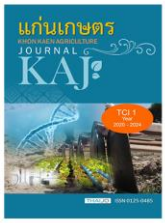
วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj



ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญและการตอบสนองทางสัณฐานวิทยาของแคลลัสปาล์มน้ำมันลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1

Effect of sodium chloride on growth and morphological responses of oil palm callus cv. SUP-PSU 1

ธีรศักดิ์ สุขดี[1,2], สมปอง เตชะโต[1,2]* และ สุรีรัตน์ เย็นช้อน[1,2]

Thirasak Sukdee[1,2], Sompong Te-chato[1,2]* and Sureerat Yenchon[1,2]

[1] สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ. หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112
[1] Agricultural Innovation and Management Division, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112, Thailand
[2] ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวง กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กรุงเทพฯ 10900
[2] Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/MHESI), Bangkok 10900, Thailand

บทคัดย่อ: ปาล์มน้ำมันคือพืชที่ให้ผลผลิตน้ำมันสูงได้ตลอดทั้งปี จึงต้องมีการใส่ปุ๋ยบ่อยครั้ง ส่งผลให้สภาพพื้นที่ปลูกมีความเค็มมากขึ้น ดังนั้นการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญ และพัฒนาการของแคลลัสที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร OPCM เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่างๆ (0 50 100 150 200 300 และ 400 มิลลิโมลาร์) ร่วมกับการเติม dicamba ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอร์บิคความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 4 8 และ 12 สัปดาห์ จากการศึกษาพบว่า ที่เวลา 8 สัปดาห์ โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ มีการพัฒนาโครงสร้างคล้ายราก (root-like structure; RLS) บริเวณผิวแคลลัส และเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทุกความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ให้แคลลัสที่มีโครงสร้างดังกล่าวเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้จำนวนโนดูลเฉลี่ยลดลง แต่จำนวนโนดูลสีน้ำตาล และอัตราการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโตของแคลลัสลดลงเป็นลำดับโดยเฉพาะความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์สูงกว่า 200 มิลลิโมลาร์เป็นต้นไป สรุปได้ว่าเซลล์ของปาล์มน้ำมันในหลอดทดลองไม่สามารถทนความเค็มของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นเกินกว่า 200 มิลลิโมลาร์ได้
คำสำคัญ: ปาล์มน้ำมัน; ทรัพย์ ม.อ. 1; โซเดียมคลอไรด์; แคลลัส; โครงสร้างคล้ายราก

ABSTRACT: Oil palm is an oil crop that produces the highest oil yield throughout the year. Due to frequent application of fertilizer results in severe salinity of planting areas. Therefore, the objective of this research was to study the effect of different concentrations of sodium chloride (NaCl) on growth and development of callus from treating cell in liquid OPCM supplemented with different concentrations of NaCl (0, 50, 100, 150, 200, 300 and 400 mM) in combination with 0.1 mg/l dicamba and 200 mg/l ascorbic acid for 4, 8 and 12 weeks. The results showed that treating cells for 8 weeks in 100 mM NaCl started to induce root-like structure (RLS) on the surface of calli. All concentrations of NaCl promoted those structures on calli when treated for 12 weeks. A number of RLS increased when concentration of NaCl increased. Moreover, increasing concentrations of NaCl decreased average number of nodules but increased average number of brown nodules and browning rate. However, the growth of the calli decreased when concentrations of NaCl increased, especially at concentrations higher than 200 mM. This result suggests that cells of oil palm *in vitro* could not stand to NaCl at concentration higher than 200 mM.
Keywords: Oil palm; SUP-PSU 1; sodium chloride; callus; root-like structure

* Corresponding author: stechato@yahoo.com

Received: date; June 2, 2021 Accepted: date; August 17, 2021 Published: date; March 7, 2022

บทนำ

ปาล์มน้ำมันเป็นพืชน้ำมันที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ น้ำมันที่ได้จากปาล์มมีต้นทุนการผลิตต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับน้ำมันจากพืชชนิดอื่น โดยผลผลิตน้ำมันปาล์มต่อพื้นที่ปลูกสูงกว่าพืชน้ำมันชนิดอื่น 6-10 เท่า (เชฐชุดา, 2561) ปัจจุบันปริมาณการผลิตน้ำมันจากปาล์มจัดอยู่ในอันดับที่ 1 ของโลกเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตน้ำมันจากพืชอื่น ๆ ทุกชนิด โดยประเทศอินโดนีเซียผลิตน้ำมันปาล์มได้มากที่สุด รองลงมาคือประเทศมาเลเซีย และไทยตามลำดับ (ณรงค์ฤทธิ์ และลัดดา, 2561) ปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 มีความสำคัญทางเศรษฐกิจทั้งในด้านการบริโภคและพลังงานชีวภาพ อีกทั้งยังสามารถทนทานต่อสภาวะแล้ง และผ่านการปรับปรุงพันธุ์ให้มีผลผลิตทะลายและน้ำมันสูง (ธีระ, 2554) โดยให้ผลผลิตทะลายไม่น้อยกว่า 4 ตันต่อไร่ต่อปี ที่อายุ 7-8 ปี ซึ่งจะสูงกว่าพันธุ์ที่ไม่ทราบแหล่งที่มาของพันธุ์อย่างน้อยหนึ่งเท่า (สำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2561)

