ‌های درون شیشه نشان می‌دهد که رنگدانه کلروفیل (a+b) عامل محدود بودن قدرت فتوسنتزی گیاهان درون شیشه نمی‌باشد. هر چند گروت و دانکین (۱۹۸۷) کلروفیل کمتری را در برگ‌های درون شیشه اندازه‌گیری نمودند. از عواملی که می‌تواند Pm را محدود سازد نقش تائید شده نیتروژن برگ در محدود ساختن فتوسنتز از طریق کاهش میزان آنزیم Rubisco می‌باشد (ایوانس^(۴) ۱۹۹۶). در این آزمایش برخلاف انتظار گیاهچه‌های درون شیشه در برگ‌های خود نیتروژنی بسیار بالاتر در مقایسه با بیرون شیشه داشتند.

با وجود ازت بیشتر در گیاهچه‌های درون شیشه، میزان فعالیت Rubisco و ظرفیت انتقال الکترون در آنها بطور معنی‌داری از گیاهچه‌های بیرون شیشه پایین‌تر بود. بنابراین بر اساس میزان بالای ازت برگ و میزان مشابه Rubisco موجود در برگ می‌توان نتیجه‌گیری نمود که در واقع محدودیت و کاهش فعالیت این آنزیم عامل محدود کننده Pm

است. فعالیت پایین این آنزیم در درون شیشه به وجود ساکارز در محیط کشت نسبت داده شده است (گنود-گوریکن^(۵) و همکاران ۱۹۹۶؛ گروت و پرایس ۱۹۸۷). همچنین کاهش فعالیت کاتالیزوری آنزیم‌های کلروپلاستی می‌تواند با میزان پایین‌تر غلظت Mg^{2+} برگ ارتباط داشته باشد (هلت^(۶) ۱۹۹۷). در این آزمایش میزان این یون در برگ‌های درون شیشه گیلاس وحشی بطور قابل توجهی از برگ‌های بیرون شیشه پایین‌تر بود. از عوامل دیگر محدود کننده Pm می‌توان غلظت گاز دی اکسیدکربن در ظرف کشت را نام برد. نتایج آزمایش نشان داد که این غلظت در ظروف کشت حاوی گیاهچه‌های گیلاس وحشی در طی دوره نوری و با شدت نور ۵۰ و ۲۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه به ترتیب ۳۰۰ و ۲۵۰ پی پی ام بود. این مقدار که از میزان CO_2 طبیعی هوا ۵۰ تا ۱۰۰ پی پی ام پایین‌تر است می‌تواند بر فتوسنتز و رشد گیاه در درون شیشه اثر بگذارد.

قدردانی و تشکر

بدینوسیله از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری به خاطر فراهم آوردن مقدمات اعزام به خارج از کشور، وزارت جهادسازندگی (معاونت آموزش و تحقیقات) به جهت حمایت‌های مادی و معنوی در طی تحصیل، از وزارت کشاورزی جمهوری ایرلند بدلیل تقبل بخشی از هزینه‌های این تحقیق و از همکاران و تکنسین‌های محترم دپارتمان شلوم گیاهی دانشگاه UCD (دانشگاه ملی ایرلند) تشکر و قدردانی می‌گردد.

- ۱- Salisbury & Ross
- ۲- Jurik
- ۳- Reuther
- ۴- Evans
- ۵- Genoud-Gouricon
- ۶- Heldt

منابع مورد استفاده

- 1- Donnelly, D.J. & L. Tisdall, 1993. Acclimatisation strategies for micropropagated plants. In: Micropropagation of woody plants. (ed. Ahuja, M.R), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 153-166.
- 2- Donnelly, D.J. & W.E. Vidaver, 1984. Pigment content and gas exchange of red raspberry in vitro and ex vitro. J.Amer. Soc. Hort.Sci., 109(2), 177-181.
- 3- Evans, J.R., 1996. Developmental constrains on photosynthesis: effects of light and nutrition. In: photosynthesis and environment, ed, Baker, N.R., Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp.281-304.
- 4- Fujiwara, K., T. Kozai, & I. Wantabe, 1987. Fundamental studies on environments in Plant tissue culture vessel (3) Measurements of carbon dioxide gas concentration in closed vessels containing tissue cultured plantlets and estimates of net photosynthetic rates of the plantlets. J.Agric. Meteorology, 43 (1), 21-30.
- 5- Genoud-Gourichon, C., A. Sallanon, & A. Coudret, 1996. Effects of sucrose, agar, irradiance and Co2 concentration during the rooting phase on the acclimation of rose hybrid plantlets to ex vitro. Photosynthetica, 32(2), 363-270.
- 6- Grout, B.W.W. & M.E. Donkin, 1987. Photosynthetic activity of cauliflower meristem culture in vitro and at transplanting into soil. Acta Hort., 212, 323-327.
- 7- Grout, B.W.W. & F. Price, 1987. The establishment of photosynthetic independence in strawberry culture prior to transplanting. In: Plant micropropagation in horticultural industries, eds, Ducate, G., Jaacob, M. and Simeon, A., Presses Universitaires, Liege, Belgium, pp.55-60.
- 8- Grout, B.W.W., 1985. Photosynthesis of regenerated plantlets in vitro, and the stresses of transplanting. Acta Hort., 230, 129-135.
- 9- Hdider. C. & Y. Desjardins, 1994. Effects of sucrose on photosynthesis and phosphoenol-pyruvate carboxylase activity of in vitro cultured strawberry plantlets. Plant cell, Tissue and Organ Culture, 36, 27-33.
- 10- Heldt, H., 1977. Plant biochemistry and molecular biology, Oxford Univ, Press, Oxford, Uk .
- 11- Hendershot, W.H., 1985. An inexpensive block digester for nitrogen determination in soil samples, Communication of Soil Science and Plant Analyses, 16, 1278.
- 12- Hendry, G.A.F. & A.H. Price, 1993. Stress indicators: Chlorophyll and carotenoids. In: Methods in comparative plant ecology. eds., Hendry, G.A.F. and Grime, J.P., Chapman & Hall, London, 148-152.
- 13- Jackson, M.B., A.R., Belcher, & P. Brain, 1994. Measuring shortcoming in culture aeration and their consequences for explant development. In: Physiology, growth and development of plant in culture. eds., Lumsden, P.J., Nicholas, R.J. and Davies, W.J., Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp.191-203.
- 14- Jurik, T.W., 1986. Temporal and spatial pattern of specific leaf weight in successional northern hardwood tree species. American Journal of Botany, 73(8), 1083-1092.
- 15- Kozai, T. & Y. Iwanami, 1988. Effects of Co2 enrichment and sucrose concentration under high photon

