

ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มไลค์บอดี้อของกล้วยไม้สกุลหวาย 2 พันธุ์ ในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Sodium Chloride on *In Vitro* Protocorm-Like Bodies Multiplication of Two *Dendrobium* Cultivars

เพชรศุภางค์ คำแท้¹ พัชรียา บุญกอแก้ว^{1*} และ ดวงพร บุญชัย²
Khamtae, P.¹, Boonkorkeaw, P.^{1*} and Boonchai, D.²

¹ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

²บริษัท กล้วยไม้ไทย จำกัด อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี 25130

¹Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900

²Thaichorchids Co.,Ltd. Damnoen Saduak, Ratchaburi 25130

*Corresponding author: agrpyb@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการเพิ่มจำนวนโปรโตคอร์มไลค์บอดี้อ (PLBs) ในกล้วยไม้สกุลหวาย 2 พันธุ์ คือ พันธุ์เอียสกุล และ พันธุ์มิสออร์คิดส์ ในสภาพปลอดเชื้อ โดยเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร Vacin และ Went ดัดแปลง ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 mM เป็นเวลา 8 สัปดาห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 5 สิ่งทดลอง พบว่า พันธุ์เอียสกุล มีอัตราการรอดชีวิตของ PLBs ร้อยละ 90 และ 80 ในความเข้มข้น 75 และ 100 mM ตามลำดับ จำนวน PLBs น้ำหนักสด และอัตราการเจริญเติบโตลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยความเข้มข้น 0 mM มีจำนวน PLBs เฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 22.5 PLBs รองลงมา คือ ที่ความเข้มข้น 50 mM (18.7 PLBs) ส่วนความเข้มข้นอื่นๆ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (6.7-12.1 PLBs) เช่นเดียวกับพันธุ์มิสออร์คิดส์ มีอัตราการรอดชีวิตของ PLBs ร้อยละ 80 ในความเข้มข้น 100 mM จำนวน PLBs น้ำหนักสด และ อัตราการเจริญเติบโตลดลงตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น โดยความเข้มข้น 0 mM มีจำนวน PLBs เฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 36.5 PLBs รองลงมา คือ ความเข้มข้น 50 mM (33.9 PLBs) ในขณะที่ความเข้มข้น 100 mM มี PLBs เฉลี่ยน้อยที่สุด (6.96 PLBs)

คำสำคัญ: ค่าการนำไฟฟ้า, ความเค็ม, พันธุ์มิสออร์คิดส์, พันธุ์เอียสกุล

ABSTRACT

This study examined sodium chloride (NaCl) affects protocorm-like bodies (PLBs) multiplication of two *Dendrobium* cultivars (*Dendrobium* Sonia 'Earsakul' and *Dendrobium* 'Miss Orchid'), which were grown *in vitro* for 8 weeks on modified Vacin and Went medium containing five NaCl concentrations (0, 25, 50, 75 and 100 mM). The experimental design was a completely randomized design (CRD). The results showed that the survival rate of *Den.* Sonia 'Earsakul' PLBs was 90 and 80 percent in NaCl at 75 and 100 mM concentrations, respectively. The number of PLBs, fresh weight, and growth index decreased in the high NaCl concentrations. NaCl 0 mM produced the highest average number of PLBs (22.5 PLBs). The second highest was NaCl 50 mM, which produced 18.7 PLBs. Meanwhile; the other concentrations were not significantly different (6.7-12.1 PLBs). The survival rate of *Den.* 'Miss orchid' PLBs in NaCl 100 mM was the same, at 80 percent. The number of PLBs, fresh weight, and growth index decreased in the highest NaCl concentrations. NaCl 0 mM produced the highest average number of PLBs (36.5 PLBs). Meanwhile, NaCl 100 mM produced the lowest average number of PLBs (6.96 PLBs).