การขยายพันธุ์ปาล์มน้ำมันสามารถทำได้หลายวิธี แต่การขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศด้วยการเพาะเมล็ด ส่งผลให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรมเนื่องจากปาล์มน้ำมันเป็นพืชผสมข้าม นอกจากนี้การขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศด้วยวิธีการทั่วไปไม่สามารถทำได้ เช่น แยกหน่อ ปักชำ ตอนกิ่ง หรือติดตา เนื่องจากปาล์มน้ำมันเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีเพียงเนื้อเยื่อเจริญปลายยอดเพียง 1 ชุด ไม่มีตาด้านข้าง (อภิชญา, 2560) ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ในการขยายพันธุ์และเพิ่มปริมาณในหลอดทดลองแทนการใช้เมล็ด เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีด้วยกันหลายรูปแบบ การเพาะเลี้ยงเซลล์ซัสเพนชันเป็นเทคนิคหนึ่งของการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยเพาะเลี้ยงเซลล์พืชในอาหารเหลวในสภาพเขย่าเลี้ยงตลอดเวลาบนเครื่องเขย่า สามารถเพิ่มปริมาณเซลล์พืชได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากเซลล์มีการสัมผัสกับอาหารหรือปัจจัยทางเคมีต่าง ๆ วิธีการนี้ให้ผลดีกว่าการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง นอกจากนี้พื้นที่ปลูกปาล์มน้ำมันส่วนใหญ่ของประเทศคิดเป็น 85 เปอร์เซ็นต์ อยู่ในภาคใต้ซึ่งอยู่ในสภาพภูมิประเทศที่ติดชายฝั่ง ทั้งฝั่งอ่าวไทยและฝั่งอันดามัน (เชฐชุดา, 2561) ประกอบกับปาล์มน้ำมันเป็นพืชที่สามารถให้ผลผลิตทะลายได้ตลอดทั้งปี โดยมีอายุเก็บเกี่ยวผลผลิตได้นานกว่า 25 ปี (ธีระ, 2554) จึงต้องมีการจัดการดูแล ใส่ปุ๋ยบ่อยครั้งเป็นเวลานาน ส่งผลให้บริเวณพื้นที่ปลูกมีสภาพความเค็มเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสภาวะดินเค็มเป็นปัจจัยจากสภาพแวดล้อมที่สำคัญปัจจัยหนึ่งที่จำกัดการเจริญเติบโตของพืช ดินจะถูกเรียกว่าดินเค็มเมื่อมีค่าการนำไฟฟ้าในสารละลายที่สกัดจากดินที่อิ่มตัวด้วยน้ำสูงกว่า 4 dS/m หรือเท่ากับ 40 mM NaCl ซึ่งระดับค่าการนำไฟฟ้าดังกล่าวมีผลให้ผลผลิตของพืชส่วนใหญ่ลดลง (นวรัตน์, 2558)

สภาวะเครียดจากความเค็มของดินส่งผลกระทบต่อกระบวนการต่าง ๆ ที่สำคัญภายในเซลล์พืช เช่น กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง กระบวนการสังเคราะห์โปรตีน และกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ เป็นต้น ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยทั่วไป รวมทั้งผลผลิตปาล์มน้ำมัน เนื่องจากสภาวะเครียดเค็มก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ที่ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ กรดนิวคลีอิก และโปรตีน (ทวิพร และนุชนาถ, 2557) สภาวะเครียดเค็มยังยับยั้งการขนถ่ายธาตุอาหารบางชนิด เช่น โพแทสเซียม แคลเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม เป็นต้น (Hanson et al., 1994) อีกทั้งการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ ทำให้ไอออนในวัสดุปลูกเพิ่มขึ้นและเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความดันออสโมซิส ส่งผลให้พืชได้รับสภาวะเครียดจากการขาดน้ำ (สุมาลี, 2555) อย่างไรก็ตาม มีหลายการศึกษาแสดงให้เห็นถึงผลกระทบอื่น ๆ จากสภาวะเครียดเค็ม ทั้งผลในด้านบวก และด้านลบ เช่น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง แต่จากรายงานส่วนใหญ่แสดงให้เห็นว่าเมื่อพืชได้รับผลกระทบจากความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ มากขึ้นจะยิ่งส่งผลให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้การเจริญเติบโตสัมพัทธ์ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของเซลล์ซัสเพนชัน *Nitraria tangutorum* ลดลง (Ni et al., 2015) ทั้งนี้ผลกระทบที่เกิดขึ้นแตกต่างกันออกไป ขึ้นกับความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ และชนิดของพืช (Qados, 2011) อย่างไรก็ตาม ความทนทานต่อสภาวะเค็มของปาล์มน้ำมันยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด ดังนั้นในการทดลองนี้จึงทำการศึกษาการตอบสนองทางด้านสัณฐานวิทยาของแคลลัสปาล์มน้ำมันในซัสเพนชันต่อความเค็มโดยใช้โซเดียมคลอไรด์ในหลอดทดลองเพื่อเป็นแนวทางในการคัดเลือกสายพันธุ์เซลล์ที่ทนทานหรือต้านทานเพื่อสร้างปาล์มน้ำมันพันธุ์ทนเค็มต่อไป

