"مجله علوم زراعی ایران"
جلد یازدهم، شماره ٤، زمستان ۱۳۸۸

بررسی تغییرات حجم واکوئل در سلول‌های مریستم نوک ریشه برنج(*Oryza sativa* L.) تحت تاثیر تنش شوری

Study of changes in volume of vacuole in meristem cells at root tip of rice (*Oryza sative* L.) under saline conditions

سمیه قلی‌زاده[۱]، فواد مرادی[۲] و ایمان نعمتی[۳]

چکیده

قلی‌زاده، س.، ف. مرادی و ا. نعمتی. بررسی تغییرات حجم واکوئل در سلول‌های مریستم نوک ریشه برنج (*Oryza sativa* L.) تحت تاثیر تنش شوری. **۱۳۸۸. مجله علوم زراعی ایران.۱۱(٤): ٣٦٦-٣٥٣.**

در این آزمایش تغییرات حجم واکوئل در سلول‌های منطقه مریستمی ریشه، سلول‌های کشت تعلیقی و پروتوپلاست‌های سه رقم برنج شامل IR29 **(رقم حساس به شوری) و اهلمی طارم و** IR651 **(ارقام متحمل به شوری) تحت تاثیر تیمارهای مختلف شامل ۰/۱مولار نمک کلرید سدیم ، ۰/۲مولار مانیتول،۲۰ نانومولار بافیلومایسین** A1**، ۰/۱مولار کلرید سدیم همراه با۲۰ نانومولار بافیلومایسین** A1 **و آب مقطر (شاهد) قرار داده شدند. پس از ۳ ، ۸ و ٢٤ ساعت اعمال تیمارها، نمونه برداری انجام شد و تغییرات حجم واکوئل آنها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در ارقام متحمل به شوری افزایش در حجم واکوئل تنها در تیمار کلرید سدیم اتفاق افتاد. تیمار سلول‌ها با محلول مانیتول با اسمولاریته مشابه با ۰/۱مولار کلرید سدیم نیز تغییرات مشخصی را در حجم واکوئل ایجاد نکرد. به نظر می‌رسد که افزایش حجم واکوئل ناشی از اثرات ویژه نمک می‌باشد. بعلاوه بافیلومایسین** A1 **از افزایش حجم واکوئلی که در اثر تیمار کلرید سدیم به وجود آمده بود، به طورکامل جلوگیری کرد که دلالت بر نقش اساسی** V-ATPase **در ایجاد انرژی برای فعالیت آنتی پورتر** Na+/H+ **و تسهیم واکوئلی سدیم در سلول‌های برنج دارد.**

واژه‌های کلیدی: بافیلومایسینA1**، برنج، پمپ** V-ATPase**، تنش شوری و مریستم نوک ریشه.**

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۵/۲۸

۱- مربی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرمشهر
۲ - استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی، کرج (مکاتبه کننده)
۳- مربی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خرمشهر

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]

مقدمه

در حدود ۴۰ درصد از زمین‌های کشاورزی در سرتاسر جهان با مشکل شوری مواجه است (Gorham, 1992). در حالی که انتظار می‌رود، جمعیت زمین تا سال ۲۰۲۵ به ۸/۵ میلیارد نفر برسد، افزایش سریع تقاضا برای تولید مواد غذایی امری اجتناب ناپذیر می‌باشد (Ghassemi *et al.*, 1995). شوری ۷ درصد از زمین‌های دنیا یعنی حدود ۹۳۰ میلیون هکتار را تحت تاثیر قرار داده و روز به روز این مناطق شور درحال گسترش می‌باشند. مطالعات جهانی نشان داده که بهره برداری از اراضی کشاورزی در طی ۴۵ سال گذشته باعث شور شدن ۶ درصد از آنها شده است. بر اساس آمارهای موجود، ایران پس از هند چین و پاکستان بیشترین درصد اراضی شور را در سطح جهانی دارد (Kafi, 2008). از این رو، نیاز به تولید ژنوتیپ‌های متحمل به شوری در گیاهان الزامی است تا از طریق به زیر کشت بردن اراضی شور و افزایش تولید در این مناطق بتوان تقاضای رو به گسترش مواد غذایی را برآورده نمود. دستیابی به این هدف از طریق اصلاح نباتات، نیازمند شناخت صحیح صفات فیزیولوژیک موثر در تحمل به شوری است تا بر اساس شناسایی به نقش این صفات در تحمل به شوری به ژنوتیپ های جدید تولید شوند.

در اکثر خاک‌های شور، سدیم و کلر یون‌های غالب بوده که معمولا مقدار آنها بیش از نیاز گیاه می‌باشد. مقدار بیش از حد نمک‌های محلول در محیط اطراف ریشه موجب تنش اسمزی می شود که ممکن است باعث اختلال در روابط آبی گیاه، اختلال در جذب و مصرف عناصر ضروری و همچنین تجمع یون‌های سمی شود. در نتیجه چنین تغییراتی، پروتئین‌هایی مانند ADF4 (Actin depolymerizing factor 4) که در حالت عادی در گیاه دیده نمی‌شوند، تظاهر خواهند یافت، در حالیکه بیان تعدادی دیگر مانند SOD [Mn] (Superoxide dismutase)، RP-10 (IMP dehydrogenase) و Rbcl (Rubisco large subunit1) افزایش و تعدادی دیگر مانند SOD [Cu-Zn] سیتوزولی و RuBisCo LS (Rubisco large subunit) کاهش خواهند یافت (Salekdeh and Komatsu, 2007)، که درنتیجه این تغییرات، متابولیسم گیاه تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Lacerda *et al.*, 2003; Munns, 2002). مونس و همکاران (Munns *et al.*, 2006) تحمل به تنش شوری در غلات را در چند سازوکار شامل محدود سازی ورود نمک، تحمل بافت (Tissue tolerance)، کده بندی نمک (Salt compertmentation)، دفع نمک (Salt execution)، تحمل به تنش اکسیداتیو و تنظیم اسمزی طبقه نموده‌اند.

تنظیم اسمزی در گیاهان عالی به معنای حفظ فشار آماس به وسیله کاهش پتانسیل اسمزی، در اثر افزایش تجمع املاح خاص (قند های احیاء، آمینو اسید های آزاد، پرولین، مالات، سیترات، ترکیبات آمونیومی چهارتایی، K^+، $NO3^-$، Na^+ و Cl^-) در واکنش به کمبود آب می باشد. بعضی از گیاهان با کاهش پتانسیل اسمزی قادر به تحمل خشکی و شوری (خشکی ناشی از تجمع املاح درخاک) می‌باشند (Hasegawa *et al.*, 2000; Serraj and Sinclair, 2002). در حال حاضر مشخص شده است که سلول‌ها در طی تنظیم اسمزی، همزمان با سنتز و تجمع محلول‌های آلی سازگار در سیتوپلاسم، تمایل به تجمع یون‌های جذب شده، در واکوئل‌های خود دارند تا تعادل اسمزی بین این دو بخش (واکوئل و سیتوپلاسم) حفظ شود (Hasegawa *et al.*, 2000). در این صورت دو مزیت برای سلول تحت تنش شوری به وجود می‌آید؛ از یک طرف سدیم و کلر به لحاظ انرژی مصرف شده، اسمولایت‌های مناسبی برای تنظیم اسمزی محسوب می‌شوند و از طرف دیگر، تسهیم واکوئلی این دو یون، سمیت ایجاد شده در سیتوپلاسم را به حداقل می‌رساند (Blumwald *et al.*, 2000). غلظت بالای یون‌ها در

