

การผลิตเซลล์บอร์เดอร์ของรากข้าว Japonica (*Oryza sativa* ssp. *japonica*)
Production of Root Border Cells in Japonica Rice (*Oryza sativa* ssp. *japonica*)

จรรยา แปลกทิง^{1*} อัญชลี ใจดี¹ และกนกวรรณ เสรีภาพ¹
Janya Plaktink^{1*}, Anchalee Chaidee¹ and Kanogwan Seraypheap¹

Received: October 19, 2023

Revised: January 10, 2024

Accepted: January 16, 2024

Abstract: Root border cells (RBCs) function in secreting substances to protect root tip and promote plant growth. RBCs inevitably differ between plant species. Due to the high genetic variability of rice, it is promising to study RBCs of *Oryza sativa* ssp. *japonica* to compare with rice ssp. *indica*, previously reported about roles of RBCs in salt tolerance. Thus, seeds were germinated under sterile conditions to gain seedlings with different root lengths. RBC suspension was prepared by washing the root tip with distilled water, and RBC numbers were counted under microscopy. The results showed that the roots at 0.5 cm long produced high number of RBCs ($3,813 \pm 750$ cells). The number remained at a high level in the root length range of 0.3–3.2 centimeters and tended to reduce when the roots were longer. RBCs were grouped into three types based on shape. Compared to rice ssp. *indica*, the RBCs of rice ssp. *japonica* were much smaller, and the mucilage layer was distinctly thinner. In total, genotypic differences have an impact on RBCs, and this supports the criterion of using RBCs to explore cellular mechanistic responses to environmental stimuli.

Keywords: rice, root border cells, mucilage

บทคัดย่อ: เซลล์บอร์เดอร์ของราก (root border cells, RBCs) เป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่หลั่งสารที่ช่วยปกป้องปลายรากและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การผลิต RBCs มีความแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด เนื่องจากข้าวเป็นพืชอาหารที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมาก จึงน่าสนใจที่จะศึกษา RBCs ในข้าว *Oryza sativa* ssp. *japonica* เพื่อเปรียบเทียบกับข้าว ssp. *indica* ที่มีการรายงานก่อนหน้านี้เกี่ยวกับบทบาทของ RBCs ในการทนเค็ม ทำการศึกษาโดยเพาะเมล็ดในสภาวะปลอดเชื้อจนได้รากที่มีความยาวต่างๆ กัน นำมาเตรียมเซลล์แขวนลอย RBCs ด้วยการชะปลายรากในน้ำกลั่น จากการนับเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่า มีการผลิต RBCs มาก ($3,813 \pm 750$ เซลล์) ตั้งแต่เมื่อรากมีความยาว 0.5 เซนติเมตร จำนวน RBCs คงระดับในปริมาณมากในช่วงความยาวราก 0.3–3.2 เซนติเมตร และมีแนวโน้มลดลงเมื่อรากมีความยาวเพิ่มขึ้น การจำแนกกลุ่มของ RBCs ตามสัดส่วนได้เป็น 3 กลุ่ม จากการเปรียบเทียบกับข้าว ssp. *indica* พบว่า RBCs ของข้าว ssp. *japonica* มีขนาดเล็กกว่าและมีความหนาของชั้นสารเมือกบางกว่าอย่างชัดเจน ผลการศึกษาทำให้เห็นถึงปัจจัยด้าน

¹ ศูนย์เชี่ยวชาญเฉพาะทางด้านสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

¹ Center of Excellence in Environment and Plant Physiology, Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330, Thailand

* Corresponding author : ukleemaleema@gmail.com

ความแตกต่างทางพันธุกรรมที่มีต่อลักษณะของ RBCs ในข้าว ซึ่งสนับสนุนแนวทางในการใช้ RBCs เป็นเครื่องมือศึกษากลไกการตอบสนองของระดับเซลล์ต่อสัญญาณสิ่งแวดล้อมต่างๆ