วิธีการศึกษา

การเตรียมชิ้นส่วนพืช

ตัดส่วนของลำต้นเหนือส่วนโคนของต้นกล้าปาล์มน้ำมันลูกผสมพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. 1 เบอร์ที่ 25 อายุ 1 ปี ตัดแต่งทางใบ ให้เหลือชิ้นส่วนขนาด 5-7 เซนติเมตร แล้วล้างด้วยน้ำยาทีโพลให้สะอาด เปิดน้ำไหลผ่านเป็นเวลา 30 นาที แล้วจุ่มแช่ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 1 นาที แล้วแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ ทวีน-20 150 ไมโครลิตร ต่อสารละลาย 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดแยกเอาเฉพาะส่วนของใบอ่อนที่อยู่ภายใน ตัดชิ้นส่วนใบอ่อนให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 1x1 เซนติเมตรแล้ววางเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม 3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid (dicamba) ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ปรับค่าความเป็น กรด-ด่าง เป็น 5.7 และเติมผงวุ้น 6.0 กรัมต่อลิตร หลังจากวางเลี้ยงเป็นเวลา 28 สัปดาห์ (ย้ายเลี้ยงทุก 4 สัปดาห์) ใบอ่อนมีการสร้างแคลลัสที่มีโครงสร้างเกาะกันแบบหลวมๆ สีเหลือง จากนั้นย้ายแคลลัสไปเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตรเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปาล์มน้ำมัน (oil palm culture medium; OPCM) เติมไดแคมบา 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดแอสคอร์บิค 200 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 28 สัปดาห์ (ย้ายเลี้ยงทุก 4 สัปดาห์) วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 10 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เพื่อเพิ่มปริมาณแคลลัสสำหรับใช้ในการศึกษาต่อไป

วิธีการศึกษา

นำแคลลัสปาล์มน้ำมันที่ได้จากการเพิ่มปริมาณข้างต้นอายุ 12 วันหลังการวางเลี้ยง มาชั่งน้ำหนัก 250 มิลลิกรัม ย้ายไปเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร OPCM เติมโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0 50 100 150 200 300 และ 400 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับการเติม dicamba ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดแอสคอร์บิค 200 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 5.7 วางเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 26±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 10 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 20 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ย้ายเลี้ยงลงในอาหารใหม่สูตรเดิมเติมโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นดังกล่าวทุก 4 สัปดาห์ จำนวน 3 ครั้ง รวมเวลาเพาะเลี้ยง 12 สัปดาห์ ตรวจวัดการเจริญเติบโตของแคลลัส ลักษณะสี โครงสร้างทางสัณฐานโดยรวมของแคลลัส และบันทึกอัตราการเกิดโครงสร้างคล้ายราก (root-like structure; RLS) เปรียบเทียบกันในแต่ละความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ ในแต่ละระยะเวลาหรือครั้งที่ได้รับการทรีตด้วยโซเดียมคลอไรด์โดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี Analysis of variance (ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) แต่ละทรีตเมนท์ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ฟลาสก์

ผลและวิจารณ์

การเจริญเติบโตของแคลลัส

เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ และระยะเวลาในการวางเลี้ยงต่อน้ำหนักสดของแคลลัสในซัสเพนชัน พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ ทำให้น้ำหนักสดของแคลลัสในซัสเพนชันลดลงทุกระยะเวลาของการวางเลี้ยง โดยชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ให้น้ำหนักสดของแคลลัสในซัสเพนชันสูงสุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.01) เมื่อเปรียบเทียบกับโซเดียมคลอไรด์ทุกความเข้มข้น และทุกระยะเวลาของการวางเลี้ยง สอดคล้องกับ Al-khayri (2002) ที่ศึกษาผลของความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ต่อการตอบสนองของเซลล์อินทผลัมในซัสเพนชัน พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้อัตราการเจริญและน้ำหนักสดของเซลล์ซัสเพนชันอินทผลัมลดลง เช่นเดียวกันกับการตอบสนองของเซลล์ *Nitraria tangutorum* ต่อโซเดียมคลอไรด์ พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้การเจริญเติบโตสัมพัทธ์ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของเซลล์ซัสเพนชันลดลง (Ni et al., 2015) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโซเดียมคลอไรด์ก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ส่งผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ กรดนิวคลีอิก และโปรตีนเกิดความเสียหาย (ทวิพร และนุชนารถ, 2557) นอกจากนี้เซลล์ที่อยู่ในสภาวะเครียดเค็มจะลดการขยายขนาดและการแบ่งเซลล์ (ฝนทิพย์, 2557) เมื่อพิจารณาระยะเวลาในการวางเลี้ยง พบว่า โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200, 300 และ 400 มิลลิโมลาร์ ให้น้ำหนัก

สดของแคลลัสในซัสเพนชันลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการวางเลี้ยง และการวางเลี้ยงแคลลัสซัสเพนชันในอาหารเหลวที่เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 300 และ 400 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ให้น้ำหนักสดของแคลลัสซัสในเพนชันต่ำกว่าน้ำหนักสดก่อนวางเลี้ยง **(Figure 1)**

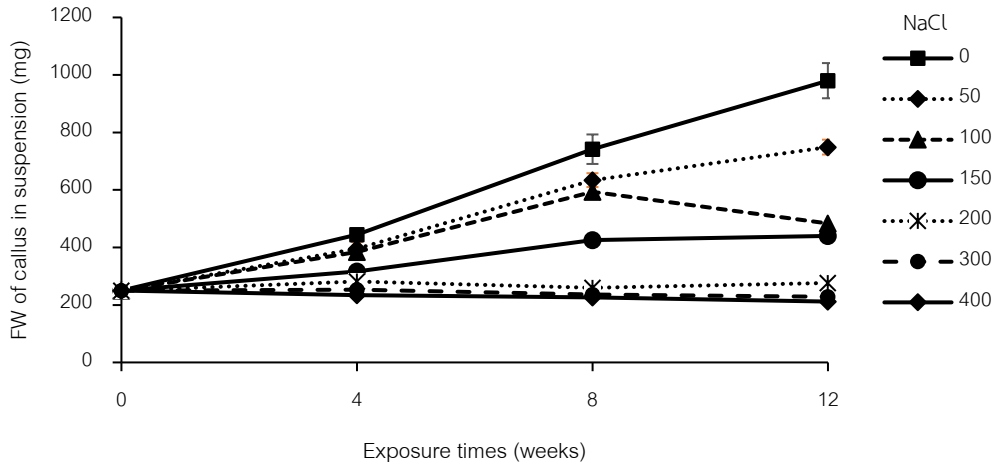


Figure 1 Effects of concentrations of NaCl and exposure times on fresh weight (mg) of callus in liquidified OPCM with 0.1 mg/l dicamba and 200 mg/l ascorbic acid for 12 weeks (bar= ±SD)

โครงสร้างทางสัณฐานของแคลลัส

เมื่อสังเกตลักษณะโดยรวมของแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า การเติมโซเดียมคลอไรด์ทุกความเข้มข้นให้แคลลัสที่มีโครงสร้างเกาะกันอย่างหลวมๆ โดยชุดควบคุมและการเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 100 และ 150 มิลลิโมลาร์ ให้แคลลัสมีการสร้างเซลล์ใหม่รอบเซลล์เดิม ในขณะที่โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 200, 300 และ 400 มิลลิโมลาร์ ไม่มีการสร้างเซลล์ใหม่ **(Figure 2)** หลังจากเพาะเลี้ยงนาน 8 สัปดาห์ พบว่า โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 100 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ ส่งผลให้เซลล์ผิวรอบนอกสร้างโนดูลขนาดเล็กรอบๆ เซลล์เดิม และยังพบว่า โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ มีโครงสร้างคล้ายรากเกิดขึ้น **(Figure 2)** ลักษณะของแคลลัสหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ มีโครงสร้างคล้ายรากเกิดขึ้นเล็กน้อย ในขณะที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ ทำให้กลุ่มแคลลัสมีการเจริญที่ผิดปกติเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยมีการสร้างเซลล์ที่มีโครงสร้างคล้ายรากรอบๆ กลุ่มเซลล์เดิม และเซลล์มีลักษณะแห้งกว่าเซลล์ที่ผ่านการวางเลี้ยงในอาหารเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นอื่น ๆ อย่างไรก็ตามโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 400 มิลลิโมลาร์ ให้แคลลัสที่มีลักษณะเปียกหรือฉ่ำน้ำ **(Figure 2)**