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]

واکوئل باعث کاهش پتانسیل اسمزی در این اندامک می‌شود که در نتیجه آن آب از محیط اطراف واکوئل به درون آن انتقال می یابد. در پی این عمل افزایش حجم واکوئل در طی رشد سلول صورت می‌گیرد. از آنجایی که رشد سلول گیاهی در ابتدا، به علت انبساط مستقیم با افزایش در حجم واکوئل رخ می‌دهد، تسهیم Na^+ و Cl^- تنظیم اسمزی را تسهیل می‌کند که برای نمو سلول ضروری می‌باشد (Yokoi *et al.*, 2002). سلول‌های گیاهی تیمار شده با شوری بالا می‌بایست نسبت بالاتری از K^+/Na^+ را در سیتوپلاسم حفظ کرده و از طریق تجمع یون سدیم در واکوئل‌ها، تعادل اسمزی خود را با محیط اطراف کنترل نمایند. تصور می‌شود که ناقل واکوئلی Na^+/H^+که در تونوپلاست قرار دارد، نقش مهمی را در این فرآیندها ایفا نماید. گیاهان آرابیدوپسیس و گوجه‌فرنگی تراریخته که ژن *AtNHx1* را به شدت بیان می‌کنند، مقادیر فراوانی از این ناقل را در تونوپلاست (غشای واکوئل) سلول‌های خود انباشته کرده و تحمل به شوری بسیار بالایی را نشان می‌دهند (Zhang and Blumwald, 2001). توانایی انتقال Na^+ از سیتوپلاسم به داخل واکوئل از طریق ناقل Na^+/H^+ تونوپلاست وابسته به فعالیت H^+-ATPase واکوئلی (V-ATPase, EC 3.6.1.3) و پیروفسفاتاز معدنی H^+– واکوئلی (V-PPase, EC 3.6.1.1) می‌باشد، زیرا فعالیت این دو با انتقال پروتون به طرف غشاء، شیب الکتروشیمیایی لازم را ایجاد می‌کنند (Binzel and Ratajczak, 2001). فریک (Fricke, 2004) گزارش کرد، هنگامی که گیاه متحمل جو را در معرض کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مولار قرار داد، پس از ۲۴ ساعت تنها ۳۸ و ۴۹ میلی مولار سدیم به ترتیب در سلول‌های مزوفیلی و اپیدرمی در حال رشد جو دیده شد که این میزان سدیم نیز تاثیری معنی داری بر رشد این سلول‌ها نداشت. وی همچنین افزود که سدیم جذب شده در درون واکوئل‌های در حال توسعه کده بندی شده و علاوه بر کمک به تنظیم اسمزی درون سلولی، به تعادل روابط آبی درون سلول نیز کمک نموده است.

V-ATPase به دسته منحصر بفردی از پمپ‌های پروتونی تعلق دارد که روی غشای چندین اندامک اسیدی در سلول‌های یوکاریوتی، غشای واکوئلی گیاهان عالی، قارچها و مخمرها یافت می‌شود (Barkla *et al.*, 1995). بافیلومایسین A1، کونکانامایسین C (Concanamycin C) و نیترات به عنوان بازدارنده‌های اختصاصی V-ATPase مورد استفاده قرار می‌گیرند (Maeshima, 2001). افزایش در فعالیت H^+-ATPase تونوپلاست در پاسخ به کلرید سدیم در ریشه‌های جو (Matsomoto and Chung, 1988)، کشت تعلیق سلولی توتون (Reuveni *et al.*, 1990)، ریشه‌های نوعی لوبیا (Nakamora *et al.*, 1992)، برگ‌های گل یخ (Barkla *et al.*, 1995)، ریشه‌های آفتابگردان (Ballesteros *et al.*, 1996) و دیگر گیاهان (Mimura *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2001) گزارش شده است.

با توجه به این که، چندین ژن ناقل Na^+/H^+ در برنج گزارش شده است (Fukuda *et al.*, 2004)، هدف از آزمایش حاضر شناسایی فعالیت احتمالی پمپ پروتونی V-ATPase و تجمع واکوئلی سدیم تحت تاثیر تنش کلرید سدیم در سلول‌های مریستمی ریشه، کشت تعلیق سلولی و پروتوپلاست‌های برنج از طریق بررسی تغییرات حجم واکوئل و کاربرد بافیلومایسین A1 به عنوان بازدارنده اختصاصی این آنزیم بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

آزمایش حاضر با استفاده از سه رقم برنج شامل اهلمی طارم و IR651 (متحمل به شوری) و IR29 (حساس به شوری) در پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی صورت گرفت. بذور رسیده رقم ایرانی اهلمی‌طارم از موسسه تحقیقات برنج رشت و IR29 و IR651 از موسسه تحقیقات بین‌المللی برنج (IRRI) تهیه

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]

شدند. بذر ارقام مختلف برنج، پس از ضدعفونی سطحی با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۳۰ دقیقه و شستشو با آب مقطرقراد داده شدند. سپس به منظور جوانه زنی در داخل ظروف پتری روی کاغذ صافی مرطوب (واتمن شماره ۲) قرارداده شده و در دمای ۳۰/۲۵ درجه سانتیگراد (شب / روز)، طول روشنایی ۱۲ ساعت و رطوبت نسبی ۷۰ درصد در ژرمیناتور جوانه دار شدند.

تهیه نمونه از سلول‌های مریستمی نوک ریشه

ابتدا سلول‌های منطقه کلاهک نوک ریشه در زیر لوپ قطع و حذف شد. سپس ریشه‌ها به مدت (۳۰-۲۰) دقیقه در محلول ۰/۰۱ درصد رنگ قرمز خنثی قرار داده شدند. منطقه مریستم نوک ریشه به طول ۵-۳ میلیمتر قطع و قطعه حاصل پس از اعمال تیمار آنزیمی شامل سلولاز R-10 دو درصد، ماسروزایم R-10 دو درصدو پکتولیاز Y-23 (یک درصد) به مدت ۲۰ دقیقه، بر روی لام شیشه‌ای قرار داده شد و سپس با قرار دادن لامل بر روی آن و با فشار ملایم انگشت شست، به آرامی اسکواش شده و لایه سلولی نازکی بدست آمد.

تولید کالوس

پس از ضدعفونی بذرها با الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و محلول هیپوکلریت سدیم ۵۰ درصد همراه با دو قطره توین ۲۰ به مدت ۶۰-۴۵ دقیقه در شرایط خلاء ، بذر رقم اهلمی طارم در ظروف پتری (۱۰۰×۱۵ میلی‌متری) محتوی محیط کشت پایه N6 همراه با ۲ میلی‌گرم بر لیتر 4,2-D و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر BAP، ۳ درصد ساکارز، ۰/۳۵ درصد فیتاژل و pH=۵/۸ کشت و در اتاقک تاریک در دمای ۲۷ – ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از ۴ – ۳ هفته کالوس‌های جنین‌زا در همین محیط واکشت شدند و واکشت‌های بعدی به منظور نگهداری کالوس‌ها، هر دو هفته یکبار صورت گرفت. تولید کالوس در ارقام IR29 و IR651 در محیط MS به ترتیب در تیمار شامل ۲/۵ و ۳/۵ میلی گرم بر لیتر 2,4-D ، ۳ درصد ساکارز، ۰/۳۵درصد فیتاژل و pH=۵/۸ همانند رقم ایرانی صورت گرفت.