- fluxes on plantlet growth of carnation in tissue culture during the preparation stage. *Journal of Japan Society of Horticulture Science*, 57(2), 279-288.
- 16- Kozai, T., 1991. Photoautotrophic micropropagation. *in vitro cell development biology*, 27p.
- 17- Langford, P.J. & H. Wainwright, 1987. Effects of sucrose concentration on the photosynthetic ability of rose shoots *in vitro*. *Annals of Botany*, 60,633-640.
- 18- Matysiak, B. & J. Nowak, 1994. Carbon dioxide and light effects on photosynthesis, transpiration and *ex vitro* growth of *Homalomena planntleets*. *Scientia Horticulturae*, 57,353-358.
- 19- Pospisilova, J., J. Solarova, & Ondrej, H. 1988. The photosynthesis characteristics during the micropropagation of tobacco and potato plants. *Photosynthetica*, 22(2), 205-213.
- 20- Preece, J.E. & E.G. Sutter, 1991. Acclimatisation of micropropagated plants of the green house and field. In: *Micropropagation-Technology and application*, Debergh, P.C., and Zimmerman, R.H., Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, 71-94.
- 21- Reuther, G., 1988. Comparative anatomical and physiological studies with ornamental plants under *in vitro* and greenhouse conditions. *Acta Horticulture*, 226, 91-98.
- 22- Salisbury, F.B. & C.W. Ross, 1992. *Plant Physiology*, Wadsworth Inc. USA.
- 23- Short, K.C., K. Wardle, B.W.W. Grout, & I. Simpkins, 1984. *in vitro* physiology and acclimatisation of aseptically cultured plantlets. In: *Plant tissue and cell culture-An application to crop improvement*. eds, Nowak, f.J., Havel, L. and Dolezal, J., Czechoslovak Academy of Science, Prague, pp.475-486.
- 24- Smith, E.F., A.V. Roberts, & J. Mottely, 1990. preparation *in vitro* of chrysanthemum for transplantation to soil. 3. Improved resistance to desiccation conferred by reduced humidity. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 21. 141-145.
- 25- Smith, M.A.L., J.P. Palta & B.H. McCown, 1986. Comparative anatomy and physiology of microcultured, seedling and greenhouse-grown Asian white brich. *Journal of American Society of Horticulture Science*, 111(3), 437-442.
- 26- Wantabe, N., J.R. Evans, & W.S. Chow, 1994. Changes in the photosynthesis properites of Australian wheat cultivars over the last century, *Australian Journal of Plant physiology*, 21, 169-183.
- 27- Ward, N.I., 1995. Trace elements. In: *Environmental analytical chemistry*, eds, Fifield, F.W. and Haines, P.J., Chapman & Hall, Glasgow, UK., 342-343.
- 28- Van Huylenbroeck, J.M. & P.C. Debergh, 1996. Impact of sugar concentration *in vitro* on photosynthesis and carbon metabolism during *ex vitro* acclimatisation of *Spathiphyllum* Plantlets. *Physiologia plantarum*, 96, 298-304.
- 29- Yue.D., A. Gsselin, & Y. Desjardins, 1993. Re-examination of the photosynthetic capacity of *in vitro*-cultured strawberry plantlets. *Journal of Amercian Society of Horticulture Science*, 118(3), 419-424.

A Study on ~~Physiological~~ factors Affecting Wild cherry (*Prunus avium*) plantlets in vitro and ex vitro

by

S. Karamzadeh⁽¹⁾

B. Azborn⁽²⁾

G. Wilson⁽³⁾

Abstract

in vitro plants are grown in an artificial environment, this leading to the development of a number of physiological characteristics. In ~~This experiment~~ the growth and photosynthetic performance of wild cherry (*Prunus avium*) cultured under different growth conditions, both in vitro and ex vitro (after 2 and 4 weeks) were investigated. Maximum photosynthetic rate (P_m) for in vitro plantlets was $1.3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. P_m increased approximately 4 fold, two weeks after being transferred into ex vitro, as compared to originally ex vitro plantlets. In this experiment leaf biomass accumulation and leaf area in vitro were lower, as consistent with P_m . No relations were found between P_m , leaf chlorophyll (a+b) content, and a:b ratio. Both a low Rubisco activity and a reduced electron transport capacity of in vitro plantlets underlie the low P_m . Since the leaf nitrogen concentration of in vitro plantlets was significantly higher than that of plantlets grown ex vitro it can be assumed that Rubisco activity rather than amount of this enzyme limits the P_m of in vitro plantlets.

Key words: Tissue culture, Wild cherry, Physiology, Photosynthesis, Rubisco

1- Assistant prof., Research Cent. of ~~Forest~~

2,3- Professors, Department of ~~Plant Sciences~~, UCD University, ~~Dublin~~, ~~Ireland~~