วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 27 (ฉบับที่ 3) กันยายน – ธันวาคม พ.ศ. 2565
BURAPHA SCIENCE JOURNAL Volume 27 (No.3) September – December 2022

ความหนาแน่นเส้นใบ จำนวนและขนาดเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงในใบข้าวไทย 4 พันธุ์ปลูก

Vein Density, Number and Size of Interveinal Mesophyll Cells of Four Thai Cultivars of Rice (*Oryza sativa* L.)

ขนิษฐา แก้วสงค์ และ ภาคภูมิ พระประเสริฐ*
Khanidta Kaewsong and Phakpoom Phraprasert*
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University
Received : 8 March 2022
Revised : 24 March 2022
Accepted : 28 April 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคของใบข้าว 4 พันธุ์ปลูก ได้แก่ กข7 กข49 ปทุมธานี1 และพัทลุง เพื่อคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ข้าวพันธุ์ที่มีการสังเคราะห์ด้วยแสงที่มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น โดยเก็บตัวอย่างใบธงที่อายุ 60 วันหลังหว่านเมล็ด นำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคของใบข้าว ได้แก่ ศึกษาความหนาแน่นของเส้นใบ ระยะห่างระหว่างท่อลำเลียง จำนวนและขนาดของเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง พบว่า ข้าวทั้ง 4 พันธุ์ปลูกมีความหนาแน่นเส้นใบของใบธงเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 4.29-4.83 เส้นใบ/มิลลิเมตร โดยมีระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงมีค่าอยู่ระหว่าง 402-448 **ไมโครเมตร** ซึ่งบริเวณระหว่างท่อลำเลียงบริเวณใต้เซลล์ยนต์ 2 ชั้นจะมีเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงเป็นองค์ประกอบจำนวน 7-8 เซลล์ โดยเซลล์มีโซฟิลล์มีความกว้างเซลล์อยู่ระหว่าง 50-62 **ไมโครเมตร** และมีความยาวเซลล์อยู่ระหว่าง 23-26 **ไมโครเมตร** ทั้งนี้การที่ใบมีความหนาแน่นของเส้นใบแตกต่างกันมาจากความยาวและจำนวนเซลล์ของเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง

คำสำคัญ : ข้าว ; กายวิภาคใบ ; ความหนาแน่นเส้นใบ ; มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง

Abstract

This research studied on leaf morphology and anatomy of four cultivars of rice, RD7, RD49, Pathumthani1, and Phatthalung. The objective of this research was to select the cultivar that its morphological and anatomical characters can be use in breeding program to higher photosynthetic efficiency of rice. Flag leaves from rice plant (60 day after sowing) were collected. The morphological and anatomical characteristics including vein density, interveinal length and number of interveinal-mesophyll and their size were determined. Vein density of four rice cultivars were in a range of 4.29-4.83 vein/mm. and the interveinal length were between 402-448 μm. The second layer of mesophyll underneath the bulliform cells at the interveinal position of four cultivars were in the ranges of 7-8 cells. The size of the mesophyll in width and length of the cells were in the ranges of 50-62 μm and 23-26 μm, respectively. In summary, the differ of vein density of rice leaves are from the cell length and number of interveinal mesophyll cells.

Keywords : rice ; leaf anatomy ; vein density ; interveinal mesophyll

***Corresponding author. E-mail** : phakpoompp@yahoo.com

บทนำ

ข้าวเป็นธัญพืชเศรษฐกิจที่สำคัญและเป็นอาหารหลักของประชากรมากกว่าครึ่งหนึ่งของประชากรโลก และตลาดโลกมีความต้องการข้าวเพิ่มขึ้นทุกปี (Gadal *et al*., 2019) รวมทั้งการประเมินจำนวนประชากรโลกในปี 2050 ที่อาจเพิ่มขึ้นจากปัจจุบันอีกประมาณ 1,800 ล้านคน จึงมีความต้องการอาหารเพิ่มมากขึ้นและส่งผลให้ความมั่นคงทางอาหารของโลกลดลง (Smillie *et al*., 2012) ดังนั้นประเทศที่ผลิตข้าวจึงมีความพยายามเพิ่มผลผลิตข้าวโดยใช้เทคนิคต่าง ๆ เช่น การปรับปรุงพันธุ์ การบริหารจัดการเพาะปลูก การตัดต่อยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์แสงจากพืชที่มีผลผลิตสูง เช่น นำยีนข้าวโพดใส่ในข้าว เพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวซึ่งพบว่าได้ผลผลิตเพิ่มขึ้นแต่อาจไม่เพียงพอต่อความต้องการของประชากรโลกในอนาคต