تهیه و نگهداری کشت تعلیق سلولی

۵۰۰ میلی‌گرم از کالوس‌های جنین‌زای ارقام اهلمی طارم و IR29 به داخل فلاسک‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری محتوی ۵۰ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع R2 به ترتیب حاوی۲ و ۲/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D منتقل شدند. فلاسک‌ها بر روی تکان دهنده با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. واکشت‌ها هر دو روز یک بار در هفته اول و واکشت های بعدی هر هفته یک بار انجام شد. در این مرحله، توده سلولی کوچکی که به صورت خوشه‌ای با لبه‌های گرد و صاف که سلول‌های آن غنی از سیتوپلاسم بود، بدست آمد. این توده ها به محیط کشت تازه انتقال داده شد. به منظور نگهداری کشت تعلیقی، واکشت‌ها به طور مرتب هفته‌ای یکبار انجام شد. تهیه و نگهداری کشت تعلیق سلولی در رقم IR651، در محیط پایه AA همراه با ۳ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D (AA3) و همانند روش بالا انجام شد.

تعیین الگوی رشد کشت تعلیق سلولی

به منظور تعیین الگوی رشدی کشت تعلیق سلولی و زمان مناسب واکشت‌ها، هر یک روز در میان، نسبت وزن ترسلول به وزن خشک سلول اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن تر سلول‌ها، ۵ میلی‌لیتر از محیط کشت تعلیق سلولی روی یک کاغذ صافی ریخته و تحت شرایط خلا قرار داده شده و بلافاصله پس از آن توزین شد. برای تعیین وزن خشک سلول‌ها، توده سلولی در دمای ۶۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت خشکانیده شده و سپس توزین شد.

خالص‌سازی پروتوپلاست

به منظور تولید پروتوپلاست، یک گرم از کالوس‌های جنین‌زای کشت‌های تعلیقی ۴ ماهه به داخل ۲۰ میلی‌لیتر از محلول آنزیمی (یک درصد سلولاز RS، ۰/۱ درصد پکتولیاز Y-23)

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]

منتقل شد. مخلوط آنزیم و سلول‌ها بر روی تکان دهنده افقی با ۴۰-۳۰ دور در دقیقه در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰-۱۲ ساعت نگهداری و سپس به مدت یک ساعت در تاریکی به حالت ساکن قرار داده شد. برای جداسازی سلول‌هایی که دیواره‌شان هضم نشده بود، مخلوط پروتوپلاست و آنزیم از صافی نایلونی ۴۵ و ۲۵ میکرونی استریل عبور داده شد. سپس محلول آنزیمی و پروتوپلاست‌ها به داخل فالکون‌های استریل انتقال یافته و در ۱۰۰۰-۸۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی دور ریخته و پروتوپلاست‌ها با اضافه نمودن ۲۰ میلی‌لیتر از محلول شستوشوی پروتوپلاست (CPW) مجدداً سانتریفیوژ گردید و این عمل دو بار دیگر تکرار شد و پس ازحذف کامل محلول آنزیمی، پروتوپلاست ها درCPW محلول نگهداری شد. محلول های ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و ۲۰۰ میلی مولار مانیتول تهیه شده و پتانسیل اسمزی آنها با استفاده از دستگاه اسمومتر مدل Wescoe-5520, USA تنظیم شد.

برای تهیه محلول بافیلومایسین A1 ۲۰ نانومولار، به ظرف حاوی ۱۰ میکرو گرم بافیلومایسین A1 مقدار یک میلی لیتر دی متیل سولفوکسید (DMSO) اضافه شده و به صورت محلول ذخیره در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد (Bowman *et al.*, 1988). سپس براساس وزن مولکولی بافیلوماسین A1 (۶۲۲/۸۴ گرم) ۱۲۴ میکرولیتر از محلول تهیه شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شد. در این روش میزان نهایی DMSO نباید بیشتر از یک درصد باشد.

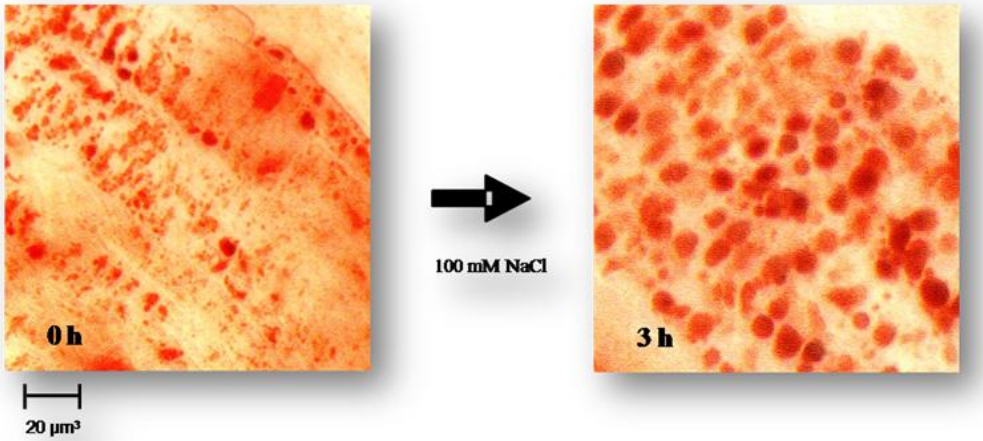
تیمارهای مختلف شامل شاهد (آب مقطر)، کلرید سدیم ۱۰۰میلی‌مولار، مانیتول هم اسمز با کلرید سدیم (۲۰۰میلی مولار)، بافیلومایسین A1 با غلظت ۲۰ نانومولار (BAF) (محلول در DMSO) و بافیلومایسین همراه با کلرید سدیم (BAF+NaCl) در غلظت‌های مذکور، بر ریشه جوانه‌های سه روزه، کشت‌های تعلیق سلولی ۴ ماهه در مرحله حداکثر منحنی رشد و پروتوپلاست‌ها بلافاصله پس از استخراج آن، اعمال شده و طی زمان‌های ۳، ۸ و ۲۴ ساعت بعد، نمونه‌گیری‌ها با ۴ تکرار انجام شد. از سلول‌های مریستمی به روش ذکر شده در بالا نمونه تهیه شد و تغییرات اندازه واکوئل در آنها با استفاده از عدسی ۴۰ میکروسکوپ نوری (E800; Nikon, Tokyo Japan) مشاهده شد. همچنین تغییرات حجم واکوئل در سلول‌های منفرد کشت تعلیقی و پروتوپلاست‌ها پس از رنگ‌آمیزی با محلول قرمز خنثی ۰/۰۱ درصد، با استفاده از عدسی ۴۰ میکروسکوپ معکوس (TE-300; Nikon, Tokyo Japan)، مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات اندازه واکوئل با استفاده از دوربین (PCM2000, Nikon, Tokyo Japan) که بر روی میکروسکوپ نصب شده بود و با کمک نرم افزار Act1، مشاهده و عکس‌برداری شد. پس از اندازه‌گیری قطر واکوئل‌ها با استفاده از نرم افزار Micro measure (۵۰ واکوئل به ازای هر تکرار)، حجم واکوئل بر اساس میانگین قطرها در چهار تکرار توسط نرم افزار Excel برآورد شد. نتایج حاصل به صورت SE ± میانگین ارائه شد.

