

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา การเจริญเติบโตและกายวิภาคของใบ กล้วยไม้รองเท้านารี สกุล *Paphiopedilum* spp. บางชนิด

นวลปรานค์ ไชยตะขบ^{1*}, บัวบาง ยะอุบ², อัมรา หล้าวงษา² และ วีระศรี เมฆตรง¹

¹ศูนย์วิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

²สถานีวิจัยดอยปุย คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, เชียงใหม่

*ผู้รับผิดชอบบทความ: email rdgnrp@ku.ac.th

บทคัดย่อ

รองเท้านารีเป็นกล้วยไม้ที่มีลักษณะสวยงาม เป็นไม้ประดับกระถางที่มีคุณค่าและพืชพรรณหายาก การศึกษาลักษณะ
สัณฐานวิทยา การเจริญเติบโตและกายวิภาคของใบเป็นข้อมูลสำคัญสามารถใช้จัดจำแนกพืชได้เพื่อใช้ประโยชน์ต่างๆ ได้ โดย
รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีอินทนนท์ เหลืองกระบี่ คางกบ และสุชะกุล ซึ่งปลูกใน
โรงเรือนที่สถานีวิจัยดอยปุย จังหวัดเชียงใหม่ ทำการศึกษาลักษณะและการเจริญเติบโตของใบจากจำนวนใบ ความกว้าง และความ
ยาวของใบ ระหว่างเดือนกันยายน 2561 – ตุลาคม 2562 และศึกษากายวิภาคของใบด้านตัดขวาง พบว่าใบของรองเท้านารีมีการ
เจริญเติบโตที่ช้ามากทั้งจำนวนใบ ความกว้างและความยาวของใบ และลักษณะรูปร่างของใบ สีสัน ลวดลายที่ปรากฏของแผ่นใบ มี
ความแตกต่างกัน ส่วนลักษณะทางกายวิภาคของใบจากลักษณะเนื้อเยื่อชั้นผิวด้านบนและล่าง และท่อลำเลียงบริเวณเส้นกลางใบ
ของแผ่นใบภาคตัดขวาง พบว่าใบของรองเท้านารีประกอบด้วยเซลล์ที่มีลักษณะทางกายวิภาคที่เป็นลักษณะเฉพาะในแต่ละชนิด
โดยลักษณะที่สอดคล้องกับลักษณะลวดลายของใบจะพบเซลล์ที่มีรงควัตถุ จึงสามารถใช้จัดแบ่งกลุ่มตามลักษณะนี้ได้ทั้งในลักษณะ
ทางสัณฐานวิทยาและลักษณะกายวิภาค ซึ่งใช้ประโยชน์เป็นข้อมูลพื้นฐานในการระบุและจัดจำแนกชนิดของรองเท้านารีได้

คำสำคัญ: รองเท้านารี สัณฐานวิทยา กายวิภาค ใบ การเจริญเติบโตของใบ

Study on morphology, growth and anatomical characters of leaf in some lady's slipper orchids (*Paphiopedilum* spp.)

Nuanprang Chiatakhob^{1*}, Buabang Ya-oop², Amara Lawongsa² and Weerasri Mektrong¹

¹Agricultural Research and Technology Transfer Center, Faculty of Agriculture, Kasetsart
University, Bangkok

²DoiPui Research Station, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, ChiangMai

*corresponding author: email rdgnrp@ku.ac.th

Abstract

Lady's slipper is an attractive orchid and valued ornamental pot, and rarely endangered plant. The study on growth and anatomical characteristics is also an important data for using identification and classification in plants. *Paphiopedilum* of 4 species: *Paphiopedilum villosum* (Lindl.) Stein, *Paphiopedilum exul* (Ridl.) Rolfe, *Paphiopedilum callosum* (Rchb.F.) Pfitz., and *Paphiopedilum sukhakulii* Schoder & Senghas were collected at greenhouse in DoiPui Research Station, Chiangmai province. Leaves of them were studied growth by data collecting of leaf number, leaf width and length between September 2018 – October 2019, and morphological and anatomical characteristics. The result showed that the leaves slowly grew in number of leaf, and leaf width and length. Addition, leaf shape, leaf color, and leaf spot and marking of them were founded obviously differences. As leaf anatomical characteristics which were studied by using leaf blade cut-in cross section method, cells and tissues in upper and lower epidermis, and vascular bundle in midrib were found that each species has specific in those. Particularly, the anatomical characteristic deal with the leaf spot and marking was finding of idioblast cells. These can be able to arrange into groups by each morphological and anatomical characteristics in basic data for species identification and classification.

Keywords: lady's slipper, morphology, anatomy, leaf, leaf growth

บทนำ

กล้วยไม้มีหลากหลายชนิด รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* เป็นกล้วยไม้ชนิดหนึ่งที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศไทยหลายชนิด และมีการนำเข้าเพื่อนำมาปลูกประดับตกแต่ง รวมทั้งมีการลักลอบนำกล้วยไม้รองเท้านารีออกจากป่าเพื่อการจำหน่ายทั้งในระดับท้องถิ่นและส่งออกต่างประเทศจำนวนมาก จึงอาจทำให้กล้วยไม้รองเท้านารีในป่าธรรมชาติมีจำนวนลดลงจนอาจใกล้จะสูญพันธุ์ อีกประการหนึ่ง กล้วยไม้รองเท้านารีเพิ่มปริมาณต้นโดยการกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติยากมาก เพราะการออกดอก ติดฝัก ติดเมล็ดน้อย และเมล็ดไม่สามารถงอกได้เองเนื่องจากไม่มีอาหารสะสมจึงจำเป็นต้องอาศัยอาหารจากภายนอกมาช่วยในการพัฒนาการเจริญเติบโต ประกอบกับเมล็ดมีขนาดเล็กมาก ง่ายต่อการปลิวไปตามลม จึงมีเพียงบางส่วนเท่านั้นซึ่งมีปริมาณน้อยมากที่สามารถงอกได้ตามธรรมชาติในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม จึงทำให้กล้วยไม้บางชนิดใกล้สูญพันธุ์ กล้วยไม้รองเท้านารีมีการเจริญเติบโตแบบการแตกกอหรือซิมโพเดียม (sympodium) โดยส่วนใหญ่มักคิดว่า ต้นที่ผลิดอกและเริ่มร่วงโรยแล้ว จึงจะแตกหน่อใหม่ออกมาทดแทนเพื่อให้กอแน่นขึ้น การขยายพันธุ์โดยไม่มีการผสมเกสรจึงยังทำได้โดยการแยกกอ อย่างไรก็ตามรองเท้านารีบางชนิดสามารถขยายพันธุ์และผสมข้ามพันธุ์จนทำให้สามารถได้ลูกผสม และสามารถใช้ขยายพันธุ์เพื่อผลิตในเชิงพาณิชย์ โดยใช้เป็นสายพันธุ์ลูกผสมได้ สถานีวิจัยดอยปู่ได้เล็งเห็นความสำคัญดังกล่าวจึงได้รวบรวมพันธุ์รองเท้านารีบางชนิดไว้ รวมทั้งผสมพันธุ์และขยายพันธุ์ได้สายพันธุ์ลูกผสมจำนวนหนึ่ง จึงน่าจะเกิดประโยชน์ต่อเกษตรกรหรือผู้สนใจปลูกเพื่อนำไปขยายการต่อยอดได้ต่อไปในอนาคต