นอกจากลักษณะทางสรีรวิทยาของข้าวแล้วลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อผลผลิตของข้าว (Feldman *et al*., 2017) กระบวนการที่สำคัญต่อผลผลิตข้าวคือกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลซึ่งจะถูกลำเลียงไปใช้ในส่วนต่าง ๆ รวมทั้งการสะสมในรูปของแป้งในรวงข้าว โดยการลำเลียงผลผลิตเริ่มจากแหล่งสังเคราะห์ด้วยแสงคือเซลล์มีโซฟิลล์ไปยังซีฟทิวบ์ (sieve tube) ในท่อลำเลียงของใบ ซึ่งมีการลำเลียงผ่านทาง apoplast เป็นหลัก (Wang *et al*., 2021) และเมื่อศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของใบข้าว พบว่า มีเส้นใบขนาดใหญ่ เส้นใบขนาดเล็ก เซลล์ยนต์ (bulliform cell) และเซลล์มีโซฟิลล์ ซึ่งในใบข้าวมีจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างมัดท่อลำเลียงมากถึง 8 เซลล์ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวโพดซึ่งมีเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างมัดท่อลำเลียงเพียง 2 เซลล์ (Smillie *et al*., 2012) ลักษณะทางกายวิภาคดังกล่าวจึงทำให้ข้าวโพดมีการขนส่งน้ำตาลไปยังท่อลำเลียงได้เร็วกว่าข้าว ซึ่งเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ข้าวโพดเจริญเติบโตและให้ผลผลิตดีกว่าข้าว (Karki *et al*., 2013) จากการศึกษาของ Mathan *et al*. (2021) ที่ศึกษาเปรียบเทียบในข้าว *Oryza australiensis* และ *O. sativa* cv. Nipponbare พบว่า *O. australiensis* มีการสะสมมวลชีวภาพสูงกว่า และเมื่อทำการศึกษาอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงต่อพื้นที่ใบพบว่าไม่แตกต่างจาก *O. sativa* แต่การที่ *O. australiensis* สะสมมวลชีวภาพได้มากกว่าเนื่องจากมีอัตราการลำเลียงซูโครสสูงกว่า ซึ่งการที่พืชสามารถขนส่งน้ำตาลออกจากมีโซฟิลล์ไปสู่ท่อลำเลียงได้เร็วมีผลดีคือทำให้อัตราการสังเคราะห์แสงมีประสิทธิภาพสูงขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Adam *et al*. (2003) ที่ได้รายงานไว้ว่าอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชมีความสัมพันธ์กับความหนาแน่นของเส้นใบ

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคชี้ให้เห็นว่าระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการขนส่งผลผลิตจากการสังเคราะห์ด้วยแสงและมีผลต่อประสิทธิภาพสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งยังขาดข้อมูลทางด้านสัณฐานวิทยาและกายวิภาคของข้าวไทย ซึ่งอาจมีความแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ปลูก โดยความผันแปรของระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงนี้ขึ้นกับจำนวนและขนาดของเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคของใบข้าวไทย 4 พันธุ์ปลูก โดยทำการศึกษาความหนาแน่นเส้นใบ ระยะห่างระหว่างท่อลำเลียง จำนวนและขนาดของเซลล์มีโซฟิลล์ที่อยู่ระหว่างท่อลำเลียง (interveinal mesophyll) เพื่อคัดเลือกพันธุ์ที่มีลักษณะทางสัณฐานและกายวิภาคของใบที่เอื้ออำนวยให้สามารถรองรับการสังเคราะห์ด้วยแสงที่มีประสิทธิภาพที่สูงขึ้น และสามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวในอนาคตต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การปลูกข้าว

นำเมล็ดข้าวพันธุ์ กข7 กข49 ปทุมธานี1 และพัทลุง มาเพาะในจานแก้วจานละ 20 เมล็ด เติมน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร เป็นเวลาประมาณ 7-10 วัน หลังจากนั้นย้ายต้นกล้าที่แข็งแรงมาปลูกในกระถางขนาด 20x20 เซนติเมตร ที่มีดิน 1,000 กรัม ผสมกับปุ๋ยละลายช้าสูตร 13-13-13 ปริมาณ 10 กรัม โดยปลูกกระถางละ 1 ต้น พันธุ์ละ 4 กระถาง จากนั้นแช่กระถางไว้ในอ่างซีเมนต์ที่มีน้ำสูงกว่าขอบกระถาง 1-2 เซนติเมตร ดูแลและกำจัดวัชพืช จนกระทั่งข้าวเจริญเติบโตเต็มที่

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบข้าว

ตัดใบข้าวโดยเลือกใบธงที่เจริญเติบโตเต็มที่มีอายุประมาณ 60 วันหลังเพาะเมล็ด วัดความยาวและความกว้างใบ ตัดใบธงของข้าวบริเวณกลางใบยาว 2 เซนติเมตร ส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ นับจำนวนเส้นใบและบันทึกผล คำนวณหาความหนาแน่นเส้นใบจากสูตร (1)

$$\text{ความหนาแน่นเส้นใบ (เส้นใบ/มิลลิเมตร)} = \text{จำนวนเส้นใบ / ความกว้างใบ} \quad (1)$$