คำสำคัญ: ข้าว, เซลล์บอร์เดอร์ของราก, สารเมือก

คำนำ

เซลล์บอร์เดอร์ของราก (root border cells; RBCs) เป็นเซลล์ที่ปกคลุมอยู่บริเวณด้านนอกสุดของปลายราก โดยเจริญมาจากเนื้อเยื่อเจริญหวมราก เมื่อ RBCs เจริญจนถึงระยะที่เหมาะสมจะผลัดออกจากปลายรากและแยกตัวออกจากกันเป็นเซลล์เดี่ยวที่ยังคงมีชีวิต เพื่อทำหน้าที่ในการหลังสารสำคัญหลายชนิดออกสู่สิ่งแวดล้อมรอบปลายราก (Yu *et al.*, 2006) สารเมือกและสารชนิดอื่นๆ ที่หลังจาก RBCs มีบทบาทสำคัญในการลดแรงเสียดทานขณะที่รากเจริญแทรกผ่านดิน (Nagayama *et al.*, 2019) รวมทั้งมีบทบาทในด้านการดึงดูดจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และลดความเป็นพิษจากโลหะหนัก (Cai *et al.*, 2011a,b) พืชแต่ละชนิดมีการผลิต RBCs ในปริมาณที่แตกต่างกัน พืชที่มีจำนวน RBCs มาก ได้แก่ พืชตระกูลถั่วและฝ้าย ในขณะที่ *Arabidopsis* ไม่สร้าง RBCs (Hamamoto *et al.*, 2006) สำหรับพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมีการสร้าง RBCs เช่นกัน แต่ยังคงมีรายงานการศึกษาเพียงไม่กี่ชนิด เช่น ข้าวโพด กล้วย และข้าว (Wuyts *et al.*, 2006; Yan *et al.*, 2014; Ninmanont *et al.*, 2021, 2023) นอกจากความแตกต่างอันเนื่องมาจากพันธุกรรมแล้ว ปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่แตกต่างกันมีผลต่อจำนวน RBCs ที่พืชสร้างขึ้นด้วย

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ สามารถนำมาบริโภค และแปรรูป ข้าวมีการจัดกลุ่มเป็น 2 กลุ่มหลัก (*subspecies*, ssp.) ได้แก่ *indica* และ *japonica* ซึ่งในแต่ละกลุ่มนั้นมีความหลากหลายของสายพันธุ์ (Sweeney and McCouch, 2007) นอกจากนั้นข้าวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีขนาดเล็ก จึงเป็นพืชที่น่าสนใจที่จะใช้ในการศึกษาการสร้าง RBCs เพื่อให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับหน้าที่ของ RBCs ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวได้ดียิ่งขึ้น

(Ninmanont *et al.*, 2021) รายงานถึงความสัมพันธ์ระหว่าง RBCs กับความสามารถในการทนเค็มของข้าว ตลอดจนได้รายงานถึงรูปร่างและขนาดของ RBCs ที่มีความแตกต่างกันโดยขึ้นกับระยะการเจริญของราก (Ninmanont *et al.*, 2023) ซึ่งรายงานดังกล่าวศึกษาในข้าว ssp. *indica* พบว่า Pokkali ที่เป็นสายพันธุ์ทนเค็มมาตรฐานมีปริมาณ RBCs มากและไม่แตกต่างกันในช่วงความยาวราก 1–4 เซนติเมตร อีกทั้งเมื่อได้รับสภาวะเค็มพบว่าต้นกล้าสามารถเจริญเติบโตมีความยาวรากเพิ่มขึ้นโดยที่มีปริมาณ RBCs และสารเมือกคงเดิม ในขณะที่สายพันธุ์ที่อ่อนแอต่อสภาวะเค็ม IR29 มีความหนาของชั้นสารเมือกที่ลดลงเมื่อได้รับสภาวะเค็มที่ระดับเดียวกัน (Ninmanont *et al.*, 2021) สำหรับงานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการสร้าง RBCs ของข้าว ssp. *japonica* cv. Nipponbare ซึ่งเป็นข้าวที่นิยมปลูกในเขตอบอุ่นซึ่งจะได้นำผลการศึกษาไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับงานที่มีมาก่อนในข้าว ssp. *indica* ที่ปลูกในเขตร้อน

อุปกรณ์และวิธีการ

พืชที่ใช้ในการทดลอง

เมล็ดพันธุ์ข้าว (*Oryza sativa* ssp. *japonica* cv. Nipponbare) ที่ได้จากการปลูกเพื่อเก็บเมล็ดพันธุ์ที่โรงเรียนภาควิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษาจำนวน RBCs ที่ปกคลุมปลายรากที่มีความยาวต่างกัน

เตรียมต้นกล้าที่มีความยาวรากที่แตกต่างกันในสภาวะปลอดเชื้อ โดยพอกฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ด (Ninmanont *et al.*, 2021) เพาะลงในกล่องเพาะที่ให้สารละลายธาตุอาหาร ½ strength Hoagland (Hoagland and Arnon, 1950) ด้วยระบบแอโรพอนิกส์ วางกล่องเพาะเมล็ดในที่มืด อุณหภูมิ

