

بسم الله الرحمن الرحيم

جمهوری اسلامی ایران
وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران (۱۰)

- ۱- رابطه آنزیم RuBisCO و بازده فتوستزی گیاه آلوکک در کشت درون‌شیشه‌ای سعید کرمزاده
- ۲- بهینه‌سازی روش استخراج DNA در بادام (*Amygdalus spp.*) سعید کلخداei و سید رضا طبائی عقدائی
- ۳- روش کشت تحمدان بالغ در تکثیر جنسی گیاه *Argania spinosa* L. Skeels علی جعفری مفید‌آبادی و علی اقصاصادی
- ۴- بررسی اثر کربنات کلسیم بر تحمل به شوری برخی از ارقام یونجه مهرداد یارنیا ، حسین حیدری شریف آباد و فرخ رحیم‌زاده خویی
- ۵- دورگ‌گیری جنسهای چاودار (*Hordeum spontaneum*) و جو وحشی (*Secale cereale*) فرجزا کاظمی سعید
- ۶- بررسی تکثیر غیرجنسی شاه‌بلوط (*Castanea sativa*) به روش کشت سر شاخهای طبیه سهیلا نراقی
- ۷- بررسی عملکرد بذر و اجزاء عملکرد در ۲۹ رقم و اکوتیپ علف باغ *Dactylis glomerata* علی اشرف، علی بشیرزاده و حسین حیدری شریف آباد
- ۸- میکسوپلولئیدی و آنیوپلولئیدی در گونه‌هایی از لولیوم (*Lolium spp.*) حسین میرزایی ندوشن و هاجر ندرخانی

تحقیقات زنگلی کیاهان مرتعی و جنگلی ایران/
تألیف بخش زنگلی و فیزیولوژی و بخش بانک
ژن. — تهران: موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع،
۱۳۷۹.

ج: مصور، جدول.

ISBN 964-473-046-1 (دوره) ISBN 964-473-056-9: ۱۰۰۰ ریال (ج. ۱)
ISBN 964-473-067-4: ۱۰۰۰ ریال (ج. ۲)
ISBN 964-473-147-6: ۹۶۴-۴۷۳-۱۵۰-۶ (ج. ۹)
ISBN 964-473-12۰۰: ۱۲۰۰ ریال (ج. ۱۰)

این کتاب از جلد دوم به بعد با عنوان "تحقیقات زنگلی و اصلاح کیاهان مرتعی و جنگلی ایران" چاپ شده است.

مفحه عنوان به انگلیسی: Iranian rangelands and Forests plant genetic research.
کتابنامه.

ج. ۱ (چاپ اول: ۱۳۸۲).
۱. کیاهان مرتع -- ایران -- زنگلی. ۲. زنگلی کیاهی -- ایران. ۳. کیاهان مرتع -- ایران -- کشت و اصلاح. الف. موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. بخش زنگلی و فیزیولوژی. ب. موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. بخش بانک ژن. ج. موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع. د. عنوان: تحقیقات زنگلی و اصلاح کیاهان مرتعی و جنگلی ایران.

۶۳۱/۵۲۰۹۵۸

SB ۱۲۳/۵۷

کتابخانه ملی ایران * ۱۰۳۵۴-۷۹۰

کمیته انتشارات

عادل جلیلی	محمدحسن عصاره	علی اصغر معصومی
عبدالرحمن حسینزاده	پرویز بایخانلو	حسین میرزاگی ندوشن
عباس قمری زارع		

شناختن:

نام کتاب: تحقیقات زنگلی و اصلاح کیاهان مرتعی و جنگلی ایران (۱۰)
ناشر: موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع
ویراستار علمی: یحیی دهقان سورکی، عباس قمری زارع، محمدحسن عصاره، حسین میرزاگی ندوشن، سیدرضا طبایی عقدابی، علی جعفری مقدمآبادی و سعید کرمزاده
ویراستار ادبی: هوشنگ فرخجسته

سال انتشار: ۱۳۸۱

نوبت چاپ: اول

تیراز: ۱۵۰۱ جلد

چاپخانه:

ناظرچاپ: حسن سالارنیا

قیمت: ۱۲۰۰۰ ریال

شابک دوره‌ای: ۹۶۴-۴۷۳-۰۴۶-۱ ۹۶۴-۴۷۳-۰۴۶-۱

ISBN: 964-473-046-1 ۹۶۴-۴۷۳-۱۵۰-۶ شابک: ۹۶۴-۴۷۳-۱۵۰-۶

هرگونه استفاده با اختیار مجوز و ذکر مأخذ مجاز است.

