

ศักยภาพการสะสมไฟโตลิทของพันธุ์ข้าวไทย

Potential of Phytolith Accumulation in Thai Rice Cultivars

ศิริชญา เหลืองจารุธร,¹ สหณัฐ เพชรศรี,¹ วาสินี พงษ์ประยูร² และ ศิริพร ศรีภิญโญวานิชย์^{1*}

Siratchaya Luangcharuthorn,¹ Sahanat Petchsri,¹ Wasinee Pongprayoon²

and Siriporn Sripinyowanich^{1*}

Received 3 June 2024, Revised 18 August 2024, Accepted 20 August 2024

ABSTRACT

Phytoliths are non-crystalline amorphous silica and are considered non-labile carbon, offering long-term carbon sequestration. This study aimed to evaluate phytolith accumulation in the leaf and root tissues of various Thai rice cultivars and analyze the relationship with the expression levels of two groups of silicon transport genes: silicon influx transporter genes (*OsLsi1* and *OsLsi6*) and silicon efflux transporter genes (*OsLsi2* and *OsLsi3*). It demonstrated that phytolith accumulation in root tissues was significantly higher than in leaf blades and sheaths ($p \leq 0.05$). The highest phytolith accumulation was observed in RD51 and RD43, with values of 146.10 and 120.03 mg/gDW, respectively. The total phytolith content of RD51 was 2.01 times greater than that of KDML105. Additionally, a positive correlation was detected between phytolith content and the expressions of *OsLsi2* and *OsLsi3* ($r = 0.49^*$). *OsLsi2* and *OsLsi3* enable silicon transfer between cells, allowing for silicon transport within the plant and its storage in the form of phytoliths.

Keywords: Rice, Phytoliths, Silicon transporter gene

บทคัดย่อ

ไฟโตลิท (Phytolith) เป็นโครงสร้างซิลิกาอสัณฐานชนิดไม่มีผลึก จัดเป็น Non-labile carbon ที่มีศักยภาพในการกักเก็บคาร์บอนระยะยาวในนาข้าว การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการสะสมของไฟโตลิทในเนื้อเยื่อใบและรากของข้าวไทยพันธุ์ต่าง ๆ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับการทำงานของยีนควบคุมการเคลื่อนย้ายซิลิกอน จำนวน 2 กลุ่มยีน ได้แก่ ยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการนำซิลิกอนเข้าสู่เซลล์ (*OsLsi1* และ *OsLsi6*) และยีนที่นำซิลิกอนออกจากเซลล์ (*OsLsi2* และ *OsLsi3*) ผลการทดลองพบว่า ไฟโตลิทสะสมในเนื้อเยื่อรากมากกว่าแผ่นใบและกาบใบข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยมีการสะสมของไฟโตลิทสูงสุดในรากของข้าวพันธุ์ กข 51 และ กข 43 เท่ากับ 146.10 และ 120.03 มก./ก. ตามลำดับ ปริมาณไฟโตลิทรวมทั้งต้นของข้าว กข 51 มากกว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 ถึง 2.01 เท่า นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างการแสดงออกของยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการนำซิลิกอนออกจากเซลล์ ได้แก่ ยีน *OsLsi2* และ *OsLsi3* กับ

¹ภาควิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ต.กำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Science and Bioinnovation, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University Kamphaeng Sean Campus, Kamphaeng Saen, Kamphaeng Saen, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Sansuk, Mueang, Chonburi 20131, Thailand.

*Corresponding author: Tel. 09-5554-6890, E-mail address: siriporn.srip@ku.th

ปริมาณไฟโตลิท ($r = 0.49^*$) ซึ่งทำหน้าที่ขับซิลิคอนจากเซลล์หนึ่งเข้าสู่อีกเซลล์หนึ่ง ทำให้เกิดการลำเลียงซิลิคอนในต้นพืช และเก็บสะสมในรูปของไฟโตลิท

คำสำคัญ: ข้าว ไฟโตลิท ยีนเคลื่อนย้ายซิลิคอน

คำนำ

ในปัจจุบันโลกกำลังเข้าสู่ภาวะโลกเดือด ซึ่งเป็นภาวะที่ทวีความรุนแรงมากขึ้นกว่าภาวะโลกร้อน อากาศแปรปรวนยิ่งกว่าทุกช่วงเวลาที่ผ่านมา ซึ่งจากการศึกษาการลดการปล่อยก๊าซเรือนกระจกโดยการเพิ่มการดักจับและกักเก็บคาร์บอน พบว่าพื้นที่ปลูกข้าวแบบดินนา มีศักยภาพในการกักเก็บอินทรีย์คาร์บอน (Organic carbon, OC) ได้ดีในเขตร้อนชื้น โดยมีประสิทธิภาพในการกักเก็บคาร์บอน (Soil organic carbon, SOC) สูงกว่าดินประเภทอื่นที่ใช้ในการเกษตรถึงร้อยละ 39 – 127 (Parr & Sullivan, 2005) แต่อินทรีย์คาร์บอนส่วนใหญ่ในดินเป็น Labile carbon ที่คงตัวระยะสั้นเพียง 0-5 ปี เนื่องจากมีการย่อยสลายอินทรีย์วัตถุ การเปลี่ยนแปลงการใช้ประโยชน์ที่ดิน และสภาพแวดล้อมตลอดเวลา (Nadeau *et al.*, 2022; Tang *et al.*, 2018)