Keywords: electric conductivity, salinity, *Dendrobium* Sonia 'Earsakul', *Dendrobium* 'Miss orchid'

บทนำ

กล้วยไม้ (orchid) เป็นไม้ดอกที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ประเทศไทยมีการส่งออกกล้วยไม้ตัดดอกเขตร้อนเป็นอันดับหนึ่งของโลก (Office of Agricultural Economics, 2015) และส่วนใหญ่เป็นกล้วยไม้ตัดดอกสกุลหวาย (*Dendrobium*) ที่มีพื้นที่การผลิตกล้วยไม้ตัดดอกกว่า 22,167 ไร่ ในเขตจังหวัดสมุทรสาคร นครปฐม และราชบุรี เป็นต้น ปัจจุบันปัญหาภัยแล้ง ทำให้น้ำเค็มหนุนเข้ามาในบริเวณพื้นที่น้ำจืดส่งผลกระทบต่อเกษตรกร (Komchadluek, 2015) บริเวณแม่น้ำในจังหวัดสมุทรสาครมีปริมาณเกลือที่ตรวจพบสูงถึง 196.5 mM ซึ่งในการปลูกกล้วยไม้ควรมีระดับความเค็มที่ไม่เกิน 8.20 mM (Ministry of Natural Resources and Environment, 2015) เมื่อรดกล้วยไม้พันธุ์เอียสกุลด้วยน้ำที่มีปริมาณเกลือสูงส่งผลให้การเจริญเติบโตลดลง และไม่ออกดอก (Sonsud *et al.*, 2015) เนื่องจากความเค็มทำให้พืชเกิดภาวะเครียดจากแรงดันออสโมติก (osmotic stress) เกิดความเป็นพิษของโซเดียม (Na^+) และความไม่สมดุลของไอออน (Meekaew, 2010) ซึ่งเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชนั้น สามารถใช้คัดเลือกเนื้อเยื่อพืชทนเค็มที่สามารถปรับสภาพ และทนความเค็มที่เพิ่มขึ้นได้ (Smith, 2013) การศึกษา PLBs กล้วยไม้ *Cymbidium* Twilight Moon 'Day Light' ไม่สามารถเจริญเติบโตได้เมื่อความเข้มข้นของ NaCl สูงกว่า 20 mM แต่เมื่อได้รับ NaCl ความเข้มข้นต่ำ และเพิ่มความเข้มข้นสูงขึ้นสามารถเจริญเติบโตได้ที่ความเข้มข้นของ NaCl 40 mM (Teixeira da Silva, 2015) การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหา ระดับความเข้มข้นของ NaCl ที่ไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของ PLBs ของกล้วยไม้สกุลหวายพันธุ์การค้า 2 พันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ

อุปกรณ์และวิธีการ

นำโปรโตคอร์มไลค์บอดี (PLBs) ของกล้วยไม้สกุลหวาย 2 พันธุ์ คือ พันธุ์เอียสกุล (*Dendrobium* Sonia 'Earsakul') และพันธุ์มิสออริคิเดส (*Dendrobium* 'Miss Orchid') ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ ที่เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ลงในสูตรอาหาร Vacin and Went ดัดแปลง ที่เติมน้ำมะพร้าว 150 ml l^{-1} และน้ำตาล 10 g l^{-1} วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) แบ่งเป็น 5 สิ่งทดลอง สิ่งทดลองละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ขวด ได้แก่ ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่แตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0 (ชุดควบคุม) 25 50 75 และ 100 mM โดยบันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต อัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักสด และจำนวน PLBs ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์

ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ต่อการเพิ่มจำนวนของ PLBs เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าความเข้มข้นของ NaCl ที่เพิ่มขึ้นทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลง และมีอัตราการเพิ่มจำนวนของ PLBs แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย PLBs ของกล้วยไม้หวายชนิดพันธุ์เอียสกุลมีอัตราการรอดชีวิตร้อยละ 90 และ 80 ที่ความเข้มข้น 75 และ 100 mM ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นของ NaCl 0 mM มีอัตราการเพิ่มจำนวน PLBs และน้ำหนักสดเฉลี่ยสูงสุดที่สุด คือ 22.5 PLBs และ 2.16 กรัม ตามลำดับ ในขณะที่ PLBs ของกล้วยไม้หวายพันธุ์มิสออริคิเดสมีอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย NaCl 100 mM มีอัตราการรอดชีวิตลดลง ในขณะที่ NaCl 0 และ 50 mM ทำให้มีจำนวน PLBs น้ำหนักสดเฉลี่ยมากที่สุด คือ 36.5 PLBs และ 3.67 กรัม ตามลำดับ จะเห็นว่าเมื่อความเข้มข้นของ NaCl เพิ่มขึ้นทำให้ PLBs มีอัตราการรอดชีวิต จำนวน PLBs และน้ำหนักสด มีแนวโน้มลดลง (Figure 1 และ 2) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Shaozhen *et al.* (2009) ได้ทำการศึกษาความทนเค็มของ sweet potato ในสภาพปลอดเชื้อโดยการเพาะเลี้ยงเซลล์ (aggregate cells) พบว่า NaCl ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ sweet potato ลดลง และที่ความเข้มข้นของ NaCl 342 mM ไม่มีเซลล์ใดสามารถมีชีวิตได้ เช่นเดียวกับการศึกษาใน PLBs ของกล้วยไม้สกุล *Cymbidium* เมื่อความเข้มข้นของ NaCl สูงกว่า 5 mM ทำให้จำนวน PLBs น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งมีแนวโน้มลดลง (Teixeira da Silva, 2015) จากการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าความเค็มส่งผลต่อลักษณะและการพัฒนาของกล้วยไม้สกุลหวายในระยะ PLBs รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา โดยระดับความเค็มที่สูงขึ้นจะทำให้การเพิ่มจำนวน PLBs ลดลง (Figure 3) ผลกระทบจากความเค็มเมื่อพืชเกิดภาวะเครียดจากเกลือ แบ่งเป็น 3 แบบ คือ 1) การเกิด osmotic stress 2) ความเป็นพิษของธาตุบางชนิด (ion toxicity) และ 3) ความเครียดที่เกิดจากการสร้างและสะสมสารอนุมูลอิสระ (Chookhampaeng, 2012) เป็นผลทำให้การเจริญเติบโตของพืชนั้นลดลง และตายในที่สุด โดยปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้นทำให้พืชมีความสามารถในการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ และการสังเคราะห์โปรตีนลดลง สาเหตุหนึ่งที่ทำให้ความเค็มมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช คือ การรั่วไหลของ electrolyte leakage (EL) (Parida and Das,

2005) การสะสมโซเดียมในพืชจำนวนมากมีผลทำให้เนื้อเยื่อแห้งตาย จะแสดงความเสียหายที่รวดเร็วกับส่วนใบอ่อนของพืช ส่วนคลอไรด์ที่พืชดูดเข้าไปจะสะสมใน vacuole เพื่อหลีกเลี่ยงไม่ให้คลอไรด์ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ เนื่องจากคลอไรด์มีการแข่งขันกับตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น น้ำตาล จึงมีผลต่อการสะสมน้ำตาลในเซลล์สะสมอาหาร (Yuwaniyom, 1997) การปรับสภาพโดยเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อโดยให้ PLBs ได้รับความเค็มในระดับต่ำอาจส่งผลให้ PLBs เกิดการสร้างกลไกเพื่อปกป้องตนเอง และสามารถเจริญเติบโตในสภาพความเค็มได้

สรุป

ความเข้มข้นของ NaCl ที่สูงกว่า 50 mM ส่งผลให้ PLBs กลายเป็นวัสดุห่วยทั้ง 2 พันธุ์ (พันธุ์เอียสกุล และ พันธุ์มิสออร์คิดส์) มีการเพิ่มจำนวน น้ำหนักสด อัตราการเจริญเติบโต และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ความเข้มข้นสูงสุดของ NaCl ที่ทำให้ PLBs ยังสามารถเพิ่มจำนวน และพัฒนาต่อไปได้ คือ 50 mM

เอกสารอ้างอิง

- Chookhampaeng, S. 2012. Plant salt stress. Thai journal of botany. 4 (1): 15–24. (in thai)
- He, S. Y. Han, Y. Wang, H. Zhai and Q. Liu. 2009. *In vitro* selection and identification of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) plants tolerant to NaCl. Plant Cell Tiss Organ Cult. 96: 69–74.
- Komchadluek. 2015. Orchid gardeners with salt problems. Available source: <http://www.komchadluek.net/news/lifestyle/198859>, October 30, 2017. (in thai)
- Meekaew, W. 2010. Adaptation of plants under salinity stress. Advanced science. J. 10 (2): 32-33.
- Ministry of Natural Resources and Environment. 2015. Freshwater quality. Available source: http://website.mnre.go.th/ewt_dl_link.php?nid=4998, October 30, 2017. (in thai)
- Office of Agricultural Economics. 2015. Agricultural Information. Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok. (in thai)
- Parida, A.K. and A.B. Das. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicol. Env. Safety 60: 324–349.
- Smith, R. 2013. Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments. 3th edition. Academic Press, San Diego, CA, USA. 208 pp.
- Sonsud, T., P. Boonkorkaew, P. Kasemsap and P. Wanichananan. 2015. Effect of water salinity on growth and photosynthetic rate of *Dendrobium* Sonia ‘Earsakul’. Proceedings of 52nd Kasetsart University Annual Conference: Plants. 4–7 February 2015. (in thai)
- Teixeira da Silva, J.A. 2015. Sensitivity of hybrid *Cymbidium* to salt stress and induction of mild NaCl stress tolerance. Environmental and Experimental Biology. 13: 89–92.
- Yuwaniyom, A. 1997. Management of saline soils and salt tolerant plants. Land Development Department, Bangkok. (in thai)