رابطه آنزیم RuBisCO و بازده فتوستترزی گیاه آلوکک در کشت درونشیشه‌ای

سعید کرمزاده^۱

چکیده

گیاهان رشد کرده در محیط درونشیشه‌ای (*in vitro*) نوعی نارسانی در رشد و فتوستترز از خود نشان می‌دهند. بهمنظور یافتن نقش آنزیم فتوستترزی RuBisCO در بازده فتوستترزی (Pm) این گونه گیاهان و عواملی که بر فعالیت این آنزیم تاثیر دارد این طرح تحقیقاتی انجام پذیرفت. در این طرح بعضی از عوامل فیزیولوژیکی بر روی گیاهچه‌های آلوکک (*Prunus avium* L.) در سه شرایط رشدی مختلف (*in vitro* و *ex vitro* بعد از ۲ هفته و *ex vitro* بعد از ۴ هفته) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در شرایط درونشیشه‌ای در مقایسه با برونشیشه‌ای (*ex vitro*), Pm به مراتب کمتر بود. نوسانها و تغییرات Pm در کلیه تیمارها به تغییرات فعالیت RuBisCO وابستگی داشت. همچنین در حالی که با تغییرات شدت نور در طی دوره رشد از ۵۰ به $۲۰۰ \text{ } \mu\text{mol photon m}^{-2}\text{s}^{-1}$ فعالیت این آنزیم در شرایط درونشیشه‌ای تغییر نمود، در محیط طبیعی برونشیشه‌ای با تغییر و افزایش نور فعالیت آنزیم نیز افزایش یافت. هیچ تفاوت قابل توجهی بین غلظت و محتوای نسبی RuBisCO برگ در سه شرایط رشدی دیده نشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت Pm گیاهچه‌های درونشیشه‌ای به وسیله فعالیت کم RuBisCO محدود می‌شود. نتایج این تحقیق فعالیت پایین این آنزیم را به وجود ساکاراز در محیط کشت و به غلظت پایین منیزیم برگ مربوط می‌داند.

واژه‌های کلیدی: کشت بافت، فتوستترز، RuBisCO، نور، آلوکک
(*Prunus vium* L.)

مقدمه

آنژیم ریبولوز ۵-بیوفسفات کربوکسیلاز - اکسیژنаз (RuBisCO) فراوانترین پروتئین شناخته شده جهان است که در حدود نیمی از پروتئینهای برگ گیاهان را تشکیل می‌دهد. این آنزیم تثیت بیولوژیکی 10^{10} تن CO_2 اتمسفر را کاتالیز می‌کند. RuBisCO استخراج شده از موجودات فتوستتر کننده، اوکتامری است که از ۸ زیر واحد بزرگ^۱ (LSU)، جرم مولکولی kDa ۵۰-۵۵ و ۸ زیر واحد کوچک^۲ (SSU، جرم مولکولی ۱۲-۱۵ kDa) تشکیل شده است. LSU در کلروپلاست سلول سنتر شده و با SSU که در سیتوپلاسم سنتر و به داخل کلروپلاست سلول وارد شده، تشکیل مولکول RuBisCO را می‌دهند (Hall و Rao، ۱۹۹۴). در مرحله واکنشهای تاریکی فتوستتر در چرخه کالوین، این آنزیم عمل تثیت گاز CO_2 را بر روی ریبولوز بیو فسفات (RuBP) انجام می‌دهد. در این حال گزارش شده است که گیاهچه‌های حاصل از ریز ازدیادی از ظرفیت فتوستتری پایینی به خصوص در محیط درون‌شیشه برخوردار هستند. آزمایشهای انجام شده بر روی گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای کلم و توتفرنگی جذب بسیار کم دی‌اکسیدکربن را در مقایسه با گیاهان همسن که در گلخانه رشد کرده بودند نشان داد (Grout و Price، ۱۹۸۷ و ۱۹۸۸). همچنین میزان فتوستتر اندازه‌گیری شده گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت درخت توس^۳، در مقایسه با گیاهچه‌های رشد کرده در گلخانه، کمتر از نصف بود (Smith و همکاران، ۱۹۸۶). از عواملی که می‌تواند در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای بر روی میزان فتوستتر موثر باشد می‌توان به میزان غلظت و یا فعالیت RuBisCO (Donkin و Groute) و Eccher Noe (Eccher Noe، ۱۹۹۴ و Lees، ۱۹۹۴) اشاره نمود. این عوامل محدودکننده فتوستتر از جمله دلایل کاهش زنده‌مانی و عدم رشد مناسب