ทั้งนี้มียางานถึงอนุภาคที่มีความสามารถในการกักเก็บคาร์บอนระยะยาวที่เรียกว่า Passive carbon หรือ Non-labile carbon ที่สามารถพบได้ในพืช นั่นคือ ไฟโตลิท (Phytolith) (Hodson, 2016; Li *et al.*, 2013; Song *et al.*, 2017; Tan *et al.*, 2021) โดยไฟโตลิทเป็นโครงสร้างซิลิกาอสัณฐาน (SiO_2) พบมากในราก ลำต้น ใบ ฟาง และเมล็ดข้าว (Sharma *et al.*, 2019) เกิดจากการรวมตัวกันของซากพืช หรือวัสดุอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบของพืชที่คงเหลือจากกระบวนการย่อยสลาย (Blinnikov & Yost, 2023) ไฟโตลิทสามารถกักเก็บอินทรีย์คาร์บอนได้ประมาณร้อยละ 2 ของคาร์บอนทั้งหมดที่ได้จากการตรึงก๊าซ CO_2 ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง สะสมอยู่ในรูปของ phytolith-occluded carbon (PhytOC) (Tan *et al.*, 2021) ซึ่งภายหลังจากการสลายตัวของเศษซากพืชในดิน

อินทรีย์คาร์บอนที่อยู่ภายในไฟโตลิททนทานต่อการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในดินได้นาน 433 – 1018 ปี (Hodson, 2016; Zhang *et al.*, 2020) จึงถือว่าไฟโตลิทเป็นแหล่งรวมคาร์บอนสำคัญในนาข้าว และมีศักยภาพสำหรับการกักเก็บคาร์บอนระยะยาว (Davamani *et al.*, 2022) นอกจากนี้ ปริมาณไฟโตลิทในข้าวยังสัมพันธ์ในทิศทางบวกของปริมาณผลผลิตข้าวที่เพิ่มขึ้น (Tan *et al.*, 2021)

จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีสมมติฐานว่า (1) พื้นพันธุกรรมของข้าวไทยที่หลากหลายในแต่ละพันธุ์ส่งผลต่อการสะสมปริมาณไฟโตลิทที่แตกต่างกัน และ (2) การสะสมไฟโตลิทขึ้นอยู่กับความสามารถของการลำเลียงซิลิคอนในเซลล์ เนื่องจากการลำเลียงซิลิคอนในพืชมีกลไกจำเพาะที่ควบคุมจากการทำงานของโปรตีน 2 กลุ่ม กล่าวคือ บริเวณด้านหนึ่งของเซลล์จะมีโปรตีนที่ถูกควบคุมโดยยีนที่กำหนดการนำซิลิคอนเข้าสู่เซลล์ (Silicon influx transporter) และบริเวณอีกด้านมีโปรตีนที่ถูกควบคุมโดยยีนที่ทำหน้าที่ขับซิลิคอนออกจากเซลล์ (Silicon efflux transporter) ซึ่งการทำงานของโปรตีนเหล่านี้จะถูกควบคุมด้วยยีนที่อยู่ภายในเซลล์ตามหลักการควบคุมการทำงานของสิ่งมีชีวิต ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณไฟโตลิทในข้าวพันธุ์ไทย ร่วมกับการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในรูปแบบเชิงสัมพันธ์ (Relative expression analysis) ของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้ายซิลิคอนจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ยีน *OsLsi1* และ *OsLsi6* ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการนำซิลิคอนเข้าสู่เซลล์ และยีน *OsLsi2* และ *OsLsi3* ทำหน้าที่ควบคุมการนำซิลิคอนออกจากเซลล์ และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไฟโตลิทร่วมกับระดับการแสดงออกของยีนที่ควบคุม

การเคลื่อนย้ายซิลิคอน (Silicon transporter genes) เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการพัฒนาพันธุ์ข้าวที่มีศักยภาพสำหรับชดเชยการปล่อยก๊าซเรือนกระจกจากนาข้าวต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างพืช

ดำเนินการเก็บตัวอย่างใบและรากข้าว ในระยะออกรวง (flowering stage) เนื่องจากเป็นระยะการเจริญเติบโตของข้าวที่พบการปลดปล่อยก๊าซมีเทนจากต้นข้าวและนาข้าวสูงสุด (ศิริพร และคณะ, 2565) ที่อายุประมาณ 75 วันหลังออก จำนวน 5 พันธุ์ แบ่งเป็นข้าวไม่ไวต่อช่วงแสง ได้แก่ พันธุ์ชัยนาท 1 กข43 และไรซ์เบอร์รี่ และข้าวไวต่อช่วงแสง ได้แก่ กข51 และข้าวขาวดอกมะลิ 105 ปลูกในพื้นที่ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ การเก็บตัวอย่างพืช ทำโดยการตัดแยกรวงข้าวออก และเก็บตัวอย่างข้าว 2 ส่วน ได้แก่ ใบข้าวทั้งต้นที่ประกอบด้วยแผ่นใบและกาบใบ และรากข้าว จากนั้นนำเนื้อเยื่อใบและรากข้าวแช่ใน liquid nitrogen เพื่อคงสภาพเซลล์ทันที และทำการเก็บรักษาในตู้แช่ -80°C ตลอดการทดลอง

การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณไฟโตลิท

ไฟโตลิทถูกสกัดจากตัวอย่างข้าว โดยการเตรียมแก้ว ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีของ (Puppe, *et al.*, 2023; Puppe & Leue, 2018) โดยเริ่มจากการนำตัวอย่างพืช 4 กรัม มาล้างน้ำให้สะอาด ผึ่งให้แห้ง จากนั้นทำการตัดใบและรากข้าวให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ให้ความยาวประมาณ 0.5 ซม. แล้วจึงนำไปอบที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 24 ชม. และเผาให้เป็นเถ้าด้วยอุณหภูมิ 500°C เป็นเวลา 8 ชม. จากนั้นนำไปวัดปริมาณ Crude phytolith รายละเอียด ดังนี้

1. ย่อยตัวอย่างพืชที่อบแห้งน้ำหนัก 10 มิลลิกรัม ด้วยสารละลาย 10% HCl ปริมาตร 10

ml โดยการต้มในน้ำอุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3500 rpm เป็นเวลา 5 นาที และนำส่วนใสทิ้ง จากนั้นล้างตัวอย่างในน้ำกลั่น 10 ml และปั่นเหวี่ยงที่ 3500 rpm เป็นเวลา 5 นาที

2. กำจัด organic matter ด้วยการเติม 15% H₂O₂ ปริมาตร 10 ml แล้วนำไปต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่ 3500 rpm เป็นเวลา 5 นาที ล้างตัวอย่างในน้ำกลั่น 10 ml และปั่นเหวี่ยงที่ 3500 rpm เป็นเวลา 5 นาที และนำส่วนใสทิ้ง

3. ล้างซิลิกาด้วย 1 ml absolute ethanol และปั่นเหวี่ยงที่ 3500 rpm เป็นเวลา 5 นาที

4. ระเหยแห้งไฟโตลิทด้วยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 70°C และนำใส่ตู้ดูดความชื้น เมื่อเย็นแล้วจึงนำไปชั่งด้วยเครื่องทศนิยม 4 ตำแหน่ง แล้วคำนวณปริมาณไฟโตลิท ในหน่วย มก./ก. (Parr & Sullivan, 2014) ดังสมการที่ (1)

$$\text{Phytolith content} = \frac{\text{Crude weighs}}{\text{Dry weighs}} \times 100 \quad (1)$$

การศึกษาการแสดงออกของยีน

1. การสกัด total RNAs เริ่มจากการนำตัวอย่างใบและรากข้าวมาบดในโกรงให้ละเอียด จากนั้นเติม Trizol Reagent[®] (Invitrogen, USA) และทำการสกัด RNA ให้บริสุทธิ์ด้วย TriRNA Pure Kit (Geneaid TRPD100, Taiwan) ละลาย RNA ใน DEPC-treated water แล้วนำไปตรวจสอบด้วยวิธี gel electrophoresis และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร เพื่อคำนวณหาความเข้มข้นของสารละลาย RNA และตรวจสอบคุณภาพของ RNA โดยแสดงอัตราส่วนค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 1.7-2.0 แสดงว่า RNA ที่สกัดได้มีคุณภาพดี

2. การเตรียม cDNA โดยการทำปฏิกิริยา reverse transcription ด้วยการทำงานของเอนไซม์

reverse transcriptase และใช้ oligo dT primer เป็นตัวตั้งต้นในการสังเคราะห์สาย DNA สายแรก (first strand cDNA) ในทิศทาง 5' → 3' ด้วย iScript™ cDNA Synthesis Kit (Biorad, USA) ใช้ปริมาณ RNA 1 µg ในปฏิกิริยาปริมาตร 20 µl

3. การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนด้วยเทคนิค real-time PCR โดยใช้เครื่อง Bio-rad CFX96 system (Bio-rad, USA) ด้วยเอนไซม์ iTaq™ Universal SYBR® Green Supermix (Bio-rad, USA) ในปฏิกิริยาปริมาตร 20 µl โดยใช้ cDNA ที่ได้จากการสังเคราะห์ในข้อที่ 2 เป็นดีเอ็นเอต้นแบบ และใช้ forward primer และ reverse primer ที่ออกแบบโดยอาศัยข้อมูลลำดับเบส cDNA จากฐานข้อมูล GenBank ของยีน *OsLsi1* (KR673322), *OsLsi2* (MZ210078), *OsLsi3* (LC069370) และ *OsLsi6* (MZ210077) ด้วยโปรแกรม PrimerQuest (www.idtdna.com) ดัง (Table 1) โดยใช้อุณหภูมิ denaturation ที่ 95°C

annealing และ extension ที่ 72°C ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้ยีน actin (NM_001402243) เป็นยีนอ้างอิง และพันธุ์ข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นชุดการทดลองควบคุม จากนั้นวิเคราะห์ผลการแสดงออกของยีนด้วย Pfaffl method (Pfaffl, 2001) โดยคำนวณสัดส่วนระดับการแสดงออกของยีนจากสมการที่ (2)

สัดส่วนระดับการแสดงออกของยีน =

$$\frac{(E_{\text{target}})^{\Delta \text{CT}_{\text{target}} (\text{Mean}_{\text{control}} - \text{Mean}_{\text{sample}})}}{(E_{\text{ref}})^{\Delta \text{CT}_{\text{ref}} (\text{Mean}_{\text{control}} - \text{Mean}_{\text{sample}})}} \quad (2)$$

กำหนดให้

E_{target} = ประสิทธิภาพการขยายของยีนเป้าหมาย

E_{ref} = ประสิทธิภาพการขยายของยีนอ้างอิง

$\Delta \text{CT}_{\text{target}}$ = ค่า C_T ของยีนเป้าหมายลบค่าที่ได้จากตัวอย่าง

$\Delta \text{CT}_{\text{ref}}$ = ค่า C_T ของยีนอ้างอิงลบค่าที่ได้จากตัวอย่าง

Table 1 Forward and reverse primer sequence and melting temperatures.