نتایج و بحث

افزایش حجم واکوئل در سلول‌های مریستمی (سلول‌های منطقه تقسیم و منطقه در حال طویل شدن) ریشه برنج رقم IR651 سه ساعت پس از اعمال تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در شکل یک ارائه شده است. سلول‌های مریستمی قبل از تیمار شوری حاوی واکوئل‌های کوچکی بودند که ۳ ساعت پس از اعمال تنش کلرید سدیم به صورت معنی‌داری افزایش حجم یافتند. در سلول‌های منطقه تقسیم، بخش بسیار کوچکی از حجم سلول توسط واکوئل‌ها اشغال شده و اندازه‌گیری تغییرات حجم در واکوئل‌های آنها، آسان‌تر بود. همچنین این سلول‌ها با آوندهای چوبی ارتباط داشته و در صورتی که قادر به تجمع نمک در

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]



شکل ۱- افزایش سریع حجم واکوئل سلول‌های در حال طویل شدن نوک ریشه برنج رقم IR651 در تیمار ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم. سلول ها با استفاده از رنگ قرمز خنثی رنگ آمیزی شده‌اند

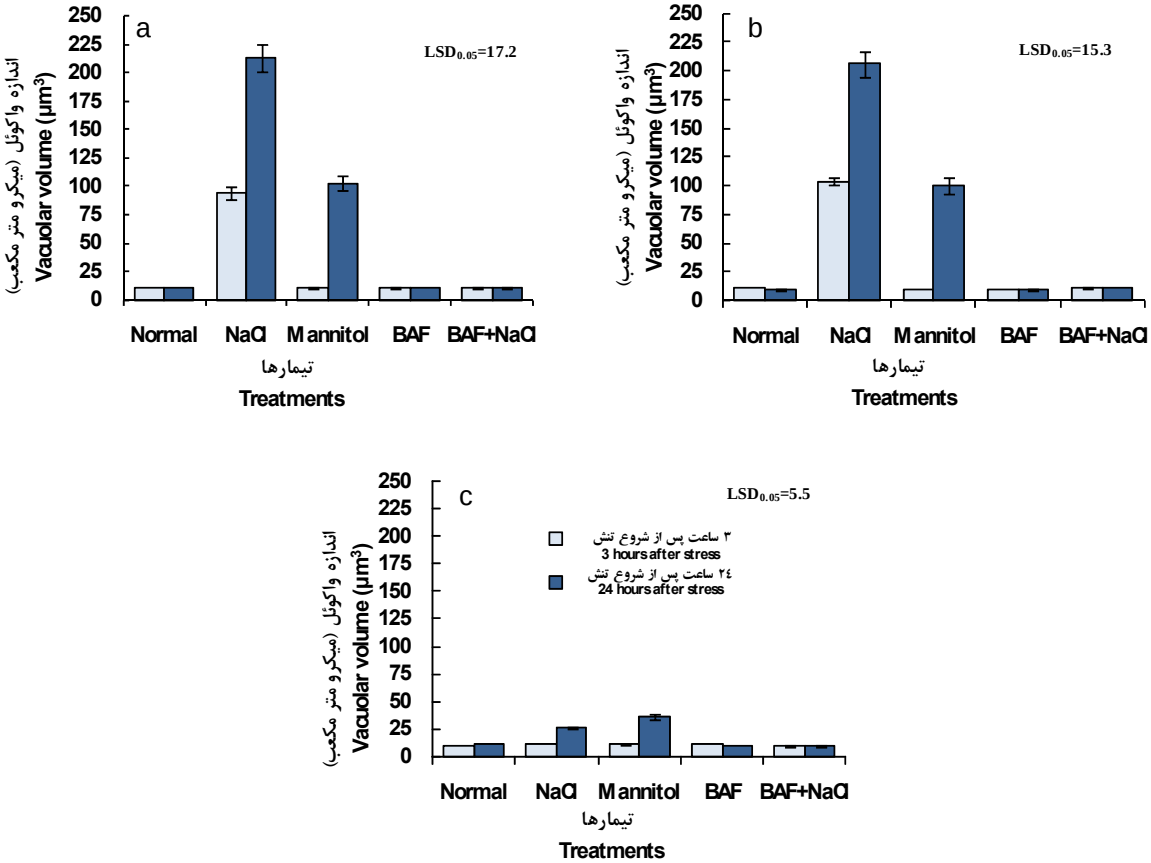
Fig. 1. Rapid expansion in vacuolar volume of elongating cells in root tips ofrice cv. IR651 in 100 mM NaCl treatment. Cells were stained with natural- red dye

واکوئل‌های خود باشند، می‌توانند به سرعت با محلول نمک که به آوند چوبی وارد می‌شود، افزایش حجم دهند (Binzel and Ratajczak, 2001). مشاهده واکوئل‌های در حال بزرگ‌شدن تاییدی بر وجود این سازوکار در سلول‌ها می‌باشد (Fukuda *et al.*, 2004). همان‌طور که در شکل ۲ (a و b) نشان داده شده است، تنش شوری در سلول‌های مریستمی دو رقم IR651 و اهلمی‌طارم پس از ۳ ساعت، موجب افزایش ۱۰ برابری حجم واکوئل‌ها شد، در حالی که تیمار مانیتول (تنش خشکی) هم‌اسمز با کلرید سدیم در مقایسه با شاهد، تفاوت معنی‌داری در آنها بوجود نیاورد. در هر دو رقم، ۲۴ ساعت پس از اعمال کلرید سدیم و مانیتول، حجم واکوئل‌ها به ترتیب ۲۰ (۱۰ به ۲۰۰ میکرو متر مکعب) و ۱۰ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت. در سلول‌های مریستمی رقم حساس به شوری IR29 طی سه ساعت پس از اعمال تیمارهای کلرید سدیم و مانیتول، تفاوت معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد، در حالیکه ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمارهای مختلف، تغییرات حجم واکوئل در سلول‌های منطقه مریستم ریشه این رقم دیده شد. این داده‌ها حاکی از افزایش حجم ۲/۵ برابری واکوئل‌ها در تیمار کلرید سدیم ۰/۵- مگاپاسکال و افزایش ۳/۵ برابری حجم واکوئل ها در تیمار مانیتول هم‌اسمز با کلرید سدیم پس از ۲۴ ساعت بوده است (شکل ۲).

به نظر می رسد که افزایش حجم واکوئل مشاهده شده در ۳ ساعت اولیه، در ارقام متحمل (IR651 و اهلمی‌طارم) مختص به تنش کلرید سدیم بوده است، زیرا تیمار مانیتول با پتانسیل اسمزی یکسان با کلرید سدیم، تفاوت معنی داری با شاهد نداشت (شکل ۲). در این آزمایش، چون تیمارهای کلرید سدیم و مانیتول دارای پتانسیل اسمزی مشابه بودند، می‌توان اطمینان داشت که هر دو تیمار، تنش اسمزی یکسانی بر سلول‌های منطقه مریستمی نوک ریشه اعمال نموده‌اند و بنابراین تفاوت افزایش حجم ایجاد شده بین دو تیمار، ناشی از اثر ویژه یون های Na^+ و Cl^- بوده است. به نظر می‌رسد که تجمع این دو یون در واکوئل باعث کاهش پتانسیل اسمزی محلول درون واکوئل شده که به تبع آن آب بیشتری به‌درون این اندامک

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]



شکل ۲- تغییر حجم واکوئل سلول های نوک ریشه برنج به ترتیب (a) IR651، اهلمی طارم (b) و (c) IR29 در تیمار های شاهد، کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مولار ، مانیتول، بافیلومایسین و بافیلومایسین+ کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مولار. سلول ها با استفاده از رنگ قرمز خنثی رنگ آمیزی شده‌اند. مقدار $LSD_{0.05}$ = ۱۷/۵ میکرو متر مکعب است.