เมื่อพิจารณาการเกิดโครงสร้างคล้ายรากหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสที่ผ่านการวางเลี้ยงในอาหารเหลวเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100, 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ มีการเจริญผิดปกติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยมีการสร้างโครงสร้างคล้ายรากรอบแคลลัสเดิม ซึ่งโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ ให้แคลลัสที่มีโครงสร้างคล้ายรากมากที่สุด 90.36 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม ไม่พบแคลลัสผิดปกติดังกล่าวจากการวางเลี้ยงแคลลัสในชุดควบคุมและโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 300 และ 400 มิลลิโมลาร์ เนื่องจากแคลลัสไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ **(Figure 3)** สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของนวรัตน์ (2558) ถึงการปรับตัวทางกายวิภาคของพืชภายใต้สภาวะเค็ม โดยพบว่า พืชมีการเปลี่ยนแปลงทางกายวิภาคของราก โดยเพิ่มสัดส่วนของรากแขนงเพื่อตอบสนองต่อการขาดน้ำ เนื่องจากการเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ ทำให้ไอออนในอาหารเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้นและเกิดการเปลี่ยนแปลงค่าความดันออสโมซิสในอาหารที่เพิ่มขึ้นเป็นลำดับ ส่งผลให้เซลล์ดูดน้ำ และธาตุอาหารได้น้อยลง (สุมาลี, 2555) เซลล์จึงมีการปรับตัวโดยมี

การพัฒนาโครงสร้างคล้ายรากออกมารอบแคลลัสเดิมเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสกับอาหาร และเพิ่มการดูดน้ำและธาตุอาหาร อย่างไรก็ตาม โซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 300 ถึง 400 มิลลิโมลาร์ ไม่พบโครงสร้างคล้ายรากทั้งนี้อาจเป็นเพราะเซลล์ที่เป็นองค์ประกอบในแคลลัสตาย สอดคล้องกับ สุมาลี (2555) ซึ่งรายงานว่าความเข้มข้นของโซเดียมที่มากเกินไป ส่งผลให้ไอออนในอาหารเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น พืชมีการสะสมโซเดียมไอออนในไซโทพลาสซึมมากขึ้น เกิดความเป็นพิษ และเป็นอันตรายต่อเซลล์พืช ทำให้เซลล์แตกและตาย