ใบเป็นส่วนประกอบของพืชที่สำคัญมีหน้าที่ในการสังเคราะห์แสงเพื่อสร้างอาหารให้กับต้นพืช ใบตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมมากกว่าส่วนอื่นๆ ลักษณะของใบจึงสะท้อนถึงการปรับตัวของพืชและอิทธิพลของสภาพแวดล้อมที่พืชอาศัยอยู่ การเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างกายวิภาคของพืชจึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตและกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช ดังนั้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการปรับตัวจึงเป็นสิ่งจำเป็นในการอนุรักษ์พันธุ์พืชและการใช้ประโยชน์ในทางการค้า การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเป็นวิธีการที่ง่าย สะดวก และค่าใช้จ่ายน้อย และการศึกษากายวิภาคก็เช่นกันถึงแม้ว่าจะใช้เทคนิคที่มากขึ้น แต่สไลด์ถาวรของตัวอย่างพืชสามารถเก็บไว้ศึกษาได้นานเพื่อใช้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบกับพืชที่ต้องการตรวจสอบความถูกต้องของชนิดต่อไปได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา กายวิภาคและการเจริญเติบโตของใบกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* spp. จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีอินทนนท์ เหลืองกระปี่ คางกบ และสุชะกุล

วิธีดำเนินการวิจัย

ต้นกล้วยไม้รองเท้านารี สกุล *Paphiopedilum* spp. จำนวน 4 ชนิด ในหมวดย่อย *Paphiopedilum* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีอินทนนท์ (*Paphiopedilum villosum* (Lindl.) Stein) และเหลืองกระปี่ (*Paphiopedilum exul* (Ridl.) Rolfe) และในหมวดย่อย *Barbata* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีคางกบ (*Paphiopedilum callosum* (Rchb.F.) Pfitz.) และสุชะกุล (*Paphiopedilum sukhakulii* Schoder & Senghas) ปลูกในโรงเรือนของสถานีวิจัยดอยปู่ จังหวัดเชียงใหม่ (18°48'39"N 98°53'5"E ที่ระดับความสูง 1,250 เมตร จากระดับทะเลปานกลาง) นำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) โดยการสังเกต ถ่ายภาพ บันทึกข้อมูลลักษณะและการเจริญเติบโตของใบ ในด้านจำนวนใบ ความกว้างและความยาวของใบ และศึกษาลักษณะทางกายวิภาค (anatomy) โดยการเก็บตัวอย่างใบสดที่เจริญเต็มที่ประมาณใบที่ 3-5 บริเวณโคนใบ ทำการศึกษาเนื้อเยื่อบริเวณเส้นกลางใบ (midrib) และขอบใบ (margin) ของแผ่นใบด้านตัดขวาง ตามวิธีการของ Umroong (2018) ณ ห้องปฏิบัติการฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ (AmScope MDC200 with a 10X-lense) ที่กำลังขยาย 4-40x ถ่ายภาพและบรรยายลักษณะของเนื้อเยื่อต่างๆ เปรียบเทียบในแต่ละชนิดของรองเท้านารีที่ทำการศึกษา

ผลการศึกษา

การศึกษาการเจริญเติบโตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบรองเท้านารีในสกุล *Paphiopedilum* ในหมวดย่อย *Paphiopedilum* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีอินทนนท์ (*Paphiopedilum villosum* (Lindl.) Stein) และเหลืองกระบี่ (*Paphiopedilum exul* (Ridl.) Rolfe) และในหมวดย่อย *Barbata* จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีคางกบ (*Paphiopedilum callosum* (Rchb.F.) Pfitz.) และสุชะกุล (*Paphiopedilum sukhalii* Schoder & Senghas) พบว่า ลักษณะของต้นและสัณฐานวิทยาของใบของรองเท้านารีทั้ง 4 ชนิด มีความแตกต่างกัน ดังภาพที่ 1 โดยรองเท้านารีอินทนนท์มีจำนวนใบและความยาวใบมากที่สุดเท่ากับ 8 ใบต่อต้นและ 39.9 เซนติเมตร ตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ย 3.8 ใบ ลักษณะเป็นรูปใบหอก (lanceolate) กว้างเฉลี่ย 2.7 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 30.5 เซนติเมตร ปลายใบมน (obtusely) ขอบใบเรียบ (entire) โคนใบสอบเรียว (attenuate) ใบมีสีเขียวเป็นมัน ไม่มีลาย แต่มีจุดประสีม่วงเข้มที่โคนใบด้านล่าง ส่วนเหลืองกระบี่ มีจำนวนใบและความยาวใบมากที่สุดเท่ากับ 6 ใบต่อต้นและ 28.3 เซนติเมตร ตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ย 3.9 ใบ มีลักษณะเป็นรูปหอกแกมรูปไข่ (ovate-lanceolate) กว้างเฉลี่ย 1.8 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 19.9 เซนติเมตร ปลายใบมน (obtusely) ขอบใบเรียบ (entire) โคนใบสอบเรียว (attenuate) ใบมีสีเขียวเข้มเป็นมัน ไม่มีลาย ขณะที่คางกบมีจำนวนใบและความยาวใบมากที่สุดเท่ากับ 7 ใบต่อต้นและ 21.2 เซนติเมตร ตามลำดับ จำนวนใบเฉลี่ย 4.0 ใบ ลักษณะเป็นรูปขอบขนาน (oblong) กว้างเฉลี่ย 3.5 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 16.4 เซนติเมตร ปลายใบแหลม (acute) ขอบใบเรียบ (entire) โคนใบสอบเรียว (attenuate) ใบมีสีเขียวสลับเขียวอ่อน เป็นลายตารางคล้ายหินอ่อน และสุชะกุลมีจำนวนใบและความยาวใบเท่ากับ 5 ใบต่อต้น และ 18.6 เซนติเมตร ตามลำดับ ลักษณะเป็นรูปขอบขนาน (oblong) กว้างเฉลี่ย 3.5 เซนติเมตร ยาวเฉลี่ย 14.7 เซนติเมตร ปลายใบแหลม (acute) ขอบใบเรียบ (entire) โคนใบสอบเรียว (attenuate) ใบมีสีเขียวสลับเขียวอ่อน เป็นลายตารางคล้ายหินอ่อน (ตารางที่ 1)

ส่วนการเจริญเติบโตของใบทั้ง 4 ชนิด ตั้งแต่เดือนกันยายน 2561 – เดือนตุลาคม 2562 เป็นไปอย่างช้าๆ มีจำนวนใบตั้งแต่ 4-7 ใบ ความยาวใบ 15-30 เซนติเมตร ความกว้างใบ 2-3 เซนติเมตร (ภาพที่ 2 และ 3) และมีการแตกหน่อให้เห็นในช่วงเดือนกรกฎาคม 2561 จำนวนใบเฉลี่ยของรองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* ทั้ง 4 ชนิด มีค่าเฉลี่ยประมาณ 3 – 5 ใบ โดยมีจำนวนใบมากที่สุด เท่ากับ 7 ใบ และเมื่อต้นมีการเจริญเติบโตเต็มที่จะมีการแตกหน่อออกด้านข้างประมาณใบที่ 2 – 4 ของต้น ใบของรองเท้านารีคางกบและสุชะกุลมีความอวบหนากว่ารองเท้านารีอินทนนท์และเหลืองกระบี่ ใบของรองเท้านารีทั้ง 4 ชนิด มีลักษณะแผ่นใบเป็นแบบ bifacial โดยใบด้านบนและล่างมีความแตกต่างกันของสี ลวดลาย และมี midrib ให้เห็นอย่างชัดเจน ดังภาพที่ 1