25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน (Hamamoto *et al.*, 2006) นับจำนวนเมล็ดงอกในวันที่ 3 และ 4 นำรากปฐมนิยามวัดค่าความยาว แล้วจึงเตรียมเซลล์แขวนลอย RBCs โดยการแช่ปลายรากในน้ำกลั่นและใช้ไมโครปิเปตต์ดูดหว่านปลายรากให้ RBCs หลุดออกจนหมด นำเซลล์แขวนลอย RBCs ที่ได้มานับจำนวน RBCs ด้วยฮีโมไซโตมิเตอร์ (hemocytometer) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ทำการทดลองในช่วงความยาว 1–5 เซนติเมตร มีจำนวนรากที่ศึกษารวม 29 ราก จำแนกกลุ่มตามความยาวรากและคำนวณสัดส่วนของต้นกล้าในแต่ละกลุ่ม (Ropitiaux *et al.*, 2020; Ninmanont *et al.*, 2023)

การศึกษารูปร่างลักษณะของ RBCs

นำเซลล์แขวนลอย RBCs มาย้อมด้วย India ink เข้มข้น 10% เป็นเวลา 10 นาที (Cai *et al.*, 2011a) India ink ไม่สามารถแพร่เข้าสู่สารเมือกได้ จึงแสดงให้เห็นขอบเขตของสารเมือกที่ล้อมรอบ RBCs และสามารถวัดความหนาของชั้นสารเมือกได้ บันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพที่ติดอยู่กับกล้องจุลทรรศน์ จากนั้นวัดขนาดของเซลล์และความหนาของชั้นสารเมือกด้วยโปรแกรม ImageJ (Rasband, 1997–2018) เซลล์แขวนลอย RBCs ที่ใช้ในการศึกษานี้ ได้จากรากที่มีความยาว 1.0 ± 0.2 เซนติเมตร มีจำนวนเซลล์ที่ศึกษารวม 9 เซลล์ ค่าเฉลี่ยขนาดของเซลล์และความหนาของชั้นสารเมือกใน RBCs แต่ละแบบ มีจำนวน 3 ซ้ำ

การศึกษาความมีชีวิตของ RBCs

ลักษณะของ RBCs ที่มีชีวิตและที่ตายแล้วแสดงให้เห็นด้วยการย้อมสี phenosafranin เข้มข้น 0.01% และบันทึกภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ใช้แสง เซลล์ที่ตายแล้วและมีเยื่อหุ้มเซลล์ที่เสียสภาพจะติดสีแดง ส่วนเซลล์ที่มีชีวิตจะไม่ติดสีแดงของ phenosafranin (Widholm, 1972; Pan *et al.*, 2001)

การศึกษาลักษณะของปลายรากที่ปกคลุมด้วย RBCs และสารเมือก

ลักษณะปลายรากที่ปกคลุมด้วย RBCs และสารเมือกแสดงให้เห็นชัดเจนโดยการย้อมปลายรากของต้นกล้าที่มีความยาวราก 1.0 ± 0.2 เซนติเมตร ด้วย alcian blue เข้มข้น 0.03% สารเมือกซึ่งมี

mucopolysaccharide เป็นองค์ประกอบหลักจะย้อมติดสีฟ้าของ alcian blue (Ghanem *et al.*, 2010)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณเซลล์ที่ผลิตโดยรากที่ความยาวต่างๆ ตลอดจนขนาดของ RBCs และความหนาของชั้นสารเมือกใน RBCs แต่ละแบบ ทำโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) และ Dunnett T3 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 22 (SPSS GmbH Software, Chicago, USA)

