694

13754

ปัญหาพิเศษปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

T100205

เรื่อง

ผลของการเร่งอายุที่มีต่อความมีชีวิต ความแข็งแรง และการซึมผ่านของเมมเบรนของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

Effect of Accelerated Aging on Viability, Vigor and Membrane permeability of Soybean Seeds.

โดย

นางสาว มณีวรรณ ลิ้มพรรมาภรณ์

อาจารย์ ผศ.ดร. อารมย์ ศรีพิจิตต์ ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

(ผศ.ดร. อารมย์ ศรีพิจิตต์)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
วันที่ 22 เดือน มีนาคม พ.ศ. 2532

ปพ.
ม139ผ
2532

เลขหมู่.....
ทะเบียน 100205
รับเล่ม ปี 17 JUN 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.อารมย์ ศรีพิจิตต์ และ ดร.กฤติกา สุขเสรีทรัพย์ ที่กรุณาให้คำปรึกษา พร้อมทั้งการตรวจปัญหาพิเศษเล่มนี้ให้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ที่มอบเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และน้องๆ ที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการศึกษาตลอดมา

มณีวรรณ ลิ้มธรรมาภรณ์

มีนาคม 2532

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความมีชีวิต และความแข็งแรง กับความสามารถในการซึมซาบของเมมเบรนในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ซึ่งได้รับการเร่งอายุตั้งแต่ 1-7 วัน นำเมล็ดที่ผ่านการเร่งอายุมาตรวจสอบความงอก ความแข็งแรงของต้นกล้า การนำกระแสไฟฟ้า การย้อมสี tetrazolium และการย้อมสี Evan's Blue ผลที่ได้พบว่า ลักษณะเหล่านี้มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ดังนั้น ความเสียหายของเมมเบรนอาจจะเป็นสาเหตุเบื้องต้นสาเหตุหนึ่ง ที่ทำให้เมล็ดเกิดการเสื่อมคุณภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Abstract

The relationship of viability and vigor with membrane permeability were studied in soybean seeds (Glycine max.(L.) Merr.var.Chiengmai 60) aged up to 7 days by accelerated aging. The aged seeds were tested for germination, seedling vigor, electrical conductivity, tetrazolium chloride staining and Evan's Blue staining. All seeds parameters showed significant correlation at 0.05 level. This suggested that membrane damage may be one of the primary causes of seeds deterioration.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญภาพ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	4
ผลการทดลอง	8
วิจารณ์ผล	18
สรุปผลการทดลอง	21
เอกสารอ้างอิง	22
ภาคผนวก	24

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.	เปอร์เซนต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุ ตั้งแต่ 0-7 วัน	9
2.	ผลการเร่งอายุที่มีต่อการรั่วไหลของสารละลายจากเมล็ดถั่วเหลือง	11
3.	ลักษณะการติดสีของเมล็ดถั่วเหลืองเมื่อย้อมด้วย TTC	14
4.	การกระจายตัวของความเข้มของสี Evan's Blue ที่ย้อมติดใบเลี้ยงที่ตัดตามขวางของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุ ตั้งแต่ 0-7 วัน	16
5.	การติดสี Evan's Blue ของเซลมริเวณใบเลี้ยงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุ ตั้งแต่ 0-7 วัน	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	ผลของการเร่งอายุที่มีต่อเปอร์เซ็นต์ความงอก อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า การติดสีของ TTC และการนำไฟฟ้า	10
2.	ผลของการเร่งอายุที่มีต่อลักษณะการติดสี TTC ของเมล็ดถั่วเหลือง	13
3.	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์ความงอก อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า การติดสีของ TTC และการนำไฟฟ้า	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของการเร่งอายุที่มีต่อความมีชีวิต ความแข็งแรง และการซึมผ่านของเมมเบรนของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

Effect of Accelerated Aging on Vigor and Membrane Permeability of Soybean Seeds

คำนำ

ถั่วเหลืองเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เป็นที่ต้องการในอุตสาหกรรมด้านต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมผลิตน้ำมันพืช อาหารสัตว์ เป็นต้น การผลิตภายในประเทศยังไม่เพียงพอ ต้องนำเข้าจากต่างประเทศปีละหลายร้อยล้านบาท การผลิตถั่วเหลืองภายในประเทศ เกษตรกรผู้ปลูกถั่วเหลืองส่วนใหญ่ จะใช้เมล็ดพันธุ์ที่ได้จากการเก็บเกี่ยวในฤดูก่อน คือ ถ้าปลูกถั่วเหลืองในฤดูฝน ก็ใช้เมล็ดพันธุ์ที่ได้จากการเก็บเกี่ยวในฤดูแล้ง และถ้าปลูกถั่วเหลืองในฤดูแล้ง ก็ใช้เมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวในฤดูฝน การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองไว้ใช้ทำพันธุ์สำหรับปลูกข้ามปีนั้นไม่เป็นที่นิยมและมีการปฏิบัติน้อย เนื่องจากการเก็บเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเป็นเวลานานมักเกิดปัญหาเกี่ยวกับการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งจะมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาคือ อุณหภูมิและความชื้น

การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้ เกิดจากสาเหตุหลายประการด้วยกัน เช่น เกิดจากความเสียหายในระหว่างการเก็บเกี่ยว หรือเกิดจากการถูกเชื้อราเข้าทำลายในระหว่างการเก็บรักษา เป็นต้น นอกจากนี้การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ยังขึ้นอยู่กับอายุของเมล็ดพันธุ์ด้วย เมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาไว้นาน จะมีอัตราการเสื่อมสูง และเชื่อกันว่า สาเหตุเบื้องต้นที่ทำให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพ ก็คือการเสื่อมสภาพของเซลล์เมมเบรนของเมล็ดซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากความชื้นและอุณหภูมิ ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาเพื่อหาข้อมูลเกี่ยวกับสาเหตุที่ทำให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพ โดยใช้วิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ที่ระดับต่างๆ ที่มีต่อการเสื่อมของเมมเบรนและคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เป็นปัญหาสำคัญทางด้านการเกษตร เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพจะมีความงอกและความแข็งแรงลดลง เมล็ดจะมีคุณภาพสูงสุดที่ระยะสุกแก่ทางสรีระวิทยา หลังจากนั้นเมล็ดก็เริ่มเสื่อมคุณภาพโดยจะมีการเปลี่ยนแปลงต่างๆเกิดขึ้นกับเมล็ด อันเป็นผลให้เมล็ดตายในที่สุด มีหลายสาเหตุที่คาดว่าน่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เมล็ดเสื่อม ได้แก่ ความเสียหายของโครโมโซม การสูญเสียประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ การเสื่อมของระบบการหายใจ การสูญเสียแหล่งสร้าง ATP และการเสื่อมสภาพของเมมเบรน (Parrish และ Leopold , 1978)

Parrish และ Leopold (1978) ได้นำวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (accelerated aging test) มาตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง โดยการเก็บเมล็ดไว้ในสภาพวิกฤต (stress) ที่อุณหภูมิ 41 °C ความชื้นสัมพันธ์ 100% ในภาชนะปิด พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุมีความแข็งแรงลดลง