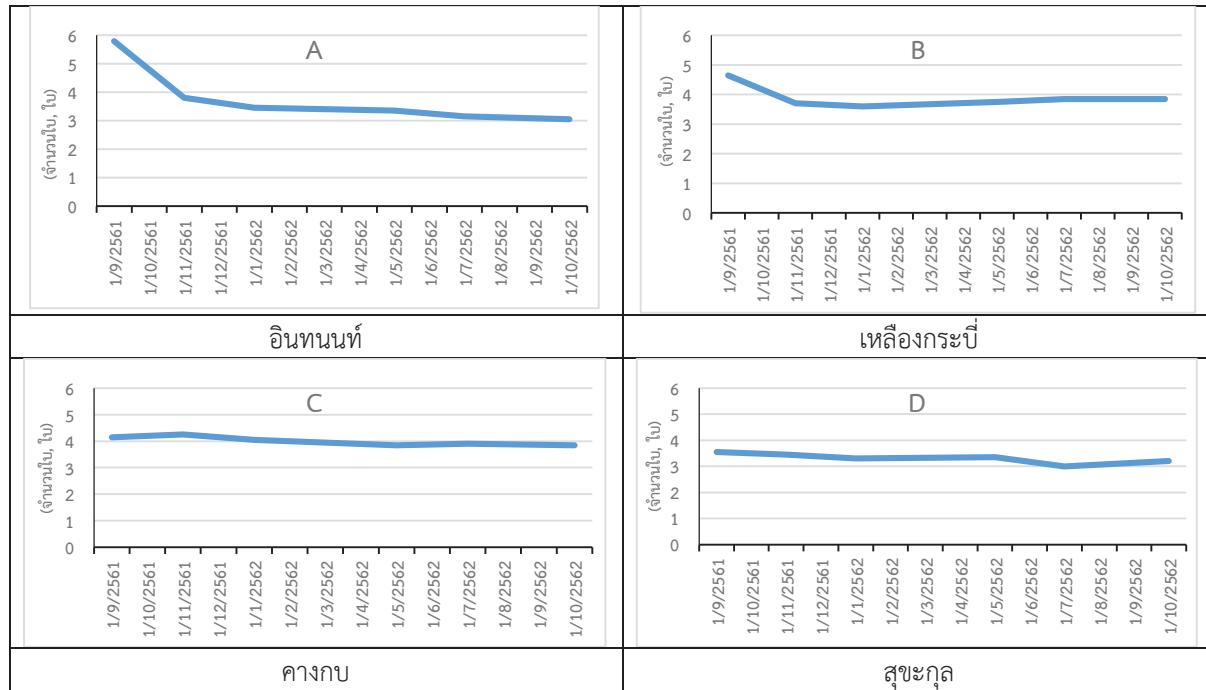
ตารางที่ 1 ขนาดและจำนวนใบเฉลี่ยของกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* spp. 4 ชนิด (n=20)

ชนิดรองเท้านารี	จำนวน (ใบ)			ความกว้าง (ซม.)			ความยาว (ซม.)		
	สูงสุด	เฉลี่ย	SD	สูงสุด	เฉลี่ย	SD	สูงสุด	เฉลี่ย	SD
อินทนนท์	8	3.8	1.38	3.8	2.7	0.38	39.9	30.5	3.02
เหลืองกระบี่	6	3.9	1.07	2.7	1.8	0.18	28.3	19.9	1.76
คางกบ	7	4.0	1.20	4.8	3.5	0.55	21.2	16.4	2.26
สุชะกุล	5	3.3	0.81	5.2	3.5	0.87	18.6	14.7	2.18

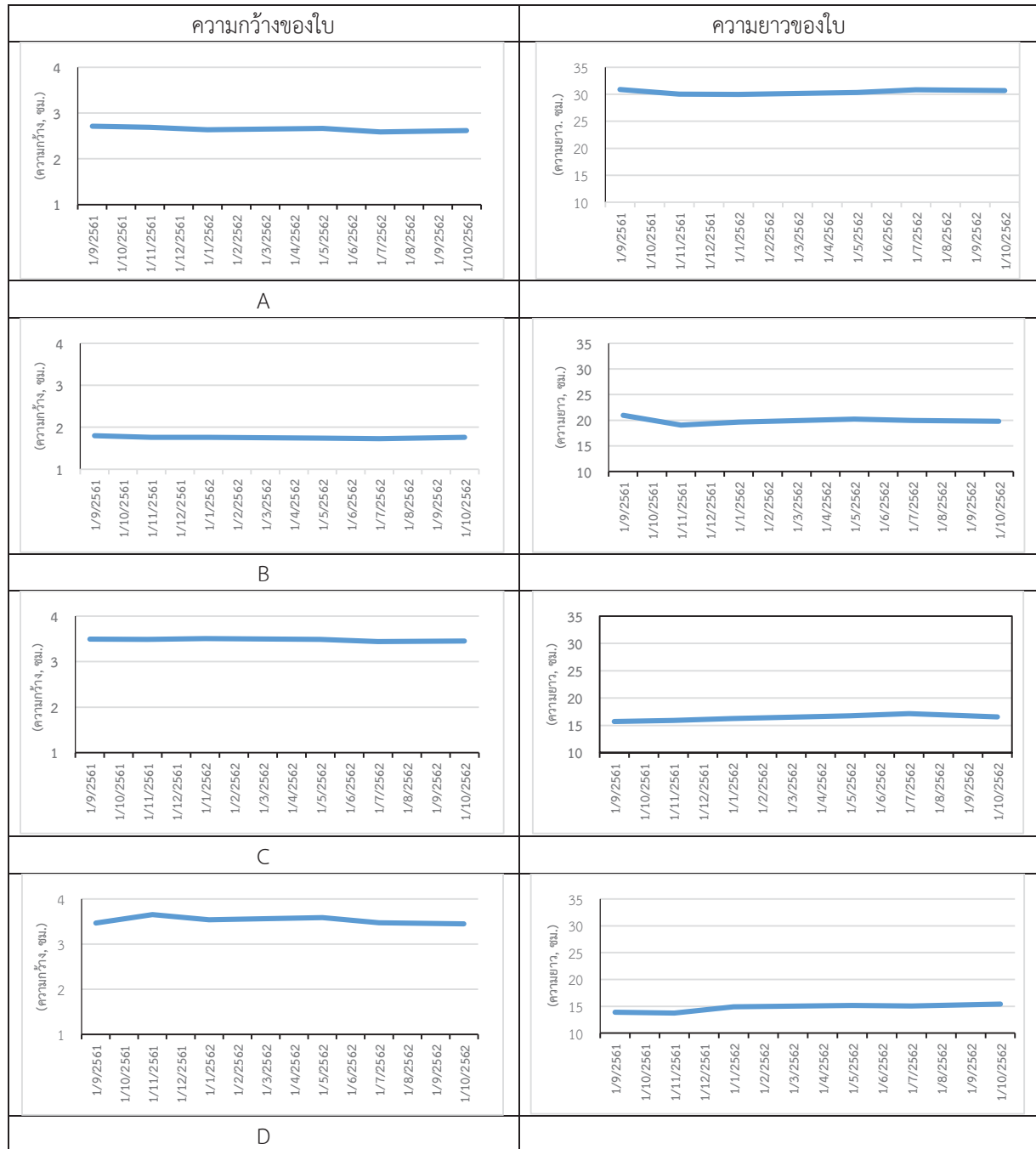


ภาพที่ 1 ลักษณะต้นและสัณฐานวิทยาของใบกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* spp. 4 ชนิด สเกลบาร์ = 1 ซม.