ผลการทดลองและวิจารณ์

จำนวน RBCs ที่ผลิตโดยรากความยาวต่างๆ

ในการเตรียมต้นกล้าเพื่อใช้ศึกษาการสร้าง RBCs โดยการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 4 วัน จะได้ต้นกล้าที่มีความยาวรากปฐมนิยามที่แตกต่างกัน เนื่องจากเมล็ดเกิดการงอกที่ไม่พร้อมกัน ในกลุ่มต้นกล้าที่มีความยาวราก 0.3–3.2 เซนติเมตร ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 93 ของจำนวนต้นกล้าทั้งหมด (29 ต้น) มีต้นกล้าที่มีความยาวราก 1.0 ± 0.2 เซนติเมตร ในสัดส่วนที่มากที่สุด (ร้อยละ 38) ต้นกล้าที่มีความยาวราก 1.5 ± 0.2 และ 2.0 ± 0.2 เซนติเมตร มีสัดส่วนรองลงมา คือ ร้อยละ 17 และ 14 ตามลำดับ (Figure 1) เมื่อนำมาศึกษาการสร้าง RBCs พบว่าปลายรากของข้าว *japonica* มีการสร้าง RBCs เป็นจำนวนที่ผันแปรและขึ้นกับความยาวราก (Figure 1) กล่าวคือ รากที่มีความยาว 0.5 ± 0.2 เซนติเมตร มีจำนวน RBCs มากถึง 3,813 เซลล์ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับจำนวน RBCs ที่สร้างโดยรากที่ยาว 1.0 ± 0.2 , 1.5 ± 0.2 และ 2.0 ± 0.2 เซนติเมตร โดยมีจำนวน RBCs 3,506 3,650 และ 3,578 เซลล์ ตามลำดับ ในขณะที่กลุ่มความยาวราก 2.5 ± 0.2 และ 3.0 ± 0.2 เซนติเมตร มีจำนวน RBCs 1,936 และ 3,042 เซลล์ ซึ่งมีแนวโน้มที่ลดลง เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย พบว่าจำนวน RBCs ที่ผลิตโดยรากที่มีความยาวในช่วง 0.3–3.2 เซนติเมตรนี้

ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สำหรับรากที่มีความยาว 3.5 ± 0.2 และ 5.0 ± 0.2 เซนติเมตร นั้น พบเพียง ร้อยละ 3 (N=1) ซึ่งไม่สามารถใช้ข้อมูลวิเคราะห์ ความแตกต่างระหว่างกลุ่มได้ อย่างไรก็ตาม จะเห็นได้ว่า รากที่มีความยาว 5.0 ± 0.2 เซนติเมตร มีจำนวน RBCs เพียง 1,250 เซลล์ (Figure 1) แสดงว่า จำนวน RBCs ที่ผลิตจากปลายรากมีความสัมพันธ์กับความยาวหรืออายุของรากที่เพิ่มขึ้นด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาในข้าว *ssp. indica* (Ninmanont *et al.*, 2023) พบว่ามีรูปแบบที่คล้ายกัน กล่าวคือ เมื่อรากมีความยาวไม่มากนัก จะมีการสร้าง RBCs เป็นจำนวนมาก โดยข้าว *ssp. indica* cv. KDML105 ที่ความยาวราก 1.0 เซนติเมตร มีจำนวน RBCs 5,229 เซลล์ ในขณะที่รากที่มีความยาวมากขึ้น (4.0 เซนติเมตร) มี RBCs จำนวนน้อย คือประมาณ 2,367 เซลล์ นอกจากนี้ เมื่อพิจารณารูปแบบการสร้าง RBCs ในภาพรวม (Figure 1) จะเห็นได้ว่า ข้าว *ssp. japonica* มีจำนวน RBCs ที่มากและไม่แตกต่างกันในช่วงความยาว 0.3-3.2 เซนติเมตร รูปแบบดังกล่าวคล้ายกับข้าว *ssp. indica* var. Pokkali ซึ่งเป็นสายพันธุ์ทนเค็ม แต่แตกต่างกับสายพันธุ์ IR29 ซึ่งอ่อนแอต่อสภาวะเค็ม

(Ninmanont *et al.*, 2021) เนื่องจาก RBCs ทำหน้าที่หลั่งสารเมือกที่ช่วยปกป้องปลายรากจากสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่างๆ การสร้าง RBCs จำนวนมากตั้งแต่เมื่อรากมีระยะการเจริญแรกเริ่ม (มีความยาวราก 0.5 เซนติเมตร) ตลอดจนการรักษาจำนวน RBCs ให้มีปริมาณมากในขณะที่ยากมีการเจริญเพิ่มมากขึ้น เป็นลักษณะที่มีคุณประโยชน์ต่อพืช (Odell *et al.*, 2008) ลักษณะดังกล่าวพบในข้าว *ssp. indica* var. Pokkali (Ninmanont *et al.*, 2021) และในข้าว *ssp. japonica* cv. Nipponbare ในการศึกษาครั้งนี้