1- Large Sub Unit

2- Small Sub Unit

3- Asian Birch

گیاهچه‌های حاصل از کشت درون‌شیشه‌ای است. به‌منظور تعیین رابطه و نقش آنزیم RuBisCO بر بازده فتوستتری و در نتیجه رشد و سازگاری این گونه گیاهان، مطالعه‌ای موردنی بر روی گیاهچه‌های آلوک انجام گرفت.

مواد و روشها

ریز ساقه‌های آلوک (*Prunus avium* L.) از خانواده Rosaceae در محیط کشت Skoog (1962) تغییریافته حاوی 1 mg l^{-1} IBA و 1 mg l^{-1} GA₃ به عنوان تنظیم‌کننده‌های رشد، ۲۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷/۵ در لیتر آگار مستقر و در اتاق رشد با شرایط ۲۵ درجه سانتیگراد روز و ۱۸ گرم در لیتر آگار مستقر و در اتاق رشد با شرایط ۱۶ ساعته و تحت تابش $200 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ درجه سانتیگراد شب و دوره نوری ۱۶ ساعته و تحت تابش $50 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ در میانی ۱ آکسین (IBA)، منتقل و تحت شرایط محیطی مشابه رشد داده شدند. زمانی که ساقه‌ها در محیط کشت ریشه‌زایی شروع به ریشه دار شدن نمودند (طول ریشه ۱۰-۲ mm بعد از ۴-۳ هفته)، همه گیاهچه‌ها به خاک (*ex vitro*) منتقل شدند. این گیاهچه‌ها در محفظه‌هایی پوشیده با در پلاستیکی شفاف به طور جداگانه به مدت ۴ هفته نگهداری شدند، به طوری که رطوبت نسبی (RH) حدود ۹۵٪ و نور $200 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ بود. در انتهای مرحله رشد درون‌شیشه‌ای و همچنین به فاصله ۲ و ۴ هفته بعد از انتقال و رشد در محیط خاک تعداد ۵ تا ۶ گیاهچه به طور تصادفی انتخاب و بعضی از مشخصه‌های فیزیولوژیکی آنها، از جمله بازده فتوستتری (Pm)، و مقدار و فعالیت RuBisCO اندازه‌گیری شد. علاوه بر آن به‌منظور تعیین اثرات شدت تابش نور، بعد از محیط شاخه‌زایی تعدادی از گیاهچه‌ها در محیط ریشه‌زایی و تحت تابش نور $200 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ نیز رشد داده شده و میزان فعالیت RuBisCO در این شدت نوری اندازه‌گیری با تابش نور $50 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ مقایسه شد.

در این آزمایش حداکثر توان فتوستترزی (Pm) با استفاده از دستگاه IRGA¹ و به کمک محفظه برگ پارکینسون مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برآورد فعالیت آنریم با استفاده از منحنی واکنش فتوستترزی گیاه به تغییرات گاز دی‌اکسیدکربن (به کمک دستگاه IRGA) و با استفاده از معادله پیشنهادی Thompson و همکاران (۱۹۹۲) تعیین شد. میزان تابش نور در اتفاق رشد و گلخانه با دستگاه PAR² متر سنجیده گردید. برای برآورد میزان پروتئین (RuBisCO) از نمونه‌های برگ‌های تازه و یخزده (در نیتروژن مایع) و از روش الکتروفورز ژل SDS استفاده شد (Sambrook and Hendershot, ۱۹۸۹) و نیتروژن برگ با استفاده از روش میکرو کجلداال (Hendershot, ۱۹۸۵) و منیزیم با هضم برگ به وسیله مخلوط اسیدهای نیتریک و کلریدریک و به کمک دستگاه اسپکتروفوتومتر جذب اتمی اندازه‌گیری شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار انجام گرفت. برای مقایسه میانگین تیمارها (محیط رشد ex vitro و in vitro و ۴ هفته بعد) از تجزیه واریانس (ANOVA) و نرم افزار آماری (Data Desk V.4.1) استفاده شد. در جایی که تیمارها اختلاف معنی‌دار داشتند با استفاده از آزمون LSD بین میانگین‌ها مقایسه بعمل آمد و نمودارها نیز با کاربرد نرم افزار (MS Excel 97) رسم گردیدند.