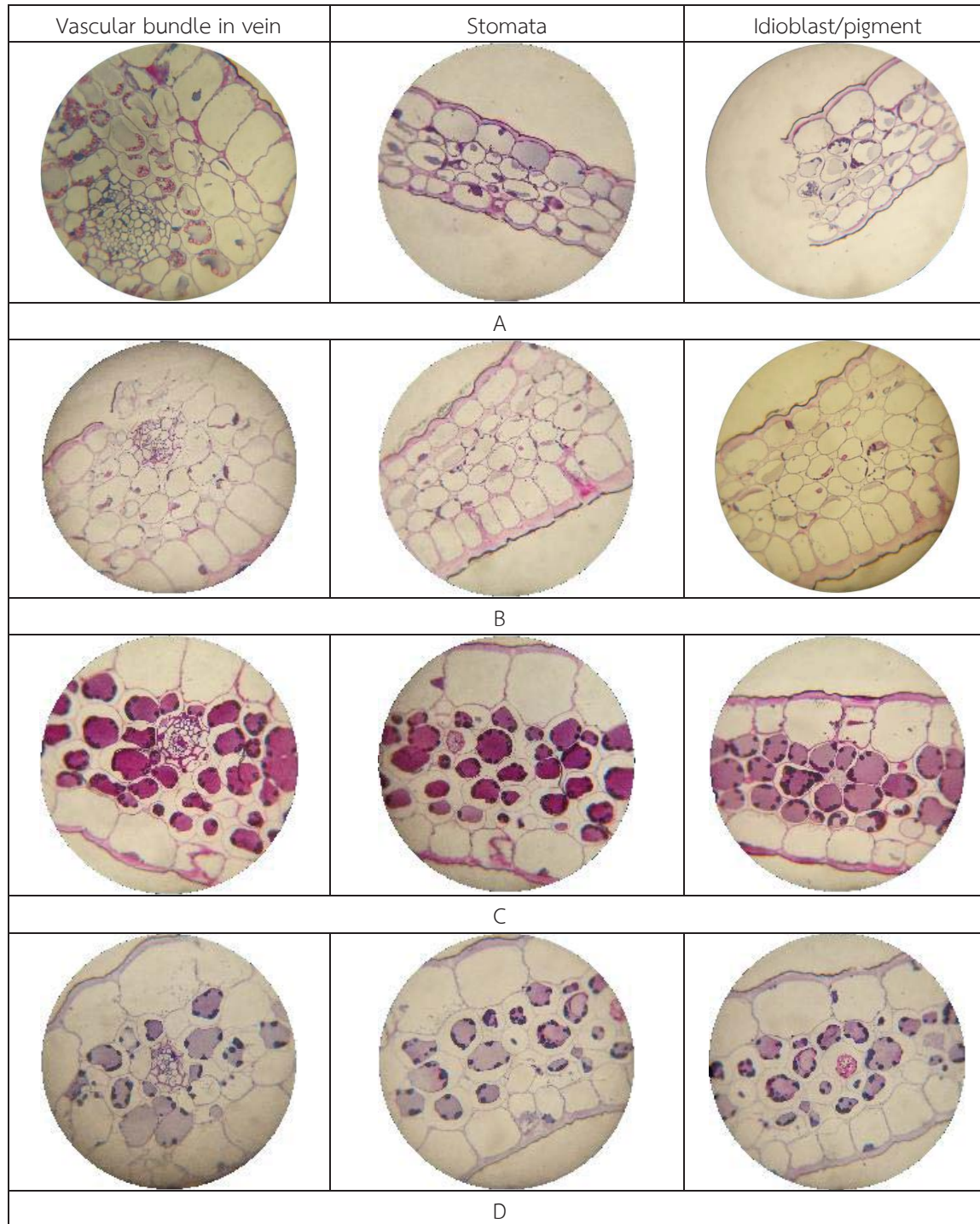
เมื่อศึกษาลักษณะกายวิภาคด้านตัดขวางของแผ่นใบรองเท้านารีทั้ง 4 ชนิด พบว่า ผิวใบด้านบน (adaxial) หรือ upper epidermis มีคิวตินปกคลุมด้านนอกสุด ไม่มี trichome ถัดมาเป็นชั้น epidermis เซลเป็นเกือบสี่เหลี่ยมเรียงเป็นแถวเดียว (uniseriate) ผิวใบด้านล่าง (abaxial) มีคิวติน เซลในชั้น epidermis มี stomata และ guard cells อยู่ในระนาบเดียวกัน เส้นกลางใบ (midrib) แทรกอยู่ในชั้นมีโซฟิลล์ (mesophyll) ของใบ ประกอบด้วยเนื้อเยื่อไซเล็ม (xylem) เรียงตัวอยู่ด้านบน โพลเอม (phloem) เรียงตัวอยู่ทางด้านล่าง เป็นมัดท่อลำเลียงแบบเคียงข้าง (collateral bundle) ถูกล้อมรอบด้วยเยื่อหุ้มมัดท่อลำเลียง (bundle sheath cell) และพบว่ารองเท้านารีในหมวดย่อย Paphiopedilum จำนวน 2 ชนิด คือ รองเท้านารีอินทนนท์และ เหลืองกระบี่ ไม่พบรงค์วัดถุ (idioblast) เหมือนที่พบในหมวดย่อย Barbata จำนวน 2 ชนิด คือ รองเท้านารีคางกบและสุชะกุล ดัง ภาพที่ 4-6 และตารางที่ 2



ภาพที่ 2 จำนวนใบเฉลี่ยของรองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* จำนวน 4 ชนิด คือ A) อินทนนท์ (*Paphiopedilum villosum* (Lindl.) Stein) B) เหลืองกระบี่ (*Paphiopedilum exul* (Ridl.) Rolfe) C) คางกบ (*Paphiopedilum callosum* (Rchb.F.) Pfitz.) และ D) สุชะกุล (*Paphiopedilum sukhakulii* Schoder & Senghas) ระหว่างเดือนกันยายน 2561 – ตุลาคม 2562 (n=20)