Gene		5'-Sequence-3'	Tm(°C)
<i>OsLsi1</i>	F	GGATTCAGGTTCCGTTCTAC	60
	R	GGTGGTTCCGATCACATC	60
<i>OsLsi2</i>	F	CCATCTGGGACTTCATGG	59
	R	CGTTGGTACGTTTGATGC	59
<i>OsLsi3</i>	F	GGATGTTCTGTGACGGTGAG	62
	R	CGGTGACGTGGTTGATCTT	62
<i>OsLsi6</i>	F	CTCGAACGAGATCCATGACC	58
	R	GAGGAGGTTAGGAGGGAAGA	58
<i>OsActin</i>	F	GGAGCGTGGTTACTCATTC	60
	R	CTCCATTTCCTGGTCATAGTC	60

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วยวิธี One-way ANOVA และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan Multiple Range Test (DMRT) โดยกำหนดความเชื่อมั่นที่ระดับร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และคำนวณหาค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างการสะสมปริมาณไฟโตลิทกับระดับการแสดงออกของยีนในข้าว โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ SPSS version 27 (IBM Corporation, 2020)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ในพันธุ์ข้าวที่ศึกษาทั้งหมด เมื่อประเมินปริมาณไฟโตลิตที่สะสมในส่วนของแผ่นใบและกาบใบ และรากข้าว โดยมีการควบคุมสภาพปลูกแบบน้ำขัง ภายใต้สภาวะอากาศเดียวกัน และวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ($n=3$) แสดงให้เห็นว่าปริมาณไฟโตลิตที่สะสมในรากของข้าวไทยพันธุ์ต่าง ๆ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าการสะสมไฟโตลิตสูงในข้าวพันธุ์ กข43 และ กข51 มีการสะสมไฟโตลิตสูงสุดในเนื้อเยื่อใบ เท่ากับ 66.44 และ 60.96 มก./ก. ตามลำดับ (Figure 1) ส่วนพันธุ์ที่มีการสะสมปริมาณไฟโตลิตรองลงมา คือไรซ์เบอร์รี่ ข้าวดอกมะลิ 105 และชัยนาท เท่ากับ 59.85, 43.05 และ 46.52 มก./ก. ตามลำดับ (Figure 1) สอดคล้องกับการศึกษาของหน้าของ Sun และคณะ (2017) ที่รายงานในข้าวพื้นเมืองพันธุ์ต่าง ๆ ของประเทศจีน ว่าปริมาณไฟโตลิตมีการเปลี่ยนแปลงไปตามลักษณะทางพันธุกรรมและสรีรวิทยา โดยในข้าว Indica พบไฟโตลิตอยู่ช่วงระหว่าง 58.77 ถึง 77.15 มก./ก. และข้าว Japonica พบไฟโตลิต 45.64 ถึง 78.89 มก./ก. (Sun *et al.*, 2017) เมื่อพิจารณาปริมาณไฟโตลิตตามที่ยานงานไว้ในข้าวพื้นเมืองของประเทศจีนเทียบกับข้าวไทยพบว่าปริมาณไฟโตลิตที่พบในข้าวพันธุ์พื้นเมืองของจีนต่ำกว่าในข้าว กข51 ที่พบในงานวิจัยนี้ ซึ่งข้าวไทยพันธุ์ กข51 และ กข43 เป็นข้าวที่เกิดจากการปรับปรุงพันธุ์ ได้รับการคัดเลือกและพัฒนาจากพันธุ์แม่ที่เป็นข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมสุพรรณบุรี ตามลำดับ ทำให้ข้าว กข51 และ กข43 มีลักษณะสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยาดีกว่าข้าวพ่อแม่พันธุ์ จึงตรวจพบการสะสมไฟโตลิตสูง อย่างไรก็ตาม การตรวจพบปริมาณไฟโตลิตที่แตกต่างกันอาจมาจากเทคนิคการสกัดและวิธีการวัดปริมาณไฟโตลิตที่แตกต่างกัน โดยเมื่อพิจารณาปริมาณไฟโตลิตที่ได้จากการทดลองนี้เทียบกับการศึกษาในกลีบและฟางของข้าวสาลีของ Puppe *et al.* (2023) ที่ใช้เทคนิคการสกัดไฟโตลิตแบบเตรียมเถ้าเช่นเดียวกัน พบว่า

ปริมาณไฟโตลิตโดยประมาณในกลีบและฟางข้าวสาลี เท่ากับ 57 และ 24 มก./ก. ตามลำดับ สอดคล้องกับปริมาณไฟโตลิตที่พบในแผ่นใบและกาบใบข้าว ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญของฟางข้าว (Figure 1) การสะสมไฟโตลิตในเนื้อเยื่อพืช เกิดจากความสามารถของรากในการดูดซับซิลิคอนจากดินในรูปของกรดโมโนซิลิก (H_2SiO_4) เข้าไปในเซลล์ จากนั้นกรดโมโนซิลิกจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของซิลิกาหรือซิลิคอนไดออกไซด์ (SiO_2) (Ma & Yamaji, 2006) ซึ่งเป็นอนุภาคซิลิกาอสัณฐานที่เรียกว่าไฟโตลิต (Ma & Yamaji, 2015; Nawaz *et al.*, 2019) ดังนั้นความสามารถในการดูดซับซิลิคอนและการขนส่งไปยังส่วนต่าง ๆ ในข้าวจะมีความสัมพันธ์กัน ในเนื้อเยื่อรากซึ่งเป็นส่วนใต้ดิน จึงพบการสะสมปริมาณไฟโตลิตสูงกว่าส่วนเหนือดินของต้นข้าว และจากการทดลองพบปริมาณไฟ