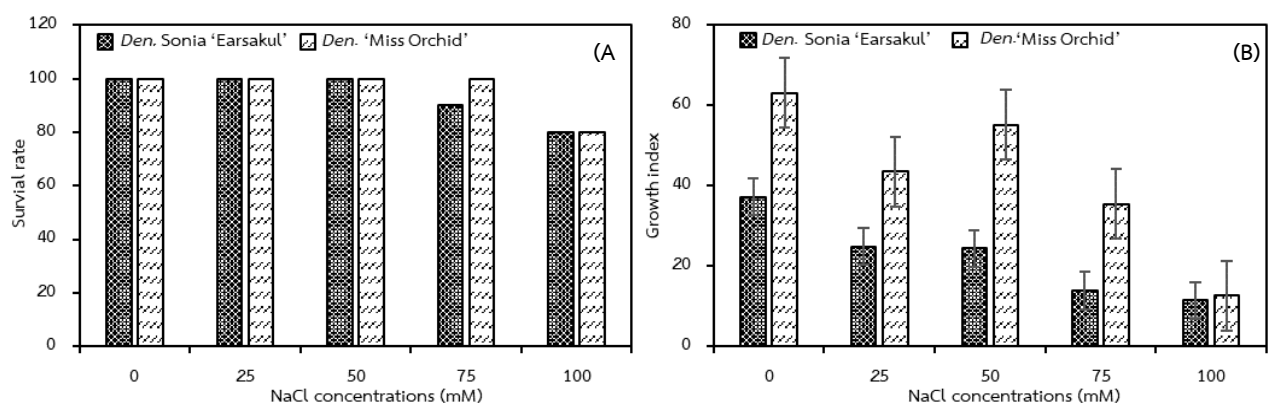


Figure 1 Decrease in morphological responses (survival rate (A), growth index (B)) of PLBs in response to NaCl after 8 weeks.