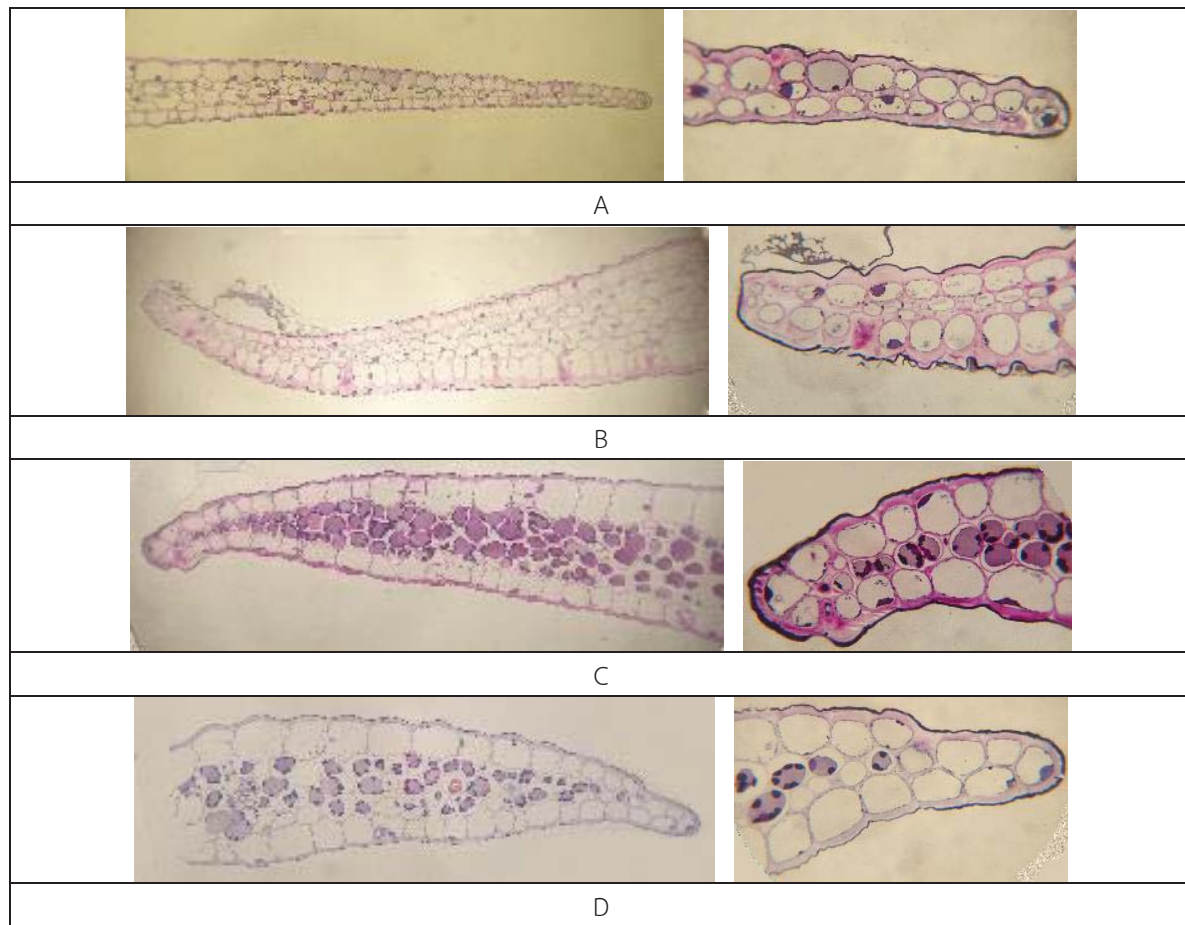


ภาพที่ 3 ลักษณะการเจริญเติบโตด้านความกว้างและความยาวของใบของใบรองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* จำนวน 4 ชนิด คือ A) อินทนนท์ B) เหลืองกระปี่ C) คางกบ และ D) สุขะกุล ระหว่างเดือนกันยายน 2561 – ตุลาคม 2562 (n=20)



ภาพที่ 5 ลักษณะกายวิภาคของใบด้านตัดขวางของกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* spp. 4 ชนิด ดังนี้ A) รองเท้านารีอินทนนท์ (*Paphiopedilum villosum*) B) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (*Paphiopedilum exul*) C) รองเท้านารีคางคก (*Paphiopedilum callosum*) และ D) รองเท้านารีสุโขทัย (*Paphiopedilum sukhakulii*) กำลังขยาย 40X

ลักษณะขอบใบของรองเท้านารีที่ศึกษา พบว่า ขอบใบของรองเท้านารีทั้ง 4 ชนิด มีความแตกต่างกัน โดยรองเท้านารีอินทนนท์มีขอบใบแบบตรง เหลืองกระบี่เป็นแบบตั้งขึ้น ส่วนคางกบและสุชะกุลเป็นแบบขอบลง ดังภาพที่ 6



ภาพที่ 6 ลักษณะกายวิภาคของขอบใบ (Margin of leaf blade) ด้านตัดขวางของกล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* spp. 4 ชนิด ดังนี้ A) รองเท้านารีอินทนนท์ (*Paphiopedilum villosum*) B) รองเท้านารีเหลืองกระบี่ (*Paphiopedilum exul*) C) รองเท้านารีคางกบ (*Paphiopedilum callosum*) และ D) รองเท้านารีสุชะกุล (*Paphiopedilum sukhalii*) กำลังขยาย 10X และ 40X

ตารางที่ 2 ลักษณะของแผ่นใบและเนื้อเยื่อต่างๆ ภายในใบภาคตัดขวางของรองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* spp. 4 ชนิด

ลักษณะของเซลล์และเนื้อเยื่อ	อินทนนท์	เหลืองกระบี่	คางกบ	สุชะกุล
Leaf blade, bifacial	+	+	+	+
Cuticle with thickened layer (adaxial)	+	-	+	+
Cuticle with thickened layer (abaxial)	+	+	+	+
Epidermal cells, Uniseriate epidermis (adaxial)	+	+	+	+
Epidermal cells, Uniseriate epidermis (abaxial)	+	+	+	+
Epidermal cells with thickened walls (adaxial)	+	-	+	+
Epidermal cells with thickened walls (abaxial)	+	+	+	+
Midrib, curvilinear, composed of one vascular bundle	+	+	+	+
Vascular bundle arrangement, single row	+	+	+	+
Vascular bundle, Collateral closed	+	+	+	+
Vascular bundle with outer sheath	+	+	+	+
Spongy cells	+	+	+	+
Palisade cells	+	+	+	+
Idioblast	-	-	+	+
Leaf margin, curved up (/), curved down (\)	-	/	\	\