نتایج

میزان بازده فتوستترزی (Pm) گیاهچه‌ها در شرایط درونشیشهای کمتر از شرایط برون‌شیشهای بود. با گذشت ۲ و ۴ هفته از زمان انتقال به محیط برون‌شیشه Pm نیز بهبود یافته و افزایش یافت (شکل ۱a). میزان غلظت و محتوای آنریم RuBisCO در سه شرایط رشدی به طور نسبی مشابه بود ولی میزان فعالیت آنریم گیاهچه‌ها در شرایط درون‌شیشهای بطور معنی‌داری از برون‌شیشهای کمتر بود (شکل ۱b).

1- Infra Red Gas Analyzer APP-systems CIRAS

2- Photosynthetically Active Radiation

اندازه‌گیری نیتروژن برگ گیاهچه‌ها نشان داد که غلظت این عنصر در شرایط درون‌شیشه به طور معنی‌داری از برونوشیشه بیشتر بود (شکل ۲a). برخلاف این، میزان یون مسیزم (Mg^{2+}) برگ در شرایط درون‌شیشه به مراتب از برونوشیشه کمتر بود (شکل ۲b).

میزان تابش نور در شرایط درون‌شیشه‌ای تاثیری بر میزان Pm نداشت ولیکن در شرایط برونوشیشه‌ای تاثیر داشت. به طوری که در شرایط برونوشیشه‌ای با میزان نور بیشتر ($\mu mol photon m^{-2}s^{-1}$) میزان Pm نیز افزایش یافت (شکل ۳a). فعالیت آنزیم RuBisCO در شرایط درون‌شیشه‌ای و با دو تیمار نوری تغییر ننمود ولی در تحت شرایط برونوشیشه‌ای، با وجود نور بیشتر در طول رشد فعالیت این آنزیم نیز بیشتر شد (شکل ۳b).

نتایج و بحث

در شرایط درون‌شیشه‌ای Pm گیاهچه‌های آلوك به مراتب از گیاهچه‌های برونوشیشه‌ای کمتر بود. از طرفی میزان فعالیت RuBisCO نیز در شرایط درون‌شیشه کمتر و با روند تغییرات Pm مشابه بود (شکل ۱). از عوامل محدود کننده فتوستتر میزان نیتروژن برگ می‌باشد. کاهش میزان نیتروژن از طریق محدودیت در ساخت آنزیم RuBisCO فعالیت فتوستتری گیاه را محدود می‌کند (Evans, ۱۹۹۶). برخلاف انتظار میزان غلظت نیتروژن در برگ‌های گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای در حدی مناسب و حتی بیشتر از گیاهچه‌های بیرون شیشه‌ای بود. بنابراین از آنجایی که میزان نسبی آنزیم RuBisCO (به کمک ژل الکتروفورز) حاکی از تشابه میزان آن در گیاهچه‌های درون و برونوشیشه‌ای دارد، کاهش فعالیت کاتالیزوری این آنزیم نقش مستقیمی در کاهش راندمان فتوستتری گیاه می‌تواند داشته باشد. از عوامل محدود کننده فعالیت این آنزیم به تجمع و عدم مصرف قند در سلول گیاه و اثرات تنظیم بازپس‌خوری^۱ آن می‌توان