โตลิตในรากข้าว กข51 และ กข43 สูงสุด มีค่าเท่ากับ 146.10 และ 120.03 มก./ก. ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) (Figure 1) การสะสมของไฟโตลิตในเนื้อเยื่อราก คิดเป็นอัตราส่วน 1.28 - 2.40 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไฟโตลิตในแผ่นใบและกาบใบ (Figure 1) สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้พบการสะสมไฟโตลิตในรากสูงกว่ากาบใบและแผ่นใบ (Sun *et al.*, 2017; Wang & Sheng, 2022) นอกจากนี้ ด้วยคุณสมบัติการทนต่อการย่อยสลายด้วยความร้อนและจุลินทรีย์ ไฟโตลิตที่สะสมในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ประมาณร้อยละ 80 จึงยังคงอยู่ในฟางเมื่อข้าวสุกแก่ (Dong *et al.*, 2024) และคงเหลือในซากข้าวหลังการเก็บเกี่ยวพร้อมดูดซับและกักเก็บคาร์บอนไว้ในอนุภาค ซึ่งไฟโตลิตในข้าวสามารถดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ได้สูงถึง 0.006 - 0.035 ตันคาร์บอนไดออกไซด์เทียบเท่าต่อปี (Sun *et al.*, 2017) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเสนอแนะให้ข้าว กข51 และ กข43 เป็นข้าวไทยที่มีศักยภาพในการบรรเทาการปลดปล่อยก๊าซเรือนกระจกผ่านการเก็บสะสมไฟโตลิต

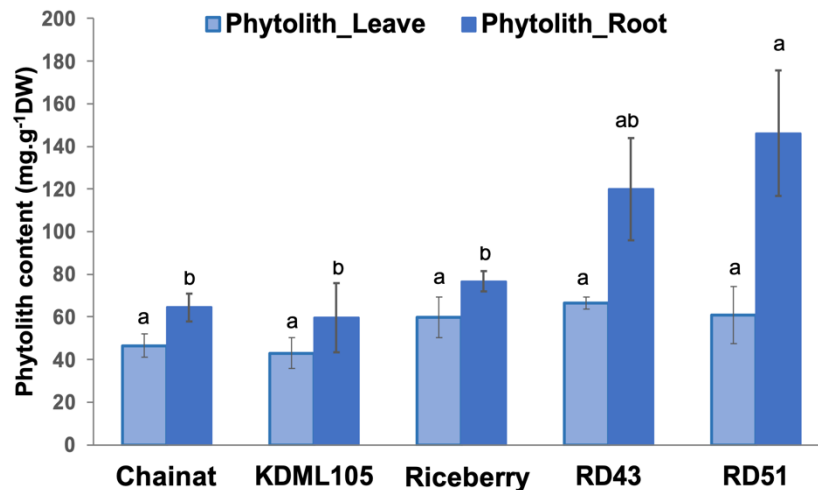


Figure 1 Phytolith content in leaf and root tissues of different five cultivars of Thai rice.

Means with the different letters in graph are significantly different to each other according to DMRT ($p \leq 0.05$).

ไฟโตลิทเป็นอนุภาคที่มีซิลิคอนเป็นองค์ประกอบ (amorphous silicon) (Yang *et al.*, 2018) ในกระบวนการดูดซึมและเคลื่อนย้ายซิลิคอนอาศัยการทำงานของยีนหลายชนิด ทั้งยีน silicon influx transporter (*OsLsi1* และ *OsLsi6*) และ silicon efflux transporter (*OsLsi2* และ *OsLsi3*) ซึ่งแต่ละยีนทำงานในตำแหน่งเนื้อเยื่อที่แตกต่างกัน การศึกษานี้จึงทำการวิเคราะห์ระดับการแสดงออกของยีนตามตำแหน่งที่พบ ได้แก่ *OsLsi1*, *OsLsi2* และ *OsLsi3* ในรากข้าว และ *OsLsi6* ในแผ่นใบและกาบใบข้าว โดยยีน *OsLsi1* และ *OsLsi2* แสดงออกบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของชั้นเนื้อเยื่อ exodermis และ endodermis ในรากข้าว และยีน *OsLsi1* และ *OsLsi2* พบที่ distal side และ proximal side ของราก ตามลำดับ (Ma & Yamaji, 2006; Ma *et al.*, 2007; Ma & Yamaji, 2015) ทั้งนี้ตำแหน่งที่พบยีน *OsLsi3* ได้แก่ บริเวณ pericycle cell ในรากข้าว (Huang *et al.*, 2022) และ *OsLsi6* พบที่บริเวณ parenchyma cell ใน xylem ทั้งส่วนของแผ่นใบและกาบใบข้าว (Yamaji, Mitatni, & Ma, 2008) จากการทดลองพบว่ายีน *OsLsi1* มีการแสดงออกในข้าว กข43 และกข51 สูงกว่าข้าวพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คิดเป็นอัตราส่วน 1.03 และ 1.12