+ = พบ, - = ไม่พบ

อภิปรายผล

กล้วยไม้รองเท้านารีสกุล *Paphiopedilum* spp. จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ รองเท้านารีอินทนนท์ เหลืองกระบี่ คางกบ และสุชะกุล มีลักษณะการเจริญเติบโตของใบที่ซ้ำมาก และมีขยายพันธุ์ด้วยการแตกหน่อ (symposium) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของทั้ง 4 ชนิด พบความแตกต่างกันของแต่ละชนิด ซึ่งสอดคล้องกับ คณิน (2551) ที่ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบรองเท้านารี และจัดทำรูปวิธานจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า รองเท้านารีอินทนนท์และเหลืองกระบี่อยู่กลุ่มเดียวกันโดยใบมีรูปร่างแบบรูปแถบ (linear) ทั้งนี้สามารถแยกเป็นชนิดด้วยลักษณะสีใบ โดยใบของรองเท้านารีอินทนนท์มีสีเขียวเข้มเป็นมัน และใบเหลืองกระบี่มีสีเขียวเข้ม ขณะที่รองเท้านารีคางกบและสุชะกุลอยู่ในกลุ่มใบมีรูปร่างแบบรูปใบหอก (lanceolate) และแยกโดยลักษณะของแผ่นใบ ซึ่งรองเท้านารีคางกบมีแผ่นใบเป็นรูปใบหอกแกมรูปไข่ (ovate-lanceolate) ส่วนใบสุชะกุลมีแผ่นใบเป็นรูปใบหอก (lanceolate) และมีสัดส่วนความกว้าง : ความยาวของแผ่นใบประมาณ 1 : 4 เท่ากัน ส่วน Gogoi, K. (2015) ได้จำแนกรองเท้านารีอินทนนท์ (*Paphiopedilum villosum* (Lindl.) Stein) ออกจากรองเท้านารี *P. venustum* จากลักษณะที่ด้าน abaxial เป็นสีเขียวอ่อนและมีประที่ส่วนโคนใบ ปากดอกและ staminode ไม่มีเส้น vein สีเขียว และ *P. spicerianum* ด้วยลักษณะของกลีบนอกบน (dorsal sepal) สีเขียวอ่อนถึงเหลืองอ่อน มีแถบสีแดงม่วงเข้มตรงกลางและข้างๆ staminode ไม่มีขอบส่วนล่าง (เว้า) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของใบ ได้แก่ รูปร่าง ขอบใบ ปลายใบ โคนใบ สีสัน และลวดลายที่ปรากฏบนแผ่นใบ สามารถนำมาจัดทำรูปวิธานวิเคราะห์ชนิดของใบรองเท้านารีได้ แต่ไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างรองเท้านารีชนิดพันธุ์ลูกผสมกับพันธุ์พ่อแม่ได้ ส่วนลักษณะทางกายวิภาคของใบนั้น มีลักษณะเฉพาะของแต่ละชนิด ได้แก่ จำนวนชั้นเซลล์ของ mesophyll แต่ไม่สามารถนำมาจัดรูปวิธานวิเคราะห์ชนิดของชนิดใบรองเท้านารีได้อย่างชัดเจน (อรพรรณ และคณะ, 2551) อย่างไรก็ตาม ลักษณะทางกายวิภาคของใบเป็นลักษณะหนึ่งที่มีความสำคัญในการสนับสนุนการจัดจำแนกชนิดของพืช ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการปรับตัวทางนิเวศวิทยาและถิ่นที่อยู่อาศัยของพืช ตัวอย่างเช่น กล้วยไม้อิงอาศัยที่ขึ้นตามชายฝั่งบนเกาะ มี cuticle ที่หนาเป็นโครงสร้างที่ปรับตัวให้เข้ากับชายฝั่งที่แสงมีรังสีมากเพื่อลดการคายน้ำของใบ โดยปกคลุมชั้นผิวใบที่เป็นแบบ uniseriate (Rindyastuti et al., 2018) รูปร่างของเซลล์ผิวใบ (epidermal cells) ทั้งสองด้านของกล้วยไม้ส่วนใหญ่เป็นสีเขียวเข้ม

จตุรัส ผืนผ้า จนถึงมีหลายเหลี่ยม (polygon) 4-6 เหลี่ยม นอกจากนี้ยังพบว่ามีรูปร่างแบบอื่น ได้แก่ isodiametric หรือ elongated เป็นต้น เช่นเดียวกัน stomata พบว่ามีหลายแบบ ได้แก่ cyclocytic anomocytic pentacytic tetracytic และ paracytic โดยบางชนิดพบทั้งสองด้านของผิวใบ บางชนิดพบอยู่ด้านใต้ใบ (abaxial) เพียงด้านเดียว ส่วนความยาวของเซลล์คุม (guard cell) และ subsidiary มีความแตกต่างกันในแต่ละชนิด โดยจำนวนของ stomata ด้านบน (adaxial) มีน้อยกว่าด้านใต้ใบ ขณะที่พบ glandular trichome ด้านบนมากกว่าด้านใต้ใบ ซึ่งลักษณะกายวิภาคต่างๆ ของผิวใบสามารถนำมาใช้เป็นคีย์ในการแบ่งแยกชนิดของกล้วยไม้ได้ (Saensouk, S., & Saensouk, P., 2020)

ชนิดของร่องเท้าในสกุล *Paphiopedilum* มีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมอย่างใกล้ชิดแต่ก็มีลักษณะความแตกต่างกันอย่างชัดเจนทางกายภาพและถิ่นที่อยู่อาศัย เพื่อความเข้าใจในความหลากหลายของลักษณะใบและการปรับตัวจึงทำการศึกษา ลักษณะสัณฐานวิทยา โครงสร้างกายวิภาค และการเจริญเติบโตของใบ ซึ่ง Guan et al. (2011) พบว่า ความแตกต่างของลักษณะ ใบและการปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมของร่องเท้าในสกุล *Paphiopedilum* และ *Cypripedium* แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการดำรงชีวิตต่อสภาพแวดล้อมเฉพาะตามถิ่นที่อยู่อาศัย และ Saensouk, S., & Saensouk, P. (2020) ศึกษากายวิภาคของผิวใบของกล้วยไม้บริเวณกลางใบและขอบใบซึ่งพบความแตกต่างของผิวใบในส่วนชนิดของ stomata การมีเซลล์ secretory ลักษณะของ glandular trichome ชนิดของ crystal รูปร่างเซลล์ผิวใบ ความยาวของเซลล์คุม และความหนาแน่นของ trichome บนผิวใบด้าน adaxial ซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลทาง taxonomy เป็น key เพื่อแยกชนิดของกล้วยไม้ 7 สกุล ได้แก่ *Aerides* 1 ชนิด *Cymbidium* 2 ชนิด *Dendrobium* 4 ชนิด *Eulophia* 1 ชนิด *Geodorum* 1 ชนิด *Grammatophyllum* 1 ชนิด และ *Rhynchostylis* 3 ชนิด ในส่วนร่องเท้าในสกุล *Paphiopedilum* นั้น คณิน (2551) ได้ศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางกายวิภาคของใบร่องเท้าใน โดยศึกษาบริเวณตรงกลางแผ่นใบเพื่อศึกษาเนื้อเยื่อชั้นผิวและเนื้อเยื่อด้านตัดขวางของแผ่นใบ พบว่า ใบร่องเท้าในาริเหลืองกระปี่ เนื้อเยื่อชั้นผิวด้านบนของแผ่นใบ (upper epidermis) ประกอบด้วยเซลล์เนื้อเยื่อชั้นผิว (epidermis cell) รูปหกเหลี่ยม มีลักษณะใส เนื้อเยื่อชั้นผิวด้านล่าง (epidermis cell) รูปหกเหลี่ยมมีลักษณะใส มุมทุกด้านค่อนข้างมน ปากใบไม่มีเซลล์ข้างเซลล์คุมล้อมรอบ มีจำนวน 508 ปากใบ ต่อพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร ขนาดของเซลล์เนื้อเยื่อชั้นผิวด้านล่างเล็กกว่าเซลล์เนื้อเยื่อชั้นผิวด้านบน เมื่อแผ่นใบถูกตัดด้านขวาง (cross section) พบร่องใบเป็นมุมกว้าง ประกอบด้วย เซลล์เนื้อเยื่อชั้นผิวที่มีลักษณะใส รูปร่างยาวเรียงตัวชิดติดกัน 1 แถว (uniseriate epidermis) ถัดลงมาเป็นเนื้อเยื่อมีโซฟิลล์ (mesophyll) ของใบ ประกอบด้วยเซลล์พาลิเซดพาเรงคิมา (palisade parenchyma) รูปร่างเป็นแท่งยาว เรียงตัวกันในแนวตั้ง จำนวน 2-3 ชั้น มีคลอโรพลาสต์สีเขียวอยู่ในเซลล์และเซลล์สปองจีพาเรงคิมา (spongy parenchyma) มีรูปร่างที่ไม่แน่นอนเรียงตัวกันอย่างหลวมๆ อยู่ทางด้านล่าง 3-4 ชั้น มีคลอโรพลาสต์อยู่ในเซลล์ บริเวณเส้นกลางใบ (midrib) ประกอบด้วยท่อลำเลียงที่มีไซเล็ม (xylem) อยู่ทางด้านบน โพลเอม (phloem) อยู่ทางด้านล่าง เป็นมัดท่อลำเลียงแบบเคียงข้าง (collateral bundle) ถูกล้อมรอบด้วยเยื่อหุ้มมัดท่อลำเลียง (bundle sheath) ด้านล่างสุดของใบคือ เนื้อเยื่อชั้นผิวด้านล่าง มีรูปร่างยาวเรียงติดกัน ขนาดเล็ก เรียงซ้อนกัน 2 แถว เป็นเนื้อเยื่อชั้นผิวซ้อน (multiseriate epidermis) ใบร่องเท้าในาริคางกบ สุชะกุล และอินทนนท์ พบว่า เนื้อเยื่อชั้นผิวด้านล่างของแผ่นใบ มีจำนวน 212 152 และ 120 ปากใบ ต่อพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีการพบปากใบที่เนื้อเยื่อชั้นผิวด้านบนในใบร่องเท้าในาริเหลืองปราจีน (*Paphiopedilum concolor*) โดยแทรกอยู่ระหว่างเซลล์เนื้อเยื่อชั้นผิว จำนวน 198 ปากใบ ต่อพื้นที่ 1 ตารางเซนติเมตร