Fig. 2. Vacuolar volume expansion changes in root tip cells of IR651, Ahlami tarom and IR29 root tips respectively under normal, NaCl (100mM), Mannitol, Bafilomycin and Bafilomycine + NaCl (100 mM) . Cells were stained with natural- red dye. $LSD_{0.05}$=17.5 μm^3.

جذب و باعث افزایش حجم ۱۰ برابری آن شده است. میمورا و همکاران(Mimura *et al.*, 2002) پدیده مشابهی را در سلول‌های مریستمی ریشه جو (*Hordeum vulgare* L.) تحت تاثیر تنش کلرید سدیم گزارش کردند. افزایش حجم ثانوی که توسط تیمار کلرید سدیم و مانیتول پس از ۲۴ ساعت دیده شد، به احتمال زیاد ناشی از تنظیم اسمزی به منظور مقابله با تنش خشکی ۰/۵- مگاپاسکال حاصل از تیمار کلرید سدیم و مانیتول بوده است.

افزایش ۲/۵ و ۳/۵ برابری حجم واکوئل در سلول‌های مریستمی رقم IR29 به ترتیب در تیمارهای کلرید سدیم و مانیتول طی ۲۴ ساعت نشان می‌دهد که تنها تغییر روابط آبی درون سلول و تنش اسمزی باعث بروز این تغییرات شده و این موضوع ارتباطی با تجمع واکوئلی سدیم و کلر نداشته است. تفکیک واکوئلی Na^+ یک سازوکار موثر برای جلوگیری از سمیت سدیم می‌باشد که طی فرایند تکامل، در ارقام متحمل به وجود آمده است (Blumwald *et al.*, 2000; Zhu, 2001).

تنش ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم بر کشت‌های تعلیقی و پروتوپلاست‌های رقم IR651 و اهلمی‌طارم نیز باعث افزایش حجم واکوئل‌ها شد و تفاوت معنی‌داری

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]
[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]

(در سطح ۵ درصد) نسبت به شاهد داشت (شکل‌های ۳ و ۴، a و b). بینزل و همکاران (Binzel *et al.*, 1985; 1988) گزارش کردند که، اندازه واکوئل سلول‌های کشت تعلیقی توتون تحت تاثیر تیمار شوری افزایش داشت. میمورا و همکاران (Mimura *et al.*, 2002) نیز افزایش حجم واکوئل را در تنش شوری در سلول‌های کشت تعلیقی و پروتوپلاست‌های درختان مانگرو گزارش کردند. در کشت‌های تعلیق سلولی و پروتوپلاست‌های هر دو رقم متحمل، تیمار مانیتول همانند کلرید سدیم موجب افزایش ۳۰ درصد حجم واکوئل‌ها شد (شکل‌های ۳ و ۴). افزایش مشابه در حجم واکوئل در پی اعمال تیمار مانیتول و کلرید سدیم احتمالاً در اثر سازوکارهای مرتبط با تغییر روابط آبی سلول ایجاد شده است، زیرا هر دو تیمار پتانسیل اسمزی ۰/۵- مگاپاسکال بر سلول‌های منفرد کشت تعلیق سلولی و پروتوپلاست‌ها وارد می کنند. بهرحال باید توجه داشت که کشت‌های تعلیقی سلولی در محیط‌های نمکی رشد می‌کنند که حاوی مقادیر قابل توجهی از یون‌های سدیم و پتاسیم می باشد و علاوه بر آن محیط CPW که برای نگهداری پروتوپلاست به کار می‌رود، حاوی مقادیر قابل توجهی از یون پتاسیم است. جذب Na^+ و K^+ از محلول غذایی می‌تواند باعث بهبود سریع تورژسانس در سلول‌های تعلیقی و پروتوپلاست‌های تحت تنش اسمزی شود. تنش شوری بر کشت‌های تعلیق سلولی و پروتوپلاست‌های رقم IR29 (حساس به شوری)، موجب افزایش ۲۵ درصدی حجم واکوئل‌ها شد. در حالی‌که تیمار مانیتول هم اسمز با آن تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با شاهد نشان نداد.

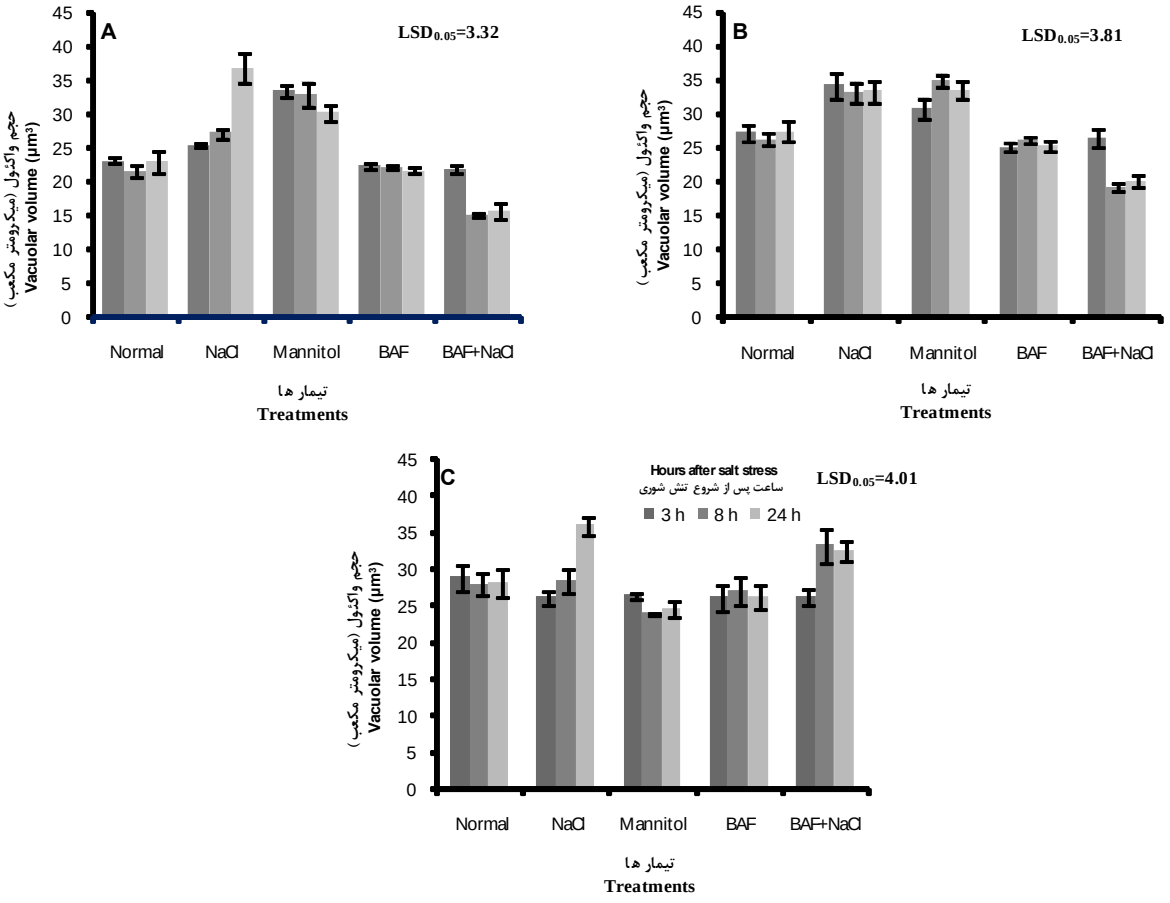
تیمار BAF در سلول‌های مریستمی، کشت تعلیقی و پروتوپلاست‌های حاصل از ارقام حساس و متحمل تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت. همچنین این تیمار در کشت‌های تعلیق سلولی و پروتوپلاست‌های IR651 و اهلمی‌طارم باعث کاهش ۳۵ درصدی حجم واکوئل‌ها شد. به عبارت دیگر، BAF به طور کامل از افزایش حجم واکوئل که در پی تیمار کلرید سدیم در ارقام متحمل مشاهده شد، جلوگیری کرد. بافیلومایسین A1 بازدارنده بسیار موثر V-ATPase می‌باشد. باومن و همکاران (Bowman *et al.*, 1988)، گزارش کردند که غلظت ۱۰ نانومولار BAF، فعالیت آنزیم ATPase واکوئلی را متوقف می کند. در آزمایش حاضر نیز احتمالا تاثیر بازدارندگی BAF بر V-ATPase، به طور معنی‌داری از افزایش حجم واکوئل جلوگیری کرد. مشاهده کاهش معنی‌دار حجم واکوئل‌ها در سلول‌های تحت تیمار کلرید سدیم بعلاوه بافیلومایسین A1، می‌تواند نقش کلیدی H^+-ATPase واکوئلی را در امکان پمپ کردن یون‌ها به درون واکوئل توجیه کند، زیرا انتقال فعال ثانویه یون سدیم به داخل واکوئل از طریق آنتی‌پورتر Na^+/H^+ تونوپلاست، توسط نیروی محرک پروتون که به وسیله فعالیت V-ATPase و یا V-PPase ایجاد می‌شود، انرژی می گیرد.