เท่า ตามลำดับ (Figure 2a) ในขณะที่ ระดับการแสดงออกของยีน *OsLsi6* ในข้าว กข43 คิดเป็น 1.22 เท่า สูงกว่าข้าวพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (Figure 2b) ทั้งนี้ในข้าว กข51 พบระดับการแสดงออกของยีน *OsLsi6* ต่ำกว่าพันธุ์อื่นแสดงถึงความไม่สัมพันธ์กับปริมาณไฟโตลิทที่พบในแผ่นใบและกาบใบข้าว ดังนั้นการแสดงออกของยีน *OsLsi1* มีสหสัมพันธ์ทางบวกกับปริมาณไฟโตลิทที่สะสมในข้าวไทย โดยมีค่าสหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.55 (Figure 3a) แสดงให้เห็นว่าการนำ SiO_2 เข้าสู่เซลล์พืช มาจากการควบคุมโดยยีน *OsLsi1* ที่แสดงออกที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของ exodermis และ endodermis ในรากข้าวเป็นหลัก และส่งผลให้เกิดการสะสมของไฟโตลิทในข้าว หากแต่ระดับการแสดงออกของยีน *OsLsi1* และ *OsLsi6* ที่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ แสดงให้เห็นว่าการทำงานของยีนในกลุ่ม silicon influx transporter ทั้งในใบและรากข้าวไม่ได้ส่งผลกระทบต่อการสะสมไฟโตลิทของข้าวไทยโดยตรง

นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาการแสดงออกของยีนที่ทำหน้าที่นำซิลิคอนออกจากเซลล์ (silicon efflux transporter) ได้แก่ ยีน *OsLsi2* และ *OsLsi3*

พบว่าทั้งสองยีนนี้มีระดับการแสดงออกสูงในข้าว กข43 และ กข51 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คิดเป็นอัตราส่วน 2.87 และ 2.02 เท่า ในข้าว กข43 และ 1.57 และ 2.07 เท่าในข้าว กข51 ตามลำดับ (Figure 2a) และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไฟโตลิทกับการแสดงออกของยีน *OsLsi2* และ *OsLsi3* พบว่าระดับการแสดงออกของยีน *OsLsi2* และ *OsLsi3* มีสหสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณไฟโตลิท ดังจะเห็นได้จากค่า r เท่ากับ 0.49 (Figure 3c และ 3d) ดังนั้นการทำงานของยีนในกลุ่ม silicon efflux transporter ทั้งสองโฮโมโลกัสยีน ได้แก่ *OsLsi2* และ *OsLsi3* ส่งผลต่อการผลักดันซิลิคอนจากภายนอกเข้าสู่ xylem vessel เพื่อให้เกิดการลำเลียงซิลิคอนผ่าน

ท่อลำเลียงน้ำและแร่ธาตุ (xylem loading) จากรากไปสู่ใบ และสะสมไฟโตลิทในส่วนต่าง ๆ ซึ่งการเคลื่อนย้ายซิลิคอนในพืช ส่วนหนึ่งเกิดจากแรงดึงจากกระบวนการคายน้ำของพืช (Ma & Yamaji, 2006) จึงคาดว่าในพันธุ์ข้าวที่มีการสะสมไฟโตลิทสูง ที่ปากใบจะมีแรงดึงจากการคายน้ำ ร่วมกับการควบคุมการผลักซิลิคอนของยีน *OsLsi2* และ *OsLsi3* ทำให้ซิลิคอนเคลื่อนที่ออกจากเซลล์หนึ่งไปยังอีกเซลล์หนึ่ง ส่งผลให้ตรวจพบการสะสมของอนุภาคไฟโตลิทในเนื้อเยื่อต่าง ๆ อย่างไรก็ตามเพื่อยืนยันบทบาทของยีน *OsLsi2* และ *OsLsi3* ที่มีต่อการสะสมไฟโตลิทในข้าวจึงควรศึกษาเพิ่มเติมในเนื้อเยื่อรากของระยะการเจริญเติบโตอื่น ๆ ของข้าวต่อไป

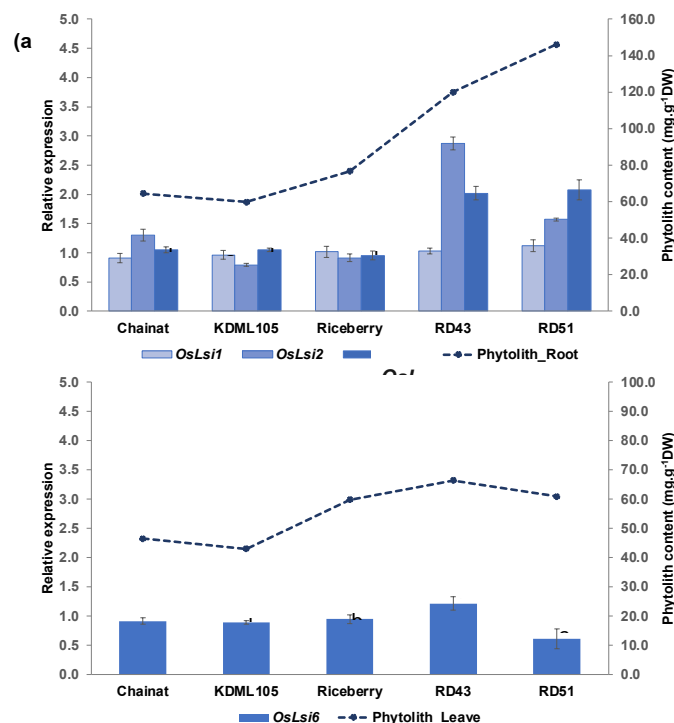


Figure 2 The means $\pm$ SE of relative gene expression levels (bar graphs) of *OsLsi1*, *OsLsi2* and *OsLsi3* in root (a) and *OsLsi6* in leaf (b) in comparison to phytolith content (line graphs). Means with the different letters in graph are significantly different to each other according to DMRT.