การศึกษาทางกายวิภาคของใบข้าว

เตรียมสไลด์ถาวรด้วยวิธีการดังนี้ ตัดชิ้นส่วนใบจากส่วนกลางของใบธงที่เจริญเต็มที่ขนาด 1 เซนติเมตร นำไปดึงน้ำออกจากเซลล์โดยใช้เอธิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 30%, 50%, 70%, 95% และ 100% ขั้นตอนละ 5 นาที ตามลำดับ ต่อจากนั้นทำให้พาราฟินซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อ โดยใส่ชิ้นตัวอย่างใบข้าวลงในพาราฟินที่หลอมไว้ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดย ใช้ทีบีเอผสมกับพาราฟินอัตราส่วน 2:1 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วจึงย้ายตัวอย่างใส่ลงในสารผสมระหว่างทีบีเอ (tertiarybutyl alcohol(TBA)) กับพาราฟินอัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาย้ายตัวอย่างใส่ในสารผสมระหว่างทีบีเอกับพาราฟินอัตราส่วน 1:2 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จึงย้ายตัวอย่างใส่ในพาราฟิน 100% (หลอมเหลว) 3 ครั้ง ใช้เวลาครั้งละ 1 ชั่วโมง ฝังชิ้นส่วนใบข้าวในพาราฟินเหลว ไล่ฟองอากาศออกให้หมด วางไว้ให้พาราฟินแข็งตัว ตัดตัวอย่างด้วย Rotary microtome หนา 15 ไมครอน ติดตัวอย่างบนแผ่นสไลด์ นำแผ่นสไลด์ที่ได้แช่ในไซลีน 2 ครั้งและแช่ในเอธิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 100%, 95%, 70%, และ 50% ขั้นตอนละ 3-5 นาที ตามลำดับ (Kermanee, 2008). ย้อมสีเนื้อเยื่อพืชด้วยสี toluidine blue 0.05% ผนึกตัวอย่างด้วยเปอร์เมาท์ นำตัวอย่างที่ได้ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ถ่ายภาพด้วยกล้อง Canon EOS 700D นำภาพที่ได้ไปศึกษาพารามิเตอร์ต่าง ๆ โดยใช้โปรแกรม Image J ดังนี้

ทำการนับจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์โดยนับจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง ชั้นที่อยู่ถัดจากเซลล์ยนต์ลงมาเป็นชั้นที่ 2 และวัดความกว้าง ความยาวของเซลล์มีโซฟิลล์ที่อยู่ระหว่างท่อลำเลียงในชั้นเดียวกัน

วัดระยะห่างระหว่างเส้นใบ โดยวัดจากขอบนอกของเซลล์เยื่อหุ้มมัดท่อลำเลียง (bundle sheath cell) ด้านซ้ายมือไปจรดขอบด้านนอกของเซลล์เยื่อหุ้มมัดท่อลำเลียงทางขวามือ

การวางแผนการทดลองและสถิติ

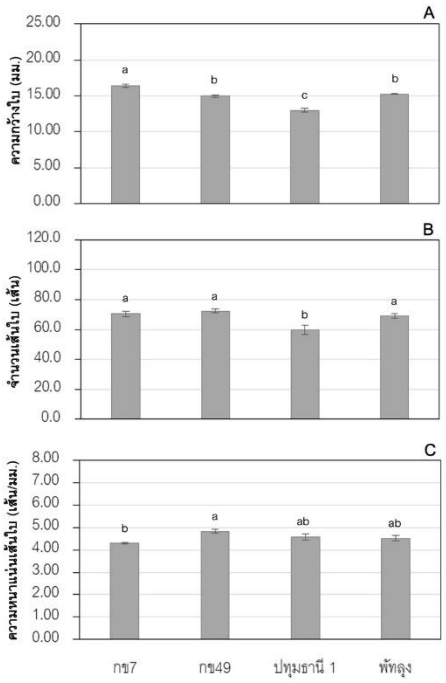
วางแผนการทดลองใช้แผนแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) มีปัจจัยในการทดลองคือ พันธุ์ข้าว ทำการทดลองจำนวน 4 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธี one way ANOVA และ เปรียบเทียบความแตกต่างด้วยวิธี Tukey HSD ด้วยโปรแกรม PSPP version 1.0.1

ผลการวิจัย

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบข้าว

ความกว้างใบ

เมื่อนำใบธงของข้าวทั้ง 4 พันธุ์ปลูก คือ กข7 กข49 ปทุมธานี1 และพัทลุง ที่เจริญเติบโตเต็มที่มาวัดความกว้างใบ พบว่า ข้าวทั้ง 4 พันธุ์ปลูกมีความกว้างใบอยู่ระหว่าง 13.01-16.42 มิลลิเมตร โดยข้าวพันธุ์ปทุมธานี1 และกข7 มีความกว้างใบน้อยและมากที่สุดตามลำดับ เมื่อนำค่าความกว้างใบไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า ความกว้างใบของข้าวแต่ละพันธุ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ภาพที่ 1A)