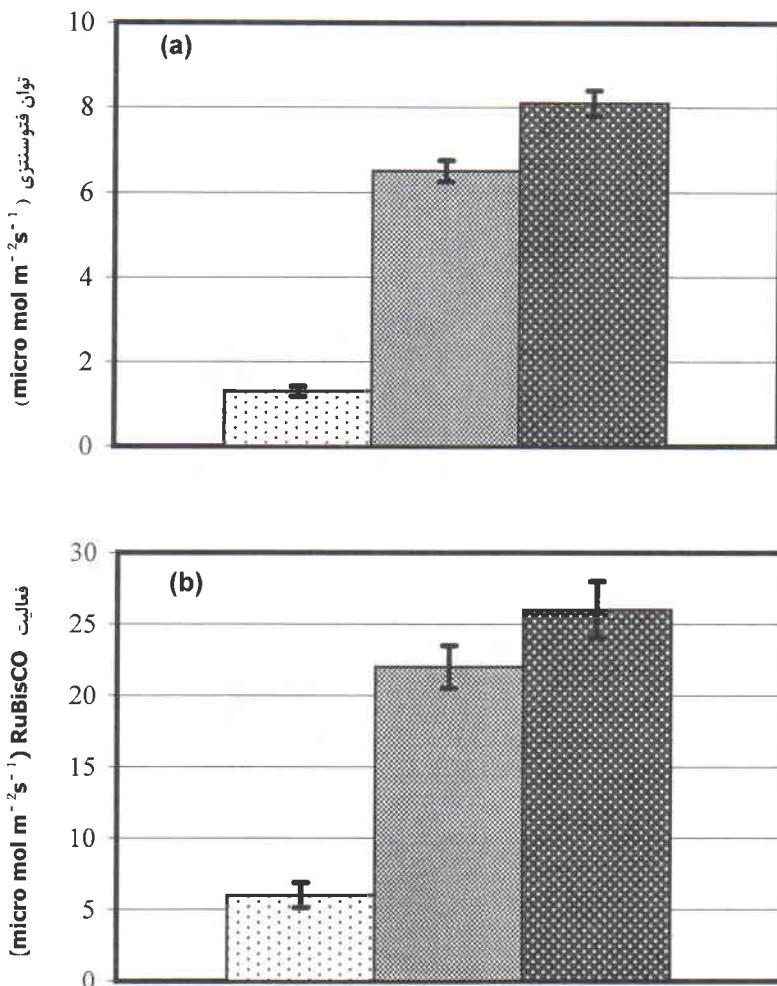
1- feedback regulation

اشاره نمود. از آنجایی که به میزان قابل توجهی از ساکاراز در محیط کشت درونشیشه‌ای گیاهان استفاده می‌شود این می‌تواند از عوامل محدودکننده فعالیت RuBisCO باشد (Groß و همکاران، ۱۹۹۶ و Gourichon-Genoud و همکاران، ۱۹۹۳). همچنین گزارش شده است که بین کاهش فعالیت کاتالیزوری این آنزیم و کمبود منیزیم (Mg^{2+}) برگ رابطه وجود دارد (Heldt، ۱۹۹۷). نتایج این آزمایش نیز نشان داد که میزان این یون در گیاهچه‌های آلوکک درونشیشه‌ای به طور معنی‌داری از برونشیشه‌ای پایین‌تر بود (شکل ۲b) که تاییدی بر نظر Heldt مبنی بر دخالت این یون دارد.

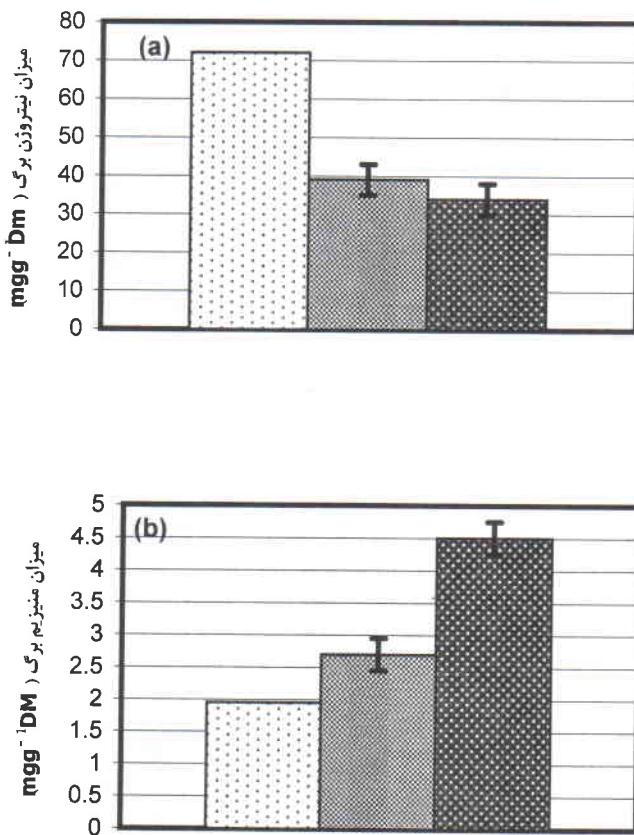
عموماً فعالیت RuBisCO در تمام تیمارهای برونشیشه‌ای در تحت شرایط رشد با نور کم، میزان کمتری را نشان داد، واکنش که شبیه گیاهان سایه‌زی^۱ می‌باشد (Karamzadeh، Chaves، ۱۹۹۸ و ۱۹۹۴). هر چند هیچ تفاوتی در فعالیت RuBisCO در محیط درونشیشه و تحت مقادیر مختلف نور دیده نشد. این تغییرات و نوسانات فعالیت RuBisCO با تغییرات در شرایط مختلف رشدی و نوری هماهنگی داشت. به طور کلی آن چه که از این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت آن است که محدود شدن فعالیت آنزیم RuBisCO در محیط درونشیشه، و افزایش فعالیت آن در بیرون شیشه، بطور مستقیم در نارسایی‌های فتوستترزی گیاهچه‌ها آلوکک تاثیر دارد. این محدودیت می‌تواند با دقت در کاربرد میزان مناسب ساکاراز و منیزیم در محیط کشت بهبود یافته و در نهایت راندمان ریز از دیادی گیاهان افزایش یابد.