گزارش شده است که فعالیت V-ATPase تحت تاثیر تنش شوری افزایش می‌یابد (Dietz *et al.*, 2001). ماتسوموتو و چونگ (Matsomoto and Chung, 1988) با آزمایش روی ریشه‌های جو در تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، گزارش کردند که سرعت انتقال H^+ در V-ATPase دو برابر شد. ناکامورا و همکاران (Nakamora *et al.*, 1992) با اندازه‌گیری فعالیت هیدرولیزی V-ATPase در ریشه‌های نوعی لوبیا تحت تاثیر تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، افزایش ۱/۴ و ۱/۳ برابری را در فعالیت V-ATPase طی ۳ و ۲۴ ساعت پس از اعمال تیمار شوری گزارش نمود. پژوهشگران زیادی سطوح بیان زیرواحدهای V-ATPase را تحت تاثیر تنش شوری مطالعه کرده و افزایش تظاهر برخی از زیرواحدها را گزارش نموده‌اند (Ballesteros *et al.*, 1996; Berndt *et al.*, 1999; Bremberger and Luttge, 1992; Perera *et al.*, 1995).

از آنجایی که تیمار شوری باعث افزایش حجم

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]



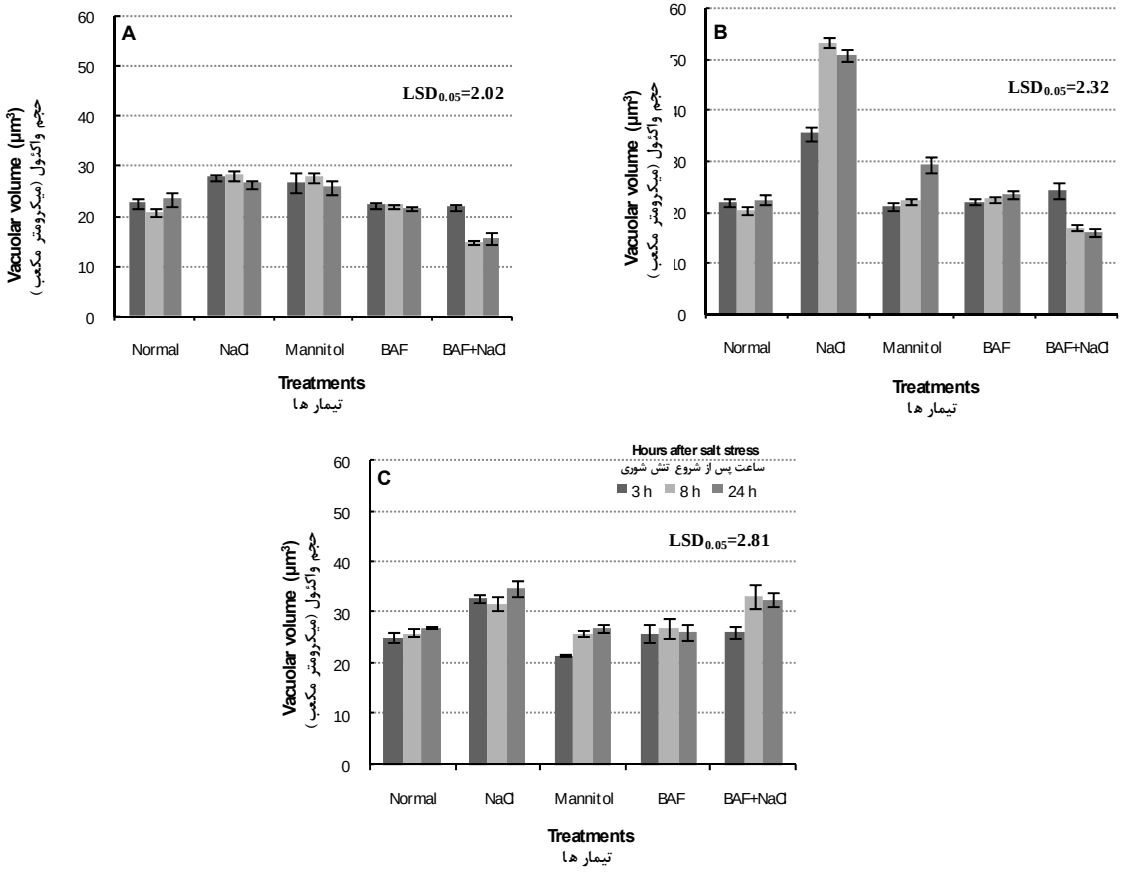
شکل ۳- تغییر حجم واکوئل سلول های کشت تعلیقی حاصل از به ترتیب (A) IR651، اهلمی طارم (B) و (C) IR29 در تیمار های شاهد، کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مولار ، مانیتول، بافیلومایسین(BAF) و بافیلومایسین+ کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مولار (BAF+NaCl). خطوط عمودی نشان دهنده خطای استاندارد می‌باشند. مقدار $LSD_{0.05}$ = ۶/۲۵ میکرو متر مکعب است.

Fig. 4. Vacuolar volume expansion changes in of derived cell suspension culture from IR651 (a), Ahlami tarom (b) and (c) IR29 respectively under normal, NaCl (100mM), Mannitol, Bafilomycin (BAF) and Bafilomycine + NaCl (100 mM) (BAF+ NaCL) . Vertical bars indicating standard error. $LSD_{0.05}$=6.25 μm^3.