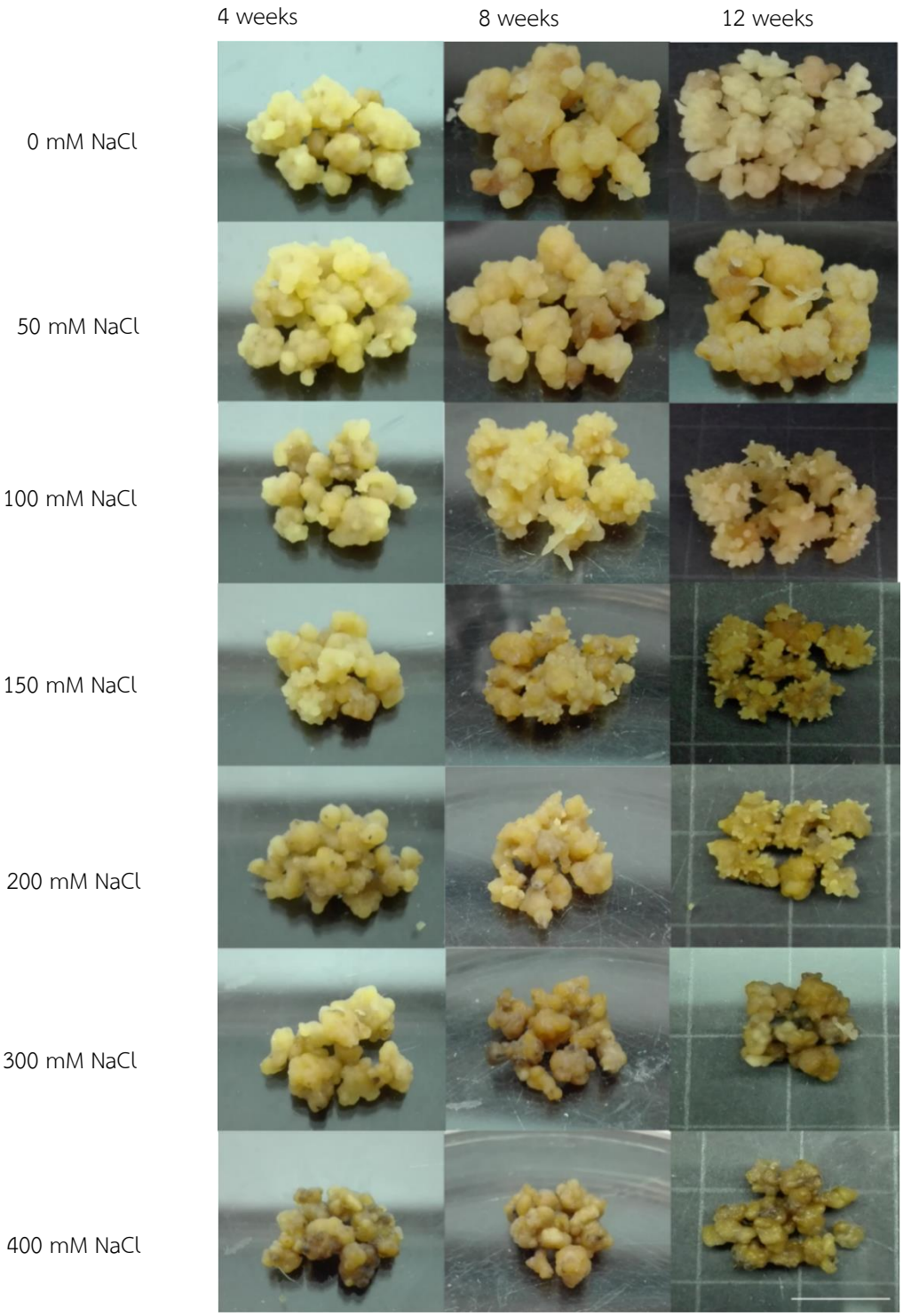


Figure 2 Characteristics of callus in suspension from liquidified OPCM with different concentrations of NaCl, 0.1 mg/l dicamba and 200 mg/l ascorbic acid for 4, 8 and 12 weeks (bar=1 cm)**.**

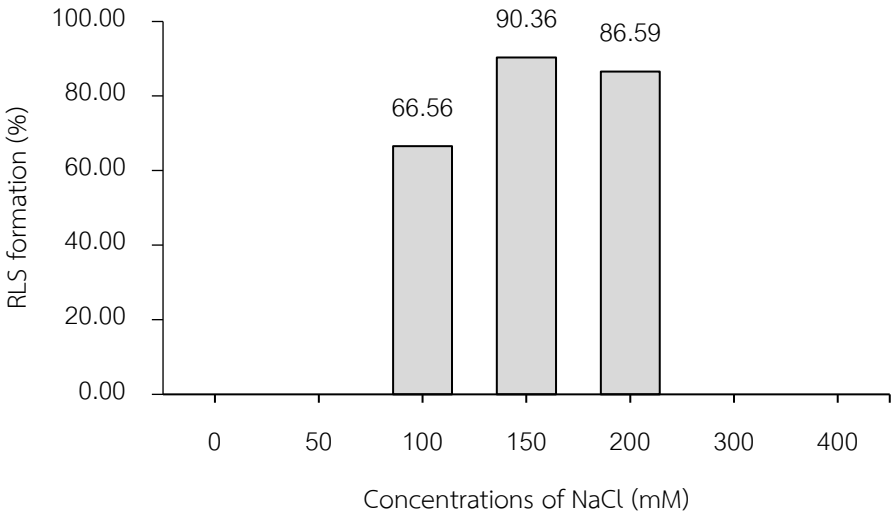


Figure 3 Formation of RLS from callus after culturing for 3 passages (4 weeks for each passage) in various concentrations of NaCl containing liquidified OPCM with 0.1 mg/l dicamba and 200 mg/l ascorbic acid

ลักษณะสีของแคลลัส และการเกิดสารสีน้ำตาล

การวางเลี้ยงแคลลัสในซัสเพนชันร่วมกับโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นต่างๆ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า โนดูลของแคลลัสให้สีต่างกันอย่างชัดเจน การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ ทำให้จำนวนโนดูลเฉลี่ยลดลง โดยชุดควบคุมที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ให้จำนวนโนดูลเฉลี่ยมากสุด 23.25 โนดูล ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการเติมโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 400 มิลลิโมลาร์ ให้จำนวนโนดูลเฉลี่ยน้อยสุด 14.67 โนดูล ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ อย่างไรก็ตาม การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้จำนวนโนดูลสีน้ำตาลเฉลี่ยเพิ่มขึ้น โดยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 400 มิลลิโมลาร์ ให้จำนวนโนดูลสีน้ำตาลเฉลี่ยมากสุด 14.67 โนดูล ไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ในขณะที่ชุดควบคุมที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ ให้โนดูลสีเหลืองครีมทั้งหมด หรือไม่ส่งผลให้เกิดโนดูลสีน้ำตาล **(Table 1)** ดังนั้น เมื่อพิจารณาอัตราการเกิดสารสีน้ำตาลของแคลลัสพบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้อัตราการเกิดสีน้ำตาลของแคลลัสเพิ่มขึ้น โดยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 400 มิลลิโมลาร์ ให้อัตราการเกิดสารสีน้ำตาลของแคลลัสสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ชุดควบคุมไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ ให้อัตราการเกิดสารสีน้ำตาลของแคลลัสต่ำสุด 0 เปอร์เซ็นต์ **(Table 1; Figure 4)** สอดคล้องกับการศึกษาของ Niknam และคณะ (2011) ที่รายงานว่าแคลลัสของ *Acanthophyllum sordidum* เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นสูงกว่า 100 มิลลิโมลาร์ ส่งผลให้แคลลัสมีสีน้ำตาล และสีดำเพิ่มมากขึ้น และมีเซลล์ตาย เช่นเดียวกับการศึกษาของ Atabaki และคณะ (2018) เพาะเลี้ยงแคลลัสของข้าวบนอาหารสูตร MS เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นแตกต่างกัน ร่วมกับ 2,4-D เป็นเวลา 28 วันพบว่า โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0 ถึง 150 มิลลิโมลาร์ ให้แคลลัสที่มีโครงสร้างเกาะกันอย่างหลวม ๆ สีเหลือง และมีการเพิ่มปริมาณโนดูล ในขณะที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 ถึง 300 มิลลิโมลาร์ ให้แคลลัสสีน้ำตาลมากขึ้น และไม่มีการเพิ่มปริมาณโนดูล การเพิ่มความเข้มข้นและระยะเวลาการทรีตด้วยสารโซเดียมคลอไรด์ ส่งผลให้แคลลัสมีสีเทาและสีน้ำตาลมากขึ้น ซึ่งการสะสมโซเดียมในระดับสูง ทำให้เกิดความเป็นพิษในระดับสูงต่อเซลล์ นำไปสู่การเกิดสารอนุมูลอิสระในปริมาณมาก ทำให้เกิด lipid peroxidation ในเยื่อหุ้มเซลล์ (นวรัตน์, 2558)