تشکر و قدردانی

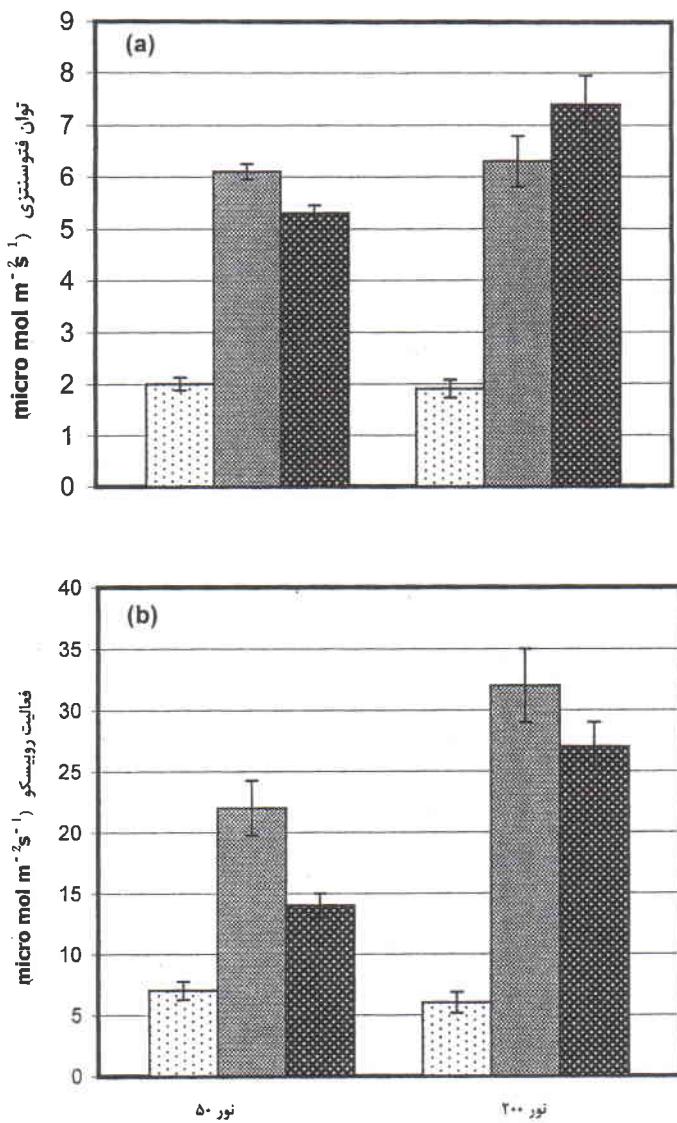
بدینوسیله از کلیه دست اندکاران و همکارانی که در انجام این آزمایش اینجانب را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.