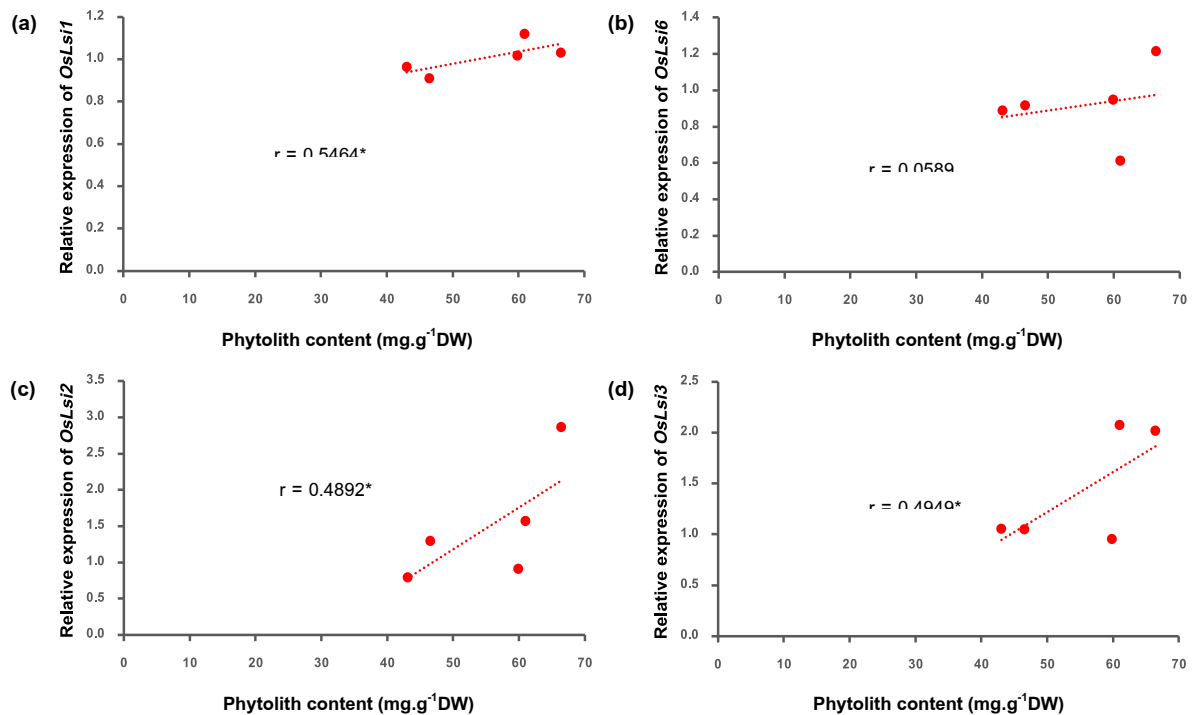


Figure 3 Relationship between phytolith content and OsLsi1 (a), OsLsi6 (b), OsLsi2 (c), and OsLsi3 (d) expressions in leave of five Thai rice cultivars. * indicates significant difference at $p \leq 0.05$.

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการดำเนินงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เพื่อการศึกษาปริมาณไฟโตลิต และโครงการวิจัยนี้ได้รับงบประมาณสนับสนุนการวิจัย เพิ่มเติมจากมหาวิทยาลัยบูรพา “งบประมาณเงินอุดหนุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประเภท Fundamental Fund ปีงบประมาณพ.ศ 2567” เลขที่สัญญา ววน 194110 /2567

เอกสารอ้างอิง

ศิริพร ศรีบุญญานิชย์, มานี ศรีอรินันท์, วาสนี พงษ์ประยูร. (2565). รายงานการวิจัย การศึกษาปฏิสัมพันธ์เชิงระบบของการอยู่ร่วมกันระหว่างข้าวและจุลินทรีย์รอบรากต่อผลผลิตข้าวและการปลดปล่อยก๊าซมีเทน. มหาวิทยาลัยบูรพา.

Blinnikov, M. S., & Yost, C. L. (2023). Phytoliths. In *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*. Elsevier.

Davamani, V., Sangeetha Piriya, R., Rakesh, S. S., Parameswari, E., Paul Sebastian, S., Kalaiselvi, P., Santhi, R. (2022). Phytolith-occluded carbon sequestration potential of oil palm plantation in Tamil Nadu. *ACS omega*, 7(3), 2809-2820.

Dong, L., Yang, T., Ma, L., Li, R., Feng, Y., & Li, Y. (2024). Silicon fertilizer addition can improve rice yield and lodging traits under reduced nitrogen and increased density conditions. *Agronomy*, 14(3), 464. <https://doi.org/10.3390/agronomy14030464>