Guan et al. (2011) ศึกษาโครงสร้างกายวิภาคของใบร่องเท้าในาริสกุล *Paphiopedilum* และ *Cypripedium* ซึ่งมีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม เพื่อดูความสัมพันธ์กับความทนแล้ง สกุล 3 ชนิด พบว่า ร่องเท้าในาริสกุล *Paphiopedilum* มีลักษณะในการทนแล้งได้ดี โดยมีใบที่อวบน้ำ cuticle ที่ผิวใบหนา เซลล์ epidermis ด้านบนใบ (adaxial) ใหญ่ stomata อยู่ในระดับต่ำกว่าผิวใบและเป็นชนิด sunken stomata รวมทั้งมีลักษณะทางสรีรวิทยาที่ช่วยให้ปรับตัวเข้ากับพื้นที่แห้งแล้งและขาดธาตุอาหารในถิ่นอาศัยแบบหินโผล่ ได้แก่ ใบมีอายุ (leaf lifespan) นานกว่า น้ำหนักแห้งต่อพื้นที่ (leaf dry mass per area) ประสิทธิภาพการใช้น้ำ (water use efficiency และ leaf construction cost) สูงกว่า และมี leaf nitrogen concentration, phosphorus concentration, mass-based light-saturated photosynthetic rate และ photosynthetic nitrogen use efficiency ต่ำกว่า สกุล *Cypripedium* ซึ่งใบมีลักษณะที่ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่ดินอุดมสมบูรณ์ มีน้ำและอุณหภูมิตามฤดูกาล ซึ่งใบของร่องเท้าในาริสกุล *Paphiopedilum* ทั้ง 4 ชนิดในการศึกษาครั้งนี้มีลักษณะของ stomata อยู่ที่ระดับผิวใบด้านใต้ใบ ลักษณะทาง

กายวิภาคของกล้วยไม้ ที่มักใช้ในจำแนกในหลายๆ ชนิด ได้แก่ เนื้อเยื่อในชั้นเซลล์ epidermis ที่เป็นแบบ single-layered epidermis การพบ stomata ใน abaxial side เพียงด้านเดียว หรือการมี primary pit field ขนาดใหญ่ในเนื้อเยื่อ chlorenchyma เป็นต้น กล้วยไม้สกุล *Cattleya* ได้แก่ *C. caulescens* และ *C. endsefeldzii* ซึ่งเป็นกล้วยไม้ที่พบว่ามีอยู่ในบัญชีแดงชนิดใกล้สูญพันธุ์ในประเทศไทย มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาใกล้เคียงกันจึงอยู่ในหมวดย่อยของสกุลนี้ (Ribeiro et al., 2020) ใช้ลักษณะของการทนแล้ง (xeromorphic)