سلول های کشت تعلیقی و پروتوپلاست‌های حاصل از IR29شد، لذا بررسی نحوه تغییرات حجم این سلول‌ها تحت تاثیر تیمار BAF+NaCl نیز لازم به نظر می‌رسد. همان طور که شکل ۳ (c) و ۴ (c) مشخص است، تک سلول‌های کشت تعلیق سلولی و پروتوپلاست‌های این لاین در تیمار BAF+NaCl نیز همانند تیمار کلرید سدیم افزایش حجم واکوئل نشان دادند. با توجه به اینکه مقدار افزایش حجم مشاهده شده در هر دو تیمار نیز به یک اندازه (از ۲۵ به حدود ۳۵ میکرومترمکعب) بود، به نظر می‌رسد که در این رقم افزایش حجم واکوئل تحت تاثیر تیمار بافیلومایسین قرار نمی‌گیرد. از این رو احتمالاً می‌توان بخشی از فرآیند پمپ شدن H^+ به داخل واکوئل را ناشی از فعالیت پمپ‌های دیگر موجود در غشای تونوپلاست و یا نقش پر اهمیت کانال‌های K^+ محسوب کرد. هر چند روشن شدن این موضوع نیاز به تحقیق بیشتری دارد. نظر به اینکه افزایش حجم واکوئل در سطح مریستم، کشت‌های تعلیقی و پروتوپلاست‌ها تنها در ارقام متحمل به شوری و در

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]



شکل ۴- تغییر حجم واکوئل پروتوپلاست های حاصل از به ترتیب (a) IR651، اهلمی طارم (b) و (c) IR29 در تیمارهای شاهد، کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مولار ، مانیتول، بافیلومایسین، بافیلومایسین+ کلرید سدیم ۱۰۰ میلی مولار. خطوط عمودی نشان دهنده خطای استاندارد می‌باشند. مقدار $LSD_{0.05}$ = ۳/۲۳ میکرو متر مکعب است.

Fig. 6. Vacuolar volume expansion changes in of protoplasts derived from IR651 (a), Ahlami tarom (b) and (c) IR29 respectively under normal, NaCl (100mM), Mannitol, Bafilomycin and Bafilomycine + NaCl (100 mM). Vertical bars indicating standard error. $LSD_{0.05}$=3.23 μm^3.

معرض تنش کلرید سدیم مشاهده شد، می توان نتیجه گرفت که همبستگی قابل ملاحظه‌ای بین فعالیت آنزیم H^+-ATPase واکوئلی و سازوکارهای تحمل به تنش شوری در این ارقام وجود دارد. احتمالا در ارقام متحمل، افزایش فعالیت V-ATPase موجب تقویت پمپ شدن یون‌ها به درون واکوئل می‌گردد. این موضوع شیب الکتروشیمایی لازم به منظور جذب Na^+ از طریق انتقال توام از قبیل آنتی پورتر Na^+/H^+ را فراهم می‌نماید. علت دیگر اختلافات گسترده بین ارقام متحمل و حساس به شوری، ایزوفرم‌های مختلف V-ATPase می‌باشد که به صورت متفاوتی در ارقام مختلف و در پاسخ به تنش‌های یونی و اسمزی بیان می‌شوند و یا به علت نقش حمایت‌گر آنزیم V-PPase در حفظ فعالیت پمپ شدن H^+ واکوئلی می‌باشد که لزوم بررسی هر یک از موارد فوق احساس می‌شود. به نظر می‌رسد که در ارقام متحمل برنج این سازوکار بتواند طی ساعات اولیه، گیاه را از اثرات مضر شوری حفظ کرده و فرصت کافی برای تولید محلول‌های سازگارلازم جهت تنظیم اسمزی را فراهم آورد.

آزمایش حاضر در جهت مقایسه مقدماتی ارقام با

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]

قابلیت تسهیم سدیم در واکوئل، به منظور مطالعات جامع بعدی صورت گرفته و رقم اهلمی‌طارم و IR651 به عنوان ارقام متحمل و دارای سازوکار افزایش فعالیت آنزیم V-ATPase، برای انجام مطالعات بیشتر قابل توصیه می باشند. با این وجود باید توجه داشت که تحمل به شوری، یک صفت کمی بوده و ژن‌های بسیاری را درگیر می‌کند، از این رو برآیند چندین ژن با اثرات مختلف، رفتار نهایی گیاه را در مقابل تنش شوری تعیین می‌کند. به نظر می رسد که تلاقی بین رقم اهلمی طارم، IR651، و انتخاب لاین‌ها در نسل‌های در حال تفکیک بر اساس قابلیت افزایش حجم واکوئل در سلول‌های مریستم نوک ریشه می‌تواند به ارتقای کیفیت ارقام پرمحصول برنج کمک کند.

بنا به گزارش گارسیا (Garcia, *et al*., 1997) گیاه برنج در حدود ۹۴ درصد از سدیم موجود در محلول خاک را دفع می‌کند و ۲/۸ درصد از آن به آوند چوبی وارد می‌شود. به نظر می‌رسد که ارقام متحمل با تسهیم بخشی از سدیم وارد شده در واکوئل سلول‌های ریشه، به طور موثری از انتقال آن به اندام‌های هوایی جلوگیری می کنند. تسهیم سدیم در واکوئل سلول‌های ریشه، پتانسیل اسمزی درون این اندامک را کاهش داده و به دنبال آن آب وارد واکوئل می‌شود. این موضوع به حفظ فشار آماس سلول و رشد آن کمک موثری می‌کند. این سازوکار از اثرات سمی این یون کاسته و هزینه متابولیکی کمتری نیز صرف تنظیم اسمزی سلول می‌شود. به نظر می‌رسد که این نتایج می‌توانند به درک علت زنده ماندن ریشه‌های ارقام متحمل و مرگ ریشه‌های ارقام حساس، علیرغم مساوی بودن نسبی میزان نمک خالص در هر گرم وزن خشک ریشه آنها، کمک کنند.

منابع مورد استفاده

References

Ballesteros, E., J., P. Donaire and A. Belwer. 1996. Effects of salt stress on H+-ATPase and H+-PPase activities of tonoplast-enriched membrane vesicles isolated from sunflower roots. Physiol Plant. 97: 259-268.

Barkla, B. G., L. Zingarelli, E. Blumwald and G. A. C. Smith. 1995. Tonoplast Na+/H+ antiport activity and its energization by the vacuolar H+-ATPase in the halophytic plant *Mesembryanthemum crystallinum* L. Plant Physiol. 109: 549-556.

Berndt, E., C. Schmitt, D. Muhlenhoff and R. Ratajczak. 1999. Daily-time course of V-ATPase activity and amount in tonoplast-enriched membrane vesicles from *Mesembryanthemum crystallinum* L. leaves in the C3-state or in the CAM-state of photosynthesis. J. Exp. Bot. 35: 123-129.

Binzel. M. L, P. M. Hasegawa, A. K. Handa, and R. A. Bressan. 1985. Adaptation of tobacco cells to NaCl. Plant Physiol. 79: 118-125.

Binzel. M. L, F. D. Hess, R. A. Bressan, and P. M. Hasegawa. 1988. Intracellular compartmentation of ions in salt adapted tobacco cells. Plant Physiol. 86: 607-614.

Binzel, M. L. and R. Ratajczak. 2001. Function of membrane transport systems under salinity: tonoplast. Salinity: Environment - Plants - Molecules. *In*: A. Läuchli and U. Lüttge (ed.). Dordrecht, the Netherlands, Kluwer**:** 423–449.