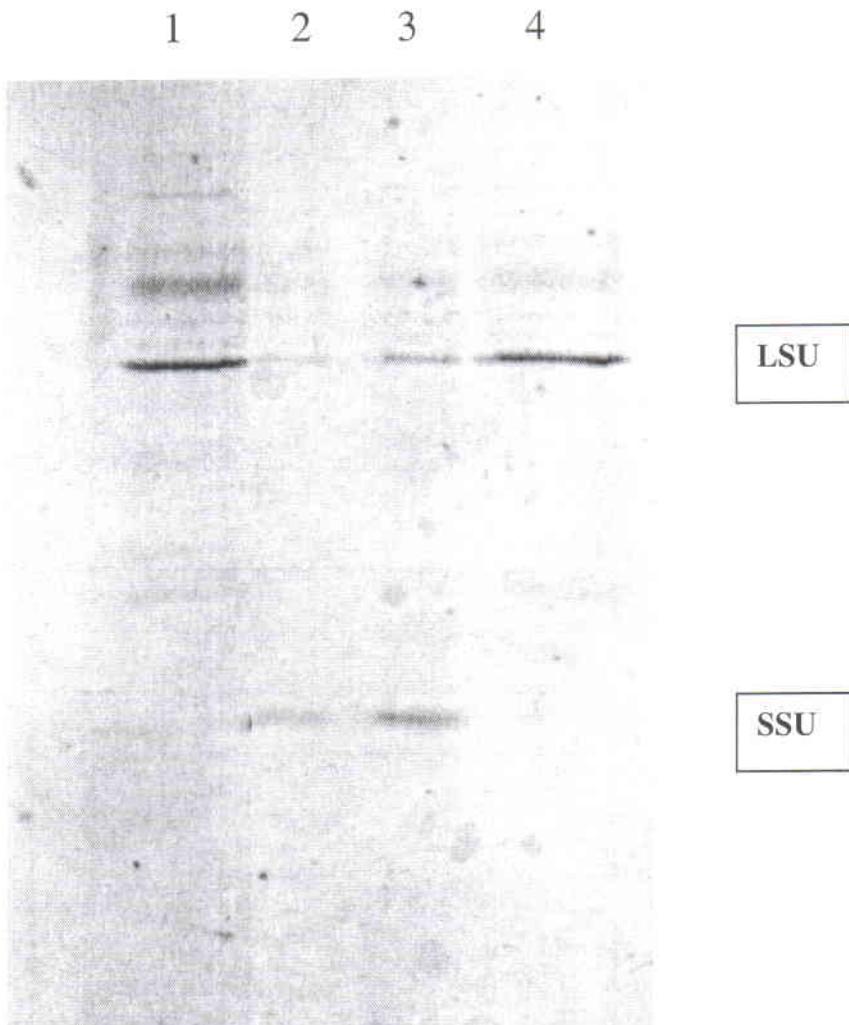
شکل شماره ۱ - میزان توان فتوستزی (a) و فعالیت (b) گیاهچه‌های آلوکک در ۳ شرایط رشدی درونشیشه‌ای (), برونشیشه‌ای بعد از ۲ هفته () و برونشیشه‌ای بعد از ۴ هفته ()



شکل شماره ۲ - میزان نیتروژن (a) و منیزیم (b) برگ (در ماده خشک) گیاهچه‌های آلوکک در سه شرایط رشدی درونشیشهای (□)، برونشیشهای بعد از ۲ هفته (▨) و برونشیشهای بعد از ۴ هفته (▩)



شکل شماره ۳- میزان توان فتوسنتزی و فعالیت روپیسکو در تحت ۲ شدت نوری ۵۰ و ۲۰۰ میکرومول / متر مربع / ثانیه در ۳ شرایط رشدی درونشیشه‌ای (●)، برونشیشه‌ای بعد از ۲ هفته (■) و برونشیشه‌ای بعد از ۴ هفته (▲).



شکل شماره ۴- ژل SDS پلی آکریلامید پروتئین برگهای گیاهچه‌های آلوکک در شرایط درونشیشهای (خط ۱) و برونشیشهای بعد از ۲ هفته (خط ۲، ۳ و ۴). LSU زیرواحدهای بزرگ و SSU زیرواحدهای کوچک مولکول آنزیم RuBisCo می‌باشند.