ในเมล็ดที่เสื่อมคุณภาพ cell membrane และ subcellular membrane ต่างๆในเมล็ดจะได้รับความเสียหายและสูญเสียคุณสมบัติในการซึมซาบ (permeability) เนื่องจากปฏิกริยา peroxidation ภายในเมล็ดโดยเอนไซม์ lipase ภายในเมล็ดจะทำการย่อย กรดไขมันไม่อิ่มตัว ให้กลายเป็นกรดไขมันอิสระ เอนไซม์ phytase และ phospholipase ทำให้ผนังเซลถูกทำลาย (Priestley และ Leopold , 1979) เมื่อนำเมล็ดดังกล่าวไปแช่น้ำ สารต่างๆภายในเมล็ดจะรั่วไหลออกมา ทำให้สามารถประเมินการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดได้โดยการวัดค่าการนำไฟฟ้าของสารต่างๆที่รั่วไหลออกมา ซึ่งค่าที่วัดได้สามารถนำไปประเมินความแข็งแรงของเมล็ด โดยเมล็ดที่มีความแข็งแรงสูงจะวัดค่าการนำไฟฟ้าได้ต่ำ และเมล็ดที่เสื่อมคุณภาพจะมีค่าการนำไฟฟ้าสูง (Oliveira และคณะ, 1984) นอกจากจะตรวจสอบคุณสมบัติการซึมซาบของเมมเบรนโดยวิธีวัดปริมาณสารที่รั่วไหลออกมาจากเมล็ดแล้ว ยังสามารถใช้วิธีการย้อมสี Evan 's Blue เพื่อตรวจสอบความเสียหายของเมมเบรนของเมล็ดได้อีกด้วย Schoettle และ Leopold (1984) พบว่าในการย้อมสีเมล็ดถั่วเหลืองด้วย Evan's Blue นั้น เซลของเมล็ดที่ไม่ผ่านการเร่งอายุย้อมไม่ติดสี ส่วนเซลของเมล็ดที่ผ่านการเร่งอายุย้อมติดสีและยิ่งใช้เวลาเร่งอายุมากขึ้นเท่าใด จำนวนเซลที่ติดสีก็เพิ่มมากขึ้นเท่านั้น จากผลดังกล่าว Schoettle และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Leopold จึงสรุปว่า การติดสีของเซลล์เกิดขึ้นเนื่องจากมีการเคลื่อนย้ายของสารจากเนื้อเยื่อของเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุ ซึ่งโมเลกุลของสารที่เคลื่อนออกนี้มีขนาดและขั้ว (polar) เหมือนกับ Evan's Blue จึงทำให้ Evan's Blue สามารถเข้าไปแทนที่ได้ นอกจากจะใช้ Evan's Blue ทดสอบความเสียหายของเมมเบรนในเมล็ดที่เสื่อมคุณภาพแล้ว Taylor และ West (1980) ยังใช้การย้อมสี Evan's Blue ตรวจสอบการทนเค็มของเซลพืชด้วย โดยเซลที่ได้รับความเสียหายจากความเค็มหรือเซลที่ตาย จะย้อมติดสีน้ำเงิน ส่วนเซลที่ไม่ติดสีถือว่ายังมีชีวิตอยู่

ในการทดสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ วิธีการทั่วไปที่นิยมใช้ในการตรวจสอบความแข็งแรงและความมีชีวิต ได้แก่ การตรวจสอบความงอก การวัดอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า และวิธีการย้อมสีด้วยสารละลาย tetrazolium chloride (TTC) การย้อมสีด้วยสารละลาย TTC เป็นวิธีที่นิยมใช้กันทั่วไป เนื่องจากทดสอบได้ง่าย ประหยัด ตรวจสอบได้เร็วและแสดงผลให้เห็นได้ชัดเจน (Pasha และ Das ,1982) สารละลาย TTC เมื่อสัมผัสกับเนื้อเยื่อของเมล็ดที่มีชีวิต จะเปลี่ยนเป็นสารที่ไม่ละลายน้ำและมีสีแดง เรียกว่า formazan ซึ่งเกิดจากการ reduction ของ dehydrogenase enzyme ภายในเซล สีที่เกิดขึ้นไม่กระจายตัว จึงทำให้มองเห็นความแตกต่างได้เด่นชัด (Roberts ,1951) จากการที่ไม่มีการกระจายตัวของสีนี่เอง ทำให้มีการนำเอารูปแบบการติดสีและความเข้มของสีที่ติดที่ผิวของเมล็ดมาแบ่งเป็นลำดับขั้น ของความมีชีวิต และความไม่มีชีวิต Sripichitt และคณะ (1987) ได้ทำการแบ่งลำดับขั้นความมีชีวิตและความไม่มีชีวิตของเมล็ดถั่วเหลือง โดยพิจารณาจากลักษณะการติดสีและความเข้มของสีที่ติดที่ผิวหน้าด้านโค้งของใบเลี้ยงของเมล็ดถั่วเหลือง และแบ่งลักษณะทั้งหมดได้เป็น 12 ลำดับขั้น คือ มีชีวิต 6 ลำดับ และไม่มีชีวิต 6 ลำดับ เมื่อนำผลที่ได้จากการแบ่งลำดับความมีชีวิตไปเปรียบเทียบกับการตรวจสอบความงอก พบว่าผลที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. เมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่เพิ่งจะเก็บเกี่ยวจากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่
2. ขวดโหลเร่งอายุเมล็ดขนาดบรรจุ 0.5 ลิตร และตะแกรงลวดสเตนเลส
3. ตู้อบอุณหภูมิสูง (100-105°C)
4. ตู้อบอุณหภูมิต่ำ (40°C)
5. กระดาษเพาะ
6. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง
7. เครื่องวัดกระแสไฟฟ้า CRISON conductimeter 525
8. สารละลาย 2,3,5 - triphenyl tetrazoliumchloride
9. กล่องพลาสติก
10. สารละลาย Evan's Blue 1% (w/v)
11. กล้องจุลทรรศ์
12. ใบมีดโกน

ก่อนทำการทดลอง ได้ทดสอบคุณภาพเบื้องต้นของเมล็ดพันธุ์ พบว่าเมล็ดมีความชื้น 8.04 เปอร์เซนต์ มีความงอก 94 เปอร์เซนต์ หลังจากนั้นนำเมล็ดไปเร่งอายุตั้งแต่ 0-7 วัน หาความชื้นของเมล็ดที่เปลี่ยนไป และทำการทดสอบความแข็งแรงและความมีชีวิต โดยใช้วิธีทดสอบความงอก อัตราการเจริญของต้นกล้า ค่านำไฟฟ้า และย้อมสีโดยใช้สารละลาย TTC และสารละลาย Evan's Blue

การเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์ (modified accelerated aging test)

นำเมล็ดถั่วเหลืองจำนวน 50 กรัม (ประมาณ 300 เมล็ด) ใส่ในตะแกรงลวดสเตนเลส นำตะแกรงใส่ในขวดโหลขนาดบรรจุ 0.5 ลิตร ซึ่งมีน้ำที่ก้นขวด 100 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดให้สนิทเพื่อให้ความชื้นสัมพัทธ์ภายในขวดสูงถึง 100 เปอร์เซนต์ แล้วนำไปใส่ตู้อบที่อุณหภูมิ 40±2°C เป็นเวลา 1,2,3,4,5,6 และ 7 วัน ตามลำดับ แต่ละวันทำการทดลอง 4 ซ้ำ จากนั้นนำเมล็ดที่ผ่านการเร่งอายุมาทดสอบความงอก หาค่าการนำไฟฟ้าของสารที่รั่วไหลออกมาจากเมล็ด การติดสีเมื่อย้อมด้วยสารละลาย TTC อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า และความชื้นของเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดสอบความงอกมาตราฐาน (standard germination test)

นำเมล็ดถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการเร่งอายุ (control) และเมล็ดที่ผ่านการเร่งอายุแล้ว (1,2,3,4,5,6 และ 7 วัน) มาเพาะบนกระดาษเพาะที่ทำให้ชื้นด้วยน้ำกลั่น (between paper) ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด นำม้วนกระดาษเพาะใส่ในกล่องพลาสติกเก็บไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง ประเมินผลความงอกโดยนับจำนวนต้นกล้าที่งอกปกติ (normal seedling) หลังเพาะ 5 วันและ 7 วัน (ISTA,1976)

การวัดอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (seedling growth rate)