เมื่อพิจารณาความยาวรากที่มีการสร้าง RBCs มากที่สุด พบว่าแตกต่างกันระหว่างข้าว *ssp. japonica* (0.5 เซนติเมตร) และข้าว *ssp. indica* (1.0 เซนติเมตร, Ninmanont *et al.*, 2021, 2023) เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในพืชชนิดอื่นๆ พบว่าความยาวรากที่มีการสร้าง RBCs สูงสุดคือ 2.0-2.5 เซนติเมตร (พืชใบเลี้ยงคู่: Qiao *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2000; พืชใบเลี้ยงเดี่ยว: Cai *et al.*, 2011b; Yan *et al.*, 2014) อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างกันนี้อาจเป็นผลมาจากปัจจัยอื่นๆ นอกเหนือจากปัจจัยทางพันธุกรรม เช่น สภาวะในการปลูก ตลอดจนธาตุอาหารที่พืชได้รับ ซึ่งต้องนำมาพิจารณาร่วมด้วยเช่นกัน (Ninmanont *et al.*, 2021)

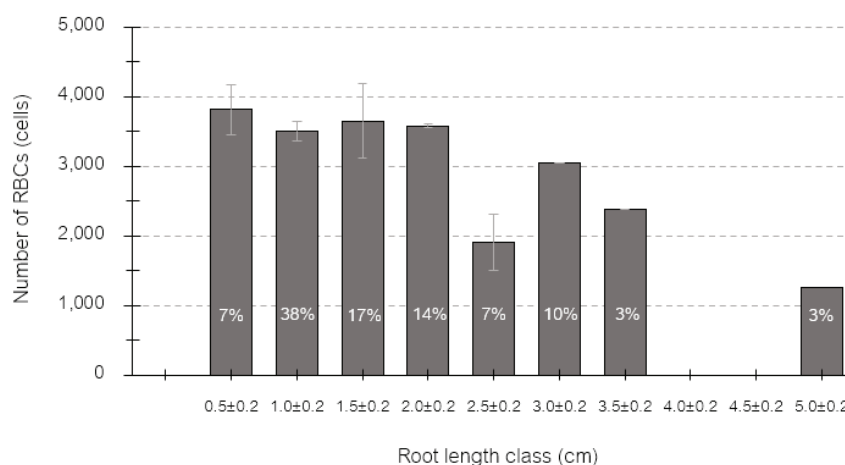


Figure 1 The root length-dependent production of root border cells (RBCs) in *japonica* rice. Means with standard errors. The proportion of root length classes is shown in percent (N=29). There was no significant mean difference among root length classes in the range of 0.3–3.2 centimeters.

ลักษณะของ RBCs และสารเมือกที่ปกคลุมปลายรากข้าว

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นลักษณะของปลายรากที่มี RBCs และสารเมือกปกคลุมอยู่ (Figure 2) เมื่อนำ RBCs มาวัดความกว้างและความยาวของเซลล์ และจำแนกกลุ่มด้วยค่าอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง (Ropitiaux *et al.*, 2020; Ninmanont *et al.*, 2023) พบว่ารูปร่างของ RBCs มี 3 แบบ ได้แก่ เซลล์ทรงกลม (spherical shape) ซึ่งมีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง 1.55 ไมโครเมตร (Figure 2b, Table 1) เป็นเซลล์ที่พบมากบริเวณหมวกราก เซลล์กลุ่มนี้มีความหนาของสารเมือก 6.11 ไมโครเมตร เซลล์ทรงสี่เหลี่ยม (rectangular shape) มีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง 5.05 ไมโครเมตร (Figure 2c, Table 1) พบมากที่บริเวณ zone of division ของราก โดยมีความหนาของสารเมือก 4.67 ไมโครเมตร และเซลล์ทรงยาว (elongated shape) ที่มีอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง 6.70 ไมโครเมตร (Figure 2d, Table 1) พบมากที่บริเวณ zone of elongation และ zone of differentiation ของราก และมีความหนาของสารเมือก 1.08 ไมโครเมตร จะเห็นได้ว่ารูปร่างของ RBCs นั้นมีลักษณะคล้ายกับเซลล์ในแต่ละบริเวณของรากมีระยะการเจริญต่างกัน อีกทั้งยังสัมพันธ์กับความสามารถในการสร้างสารเมือกของเซลล์ด้วย โดยจะเห็นว่าเซลล์แบบทรงกลมและทรงสี่เหลี่ยมซึ่งมีอายุน้อยกว่า มีความหนาของสารเมือกมากกว่าเซลล์ทรงยาว ผลการศึกษาที่พบว่า RBCs ของข้าว *ssp. japonica* มีรูปร่างต่างกัน 3 กลุ่มนี้ สอดคล้องกับที่ได้มีการจัดจำแนกในถั่วเหลือง (Ropitiaux *et al.*, 2020) และข้าว *ssp. indica* cv. KDML105 (Ninmanont *et al.*, 2023) อย่างไรก็ตาม ในขณะที่ RBCs ของข้าว *indica* และถั่วเหลืองมีขนาดที่ใกล้เคียงกัน RBCs ทั้ง 3 แบบของข้าว *japonica* มีขนาดเล็กกว่า RBCs ของข้าว *indica* ประมาณ 2-3 เท่า