นอกจากนี้มีการศึกษาในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น Ferrari et al. (2014) ได้ศึกษาลักษณะกายวิภาคของใบและก้านช่อดอกในพืชตระกูล Rapateaceae เพื่อแยกชนิดของพืชบางชนิด พบว่า วงศ์ *Monotrema* สามารถใช้ลักษณะของเนื้อเยื่อชั้นผิวและท่อลำเลียงในการจำแนกได้ ส่วน *Stegolepis* ใช้ความหนาของผนังเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวและ plicate chlorenchyma และ *Saxofriderica* ใช้ลักษณะของ papillate ในเซลล์ชั้นผิว ซึ่งบางลักษณะสามารถจัดจำแนกพืชได้ในระดับ tribe ในบาง species โดยมีลักษณะและโครงสร้าง (form and structure) ของมัดท่อลำเลียง บริเวณ midrib ที่แตกต่างกัน เช่น midrib รูปตรงมีท่อลำเลียงขนาดใหญ่ 1 มัด แล้วล้อมรอบด้วยขนาดเล็ก 4 มัด หรือ midrib เส้นโค้งมีท่อลำเลียงขนาดใหญ่ 1 มัด และขนาดเล็ก 2-3 หรือ 4 มัด หรือ midrib รูปกรวยตรง มีท่อลำเลียงขนาดใหญ่ 1 มัด และขนาดเล็กหลายมัด เป็นต้น สำหรับร่องเท่านั้นที่ศึกษาพบว่า midrib เป็นรูปกรวยตรงหรือตัววี มีท่อลำเลียงขนาดใหญ่ 1 มัด และขนาดเล็กหลายมัดล้อมรอบ เป็นต้น ขณะที่ร่องเท่านั้นที่ศึกษา midrib เป็นรูปกรวยตรงหรือตัววี มีท่อลำเลียงขนาดใหญ่ 1 มัด ไม่มีขนาดเล็กใกล้เคียง แต่มีมัดท่อลำเลียงขนาดเล็กกว่าตามเส้น vein จะเรียงออกไปตามแนวใบในเนื้อเยื่อชั้น mesophyll ค่อนไปทางผิวใบด้านบน ทั้งนี้ท่อลำเลียงทั้งหมดเป็นแบบ collateral vascular bundles ส่วนขอบใบของพืชตระกูล Rapateaceae เป็นแบบ acute และ obtuse มี subepidermal เป็น sclerenchyma และ chlorenchyma และมีกาบใบ (Ferrari et al, 2014) ซึ่งร่องเท่านั้นที่ศึกษาเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่ไม่มีกาบใบ การเกิดขึ้นของบางลักษณะสามารถสนับสนุนความใกล้ชิดกันของพืชแต่ละชนิดเมื่อมีการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม เช่น การมี tetracytic stomata บนผิวใบ เซลล์ในชั้น epidermis ที่มีผนังเซลล์หนาอาจเป็นลักษณะที่แสดงถึงการปรับตัวต่อสภาพที่มีความชื้นแสงสูงและลมแรง บางชนิดมีเนื้อเยื่อ hypodermal ได้ชั้น epidermis เพิ่ม เช่น พืชในสกุล *Stegolepis* บางชนิด ซึ่งข้อมูลทางกายวิภาคใช้สนับสนุนการจัดลำดับทาง Taxonomy ได้ รวมทั้งการบ่งบอกการปรับตัวในถิ่นที่อยู่อาศัยของพืชแต่ละชนิด ส่วนใน idioblast พบสารประกอบ silica bodies ในพืชตระกูล Rapateaceae ซึ่งพบว่าช่วยลดการคายน้ำและช่วยคงสภาพของอวัยวะพืชและยังพบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวอื่นๆ ด้วย นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกที่พบในอวัยวะที่มีการเจริญเติบโตทางลำต้นและก้านช่อดอก น่าจะมีหน้าที่เพื่อหลีกเลี่ยงศัตรูพืชและป้องกันแสงแดด (Ferrari et al, 2014) ส่วนพืชตระกูลปาล์มในสกุล *Allagoptera* มีการศึกษาโดยใช้ลักษณะของเซลล์ในชั้น mesophyll ในการจัดจำแนก รวมทั้ง subsidiary ledges และ stomata บนผิวใบ และ bulliform cell ตามแนว midvein ได้แก่ *A. campestris*, *A. robusta* และ *A. caudescens* เป็นต้น (Pinedo et al, 2016) และยังมีการศึกษาพืชสกุล *Globba* ในตระกูล Zingiberaceae สามารถใช้ลักษณะทางกายวิภาคของใบภาคตัดขวางในการจัดจำแนกชนิด ได้แก่ ชนิดของ stomata ชนิดของ trichome ตำแหน่งของ hypodermis ลักษณะรูปร่างของ midrib โครงสร้างของ vascular และลักษณะของขอบใบ (Kajornjt et al., 2018) ซึ่งลักษณะทางกายวิภาคสามารถใช้เป็นแหล่งข้อมูลเพื่อตรวจสอบและเปรียบเทียบกับใบของร่องเท่านั้นที่ไม่สามารถทราบชนิดที่ชัดเจนได้ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการกำหนดลักษณะเฉพาะและแยกความแตกต่างของชนิดได้ นอกจากนี้ควรมีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยวิธีการขั้นสูงในระดับโมเลกุลเพื่อใช้เป็นข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อจำแนกชนิดของกล้วยไม้ร่องเท่านั้น แต่เป็นวิธีการที่มีค่าใช้จ่ายสูง

สรุป

กล้วยไม้ร่องเท่านั้นสกุล *Paphiopedilum* spp. จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ร่องเท่านั้นอินทนนท์ เหลืองกระบี่ คางกบ และสุขะกุล มีลักษณะการเจริญเติบโตของใบที่ซ้ำมาก มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคที่แตกต่างกันโดยลักษณะกายวิภาคมีความสอดคล้องกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาได้แก่ ลวดลายของใบจะมีเซลล์ที่มีรังควัตถุ จึงสามารถใช้ลักษณะนี้จัดแบ่งกลุ่มได้ ซึ่งใช้ประโยชน์เป็นข้อมูลพื้นฐานในการระบุและจัดจำแนกชนิดของร่องเท่านั้นได้

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และกายวิภาคของใบกล้วยไม้รองเท้านารีสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์และการจัดจำแนกพันธุ์ได้ อย่างไรก็ตามบางลักษณะก็มีความแตกต่างกัน ซึ่งควรมีการวิเคราะห์ลักษณะความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชในแต่ละชนิดเพื่อเป็นข้อมูลประกอบกันและหาความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันทางพันธุกรรมและเป็นข้อมูลเฉพาะในแต่ละชนิด เพื่อใช้ในการจำแนกชนิดของพืชและใช้ประโยชน์ในการระบุชนิดของพืชเพื่อประโยชน์ทางการอนุรักษ์และเชิงการค้าต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้ และกองทุนคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนการเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ

เอกสารอ้างอิง

- คณิน ประสพสมบัติ. (2551). การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคของใบกล้วยไม้ สกุลรองเท้านารี (*Paphiopedilum* spp.). ปัญหาพิเศษ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 154 หน้า.
- อรพรรณ ตั้งจันทรานนท์ คณิน ประสพสมบัติ และกิตติพันธุ์ แสงประดับ. (2551). การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาคของใบกล้วยไม้สกุลรองเท้านารี (*Paphiopedilum* spp.). ใน การประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 5. นครปฐม: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Ferrari, R.C., Scatena, V.L. and Oriani, A. (2014). Leaf and inflorescence peduncle anatomy: a contribution to the taxonomy of Rapateaceae. *Plant Syst Evol* 300: 1579-1590. DOI: 10.1007/s00606-014-0984-1.
- Gogoi, K. (2015). Orchids in Assam, India: The genus *Paphiopedilum* Pfitzer. *The MIOS Journal* 16(12): 7-17.
- Guan, Z.J., Zhang S.B., Guan K.Y., Li S.Y. & Hu H. (2011). Leaf anatomical structures of *Paphiopedilum* and *Cyperipedilum* and their adaptive significance. *Journal Plant Research*, 124, 289-298.
- Kajornjt, P., Saensouk, S. and Saensouk, P. (2018). Pollen morphology and leaf anatomy of genus *Globba* in Thailand. *SciencAsia* 44: 146-161. DOI: 10.2306/scienceasia1513-1874.2018.44146.
- Pinedo, A.S., Martins, R.C., de Oliveira, R.C. and Gomes, S.M. (2016). Leaf anatomy in *Allagotera* (Arecaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 182: 361-375.
- Ribeiro, J.P.O., Paula-Souza, J. and Silva, C.J. (2020). Morphoanatomy of vegetative organs of two species of *Cattleya* (Orchidaceae) native to Brazil. *Rodriguésia* 71: e01672017.2020. . DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860202071034>. (Only abstract in English)
- Rindyastuti, R., Nurfadilah, S., Rahadiantoro, A., Hapsari, L. and Abywijaya, I.K. (2018). Leaf anatomical characters of four epiphytic orchids of Sempu island, east Java, Indonesia: The important in identification and ecological adaption. *Biodiversitas* 19(5): 1906-1918. DOI: 10.13057/biodiv/d190543.
- Saensouk, S., & Saensouk, P. (2020). Comparative leaf surfaces of orchidaceae species from Thailand. *Suranaree Journal Science Technology*, 27(3), 030032(1-8).
- Umroong, P. (2018). Leaf anatomy and minimal structure in leaves of *Hydrocotyle umbellate* L., obtained from water stress, were examined under electron microscope and light microscope. *Microscopy and Microanalysis research*, 31(1), 29-33.