Blumwald, E., G. S. Aharon and M. P. Apse. 2000. Sodium transport in plant cells. Biochim. Biophys. Acta. 1465: 140-151.

Bowman, E. J., A. Siebers and K. Altendorf. 1988. Bafilomycins: A class inhibitors of membrane ATPases from microorganisms, animal cells, and plant cells. PNAS. 85: 7972-7976.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]

Bremberger, C. and U. Luttge. 1992. Dynamics of tonoplast proton pumps and other tonoplast proteins of *Mesembryanthemum crystallinum* L. during the induction of crassulacean acid methabolism. Planta. 175: 465-470.

Dietz, K. J., N. Tavakoli, C. Kluge, T. Mimura, S. Sharma, C. G. Haris, A. N. Chardonnens and D. Golldack. 2001. Significant of V-type ATPase for the adaptation to stressful growth conditions and its regulation on the molecular and biochemical level. J. Exp. Bot. 52: 1969-1980.

Fricke W. 2004. Rapid and tissue-specific accumulation of solutes in the growth zone of barley leaves in response to salinity. Planta.219, 515–525.

Fukuda, A., A. Nakamura, A. Tagiri, H. Tanaka, A. Miyao, H. Hirochika and Y. Tanaka. 2004. Function, intracellular localization and the importance in salt tolerance of a vacuolar Na+/H+ antiporter from rice. Plant Cell Physiol. 45(2): 146-159.

Garcia, A. B. Engler, J. Iyer, S. Gerats,T. Van Montagu, M. and Caplan A. B. 1997. Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice. Plant Physiol. 115: 159-169.

Ghassemi, M., B. R. Andersen, V. M. Reddy, P. R. Gangadharam, G. T. Spear and R. M. Novak. 1995. Human immunodeficiency virus and *Mycobacterium avium* complex coinfection of monocytoid cells results in reciprocal enhancement of multiplication. J. Infect. Dis. 171: 68-73.

Gorham, J. 1992. Grass responses to salinity. Desertified Grasslands: Their Biology and Management. *In*: G. P. Chapman (ed.). New York, Academic Press**:** 165-180.

Guei R. G. and C. E. Wassom. 1993. Genetics of osmotic adjustment in breeding maize for drought tolerance. Heredity. 7: 436—441.

Hasegawa, P. M., R. A. Bressan, J. K. Zhu and H. J. Bohnert. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51: 463-499.

Kafi, M. 2008. Saline agriculture and its necessity in Iran. 10th Iranian Congress of Crop Production and Plant Breading, 17-20 Aug. Karaj. 137-162 (In Persian).

Lacerda, C. F. D., J. Cambraia, M. A. Oliva and H. A. Ruiz. 2003. Osmotic adjustment in roots and leaves of two sorghum genotypes under NaCl stress. Plant Physiol. 15(2): 113-118.

Maeshima, M. 2001. Tonoplast transporters: Organization and function. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 52: 469-497.

Matsomoto, H. and G. C. Chung. 1988. Increase in proton-transport activity of tonoplast vesicles as an adaptive response of barley roots to NaCl stress. Plant Cell Plysiol. 29: 1133-1141.

Mimura, T., M. K. Hotta, T. Tsujimura, M. Ohnishi, M. Miura, Y. Okazaki, M. Mimura, M. Maeshima and S. W. Nemoto. 2002. Rapid increase of vacuolar volume in response to salt stress. Planta. 10: 115-126.

Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell Env. 25: 239-250.

Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. New phytol. 167: 645-663.

Nakamora, Y., K. Kasamo, N. Shmosato, M. Sakata and E. Ohta. 1992. Stimulation of the extrusion of protons and H+-ATPase activities with the decline in pyrophosphatase activity of the tonoplast in intact mung bean roots under high-NaCl stress and its relation to external levels of Ca2+ ions. Plant Cell Physiol. 33: 139-149.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]

Perera, I., X. Li and H. Sze. 1995. Several genes encode nearly identical 16 KDa proteolipids of the vacuolar H+-ATPase from Arabidopsis thaliana. Plant Mol. Biol. 29: 227-244.

Reuveni, M., A. B. Bennett, R. A. Bressan and P. M. Hasegawa. 1990. Enhanced H+-transport capacity and ATP hydrolysis activity of the tonoplast H+-ATPase after NaCl adaptation. Plant Physiol. 94: 524-530.

Salekdeh, G. H. and S. Komatsu. 2007. Crop proteomics: Aim at sustanable agriculture of tomorrow. Proteomics. 7: 2976-2996.

Serraj, R. and T. R. Sinclair. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop under drought conditions? Plant Cell Environ. 25: 333-341.

Wang, B., U. Luttge and R. Ratajczak. 2001. Effects of salt treatment and osmotic stress on V-ATPase and V-PPase in leaves of the halophyte *Suaeda salsa.* J. Exp. Bot. 52: 2355-2365.

Yokoi, S., R. A. Bressan and M. Hasegawa. 2002. Salt stress tolerance of plants. JIRCAS Working Report. 25-33.

Zhang, H. X. and E. Blumwald. 2001. Transgenic salt-tolerant tomato plants accumulate salt in foliage but not in fruit. Nature Biotech. 19: 765-768.

Zhu, J. K. 2001. Plant salt tolerance. Trends in Plant Sci. 6: 66-71.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]

Study of changes in volume of vacuole in meristem cells at root tip of rice (*Oryza sative* L.) under saline conditions

Gholizadeh[1], S., F. Moradi[2] and I. Nemati[3]

ABSTRACT

Gholizadeh, S., F. Moradi and I. Nemati. 2009. Study of changes in volume of vacuole in meristem cells at root tip of rice (*Oryza sative* L.) under saline conditions.. **Iranian Journal of Crop Sciences. 11 (4): 353-366 (in Persian).**

To study changes of volume of vacuole meristemic cells at the root tip of rice under saline conditions, suspension–cultured cells and protoplasts from three rice genotypes including IR29 (susceptible), and IR651, Ahlami-Tarom (tolerant rice cultivars) were treated with 0.1 M NaCl, 0.2 M mannitol, 20 nM bafilomycin A1, 0.1M NaCl complemented with 20 nM bafilomycin A1 and distilled water (as control). Sampling carried out at 3, 8 and 24 hours after application of treatments. Results showed that vacuolar volumes increased only in tolerant cultivars when treated with NaCl. However, after exposure of cells to the mannitol with osmolarity similar to 0.1 M NaCl, such drastic changes were not observed in the vacuole volumes, indicating that salt-specific effect responses in vacuoles. Furthermore, bafilomycin A1 completely inhibited the increase of vacuolar volume due to NaCl effects. This findings suggest that the V-ATPase may play an essential role in energizing a Na^+/H^+ antiporter activity as well as vacuolar Na^+ compartmentation in meristimeic cells at the root tip of rice.

Key words: Bafilomycin A1, Rice, Root meristemic cells, Salt stress and V-ATPase pump.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2026-02-16]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1388.11.4.3.9]

Received: April, 2008 Accepted: August, 2009

1- Lecturer, Islamic Azad University, Khorramshahr Unit, Khorramshahr, Iran
2- Assistant Prof., Agricultural Biotechnology Research Institute (ABRI), Karaj,Iran (Corresponding author)
3- Lecturer, Islamic Azad University, Khorramshahr Unit, Khorramshahr, Iran