สำหรับรูปร่างและขนาดที่แตกต่างกันของ RBCs ทั้ง 3 แบบนี้ มีความสัมพันธ์กับความสามารถ

ในการหลั่งสารเมือก (Ropitiaux *et al.*, 2020) RBCs แบบ spherical ของถั่วเหลืองมีความหนาของชั้นสารเมือกที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแบบ rectangular และ elongated ส่วน RBCs แบบ rectangular นั้นมีความหนาของชั้นสารเมือกที่มากกว่าแบบ elongated อย่างมีนัยสำคัญ (Ropitiaux *et al.*, 2020) ลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับความต้องการสารเมือกในการปกป้องเนื้อเยื่อที่แตกต่างกันในแต่ละบริเวณของการเจริญ กล่าวคือ ในบริเวณ zone of division มีเนื้อเยื่อเจริญปลายรากที่ต้องการการปกป้องสูง RBCs แบบ spherical ที่พบมากในบริเวณนี้จึงมีความสามารถในการหลั่งสารเมือกที่มากกว่า RBCs ทั้งสองแบบที่พบในบริเวณ zone of elongation และ zone of differentiation สำหรับองค์ประกอบของสารเมือกนั้น นอกจากสารกลุ่ม mucopolysaccharide ที่เป็นองค์ประกอบหลักแล้ว ยังพบโปรตีนและสารสำคัญอีกกว่าหนึ่งร้อยชนิดที่มีบทบาทในการปกป้องปลายรากจากจากสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่างๆ (Wen *et al.*, 2007; Driouich *et al.*, 2021) จากภาพที่ 2a จะเห็นได้ว่า ข้าว *ssp. japonica* มี RBCs และสารเมือกปกคลุมบริเวณปลายรากที่ระยะความยาว 3.6 มิลลิเมตรในปริมาณมาก แต่จากการนำเซลล์แขวนลอย RBCs ที่เตรียมโดยวิธีการชะปลายรากมาศึกษา พบว่าแต่ละเซลล์มีชั้นของสารเมือกล้อมรอบค่อนข้างบาง (Table 1) ซึ่งน้อยกว่าข้าว *ssp. indica* ประมาณ 2.5-8 เท่า (Ninmanont *et al.*, 2023) แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างกันขององค์ประกอบของสารเมือก มีรายงานว่าปริมาณ xyloglucan (hemicellulose) มีบทบาทในการคงตัวของสารเมือก (Ropitiaux *et al.*, 2019) จึงเป็นไปได้ว่าสารเมือกที่หลั่งโดย RBCs ของข้าว *ssp. japonica* มีปริมาณ xyloglucan น้อยกว่าข้าว *ssp. indica* จากการพบบทบาทของ RBCs และสารเมือกในการปกป้องปลายรากในสภาวะเค็มในข้าว *ssp. indica* (Ninmanont *et al.*, 2023) จึงเป็นที่น่าสนใจว่าลักษณะของ RBCs ที่แตกต่างในข้าว *ssp. japonica* มีบทบาทเช่นนั้นหรือไม่ซึ่งควรมีการศึกษาเชิงลึกต่อไป