นำเมล็ดวางเป็นแถวบนกระดาษเพาะที่มีขนาด 35 × 63 เซนติเมตร ให้แถวบนสุดอยู่ห่างจากขอบกระดาษด้านบน 6.5 เซนติเมตร แถวที่ 2 ห่าง 13 เซนติเมตร แต่ละแถวมีจำนวนเมล็ด 25 เมล็ด ทำ 4 ซ้ำ แล้วม้วนกระดาษอย่างหลวม ๆ วางลงในกล่องพลาสติกปิดฝาสนิท เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดนาน 7 วัน เมื่อครบกำหนด นำมาตรวจนับความงอกโดยนับจำนวนต้นที่งอกปกติ แล้วใช้ใบมีดโกนตัดใบเลี้ยงทิ้ง เอาต้นกล้าใส่ถุงกระดาษอบที่อุณหภูมิ 100°C นาน 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแห้ง แล้วคำนวนอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า จากสูตร

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของต้นกล้า}}{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}$$

การวัดการนำไฟฟ้า (conductivity test)

นำ control ซึ่งมีความชื้นเริ่มต้นประมาณ 8% (wet weight basis) ไปเพิ่มความชื้นถึงระดับประมาณ 13-14% แล้วนำมาวัดการนำไฟฟ้าพร้อมกับเมล็ดที่เร่งอายุ นำเมล็ด 25 เมล็ด ต่อ 1 ซ้ำ ใส่ลงใน beaker ที่บรรจุน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร คนด้วยแท่งแก้วเพื่อไล่ฟองอากาศ ปิดปาก beaker ด้วยกระดาษ foil แล้วนำไปไว้ที่อุณหภูมิ 20°C ทำการวัดค่านำไฟฟ้าทุก ๆ ชั่วโมงเป็นเวลา 4 ชั่วโมงและวัดครั้งสุดท้ายที่ 24 ชั่วโมง ค่าที่อ่านได้ บันทึกเป็น μS /ซม./25 เมล็ด.

การหาความชื้นของเมล็ด

ตรวจสอบโดยวิธี hot air oven ใช้เมล็ดพันธุ์ตัวอย่างละ 5 กรัม อบเมล็ดที่อุณหภูมิ 105°C นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง และคำนวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความชื้นจากสูตร

$$\text{เปอร์เซนต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักสด} - \text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักสด}} \times 100$$

tetrazolium test

นำ control และเมล็ดที่ผ่านการเร่งอายุแล้ว มาวางบนกระดาษเพาะที่ชื้นด้วยน้ำกลั่น (between paper) ทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 50 เมล็ด เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 16 ชั่วโมง จึงนำเมล็ดถั่วเหลืองใส่ลงในสารละลาย TTC 1% นำไปใส่ในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 ± 2°C นาน 3 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วให้เทสารละลายทิ้ง ล้างเมล็ดให้ทั่วถึง ด้วยน้ำประปา แล้วนำเมล็ดมาแช่ในน้ำกลั่น ป้องกันเนื้อเยื่อแห้ง ลอกเปลือกออก จำแนกเมล็ดออกเป็นเมล็ดที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต โดยพิจารณาจากลักษณะการติดสีและความเข้มของสีที่ติดผิวหน้าด้านโค้งของใบเลี้ยง แล้วบันทึกผล

Evan's Blue test

นำ control และเมล็ดที่ผ่านการเร่งอายุแล้ว มาทำให้นุ่มโดยวางเมล็ดลงบนกระดาษเพาะ (between paper) โดยสุ่มเมล็ดมา 10 เมล็ด ในแต่ละ treatment เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 16 ชั่วโมง จากนั้นลอกเปลือกออก ใช้มีดโกนผ่าครึ่งใบเลี้ยงตามขวาง (cross - section) เอาเมล็ดที่ผ่าแล้วแช่ในสารละลาย Evan's Blue 1% เก็บที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง เทสารละลายทิ้ง ล้างเมล็ดด้วยน้ำประปา แช่เมล็ดในน้ำกลั่น แล้วตัดส่วนของเมล็ดที่ติดสี (บริเวณรอยผ่า) ไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ บริเวณที่ติดสีน้ำเงินคือ cell ที่ตายแล้ว

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้แผนการทดลอง Completely Randomized Design ก่อนการวิเคราะห์ข้อมูลที่เป็นเปอร์เซนต์จะถูกแปลงเป็นค่า arcsine ทั้งหมด จากนั้นหาค่านัยสำคัญของความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้การทดสอบแบบ Duncan's new multiple range test รวมทั้งคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ระหว่างวิธีต่าง ๆ ของการทดสอบเมล็ดด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาในการทดลอง

การทดลองเริ่มตั้งแต่ เดือนธันวาคม 2531 สิ้นสุดเมื่อเดือนกุมภาพันธ์ 2532

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ความชื้นของเมล็ด

เมื่อจำนวนวันที่เร่งอายุเพิ่มขึ้น ปริมาณความชื้นของเมล็ดก็เพิ่มขึ้นด้วย (ภาพที่ 1) โดยเฉพาะในช่วงที่เร่งอายุ 0-3 วันแรก ความชื้นของเมล็ดเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเจน แต่พอถึงช่วงเร่งอายุ 4-7 วัน ความชื้นของเมล็ดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

ความงอกของเมล็ด

เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดลดลงตามจำนวนวันเร่งอายุที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 1) ความงอกของเมล็ดลดลงอย่างมีนัยสำคัญในช่วง 3-7 วันของการเร่งอายุ ในช่วง 5-7 วันของการเร่งอายุแทบจะไม่พบว่า มีเมล็ดงอกได้เลย

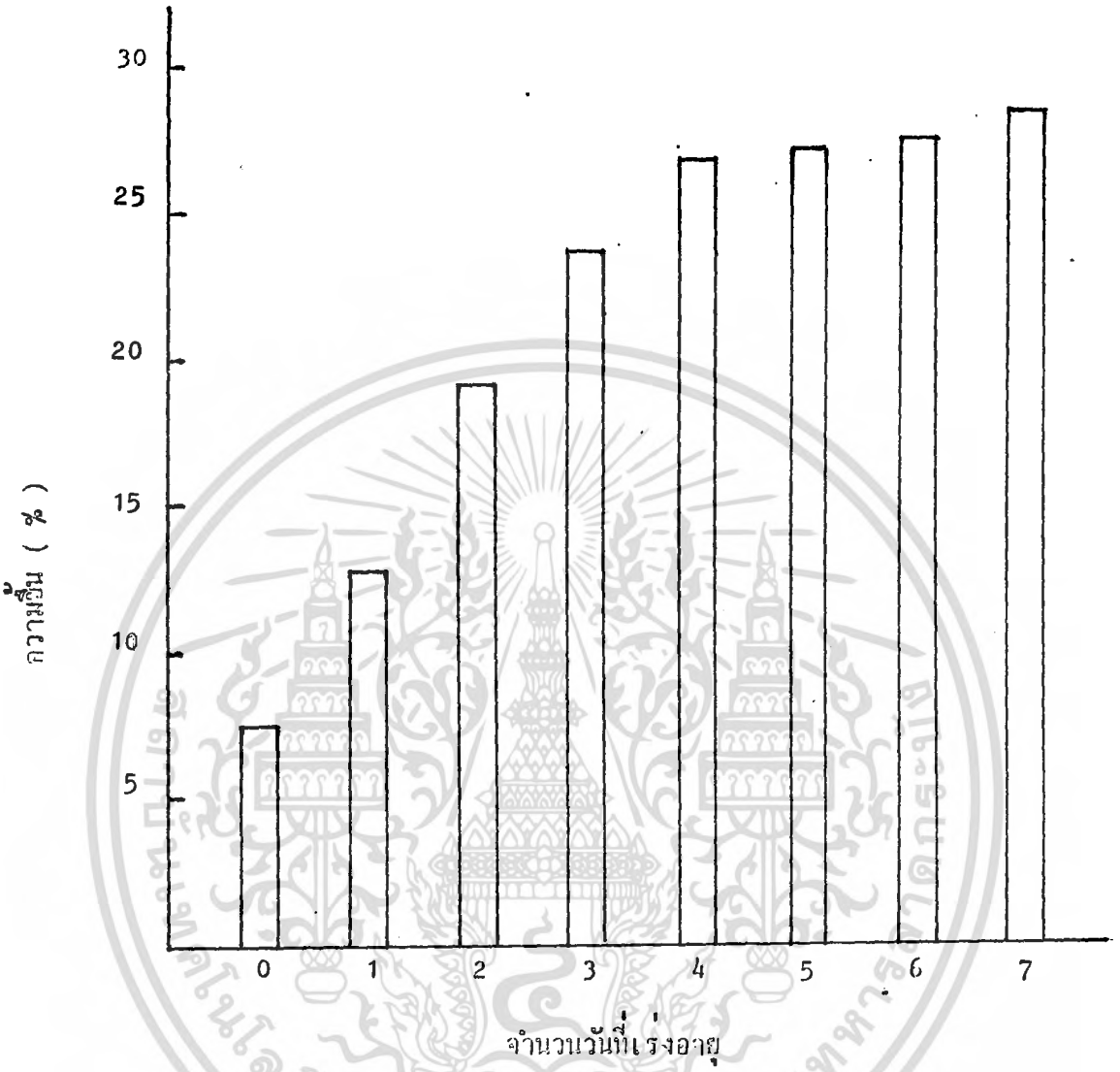
อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า