منابع

- Chaves, M.M., 1994. Environmental constraints to photosynthesis in ex vitro plants. In: Physiology, growth and development of plants in culture (eds., Lumsden, P.J., Nicholas, J.R. and Davies, W.J.), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 1-18
- Evans, J.R., 1996. Developmental constraints on photosynthesis: effects of light and nutrition. In: Photosynthesis and the environment (ed, Baker, N.R.), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 281-304
- Heldt, H., 1997. Plant biochemistry and molecular biology. Oxford University Press, Oxford, UK
- Hendershot, W.H., 1985. An inexpensive block digester for nitrogen determination in soil samples. Communication of Soil Science and Plant Analyses, 16, 1271-1278
- Genoud-Gourichon, C., 1993. Effects of pre-treatment temperature and cap closure on photosynthesis potentialities of potato cultivated in vitro. Photosynthetica, 29: 73-79
- Groß, U., F.Gilles, L.Bender, P.Berghofer, K. and Neumann, 1993. The influence of sucrose and an elevated CO₂ concentration on photosynthesis of photoautotrophic peanut (*Arachis hapogaea* L.) cell cultures. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 33, 143-150
- Grout, B.W.W. and M.E Donkin, 1987. Photosynthetic activity of Cauliflower meristem culture in vitro and at transplanting into soil. Acta Horticulturae, 212, 323-327
- Grout, B.W.W., 1988. Photosynthesis of regenerated plantlets in vitro, and the stresses of transplanting. Acta Horticulturae, 230, 129-135
- Grout, B.W.W. and F. Price, 1987. The establishment of photosynthetic independence in strawberry cultures prior to transplanting. In: Plant micropagation in horticultural industries, (eds, Ducate, G., Jacob, M. and Simeon, A.), Presses universitaires, Liege, Belgium, pp. 55-60
- Hall, D.O. and K.K Rao, 1994. Photosynthesis. Cambridge University Press, UK. pp. 175-179
- Karamzadeh, S., 1998, Ph.D. thesis, Department of Botany, National University of Ireland (UCD)
- Lees, R.P., 1994. Effects of the light environment on photosynthesis and growth in vitro. In: Physiology, growth and development of plants in culture (eds., Lumsden, P.J., Nicholas, J.R. and Davies, W.J.), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, pp. 31-46

- Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia plantarum*, 15, 473-497
- Noe, N. T. and Eccher, 1994. Influence of irradiance on in vitro growth and proliferation of *Vaccinium corymbosum* (high bush blueberry) and subsequent rooting in vitro. *Physiologia Plantarum*, 91, 273-275
- Sambrook, J., E.F. Fritsch, and T.M Maniatis, 1989. Molecular cloning, a laboratory manual. Cold Spring harbor Laboratory Press. New York
- Smith, M.A.L., J.P Palta, and B.H McCown, 1986. Comparative anatomy and physiology of microcultured, seedling, and greenhouse-grown Asian white birch. *Journal of American Society of Horticulture Science*, 111 (3), 437-442
- Thompson, W.A., L.K Huang, and P.E Kriedemann, 1992. Photosynthetic response to light and nutrients in sun-tolerant and shade-tolerant rainforest trees. II. Leaf gas exchange and component processes of photosynthesis. *Australian Journal of Plant Physiology*, 19: 19-42.

Relationship between RuBisCO and photosynthetic efficiency of tissue cultured plantlets

Saeed Karamzadeh¹

Abstract

In vitro plants show an abnormality in growth and photosynthetic performance. In order to understand the role of the main photosynthetic enzyme (RuBisCO) in photosynthetic efficiency (P_m), and the factors affecting activity of this enzyme, an experiment was carried out. The plantlets of wild cherry were examined for some physiological parameters, under three growth conditions (in vitro, and ex vitro after 2 and 4 weeks). The observations showed that under in vitro conditions P_m is too low compared to ex vitro conditions. Changes in P_m of different treatments were consistent with changes in RuBisCO activity. No significant difference was observed between leaf RuBisCO content in vitro and ex vitro. No changes in RuBisCO activity were observed under different growth irradiances (50 and $200 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) in in vitro condition, while under ex vitro conditions higher RuBisCO activity was observed under higher growth irradiance. Therefore, P_m of in vitro plantlets was affected by low activity of RuBisCO. As previously reported and the results of this study also support it, the low activity of this enzyme could be attributed to presence of sucrose in culture medium and to the low concentration of magnesium ions in leaf of in vitro plantlets.

Key words: photosynthesis, RuBisco, tissue culture, light, wild cherry