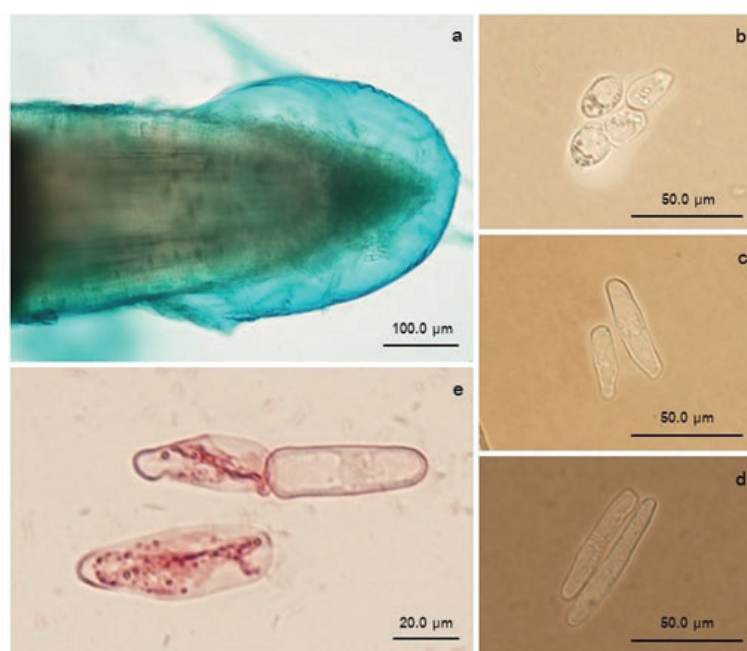


Figure 2 Microscopic characterization of root border cells (RBCs) and mucilage of 4 days old *japonica* rice seedling. (a) A healthy root tip covered with mucilage stained with alcian blue dye. Note RBCs are located within the mucilage. (b-d) Three types of detached RBCs stained with India ink: (b) spherical, (c) rectangular, and (d) elongated. And (e) viable and dead RBCs stained with phenosafranin.

Table 1 Three types of root border cells of *O. sativa* ssp. *japonica* categorized by size. Mean $\pm$ SE. Different letters indicate significant mean difference according to Dunnett T3 and DMRT ($P < 0.01$).

Characteristics	Types according to cell size		
	Spherical	Rectangular	Elongated
Length (μm)	20.95 ± 2.51^b	50.78 ± 2.51^a	60.98 ± 2.42^a
Width (μm)	13.71 ± 0.57^a	10.29 ± 1.22^{ab}	9.10 ± 0.17^b
Length: Width Ratio	1.55 ± 0.30^c	5.05 ± 0.95^b	6.70 ± 0.28^a
Mucilage layer thickness (μm)	6.11 ± 1.37^a	4.67 ± 0.39^a	1.08 ± 0.12^b

สรุป

การศึกษา RBCs ที่ผลิตจากเนื้อเยื่อเจริญของรากของข้าว ssp. *japonica* พบว่าจำนวนของ RBCs มีความสัมพันธ์กับความยาวรากหรืออายุของรากด้วย โดยการสร้าง RBCs นั้นมีมากในระยะแรกของการเจริญ โดยมีการผลิต RBCs มากถึง $3,813 \pm 750$ เซลล์ ตั้งแต่เมื่อรากมีความยาว 0.5 เซนติเมตร และมีจำนวน RBCs ในปริมาณมากในช่วงความยาว 0.3–3.2 เซนติเมตร และมีแนวโน้มลดลงเมื่อรากมีความยาวเพิ่มขึ้น

รูปร่างของ RBCs ที่รากผลิต พบว่ามี 3 รูปแบบ ซึ่งจำแนกกลุ่มด้วยอัตราส่วนความยาวต่อความกว้าง ได้แก่ เซลล์ทรงกลม เซลล์ทรงสี่เหลี่ยม และเซลล์ทรงยาว เซลล์แต่ละกลุ่มมีความหนาของสารเมือกห่อหุ้มเซลล์ที่ต่างกัน เซลล์ทรงกลมและเซลล์ทรงสี่เหลี่ยมซึ่งมีอายุน้อยกว่าจะมีความหนาของสารเมือกมากกว่าเซลล์ทรงยาวที่มีอายุมากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับบทบาทในการปกป้องเนื้อเยื่อเจริญที่อยู่ในบริเวณส่วนปลายราก โดยแม้ว่าจะมีรูปแบบการสร้างและรูปร่างของเซลล์ที่คล้ายกับข้าว ssp. *indica* ที่มีการรายงาน