ในช่วง 4 วันแรกของการเร่งอายุ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของน้ำหนักแห้งเลย น้ำหนักแห้งเริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่ 5 วันของการเร่งอายุขึ้นไป และไม่พบการเจริญเติบโตของต้นกล้าที่ 7 วันของการเร่งอายุ

การวัดค่าการนำไฟฟ้า

การเร่งอายุที่มีผลต่อการรั่วไหลของสารละลาย จากเมล็ดถั่วเหลือง ได้แสดงไว้ในภาพที่ 2 จะเห็นว่า เมื่อจำนวนวันเร่งอายุเพิ่มขึ้น การรั่วไหลของสารละลายจากเมล็ดก็เพิ่มขึ้นไปด้วย เมล็ดที่ยังไม่เสื่อม (control) มีการรั่วไหลน้อยที่สุด การเร่งอายุเมล็ดที่ 1 และ 2 วัน มีการรั่วไหลต่างกันน้อยมาก อัตราการรั่วไหลของเมล็ดปรากฏออกมาอย่างชัดเจนหลังจาก 24 ชั่วโมงที่ 3 และ 4 วันของการเร่งอายุ ที่ 5 วันของการเร่งอายุ การรั่วไหลปรากฏให้เห็นหลังจากแช่เมล็ดเพียงแค่ 4 ชั่วโมง สำหรับ 6 และ 7 วันของการเร่งอายุ การรั่วไหลปรากฏให้เห็นอย่างเด่นชัดเมื่อแช่เมล็ดไปได้เพียง 3 และ 2 ชั่วโมง ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1. เปอร์เซนต์ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุตั้งแต่ 0-7 วัน

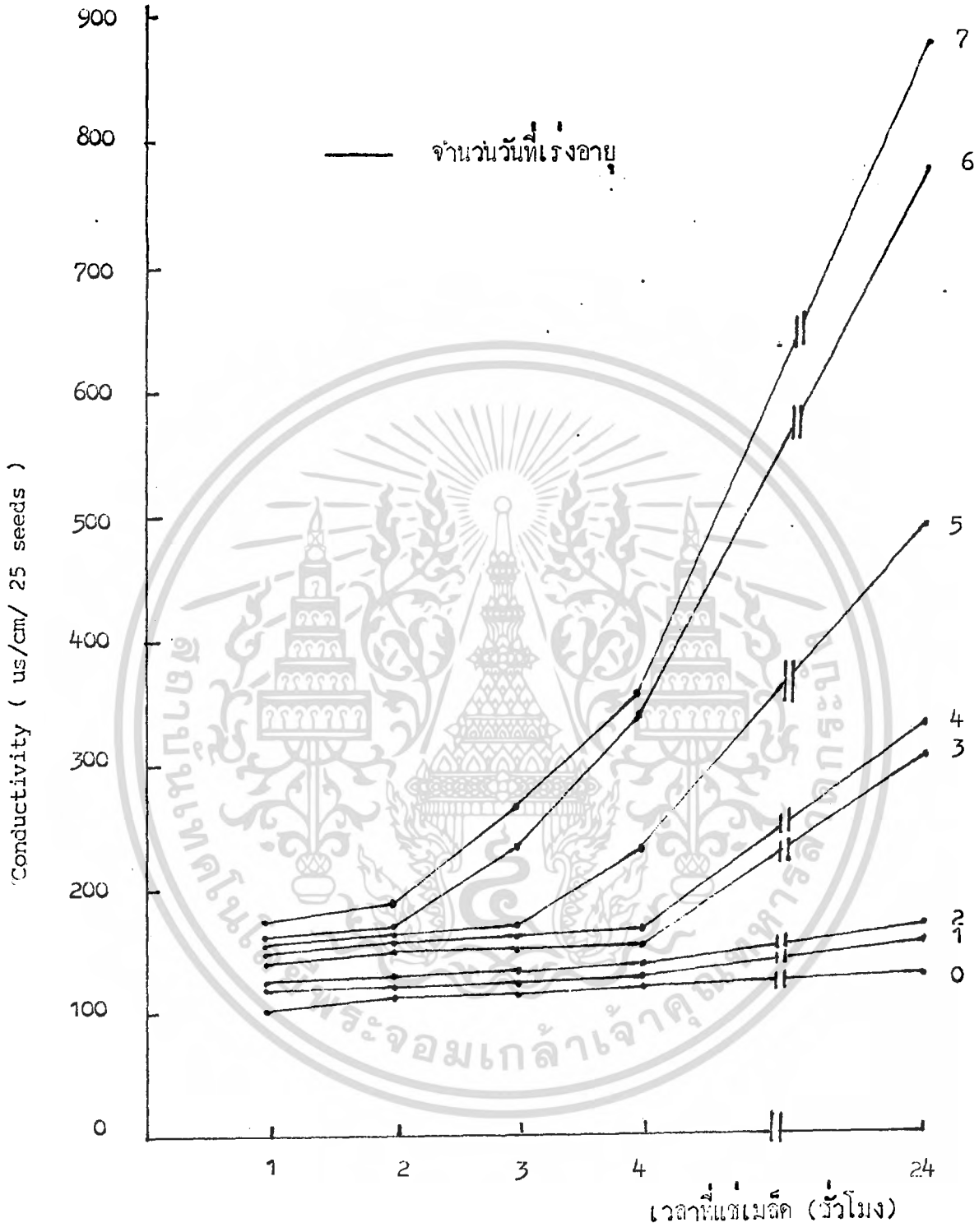
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ผลของการเร่งอายุที่มีต่อเปอร์เซ็นต์ความงอก อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า การติดสีของ TTC และ การนำไฟฟ้า

จำนวนวันที่เร่งอายุ	ความงอก (%)	อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (มิลลิกรัม/ต้น)	การติดสีของ TTC (%)	การนำไฟฟ้า (µs/ซม/25 เมล็ด)
0	94.0 a[1)]	50.70 a	97.0 a	187.53 a
1	93.5 a	53.72 a	93.5 a	223.48 ab
2	88.0 a	60.89 a	83.5 c	225.60 ab
3	68.5 c	56.87 a	70.0 b	340.75 ab
4	53.5 d	48.65 a	59.5 b	389.75 b
5	6.0 b	36.56 b	42.5 d	570.00 c
6	2.0 b	16.67 c	26.5 e	782.50 d
7	1.5 b	0 d	6.0 f	865.25 d

1) ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันภายใน column เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ P = 0.05 จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2. ผลการเร่งอายุที่มีต่อการรั่วไหลของสารละลายจากเมล็ดถั่วเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การติดสีของ TTC

ลักษณะต่าง ๆ ของการติดสีของเมล็ด ซึ่งจำแนกออกเป็นเมล็ดที่มีชีวิต และไม่มีชีวิต ได้แสดงไว้ในภาพที่ 3 ในการทดลองนี้ ไม่พบลักษณะการติดสีแบบ T5, T11 , T12 (ตารางที่ 2) ในช่วง 0-2 วันของการเร่งอายุ พบว่าเมล็ดที่ติดสีส่วนใหญ่เป็นเมล็ดที่มีชีวิต (T1 - T6) แต่เมื่อจำนวนวันเร่งอายุเพิ่มขึ้นไปอีก ลักษณะการติดสีของเมล็ดเป็นเมล็ดที่ไม่มีชีวิต (T7 - T12) เพิ่มมากขึ้น ความมีชีวิตของเมล็ดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อจำนวนวันการเร่งอายุเพิ่มขึ้นจาก 2 วัน (ตารางที่ 1) ลักษณะการลดลงของความมีชีวิตนี้คล้ายคลึงกับการลดลงของความงอกตามจำนวนวันการเร่งอายุที่เพิ่มขึ้น

การติดสีของ Evan's Blue

เมื่อนำเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุ 0-7 วัน มาตัดใบเลี้ยงออกตามขวาง นำไปย้อม Evan's Blue แล้วนำมาเปรียบเทียบกันตามลักษณะการกระจายตัวของความเข้มของสีที่ติด ดังแสดงไว้ในภาพที่ 4 ยิ่งจำนวนวันที่เร่งอายุเพิ่มขึ้นเท่าใด พื้นที่ความเข้มของสีที่ติดที่บริเวณผิวที่ตัด ก็จะเพิ่มมากขึ้นและเข้มมากขึ้น เมื่อนำการตัดเนื้อเยื่อบริเวณที่ติดสีไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ (X10)(ภาพที่ 5) จากรูปจะเห็นได้ว่า เมื่อจำนวนวันเร่งอายุเพิ่มขึ้น จะมีเซลที่ติดสีน้ำเงินหรือเซลที่ตายแล้วเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะช่วง 5-7 วัน พบว่ามีปริมาณเซลที่พบเป็นเซลที่ติดสีน้ำเงินหรือเซลที่ตายแล้วเป็นส่วนมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

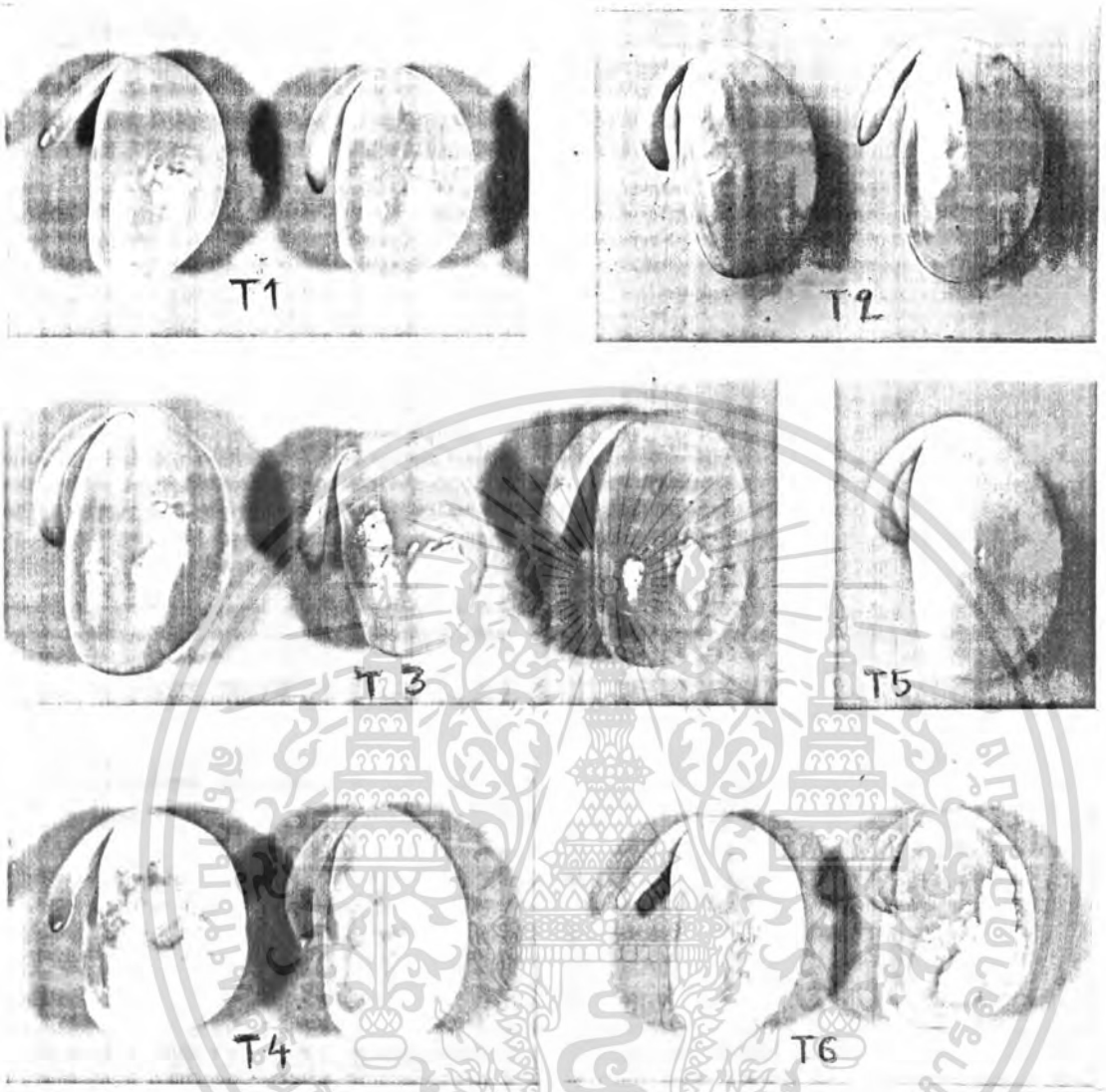
ตารางที่ 2 ผลของการเร่งถายุที่มีต่อลักษณะการติดสี TTC ของเมล็ดถั่วเหลือง

จำนวนวันที่เร่งถายุ	ลักษณะการติดสี TTC											
	มีชีวิต (Viable)						ไม่มีชีวิต (Non-Viable)					
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
0	22.0	3.0	3.5	61.5	ND	7.0	2.0	0.5	ND	0.5	ND	ND
1	19.5	1.0	7.5	49.5	ND	16.0	5.5	ND	0.5	0.5	ND	ND
2	2.0	1.0	32.0	10.0	ND	38.5	5.5	ND	5.5	5.5	ND	ND
3	0.5	ND	12.0	20.5	ND	37.0	20.0	0.5	ND	9.5	ND	ND
4	0.5	ND	5.0	8.5	ND	47.5	30.5	ND	0.5	10.0	ND	ND
5	ND	ND	ND	5.0	ND	37.5	28.5	2.5	ND	26.5	ND	ND
6	ND	ND	0.5	1.0	ND	25.0	22.0	2.5	ND	49.0	ND	ND
7	ND	ND	0.5	0.5	ND	5.0	24.0	1.0	2.5	66.5	ND	ND