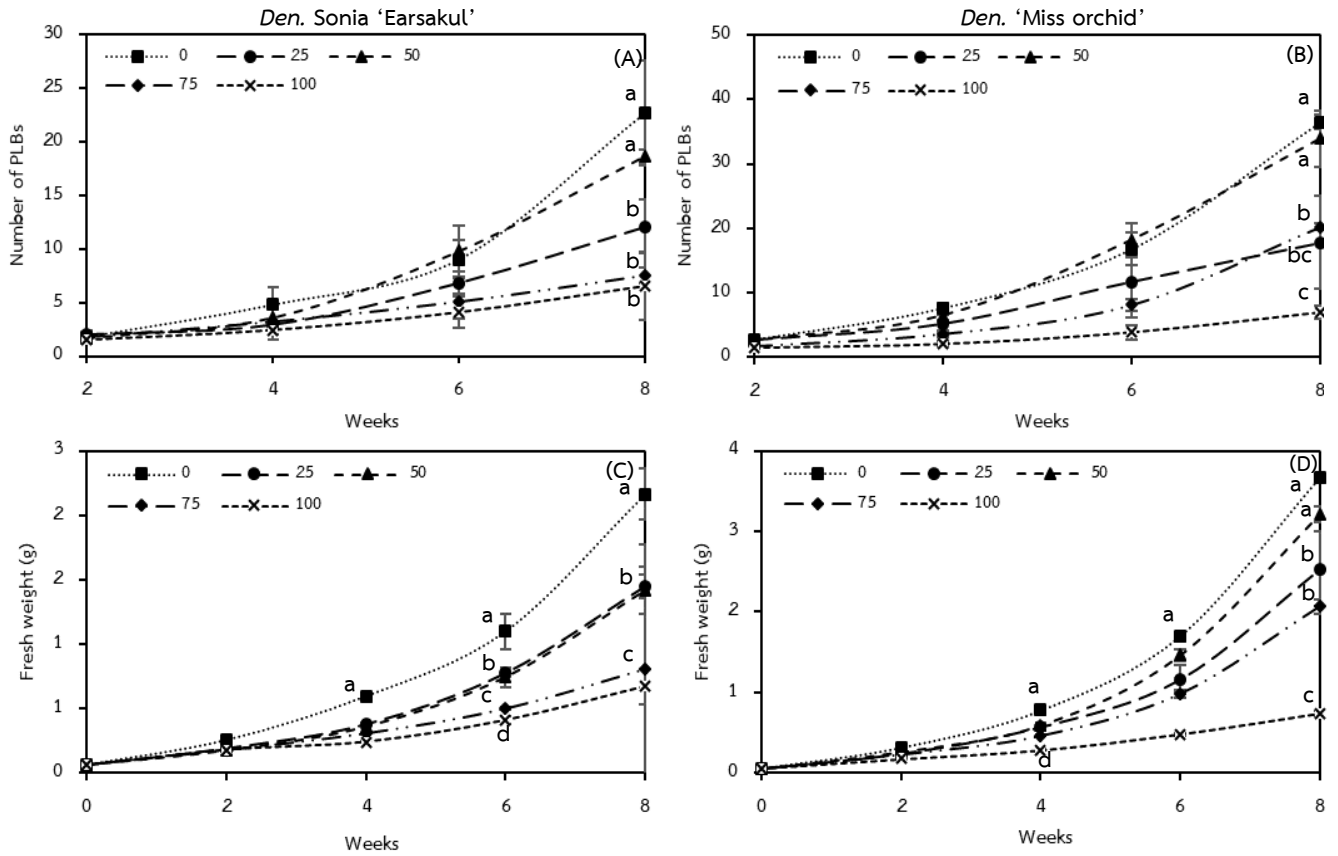


Figure 2 Effect of NaCl on number of PLBs (A,B) and fresh weight (C,D) of *Den. Sonia 'Earsakul'* and *Den. 'Miss orchid'* PLBs. Letters (a, b, c, d) indicate statistically significant differences between the means ($P < 0.01$) using DMRT

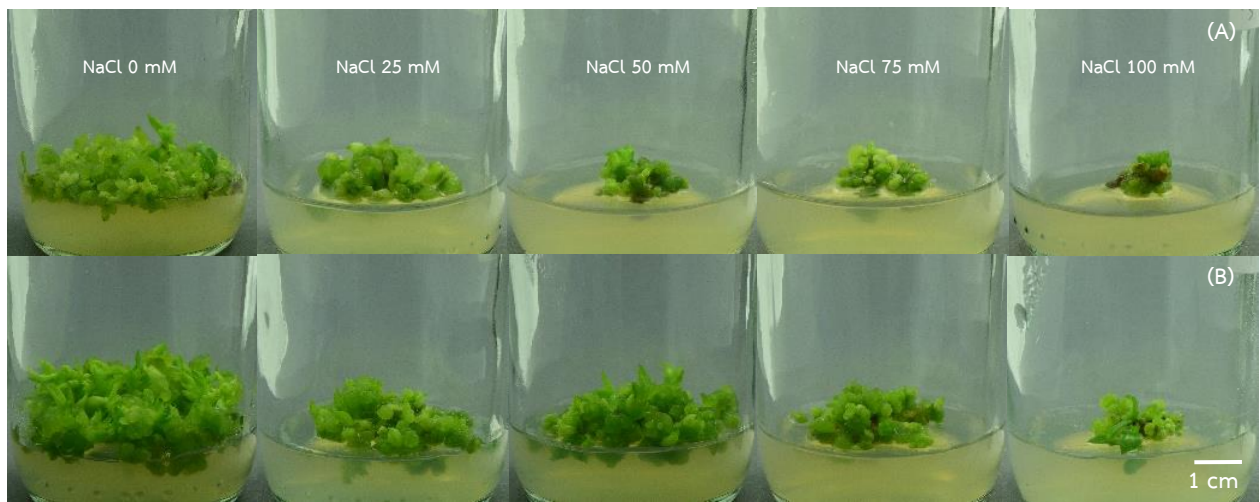


Figure 3 The proliferation on different treatments of *Den. Sonia 'Earsakul'* (A) and *Den. 'Miss orchid'* (B) PLBs after treated with NaCl for 8 weeks.