Table 1 Effect of concentrations of NaCl on average number of nodules, number of brown nodules and browning rate of callus in liquidified OPCM with 0.1 mg/l dicamba and 200 mg/l ascorbic acid for 12 weeks

NaCl (mM)	Average no. of nodules (nodules)	Average no. of brown nodules (nodules)	Browning rate (%)
0	23.25±1.06a	0.00±0.00c	0.00
50	18.80±1.08ab	0.38±0.75c	3.53
100	11.50±1.53bc	3.25±1.26bc	29.48
150	10.25±1.29c	5.75±1.89b	54.88
200	12.00±0.81bc	7.00±1.73b	58.08
300	14.00±1.31bc	11.67±2.89a	85.29
400	14.67±0.84bc	14.67±3.51a	100.00
F-test	**	**	
C.V. (%)	17.37	34.42	

** significantly different (p<0.01)

Mean values ± SD followed by the same letter within column are not significantly different according to DMRT.

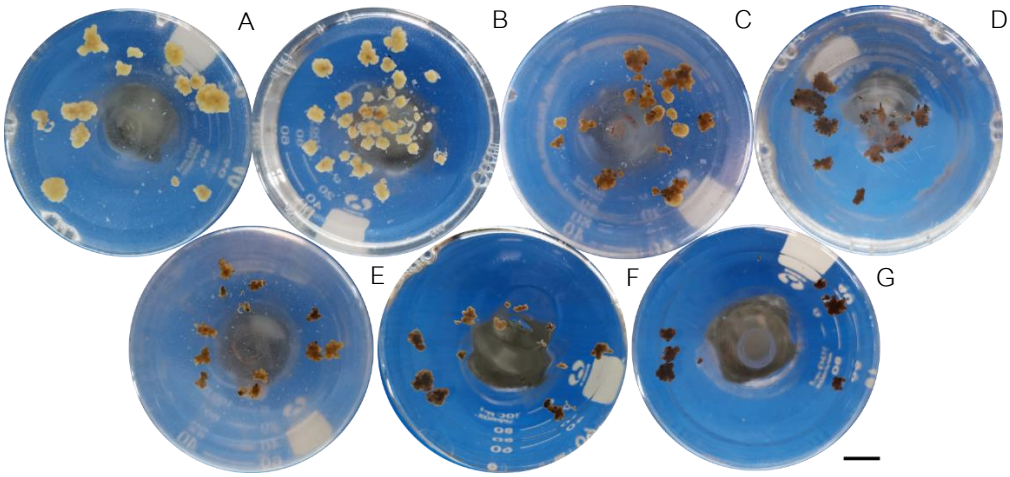


Figure 4 Characteristics of callus nodules in liquidified OPCM with different concentrations of NaCl, 3% sucrose, 0.1 mg/l dicamba and 200 mg/l ascorbic acid for 12 weeks (bar=1 cm)

A. 0 mM NaCl B. 50 mM NaCl C. 100 mM NaCl D. 150 mM NaCl

E. 200 mM NaCl F. 300 mM NaCl G. 400 mM NaCl

สรุป

การเพิ่มความเข้มข้น และระยะเวลาการทรีตโซเดียมคลอไรด์ส่งผลให้แคลลัสเกิดความเสียหาย และมีการเจริญผิดปกติ หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ ส่งผลให้แคลลัสมีโครงสร้างคล้ายรากเกิดขึ้นบริเวณผิวของแคลลัส เมื่อให้เซลล์ได้รับโซเดียมคลอไรด์เป็นเวลา 12 สัปดาห์ เซลล์ที่ผ่านการวางเลี้ยงในอาหารเหลวเติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 150 และ 200 มิลลิโมลาร์ มีโครงสร้างคล้ายรากเกิดขึ้น โดยโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ ให้กลุ่มเซลล์ที่มีโครงสร้างคล้ายรากมากที่สุด 90.36 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้การเพิ่มความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ ส่งผลให้จำนวนแคลลัสเฉลี่ยลดลง แต่จำนวนโนดูลสีน้ำตาล และอัตราการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น แคลลัสได้รับความเสียหายมากขึ้น โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 400 มิลลิโมลาร์ ให้อัตราการเกิดสารสีน้ำตาลของแคลลัสสูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการเจริญของแคลลัสลดลงเป็นลำดับโดยเฉพาะความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์สูงกว่า 200 มิลลิโมลาร์เป็นต้นไป ทั้งนี้เพราะเซลล์ของปาล์มน้ำมันไม่สามารถทนความเค็มของเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นเกินกว่า 200 มิลลิโมลาร์ ดังนั้นโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์จึงเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกเซลล์ปาล์มน้ำมันที่ทนเค็มและสามารถที่ใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมันต่อไปในอนาคต