ND = not detected

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 ลักษณะการติดสีของเมล็ดถั่วเหลืองเมื่อย้อมด้วย TTC



เมล็ดที่มีชีวิต

T1. เมล็ดติดสีทั้งเมล็ด

T2. เมล็ดติดสีทั้งเมล็ด แต่มีบางส่วนติดสีจาง (น้อยกว่า 10%)

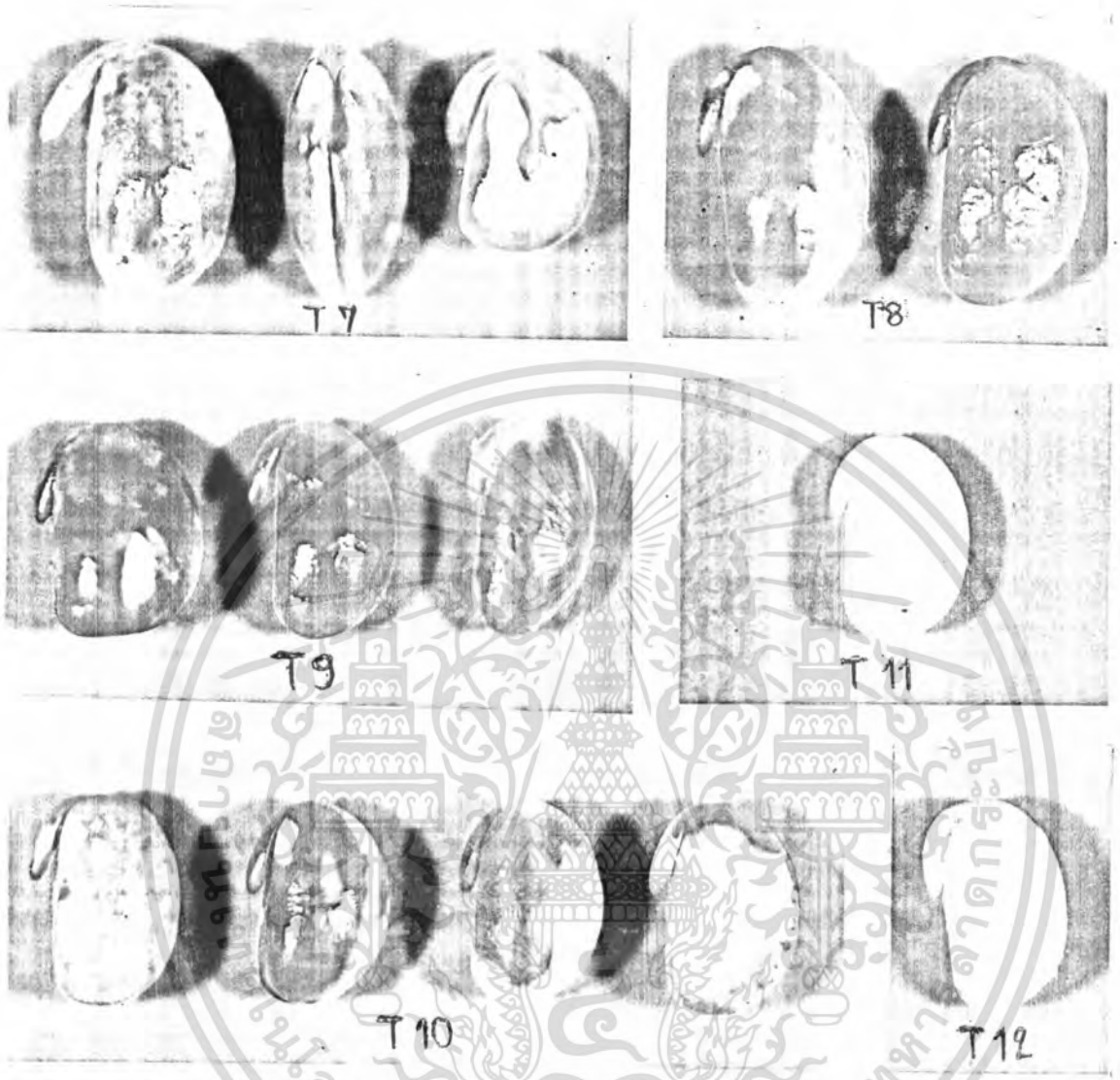
T3. เมล็ดติดสีทั้งเมล็ด แต่ที่ใบเลี้ยงมีบางส่วนติดสีแดงเข้ม (ประมาณ 50%)

T4. เมล็ดติดสีทั้งเมล็ด แต่สีที่เกิดส่วนใหญ่เป็นสีจาง (มากกว่า 50%)

T5. เมล็ดย้อมติดสีจางทั้งเมล็ด

T6. มีบริเวณที่ย้อมไม่ติดสี (น้อยกว่า 20%) ที่บริเวณใบเลี้ยง แต่ไม่ใช่บริเวณ radicle-hypocotyl และ plumule

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เมล็ดที่ไม่มีชีวิต

T7. เมล็ดย้อมไม่ติดสีที่บริเวณ (1) radicle-hypocotyl axis (50%หรือมากกว่า) (2) มากกว่า 50% ของเนื้อเยื่อเมล็ดใบเลี้ยง

T8. เมล็ดย้อมติดสีแดงเข้มที่เนื้อเยื่อที่บริเวณ (1) มากกว่า 50% ของเนื้อเยื่อใบเลี้ยง (2) ที่ radicle-hypocotyl axis

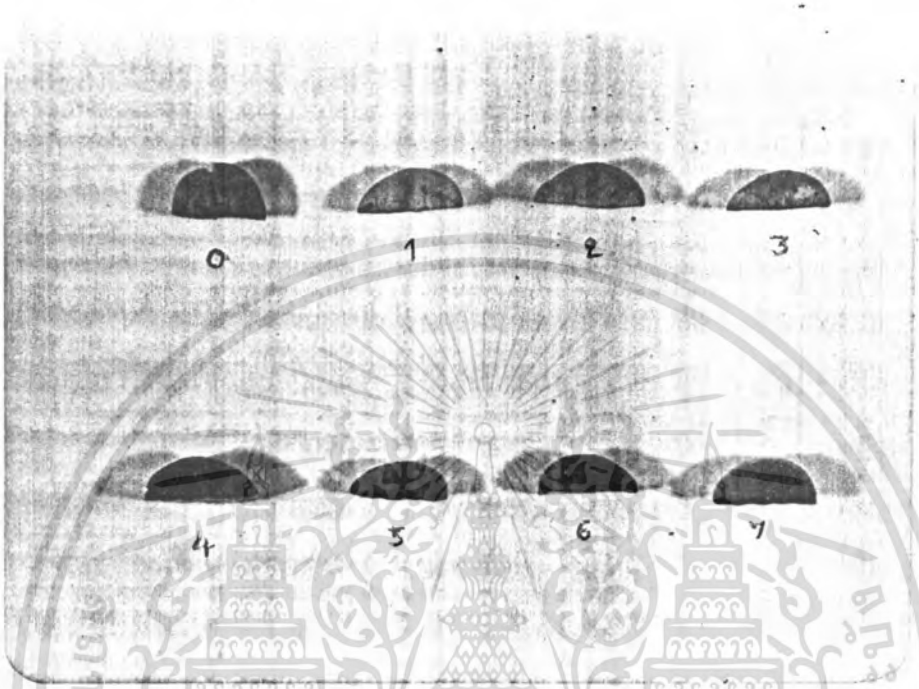
T9. เมล็ดติดสีแดงเข้มทั้งเมล็ด หรือติดสีแดงอมม่วง