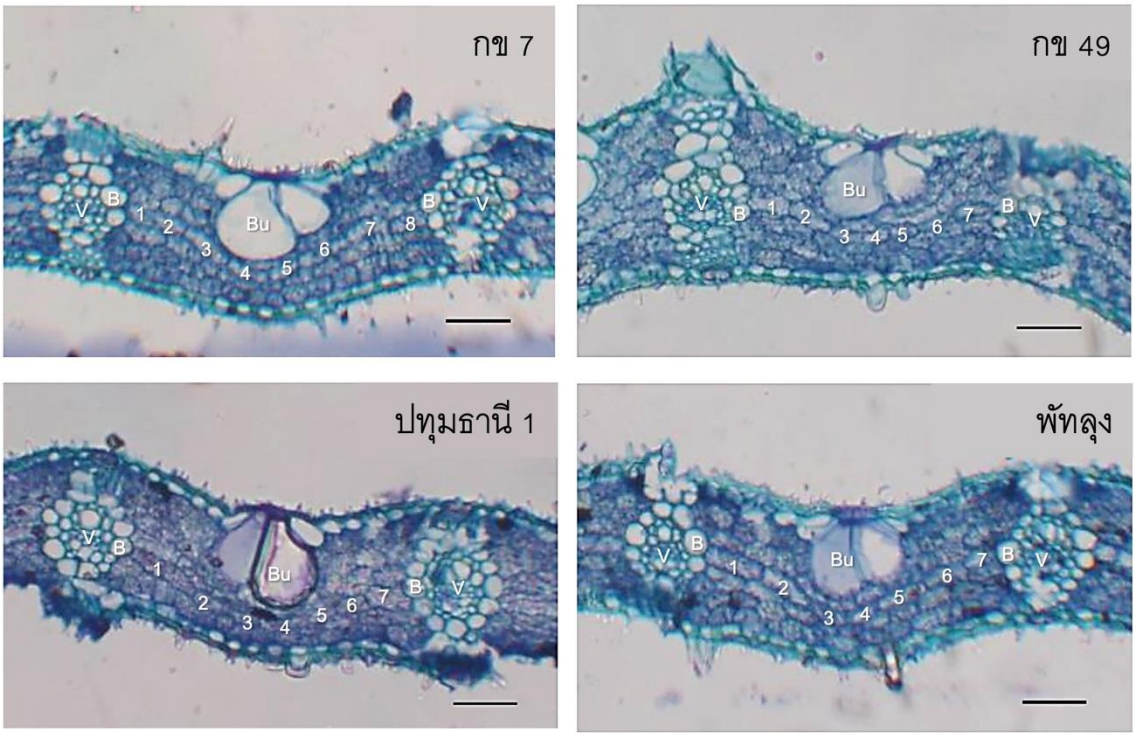
ภาพที่ 1 A) ความกว้างใบ B) จำนวนเส้นใบ และ C) ความหนาแน่นเส้นใบของใบธงที่เจริญเต็มที่ของข้าวพันธุ์ กข7 กข 49 ปทุมธานี1 และ พัทลุง
(แถบแสดงความคลาดเคลื่อนแสดงค่า standard error (SE, n=4) ; ตัวอักษรบนกราฟแสดงความแตกต่างของข้อมูลที่ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Tukey HSD ($P<0.05$))