- Hodson, M. J. (2016). The development of phytoliths in plants and its influence on their chemistry and isotopic composition. Implications for palaeoecology and archaeology. *Journal of Archaeological Science*, 68, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.jas.2015.09.002>.
- Huang, S., Yamaji, N., Sakurai, G., Mitani-Ueno, N., Konishi, N., & Ma, J. F. (2022). A pericycle-localized silicon transporter for efficient xylem loading in rice. *New phytologist*, 234(1), 197-208.
- IBM Corporation. (2020). IBM SPSS Statistics for Windows (Version 27.0) [Computer software]. IBM.
- Li, Z., Song, Z., Parr, J. F., & Wang, H. (2013). Occluded C in rice phytoliths: implications to biogeochemical carbon sequestration. *Plant and Soil*, 370(1), 615-623. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1661-9>.
- Ma, J. F., & Yamaji, N. (2006). Silicon uptake and accumulation in higher plants. *Trends in Plant Science*, 11(8), 392-397. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2006.06.007>
- Ma, J. F., & Yamaji, N. (2015). A cooperative system of silicon transport in plants. *Trends in plant science*, 20(7), 435-442.
- Ma, J. F., Yamaji, N., Mitani, N., Tamai, K., Konishi, S., Fujiwara, T., Katsuhara, M., & Yano, M. (2007). An efflux transporter of silicon in rice. *Nature*, 448(7150), 209-212. <https://doi.org/10.1038/nature05964>.
- Nadeau, K. C., Agache, I., Jutel, M., Annesi Maesano, I., Akdis, M., Sampath, V., D'Amato, G., Cecchi, L., Traidl-Hoffmann, C., & Akdis, C. A. (2022). Climate change: A call to action for the United Nations. *Allergy*, 77(4) , 1087– 1090. <https://doi.org/10.1111/all.15079>
- Nawaz, M. A., Zakharenko, A. M., Zemchenko, I. V., Haider, M. S., Ali, M. A., Imtiaz, M., Chung, G., Tsatsakis, A., Sun, S., & Golokhvast, K. S. (2019). Phytolith Formation in Plants: From Soil to Cell. *Plants*, 8(8) , 249. <https://doi.org/10.3390/plants8080249>
- Parr, J. F., & Sullivan, L. A. (2005). Soil carbon sequestration in phytoliths. *Soil Biology and Biochemistry*, 37(1), 117-124.
- Parr, J. F., & Sullivan, L. A. (2014). Comparison of two methods for the isolation of phytolith occluded carbon from plant material. *Plant and Soil*, 374(1-2), 45-53.
- Puppe, D., Kaczorek, D., Buhtz, C., & Schaller, J. (2023). The potential of sodium carbonate and Tiron extractions for the determination of silicon contents in plant samples—A method comparison using hydrofluoric acid digestion as reference. *Frontiers in Environmental Science*, 11. <https://doi:10.3389/fenvs.2023.1145604>

- Puppe, D., & Leue, M. (2018). Physicochemical surface properties of different biogenic silicon structures: Results from spectroscopic and microscopic analyses of protistic and phytogenic silica. *Geoderma*, 330(15), 212-220. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.06.001>
- Sharma, R., Kumar, V., & Kumar, R. (2019). Distribution of phytoliths in plants: A review. *Geology, ecology, and landscapes*, 3(2), 123-148. <https://doi.org/10.1080/24749508.2018.1522838>
- Song, X., Chen, X., Zhou, G., Jiang, H., & Peng, C. (2017). Observed high and persistent carbon uptake by Moso bamboo forests and its response to environmental drivers. *Agricultural and forest meteorology*, 247(15), 467-475. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2017.09.001>
- Sun, X., Liu, Q., Zhao, G., Chen, X., Tang, T., & Xiang, Y. (2017). Comparison of phytolith-occluded carbon in 51 main cultivated rice (*Oryza sativa*) cultivars of China. *RSC Advances*, 7(86), 54726-54733.
- Tan, L., Fan, X., Yan, G., Peng, M., Zhang, N., Ye, M., Gao, Z., Song, A., Nikolic, M., & Liang, Y. (2021). Sequestration potential of phytolith occluded carbon in China's paddy rice (*Oryza sativa* L.) systems. *Science of The Total Environment*, 774, 145696. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145696>
- Tang, X., Zhao, X., Bai, Y., Tang, Z., Wang, W., Zhao, Y., Wu, B. (2018). Carbon pools in China's terrestrial ecosystems: New estimates based on an intensive field survey. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(16), 4021-4026.
- Tang, X., Zhao, X., Bai, Y., Tang, Z., Wang, W., Zhao, Y., Wan, H., Xie, Z., Shi, X., Wu, B., Wang, G., Yan, J., Ma, K., Du, S., Li, S., Han, S., Ma, Y., Hu, H., He, N., Zhou, G. (2018). Carbon pools in China's terrestrial ecosystems: New estimates based on an intensive field survey. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(16), 4021-4026. <https://doi.org/10.1073/pnas.1700291115>
- Wang, L., & Sheng, M. (2022). Phytolith occluded organic carbon in *Fagopyrum* (Polygonaceae) plants: Insights on the carbon sink potential of cultivated buckwheat planting. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1014980>
- Yamaji, N., Mitatni, N., & Ma, J. F. (2008). A transporter regulating silicon distribution in rice shoots. *Plant Cell*, 20(5), 1381-1389. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.059311>
- Yang, X., Song, Z., Liu, H., Van Zwieten, L., Song, A., Li, Z., Hao, Q., Zhang, X., & Wang, H. (2018). Phytolith accumulation in broadleaf and conifer forests of northern China: Implications for phytolith carbon sequestration. *Geoderma*, 312, 36-44. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.10.005>

Zhang, X., Song, Z., Hao, Q., Yu, C., Liu, H., Chen, C., Müller, K., & Wang, H. (2020). Storage of soil phytoliths and phytolith-occluded carbon along a precipitation gradient in grasslands of northern China. *Geoderma*, 364, 114200. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2020.114200>