T10. เมล็ดติดสีแดงเข้มและมีส่วนที่ไม่ติดสี หรือติดสีเป็นจุดประทั่วเมล็ด

T11. เมล็ดย้อมติดสีแดงเข้มน้อยกว่า 10% นอกนั้นไม่ติดสี

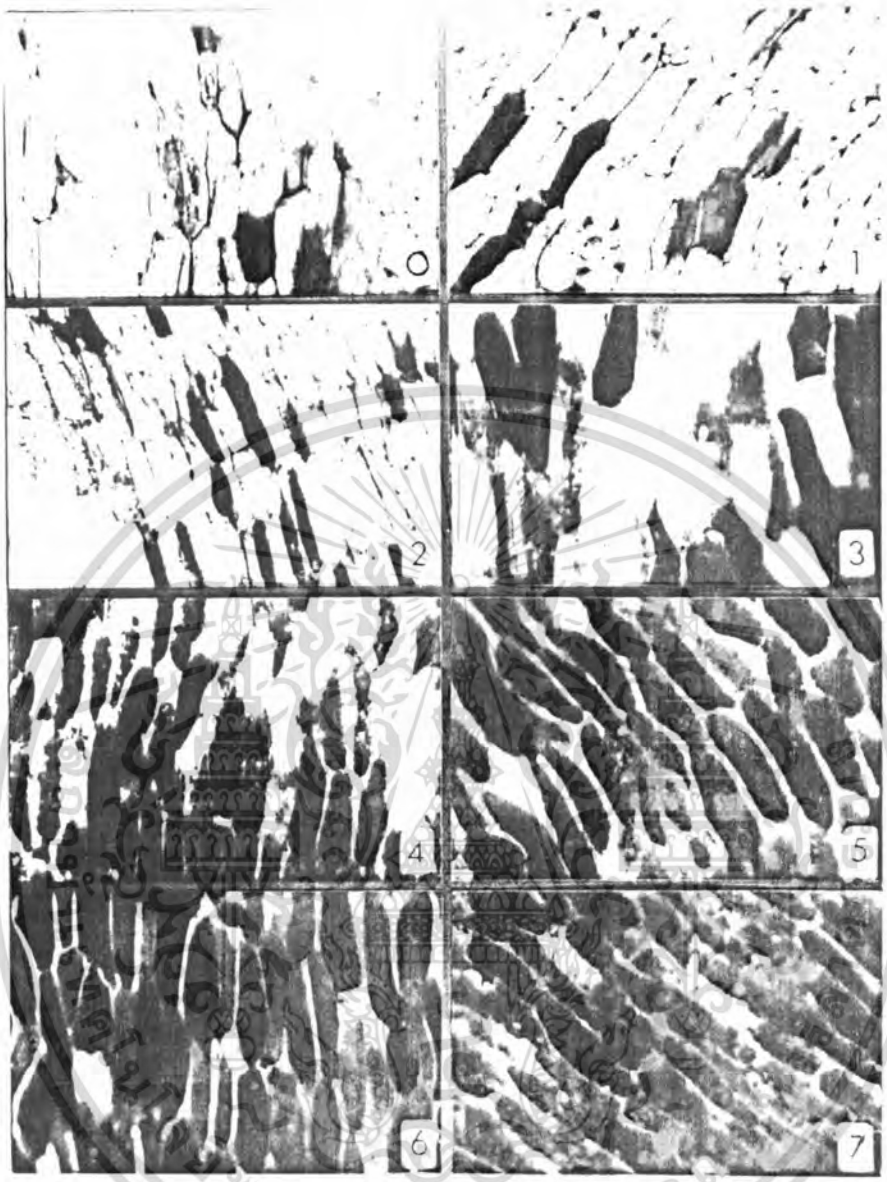
T12. เมล็ดย้อมไม่ติดสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 การกระจายตัวของความเข้มของสี Evan's Blue ที่ย้อมติดใบเลี้ยง ที่ตัดตามขวางของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุตั้งแต่ 0-7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 การติดสี Evan's Blue ของเซลล์บริเวณใบเลี้ยงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ที่ผ่านการเร่งอายุตั้งแต่ 0-7 วัน (เซลล์ที่ถูกย้อมสีน้ำเงินจากการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์ Nikon รุ่น UF XII LABOPHOT(X10)) บริเวณที่ติดสีน้ำเงินของ Evan's Blue คือส่วนของเซลล์ที่ได้รับความเสียหาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

100205

วิจารณ์

ในการศึกษาเกี่ยวกับการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ อาจกระทำได้โดยการเก็บรักษาเมล็ดไว้ในสภาพธรรมดา หรือโดยการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ วิธีการหลังนี้มีความสะดวกและรวดเร็วกว่าประการแรกมาก นอกจากนี้ยังใช้ในการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดได้อีกด้วย (AOSA , 1983) อาการเสื่อมที่มองเห็นได้เป็นการบ่งชี้ให้เห็นว่าเมล็ดได้เสื่อมคุณภาพไปแล้ว อาการดังกล่าวเป็นเมล็ดงอกได้ช้าลง ความงอกลดลง การเจริญเติบโตของต้นกล้าลดลง จำนวนต้นกล้าผิดปกติเพิ่มขึ้น (Abdul-Baki and Anderson,1972) ในการทดลองนี้พบว่า เมล็ดที่เสื่อมคุณภาพโดยการเร่งอายุนี้ ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดลดลง (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตาม ในระหว่าง 2 วันแรกของการเร่งอายุ ความงอกของเมล็ดไม่ได้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้เร่งอายุ (0 วัน) ถึงแม้ว่าจะไม่พบการเปลี่ยนแปลงใด ๆ ของความงอกในช่วงเวลาดังกล่าวก็ตาม จากการตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดด้วย TTC (ตารางที่ 2) พบว่าเมล็ดที่เร่งอายุแม้เพียงแค่ 1 วัน สัดส่วนของเมล็ดที่จำแนกอยู่ใน T3, T6 และ T7 เพิ่มขึ้นประมาณ 1 เท่าเมื่อเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้เร่งอายุ และยิ่งเพิ่มให้เห็นเด่นชัดมากยิ่งขึ้น (T3 และ T6) เมื่อเร่งอายุเมล็ดได้ 2 วัน ลักษณะการติดสีของเมล็ดที่จำแนกดังกล่าวซึ่งได้แก่ สีแดงเข้ม (T3) และเนื้อเยื่อที่ย้อมไม่ติดสี (T6 และ T7) (ภาพที่ 3) น่าจะเป็นการแสดงออกให้เห็นถึงอาการเสื่อมคุณภาพของเมล็ด ส่วนของเนื้อเยื่อที่ย้อมไม่ติดสีนี้ อาจเกิดเนื่องจากการสูญเสียกิจกรรมของ dehydrogenase enzymes (Roberts , 1984) ส่วนบริเวณที่ติดสีแดงเข้มอาจเกิดจากการที่กลุ่มของเมมเบรนได้รับความเสียหาย (Harman and Granett,1972; Powell and Matthews, 1977 ; Schoettle and Leopold , 1984)

ในปัจจุบันทฤษฎีของการเกิด lipid peroxidation เป็นที่เชื่อถือกันอย่างกว้างขวางว่าเป็นตัวการสำคัญที่ทำให้เมล็ดเสื่อมคุณภาพ สารที่เกิดจากปฏิกริยาดังกล่าวจะทำความเสียหายแก่ระบบพื้นฐานของเซลล์ (fundamental cellular system) ตัวอย่างเช่น ทำให้เอนไซม์ไม่ทำงาน โปรตีนเสื่อมสภาพ ระงับการสังเคราะห์โปรตีน และเมมเบรนเสื่อมสภาพ (Halmer and Bewley , 1984 ; Wilson and Mcdonald , 1986) Powell and Matthews (1981) เก็บเมล็ดถั่วลันเตา (Pisum sativum L.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ 25° ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 94 % พบว่ามีการลดลงของ phospholipidsของเมมเบรน ก่อนที่เมล็ดจะสูญเสียความงอกและการติดสีของ TTC และการลดลงดังกล่าวนี้ยังสัมพันธ์กับการรั่วไหลของเมล็ดอีกด้วย การศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Powell and Matthews (1981) เพราะว่าในช่วงเวลา 2 วันของการเร่งอายุ พบว่าเมล็ดมีการรั่วไหลเกิดขึ้น (ภาพที่ 2) ทั้ง ๆ ที่ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดไม่ได้เปลี่ยนเลย (ตารางที่ 1) ดังนั้นสาเหตุสำคัญของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดน่าที่จะเกิดจากความเสียหายของเมมเบรนเป็นประการแรก (Delouche and Baskin,1973) นอกจากนี้ค่า correlation coefficient ที่สูงระหว่างการรั่วไหลของเมล็ดกับความงอก ความมีชีวิตและความแข็งแรง (ตารางที่ 3) เป็นการสนับสนุนความคาดหมายดังกล่าว