จำนวนเส้นใบ

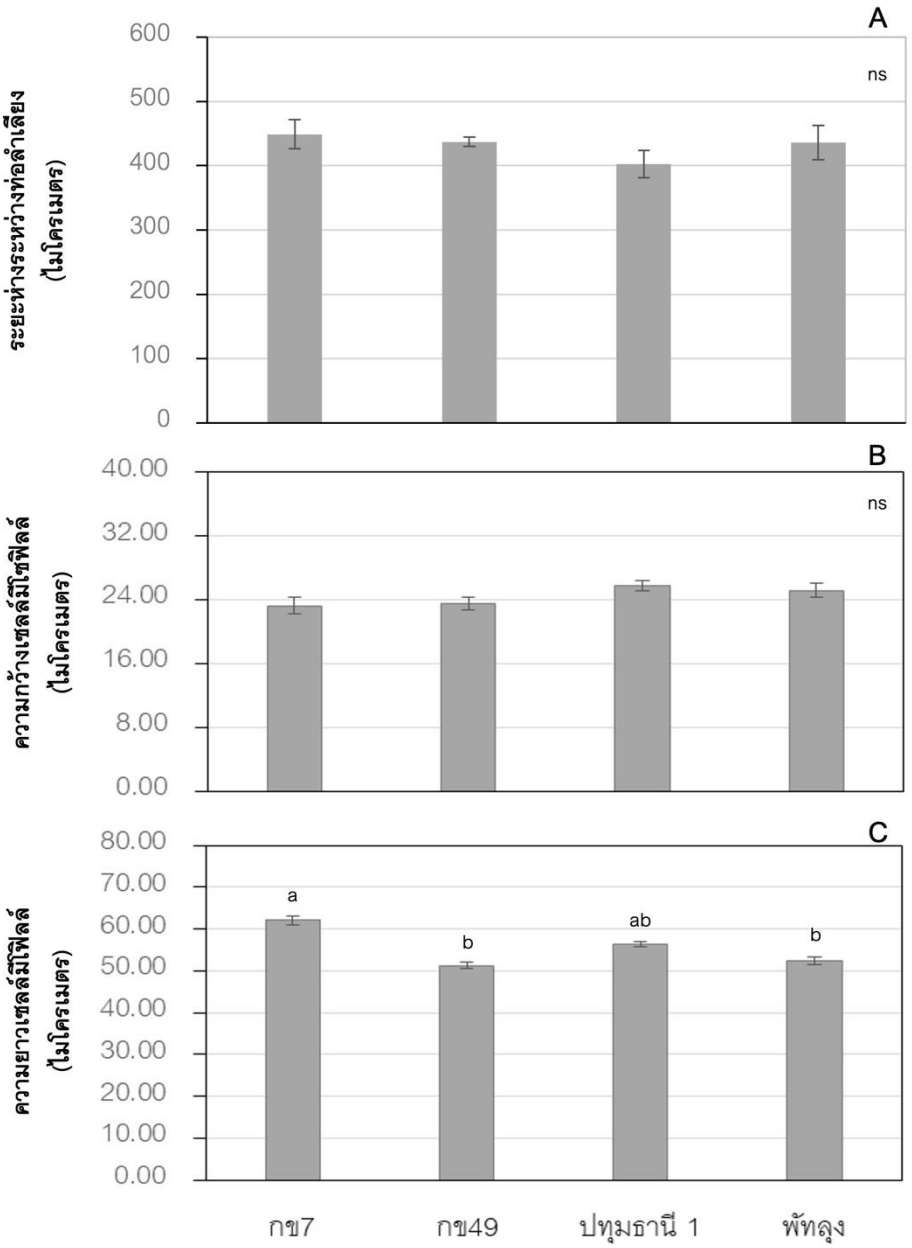
จำนวนเส้นใบเฉลี่ยของข้าวทั้ง 4 พันธุ์ปลูกอยู่ระหว่าง 59.8-72.3 เส้น โดยข้าวพันธุ์ปทุมธานี1 และกข49 มีจำนวนเส้นใบน้อยและมากที่สุดตามลำดับ เมื่อนำจำนวนเส้นใบไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า จำนวนเส้นใบของข้าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยสามารถแยกได้เป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่มีจำนวนเส้นใบมาก ได้แก่ กข7 กข49 และพัทลุง และพันธุ์ที่มีจำนวนเส้นใบน้อย ได้แก่ ปทุมธานี 1 (ภาพที่ 1B)

ความหนาแน่นเส้นใบ

เมื่อนำจำนวนเส้นใบและความกว้างของใบไปคำนวนหาความหนาแน่นเส้นใบพบว่าข้าว 4 พันธุ์ปลูกมีความหนาแน่นเส้นใบของใบธงเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 4.29-4.83 เส้นใบ/มิลลิเมตร โดยข้าวพันธุ์กข7 มีความหนาแน่นเส้นใบน้อยที่สุด และข้าวพันธุ์กข49 มีความหนาแน่นเส้นใบมากที่สุด เมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า ความหนาแน่นเส้นใบของข้าวแต่ละพันธุ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ภาพที่ 1c)



ภาพที่ 2 ภาพตัดขวางของใบธงที่เจริญเต็มที่ของข้าวพันธุ์ กข7 กข49 ปทุมธานี1 และ พัทลุง (B=เซลล์เยื่อหุ้มมัดท่อลำเลียง, Bu=เซลล์ยนต์, V=มัดท่อลำเลียง, และตัวเลข 1-8=เซลล์มีโซฟิลล์ที่อยู่ระหว่างท่อลำเลียง) (scale bar = 50 ไมโครเมตร)



ภาพที่ 3 A) ระยะห่างระหว่างท่อลำเลียง B) ความกว้างเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง และ C) ความยาวของเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงของใบธงที่เจริญเต็มที่ของข้าวพันธุ์ กข7 กข 49 ปทุมธานี1 และ พัทลุง (แถบแสดงความคลาดเคลื่อนแสดงค่า standard error (SE, n=32) ; ตัวอักษรบนแสดงความแตกต่างของข้อมูลที่ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Tukey HSD ($P < 0.05$))

ผลการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของใบข้าว

เมื่อนำข้าวพันธุ์ กข7 กข49 ปทุมธานี1 และ พัทลุง มาทำการวัดระยะห่างระหว่างท่อลำเลียง นับจำนวนและวัดขนาดของเซลล์มีโซฟิลล์ ได้ผลดังนี้

จำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง

ข้าวทั้ง 4 พันธุ์มีจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงอยู่ระหว่าง 7-8 เซลล์ โดยพันธุ์ กข49 ปทุมธานี 1 และพัทลุง มีจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง 7 เซลล์ ส่วนพันธุ์ กข7 มีจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง 8 เซลล์ (ภาพที่ 2) และเมื่อนำจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ พบว่า จำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ในข้าวแต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ระยะห่างระหว่างท่อลำเลียง

ข้าวทั้ง 4 พันธุ์ปลูกมีระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงอยู่ระหว่าง 402-448 **ไมโครเมตร** โดยข้าวพันธุ์ปทุมธานี1 มีระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงน้อยที่สุด และพันธุ์กข7 มีระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงมากที่สุด (ภาพที่ 3A) และเมื่อนำระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงของข้าวที่ทำการศึกษาไปวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม พบว่าข้าวพันธุ์ กข7 ซึ่งมีจำนวนมีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงมากที่สุดมีแนวโน้มที่จะมีระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงมากที่สุด และมีความหนาแน่นเส้นใบน้อยที่สุด

ขนาดของเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง

ขนาดของเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงในข้าว 4 พันธุ์ปลูก คือ กข7 กข49 ปทุมธานี1 และ พัทลุง มีความกว้างของเซลล์มีโซฟิลล์อยู่ระหว่าง 23.26-25.17 **ไมโครเมตร**โดยข้าวพันธุ์พัทลุงมีความกว้างของเซลล์มีโซฟิลล์น้อยที่สุด และข้าวพันธุ์กข7 มีความกว้างของเซลล์มีโซฟิลล์มากที่สุด (ภาพที่ 3B) ความยาวของเซลล์มีโซฟิลล์อยู่ระหว่าง 51.32-62.10 ไมโครเมตร โดยข้าวพันธุ์กข49 มีความยาวของเซลล์มีโซฟิลล์น้อยที่สุด และข้าวพันธุ์กข7 มีความยาวของเซลล์มีโซฟิลล์มากที่สุด (ภาพที่ 3C) และเมื่อนำค่าความกว้างและความยาวของเซลล์มีโซฟิลล์ไปวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ความกว้างของเซลล์มีโซฟิลล์ของข้าวแต่ละพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่พบว่าความยาวของเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงของใบธงของข้าวแต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคของข้าว 4 พันธุ์ปลูก พบว่า ความกว้างใบและจำนวนเส้นใบแปรผันตามกัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Karki *et al*. (2013) ที่ทำการศึกษาในข้าวพันธุ์ IR64 ข้าวฟ่างและ *Setaria viridis* พบว่า จำนวนเส้นใบแปรผันตามความกว้างของใบ เมื่อนำจำนวนเส้นใบและความกว้างใบมาคำนวณหาความหนาแน่นเส้นใบ พบว่าข้าวแต่ละพันธุ์มีความหนาแน่นเส้นใบแตกต่างกัน ทั้งนี้พืชที่มีความหนาแน่นเส้นใบมากมีแนวโน้มที่มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงมากด้วย เนื่องจากการที่พืชมีความหนาแน่นเส้นใบมากทำให้สามารถลำเลียงน้ำตาลจากมีโซฟิลล์ไปยังท่อลำเลียงได้เร็วขึ้น (Adam *et al*., 2003) และจากการศึกษาลักษณะทางกายวิภาคของข้าว 4 พันธุ์ปลูก พบว่าใบข้าวมีเซลล์

มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงจำนวน 7-8 เซลล์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Adachi *et al*. (2013) ที่ศึกษาในข้าวพันธุ์ Koshihikari, Takanari, BTK-a และ BTK-b พบว่าใบข้าวที่ทำการศึกษามีจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์เฉลี่ย 7-8 เซลล์ที่อยู่ระหว่างท่อลำเลียง จากการวัดและวิเคราะห์ขนาดเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงในการทดลองนี้ พบว่า เซลล์มีความกว้างไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความยาวของเซลล์แตกต่างกันประมาณ 1.2 เท่า โดยพันธุ์กข49 มีความยาวของเซลล์น้อยที่สุด และจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงมีเพียง 7 เซลล์ ขณะที่พันธุ์ กข7 มีความยาวของเซลล์มากที่สุดและมีจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง 8 เซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลการศึกษาความหนาแน่นเส้นใบ คือ พันธุ์ กข49 มีความหนาแน่นเส้นใบมากที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบความหนาแน่นของเส้นใบ จำนวนและขนาดของเซลล์มีโซฟิลล์ และระยะห่างระหว่างท่อลำเลียง แสดงให้เห็นว่าเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงในตัวอย่างที่ศึกษามีจำนวนค่อนข้างคงที่ในแต่ละพันธุ์และขนาดของเซลล์มีโซฟิลล์แตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ ดังนั้นความหนาแน่นของเส้นใบที่แตกต่างกันของข้าวทั้ง 4 พันธุ์ปลูกจึงน่าจะเป็นผลมาจากทั้งขนาดของเซลล์มีโซฟิลล์และจำนวนของเซลล์มีโซฟิลล์ อย่างไรก็ตามความผันแปรของความหนาแน่นเส้นใบและระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงในตัวอย่างใบข้าวพันธุ์เดียวกันน่าจะมาจากความยาวของเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงที่แตกต่างกัน ซึ่ง Smillie *et al*. (2012) ได้ศึกษาในข้าวพันธุ์ IR64 พบว่า ความผันแปรของระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงในข้าวพันธุ์ IR64 เกิดจากการขยายตัวของเซลล์มีโซฟิลล์มากกว่าการเพิ่มจำนวนของเซลล์มีโซฟิลล์ ทั้งนี้ Kajala *et al*. (2011) ศึกษาจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ของข้าวพันธุ์ IR64 และข้าวฟ่าง พบว่า ข้าวพันธุ์ IR64 มีจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ที่อยู่ระหว่างท่อลำเลียง 7 เซลล์ ส่วนในข้าวฟ่างมีจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ที่อยู่ระหว่างท่อลำเลียงเพียง 2 เซลล์ Ueno *et al*. (2006) ได้ทำการศึกษาระบบท่อลำเลียงของพืชกลุ่มหญ้าทั้งซีสามและซีสี่ พบว่าหญ้ากลุ่มซีสี่มีระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงน้อยกว่าหญ้าซีสามเนื่องจากมีจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงน้อยกว่า และเมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มหญ้าซีสี่ทั้งสามกลุ่ม ได้แก่ NADP-ME NAD-ME และ PCK พบว่าพืชซีสี่ในกลุ่ม NADP-ME ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสงดีที่สุดและมีระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงน้อยที่สุด ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการลำเลียงน้ำตาลในข้าวพันธุ์ กข49 อาจมีอัตราการลำเลียงสูงกว่าพันธุ์อื่นเนื่องจากมีจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงน้อย ระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงน้อยและความหนาแน่นเส้นใบมากที่สุด ซึ่งต้องมีการทดลองเพื่อวัดอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของข้าว กข49 เปรียบเทียบกับพันธุ์อื่น ๆ ต่อไป อย่างไรก็ตามได้มีความพยายามในการศึกษาถึงความเป็นไปได้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความหนาแน่นเส้นใบเพิ่มขึ้น โดยหากลดระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงจะทำให้ข้าวมีผลผลิตดีขึ้นหรือไม่ Feldman *et al*. (2013) จึงได้นำข้าวพันธุ์ IR64, Tainung 67, E190-76-1-5-3 และ M0110124-A-2-2 มาทำให้กลายพันธุ์โดยการฉายรังสี และเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของความหนาแน่นเส้นใบ พบว่าการฉายรังสีสามารถทำให้ความหนาแน่นของเส้นใบข้าวเปลี่ยนแปลงได้ และจากการทดลองพบว่าข้าวที่ได้รับการฉายรังสีมีความหนาแน่นเส้นใบมากกว่าข้าวที่ไม่ได้ทำการฉายรังสี จำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงลดลง ความยาวของเซลล์มีโซฟิลล์ลดลง ดังนั้นหากต้องการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อให้มีความหนาแน่นของเส้นใบมากขึ้นและระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงลดลงสามารถทำได้โดยการทำให้เกิดการกลายพันธุ์และคัดเลือกลักษณะที่มีความหนาแน่นเส้นใบสูงไว้ใช้เป็นต้นพันธุ์เพื่อจะพัฒนาพันธุ์ต่อไป ต่อมา Feldman *et al*. (2017) พบว่าข้าวพันธุ์กลายพันธุ์ที่มีความหนาแน่นของเส้นใบมากขึ้น มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงเท่ากับ 181 μmole m^{-2} s^{-1} ในขณะที่ข้าวพันธุ์ตามธรรมชาติมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงเพียง

128 μmole m^{-2} s^{-1} ดังนั้นในการสร้างพันธุ์ข้าวที่มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสูงขึ้นเพื่อเพิ่มผลผลิตในอนาคตสามารถใช้การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยการสร้างพันธุ์ข้าวกลายพันธุ์ ผ่านการทำให้กลายพันธุ์ด้วยเทคนิคต่าง ๆ เช่น การใช้สารก่อกลายพันธุ์ การฉายรังสี เป็นต้น จากนั้นอาจทำการปรับปรุงพันธุ์โดยเทคนิคการผสมพันธุ์ปกติ เพื่อส่งลักษณะระยะห่างระหว่างท่อลำเลียง จำนวนเซลล์มีโซฟิลล์และความยาวเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงที่น้อยและความหนาแน่นเส้นใบสูงเข้าสู่พันธุ์ข้าวที่ต้องการ ซึ่งจะทำให้ได้ข้าวพันธุ์ที่มีลักษณะดีและมีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสูงขึ้นเพื่อเป้าหมายในการเพิ่มผลผลิตให้เพียงพอต่อความต้องการของประชากรโลกที่จะเพิ่มขึ้นในอนาคตอันใกล้นี้