ก่อนหน้านี้ เป็นที่น่าสนใจว่า RBCs ของข้าว ssp. *japonica* มีขนาดที่เล็กกว่าและมีความหนาของชั้นสารเมือกน้อยกว่าอย่างชัดเจน ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความเชื่อมโยงกันของลักษณะ RBCs กับความแตกต่างทางพันธุกรรมที่เกิดจากปัจจัยด้านภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกันของข้าวทั้งสองกลุ่ม ความแตกต่างนี้สนับสนุนแนวทางในการใช้ RBCs เป็นเครื่องมือในการศึกษาเชิงเปรียบเทียบ เพื่อให้เข้าใจถึงกลไกระดับเซลล์ในการตอบสนองต่อสัญญาณสิ่งแวดล้อมต่างๆ ได้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Cai, M.Z., F.M. Wang, R.F. Li, S.N. Zhang, N. Wang and G.D. Xu. 2011a. Response and tolerance of root border cells to aluminum toxicity in soybean seedlings. *Journal of Inorganic Biochemistry* 105: 966–971.
- Cai, M.Z., S.N. Zhang, C.H. Xing, F.M. Wang, W. Ning and Z. Lei. 2011b. Developmental characteristics and aluminum resistance of root border cells in rice seedlings. *Plant Science* 180: 702–708.
- Driouch, A., A. Gaudry, B. Pawlak and J. P. Moore. 2021. Root cap–derived cells and mucilage: A protective network at the root tip. *Protoplasma* 258: 1179–1185.
- Ghanem, E. M., R. M Han, B. Classen, J. Quetin-Leclercq, G. Mahy, C. J. Ruan, P. Qin, F. Pérez-Alfocea and S. Lutts. 2010. Mucilage and polysaccharides in the halophyte plant species *Kosteletzkya virginica*: Localization and composition in relation to salt stress. *Journal of plant physiology* 167: 382–392.
- Hamamoto, L., M.C. Hawes and T.L. Rost. 2006. The production and release of living root cap border cells is a function of root apical meristem type in dicotyledonous angiosperm plants. *Annals of Botany* 97: 917–923.
- Hoagland, D.R. and D.I. Arnon. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station* 347: 1–32.
- Nagayama, T., A. Nakamura, N. Yamaji, S. Satoh, J. Furukawa and H. Iwai. 2019. Changes in the distribution of pectin in root border cells under aluminum stress. *Frontiers in Plant Science* 10: 1216.
- Ninmanont, P., C. Wongchai, W. Pfeiffer and A. Chaidee. 2021. Salt stress of two rice varieties: Root border cell response and multi-logistic quantification. *Protoplasma* 258: 1119–1131.
- Ninmanont, P., C. Wongchai, W. Pfeiffer and A. Chaidee. 2023. Integration of root border cells in salt stress response of Thai jasmine rice. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 23: 4426–4437.
- Odell, R.E., M.R. Dumlao, D. Samar and W.K. Silk. 2008. Stage-dependent border cell and carbon flow from roots to rhizosphere. *American Journal of Botany* 95: 441–446.
- Pan, J., M. Zhu and H. Chen. 2001. Aluminum-induced cell death in root-tip cells of barley. *Environmental and Experimental Botany* 46: 71–79.

- Qiao, Y. X., Y. Zhang, H. Zhang, Y. Tian and L. Gao. 2013. Developmental characteristics and cinnamic acid resistance of root border cells in cucumber and fig leaf gourd seedlings. *Journal of Integrative Agriculture* 12: 2065–2073.
- Rasband, W. S. 1997–2018. ImageJ. U.S. NIH, Bethesda, Maryland. (Online): Available Source: <https://imagej.nih.gov/ij/>
- Ropitiaux, M., S. Bernard, M. L. Follet-Gueye, M. Vicré, I. Boulogne and A. Driouich. 2019. Xyloglucan and cellulose form molecular cross-bridges connecting root border cells in pea (*Pisum sativum*). *Plant Physiology and Biochemistry* 139: 191–196.
- Ropitiaux, M., S. Bernard, D. Schapman, M. Follet-Gueye, M. Vicre, I. Boulogne and A. Driouich. 2020. Root border cells and mucilage secretions of soybean, *Glycine max* (Merr) L.: characterization and role in interactions with the oomycete *Phytophthora parasitica*. *Cells* 9: 2215.
- Sweeney, M. and S. McCouch. 2007. The complex history of the domestication of rice. *Annals of Botany* 100: 951–957.
- Wen, F., H. D. Van-Etten, G. Tsaprailis and M. C. Hawes. 2007. Extracellular proteins in pea root tip and border cell exudates. *Plant Physiology* 143: 773–783.
- Widholm, J. M. 1972. The use of fluorescein diacetate and phenosafranine for determining viability of cultured plant cells. *Stain Technology* 4: 189–194.
- Wuyts, N., Z. T. Z. Maung, R. Swennen and D. D. Waele. 2006. Banana rhizodeposition: Characterization of root border cell production and effects on chemotaxis and motility of the parasitic nematode *Radopholus similis*. *Plant Soil* 283: 217–228.
- Yan, Z., C. Bo, G. Shibin and R. Tingzhao. 2014. Biological characters of root border cells development in maize (*Zea mays*). *Biotechnology* 13: 89–98.
- Yu, M., Y.M. Feng and H.E. Goldbach. 2006. Mist culture for mass harvesting of root border cells: aluminum effects. *Plant Nutrient Soil Science* 169: 670–674.
- Zhao, X., I.J. Misaghi and M.C. Hawes. 2000. Stimulation of border cell production in response to increased carbon dioxide levels. *Plant Physiology* 122: 181–188.