เพื่อให้เกิดความมั่นใจยิ่งขึ้นว่าการรั่วไหลของเมล็ดเกิดจากความเสียหายของเมมเบรน ผู้เขียนได้ทำการย้อมสีใบเลี้ยงของเมล็ดด้วย Evan's blue พบว่ายิ่งจำนวนวันเร่งอายุเพิ่มขึ้น การติดสีก็จะยิ่งเพิ่มพื้นที่มากขึ้น (ภาพที่ 4) และเมื่อนำเนื้อเยื่อดังกล่าวมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (ภาพที่ 5) พบว่าเพียงแค่เร่งอายุเมล็ดเพียง 1 วัน จำนวนเซลล์ที่ติดสีน้ำเงินก็เพิ่มมากขึ้น และยิ่งเพิ่มมากขึ้น เมื่อจำนวนวันที่เร่งอายุเพิ่มขึ้น ปรากฏการดังกล่าวนี้สัมพันธ์กับการรั่วไหลของเมล็ด (ภาพที่ 3) เซลล์ที่มีเมมเบรนปกติก็จะไม่ติดสี (Duke and Kakefuda , 1981) แต่เซลล์ที่เมมเบรนเสียหายก็จะติดสี Evan's blue เนื่องจากไปเชื่อมกับ protein (Schoettle and Leopold , 1984) ดังนั้นการรั่วไหลของเมล็ดที่เสื่อมคุณภาพจึงเกิดจากเมมเบรนได้รับความเสียหาย และเนื่องจากเมมเบรนได้รับความเสียหายทั้ง ๆ ที่ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดไม่ได้ลดลงเลย ความเสียหายของเมมเบรนจึงอาจเป็นสาเหตุเบื้องต้นที่นำไปสู่การเสื่อมคุณภาพของเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเปอร์เซนต์ความงอก, อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า การติดสีของ TTC และการนำไปใช้

	ความงอกของเมล็ด	อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า	เมล็ดที่มีชีวิตจากการย้อมด้วย TTC	การนำไปใช้
ความงอกของเมล็ด	-	.87*	.95*	-.97*
อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า		-	.89*	-.95*
เมล็ดที่มีชีวิตจากการย้อมด้วย TTC			-	-.97*
การนำไปใช้				-

* = มีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

1. ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดลดลงเมื่อจำนวนวันเร่งอายุเพิ่มขึ้น
2. การรั่วไหลของสารละลายในเมล็ดมีการเพิ่มขึ้น นับแต่วันแรกที่ทำการเร่งอายุ
3. เมื่อตรวจสอบ membrane damage โดยใช้วิธี TTC staning และ Evan's blue staning พบว่าเมื่อจำนวนวันเร่งอายุเพิ่มขึ้น บริเวณเมมเบรนที่ได้รับความเสียหายก็เพิ่มขึ้น.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

เอกสารอ้างอิง

Abdul-Baki , A.A. and J.D. Anderson. 1972. Physiological and biochemical deterioration of seeds. Pages 283-315 in seeds biology Vol.2 T.T. Kozlowski,ed. Academic Press, Inc., New York.

Associalion of Official Seed Analysts. 1983. Seed vigor testing handbook. Contribution No.32. The Assoc. Off. Seed Analysts.

Delouche, J.C. and C.C. Baskin. 1973. Accelerated aging technigws for predicting the relative storability of seed lots. Seed Sci and Technol. 1: 427-452.

Duke, S.h. and G. kakefuda. 1981. Role of the testa in preventing cellular rupture during imbibition of legume seeds. Plant Physiol. 67: 449-456.

Halmer , P. and J.d. Bewley. 1984. A physiological perspective on seed vigor testing. Seed Sci. and Technol. 12: 561-575.

Harman, G.E. and A.L. Granett. 1972. Deterioration of stored pea seed : changes in germination, membrane permeability and ultrastructure resulting from infection by Aspergillus ruber and from aging. Physiol. Plant Pathol. 2: 271-278.

Oliveira, M.Dea., S.Matthews and Alison A. Powell. 1984. The role of split seed coats in determining seed vigor in commercial seed lots of soybean, as measured by the electrical conductivity test. Seed Sci. & Techol. 12: 659-668

Parrish, D.J. and A.Carl Leopold. 1978. On the Mechanism of Aging in Soyban Seeds. Plant Physiol. 61: 365-368

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pasha, M.K. and R.K.Das. 1982. Quick Viability test of soybean seeds by using tetrazolium. Seed Sci & Technol. 10: 651-655

Powell, A.A. and S.Matthews.1977. Detreiorative changes in pea seeds (Pisum sativum L.) stored in humid or dry conditions. J. Exp. Bot. 28: 225-234

_____ 1981. Association of phospholipid chanes with early stages of seed aging. Ann. Bot. 47: 709-712

Priesley, D.D. and A.C. Leopold. 1979. Absence of Lipid Oxidation during Accelerated Aging of Soybean Seeds. Plant Physiol. 63: 726-729

Roberts, L.W. 1951. Survey of Factors Responsible for reduction of 2,3,5. Triphenyltetrazolium Choride in Plant Meristems. Science. 113: 692-693

Schoettle, A.W. and A.C. Leopold. 1984. Solute Leakage from Artificially Aged Soybean Seeds after Imbibition. Crop Science. 24: 835-838

Sripichitt, A.E. Nawata and S. Shingenage. 1987. Effect of Desiceation with Silica Gel on TTC Staining, Germination,Vigor and Seedcoat Cracking in Soybean Seeds. Japan. J. Trop. Agr. 31(4): 241-248

Taylor, J.A. and D.W. West. 1980. The Use of Evan's Blue Stain to test the Survival of Plant Cells after Exposure to High Salt and High Osmotic Pressure. Journal of Experimental Botany. 31(121): 571-576

Wilson, D.O. Jr. and M.B. Mrdonald, Jr. 1986. the lipid peroxidation model of seed aging. Seed Sci. and Technol. 14: 269-300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของการวัดความงอก

SOV	DF	SS	MS	F-COL
TRAETMENT	7	27575.67	3939.381	129.7347
ERROR	24	728.7576	30.36491	
TOTAL	31	28304.43		

C.V. 12.68289

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของการวัดอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า

SOV	DF	SS	MS	F-COL
TRAETMENT	7	13010.34	1858.62	29.40535
ERROR	24	1516.965	63.20687	
TOTAL	31	14527.31		

C.V. 19.62698

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของการวัดการติดสีของ TTC

SOV	DF	SS	MS	F-COL
TRAETMENT	7	15061.39	2151.627	84.92938
ERROR	24	608.0235	25.33431	
TOTAL	31	15669.41		

C.V. 9.746705

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของการวัดการนำไฟฟ้า

SOV	DF	SS	MS	F-COL
TRAETMENT	7	1933952	276278.8	22.09129
ERROR	24	300149.5	12506.23	
TOTAL	31	2234101		

C.V. 24.95642

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้