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาพบว่าข้าวที่นำมาศึกษา ได้แก่ กข7 กข49 ปทุมธานี1 และพัทลุง มีจำนวนเส้นใบและความหนาแน่นเส้นใบแตกต่างกัน แต่พบว่าระยะห่างระหว่างท่อลำเลียงไม่แตกต่างกัน เมื่อศึกษาจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง พบว่ามีจำนวน 7-8 เซลล์ ซึ่งความกว้างของเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงไม่แตกต่างกัน แต่ความยาวของเซลล์แตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าการที่ใบมีความหนาแน่นของเส้นใบแตกต่างกันเป็นผลมาจากจำนวนและความยาวของเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียง ทั้งนี้ในการปรับปรุงพันธุ์อาจเลือกพันธุ์ข้าวพันธุ์ กข49 เพื่อใช้เป็นพันธุ์เริ่มต้นในการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เทคนิคในการก่อการกลายพันธุ์เพื่อปรับปรุงให้ได้พันธุ์ข้าวที่มีความหนาแน่นเส้นใบมากและมีจำนวนเซลล์มีโซฟิลล์ระหว่างท่อลำเลียงน้อยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสังเคราะห์ด้วยแสง เป็นการเพิ่มผลผลิตข้าวให้เพียงพอต่อความต้องการในอนาคตที่จะมีประชากรและความต้องการอาหารมากขึ้น เพื่อสร้างความมั่นคงทางอาหารของประเทศและโลกต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Adachi, S., Nakae, T., Uchida, M., Soda, K., Takai, T., Oi, T., Yamamoto, T., Ookawa, T., Miyake, H., Yano, M., & Hirasawa, T. (2013). The mesophyll anatomy enhancing CO_2 diffusion is a key traitfor improving rice photosynthesis. *Journal of Experimental Botany, 60*(4), 1061-1072.

Adams III, W.W., Cohu, C.M., Muller, O., & Demmig-Adamset, B. (2003). Foliar phloem infrastructure in support of photosynthesis. *Frontiers in. Plant Science*, doi: 10.3389/fpls.2013.00194.

Feldman, A.B., K., Murchie, E.H., Leung, H., Baraoidan, M., Coe, R., Yu, S.M., Lo, S.F., & Quick, W.P. (2013). Increasing leaf vein density by mutagenesis: Laying the foundations for C4 rice. *PLOS, 9*(4), 1-9.

Feldman, A.B., Leung, H., Baraoidan, M., Elmido-Mabilangan, A., Canicosa, I., Quick, W.P., Sheehy, J., & Murchie, E.H. (2017). Increasing leaf vein density via mutagenesis in rice results in an enhanced rate of photosynthesis, smaller cell sizes and can reduce interveinal mesophyll cell number. *Frontiers in Plant Science,* doi: 10.3389/fpls.2017.01883.

Gadal, N., Shrestha, J., Poudel, M.N., & Pokharel, B. (2019). A review on production status and growing environments of rice in Nepal and in the world. *Archives of Agriculture and Environmental Science, 4*(1), 83-87.

Kajala, K., Covshoff, S., Karki, S., Woodfield, H., Tolley, B.J., Dionora, M., J.A., Mogu, R.T., Mabilangan, A.E., Danila, F.R., Hibberd, J.M., & Quick, W.P. (2011). Strategies for engineering a two-celled C4 photosynthetic pathway into rice. *Journal of Experimental Botany, 10*, 1-10.

Karki, S., Rizal, G. and Quick, W.P. (2013). Improvement of photosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) by inserting the C4 pathway. *Rice, 6*, 28.

Kermanee, P. (2008). *Techniques in Plant Tissue*. Bangkok: Kasetsart University Press. (in Thai)

Mathan, J., Singh, A., & Ranjan, A. (2021) Sucrose transport and metabolism control carbon partitioning between stem and grain in rice. *Journal of Experimental Botany, 72*(12),4355-4372.

Smillie, I. R. A., Pyke, K. A., & Murchie, E. H. (2012). Variation in vein density and mesophyll cell architecture in a rice deletion mutant population. *Journal of Experimental Botany, 63*, 12.

Ueno, O., Kawano, Y., Wakayama, M., & Takeda, T. (2006). Leaf vascular systems in C3 and C4 grasses: A two-dimensional analysis, *Annals of Botany, 97*(4), 611–621.

Wang, G., Wu, Y., Ma, Li., Lin, Y., Hu, Y., Li, M., Li, W., Ding, Y., & Chen, L. (2021). Phloem loading in rice leaves depends strongly on the apoplastic pathway. *Journal of Experimental Botany, 72*(10), 3723–3738.