Abstract

Project Code : MRG5280200

Project Title : Roles of chitosan on actin cytoskeleton and membrane function in roots from *Oryza sativa* under heat shock

Investigator : Miss Anchalee Chaidee Chulalongkorn University

E-mail Address : acchaidee@gmail.com

Project Period : 16 March 2009 - 15 September 2011

Effects of chitosan on heat shock-induced changes in extracellular pH, alkaline phosphatase, and actin cytoskeleton were investigated in root cells of rice (*Oryza sativa* L.) cv. KDML105 and HKL1 to test whether chitosan can induce thermotolerance in root tissues. Therefore cut root tips (40 mg FW, 5 mm length) were exposed to different levels of heat shock, chitosan, and chitosan pretreatment prior to heat shock. Both cultivars responded to heat shock and chitosan differently. At 35°C actin cytoskeleton reorganized to short fragments and dots in root border cells (RBCs) of HKL1, it did not change in KDML105. At this temperature, extracellular acidification occurred in HKL1 while no change of extracellular pH was found in KDML105. In addition, actin ring formation was found only in KDML105 at 38°C, whereas actin filament mostly fragmented in HKL1. It seems that change in actin organization was most rapid and pronounced comparing to pH and alkaline phosphatase. Moreover, secretory activity measured with alkaline phosphatase was not associated to the cytoskeleton. Like heat shock, HKL1 was more sensitive to chitosan treatment (10 ppm O80 20 min) than KDML105. Though extracellular pH was increased by chitosan similarly, actin fragmentation was found in RBCs only in HKL1. In addition, chitosan-induced cell plasmolysis was more pronounced in elongating epidermal cells of HKL1 than KDML105. Interestingly, actin ring was also found at 35°C in epidermal cells and actin fragment in RBCs of KDML105 when chitosan was present. This finding indicates that chitosan does not strenghten the cytoskeleton and membrane integrity but enhance the severity of heat shock based on the shift of temperature causing actin fragmentation. These differential responses of both rice cultivars to stress are useful for future research with other approaches on roles of heat shock-induce actin ring.

Keywords : actin, chitosan, heat shock, *Oryza sativa*, root border cell

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ MRG5280200

ชื่อโครงการ บทบาทของไคโตซานต่อแอกตินไซโทสเกเลตอนและหน้าที่ของเยื่อหุ้มในรากของข้าว *Oryza sativa* ภายใต้ภาวะอุณหภูมิสูง

ชื่อนักวิจัย นางสาวอัญชลี ใจดี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

E-mail Address: acchaidee@gmail.com

ระยะเวลาโครงการ 16 มีนาคม 2552 ถึง 15 กันยายน 2554

การศึกษาผลของไคโทซานต่อการเปลี่ยนแปลง pH และ alkaline phosphatase ภายนอกเซลล์ และการจัดเรียงตัวของแอกตินไซโทสเกเลตอนในเนื้อเยื่อรากข้าว (*Oryza sativa* L.) พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) และหอมคลองหลวง1 (HKL1) มีขึ้นเพื่อทดสอบว่าไคโทซานสามารถชักนำความทนต่ออุณหภูมิสูงในเนื้อเยื่อรากได้หรือไม่ ทดลองโดยแช่ปลายรากข้าวที่ตัดให้ยาว 5 มิลลิเมตร จำนวน 40 ชิ้น (น้ำหนักสด 40 มิลลิกรัม) ให้ได้รับอุณหภูมิสูงและไคโทซานที่ระดับต่าง ๆ ตลอดจนการให้ไคโทซานก่อนแล้วตามด้วยภาวะอุณหภูมิสูง ผลการทดลองพบว่าข้าวทั้งสองพันธุ์ตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงและไคโทซานแตกต่างกัน ที่อุณหภูมิ 35°C แอกตินไซโทสเกเลตอนในเซลล์บอร์เดอร์ของราก (RBCs) ข้าวพันธุ์ HKL1 จัดเรียงตัวใหม่เป็นสายสั้นและเป็นจุด ส่วนพันธุ์ KDML105 ไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ ยังพบภาวะเป็นกรดภายนอกเซลล์ในพันธุ์ HKL1 ในขณะที่ pH ภายนอกเซลล์ของพันธุ์ KDML105 ไม่เปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมินี้ ยิ่งไปกว่านั้น พบแอกตินรูปวงแหวน (actin ring) เฉพาะในพันธุ์ KDML105 ที่อุณหภูมิ 38°C ในขณะที่เกิดแอกตินสายสั้นเป็นส่วนใหญ่ในพันธุ์ HKL1 ผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า แอกตินไซโทสเกเลตอนมีการเปลี่ยนแปลงที่ไวต่ออุณหภูมิและเห็นได้ชัดเจนกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ pH และ alkaline phosphatase ยิ่งไปกว่านั้น กิจกรรมการหลั่งสารออกนอกเซลล์ที่วัดจากเอนไซม์ alkaline phosphatase ไม่มีความสัมพันธ์ที่ชัดเจนกับไซโทสเกเลตอน นอกจากนี้ พันธุ์ HKL1 ไวต่อไคโทซาน (10 ppm O80 20 นาที) มากกว่า KDML105 ในทำนองเดียวกันกับภาวะอุณหภูมิสูง แม้ว่ามีการเพิ่มขึ้นของ pH ภายนอกเซลล์เหมือนกัน แต่การเกิดสายสั้นของสายแอกตินเกิดขึ้นเฉพาะใน RBCs ของ HKL1 ยิ่งไปกว่านั้น ยังพบว่ามีเซลล์ที่เกิด plasmolysis อย่างชัดเจนในบริเวณ elongation zone ของพันธุ์ HKL1 มากกว่า KDML105 นอกจากนี้ การที่อุณหภูมิ 35°C ทำให้เกิด actin ring ในเซลล์ชั้นผิวและแอกตินสายสั้นใน RBCs ของพันธุ์ KDML105 เมื่อมีไคโทซานมีความน่าสนใจมาก เพราะแสดงให้เห็นว่าไคโทซานไม่ได้ช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับแอกตินไซโทสเกเลตอนและเยื่อหุ้มเซลล์ แต่กลับเพิ่มความรุนแรงของภาวะอุณหภูมิสูงให้มากขึ้น เมื่อดูจากการเปลี่ยนเป็นแอกตินสายสั้นที่เกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำลง การตอบสนองของแอกตินที่แตกต่างกันระหว่างข้าวสองสายพันธุ์นี้สามารถเป็นเครื่องมือที่ใช้เพื่อศึกษาถึงหน้าที่ของ actin ring ที่เกิดจากภาวะอุณหภูมิสูงโดยใช้วิธีการทดลองอื่นๆ ได้ต่อไป

คำหลัก แอกติน ไคโทซาน ภาวะอุณหภูมิสูง *Oryza sativa* เซลล์บอร์เดอร์ของราก