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการผลิตและพัฒนาบุคลากรด้วยความร่วมมือจากมูลนิธิชัยพัฒนา และมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานปลัดกระทรวง กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ศูนย์วิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 3 สาขาวิชานวัตกรรมการเกษตรและการจัดการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เอกสารอ้างอิง

เชฐชุดา เชื้อสุวรรณ. 2561. แนวโน้มธุรกิจ/อุตสาหกรรม ปี 2561-63: อุตสาหกรรมน้ำมันปาล์ม. วิจัยกรุงศรี. แหล่งข้อมูล: https://www.krungsri.com/bank/getmedia/ac57ec39-c8ab-4546-8c485dfde9e45328/IO_Oil_Palm_2018_TH.aspx. ค้นเมื่อ 20 ธันวาคม 2561.

ณรงค์ฤทธิ์ อดุลย์ฐานานุศักดิ์ และลัดดา ธรรมวิทยสกุล. 2561. อุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันไทย: ในบริบทใหม่ที่ท้าทาย. แหล่งข้อมูล: https://www.bot.or.th/Thai/MonetaryPolicy/Southern/DocLib/ palm_minisym.pdf. ค้นเมื่อ 20 ธันวาคม 2561.

ทวิพร แก้วเนรมิตร และนุชนาถ วุฒิประดิษฐกุล. 2557. ผลของภาวะเค็มต่อการเจริญเติบโตและรงควัตถุที่ใช้ในการสังเคราะห์ด้วยแสงในข้าวทรานสเจนิกพันธุ์ขาว ดอกมะลิ 105 ที่มีการแสดงออกของยีน OsCaM1-1 เกินปกติ. Veridian E-Journal Science and Technology Silpakorn University. 1: 11-18.

ธีระ เอกสมทราเมษฐ์. 2554. การปรับปรุงพันธุ์ปาล์มน้ำมัน. ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

นวรัตน์ อุดมประเสริฐ. 2558. สรีรวิทยาของพืชภายใต้สภาวะเครียด. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ฝนทิพย์ หนูทอง. 2557. ผลของสภาวะเครียดจากความเค็มต่อแอกติวิตีของเอนไซม์ต้านออกวิเดชันในประชากรข้าว CSSL. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 2561. ปาล์มน้ำมัน “พันธุ์ทรัพย์ ม.อ.”. แหล่งข้อมูล: http://www.rdi.ku.ac.th ค้นเมื่อ 3 สิงหาคม 2561.

สุมาลี ชูกำแพง. 2555. พืชในสภาวะเครียดเกลือ. พฤกษศาสตร์ไทย. 4: 15-24.

อภิชญา นุกูลรัตน์. 2560. ผลของสูตรอาหาร กรดแอสคอร์บิค และแหล่งคาร์บอนต่อการชักนำและการพัฒนาของโซมาติกเอ็มบริโอปาล์มน้ำมันพันธุ์ทรัพย์ ม.อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

Al-khayri, J. M. 2002. Growth, proline accumulation, and ion content in sodium chloride-stressed callus of date palm. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant. 38: 79-82.

Atabaki, N., R. Nulit, N. Kalhori, N. Lasumin, M. Sahebi, and R. Abiri. 2018. *In vitro* selection and development of Malaysian salt-tolerant rice (*Oryza sativa* L. Cv. MR263) under salinity. Acta Scientific Agriculture. 2: 08-17.

Hanson, A. D., B. Rathinasabapathi, J. Rivoal, M. Burnet, M. O. Dillon, and D. A. Gage. 1994. Osmoprotective compounds in the Plumbaginaceae: A natural experiment in metabolic engineering of stress tolerance. p. 306-310. In: Proceedings of the National Academy of Sciences. January, 1994, USA.

Ni, J., Yang, X., Zhu, J., Liu, Z., Ni, Y., Wu, H., Zhang, H. and Liu, T. 2015. Salinity-induced metabolic profile changes in Nitraria tangutorum Bobr. Suspension cells. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 122: 239-248.

Niknam, V., A. A. Meratan, and S. M. Ghaffari. 2011. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidative enzymes in callus of two *Acanthophyllum* species. In Vitro Cellular and Developmental Biology – Plant. 47: 297–308.

Qados, A. M. S. A. 2011. Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 10: 7–15.