สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเปลี่ยนแปลงในความงอก ความแข็งแรง และความสามารถในการซึมผ่านของเมมเบรนของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในระหว่างการเร่งอายุ

Changes in germination,vigor and membrane permeability in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] seeds during accelerated ageing

โดย

นางสาวฤกษนนท์ พลซา

นางสาวศิริขวัญ สวัสดิ์ชิตัง

T109053

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.อารมย์ ศรีพิจิตต์

ชพ.
ว119 ก
2543
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 109053
วัน,เดือน,ปี -4 ส.ค. 2553

b 12230170
i.....

เสนอ

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

พุทธศักราช 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ ปริญญาตรี

ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การเปลี่ยนแปลงในความงอก ความแข็งแรง และความสามารถในการซึมผ่านของเมมเบรนของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในระหว่างการเร่งอายุ

Changes in germination,vigor and membrane permeability in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] seeds during accelerated ageing.

โดย

นางสาวฤกษนนท์ พลซา

นางสาวศิริขวัญ สวัสดิ์ชิตัง

ได้พิจารณาเห็นชอบจาก

.....

(ผศ.ดร.อารมย์ ศรีพิจิตต์)

อาจารย์ที่ปรึกษา

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ.ดร.สมยศ เดชภิรัตนมงคล)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ 1 เดือน ธ.ค. พ.ศ. ๒๕๔๑

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาในระดับปริญญาตรี การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ได้รับการอนุเคราะห์จาก ผศ.ดร.อารมย์ ศรีพิจิตต์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษที่กรุณาให้คำแนะนำคำปรึกษาตลอดจนการควบคุมดูแลและสอนเทคนิคต่างๆ อย่างใกล้ชิด ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง พร้อมทั้งตรวจสอบแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ รศ.ดร.ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์ ที่กรุณาให้คำแนะนำและให้ความรู้ทางด้านสถิติ

ขอขอบคุณบิดาและมารดา ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาและคอยเป็นกำลังใจให้มาโดยตลอด

ขอขอบคุณ พี่ศุภลักษณ์ ปานรัศมี ที่กรุณาให้คำแนะนำและการช่วยเหลืออย่างใกล้ชิด ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

ท้ายสุดนี้ ขอขอบคุณพี่ๆ และเพื่อนๆ ที่ให้คำแนะนำและการช่วยเหลือ ทำให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ฤกษนนท์ พลซา
ศิริขวัญ สวัสดิ์ชิตัง
มิถุนายน 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เรื่อง :การเปลี่ยนแปลงในความงอก ความแข็งแรง และความสามารถในการซึมผ่านของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในระหว่างการเร่งอายุ

Changes in germination,vigor and membrane permeability in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] seeds during accelerated ageing.

โดย :นางสาวฤกษนนท์ พลซา

นางสาวศิริขวัญ สวัสดิ์ชิตัง

สาขา :พืชไร่

ภาควิชา :เทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะ :เทคโนโลยีการเกษตร

อาจารย์ที่ปรึกษา :ผศ.ดร.อารมย์ ศรีพิจิตต์

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของความงอก ความแข็งแรง และความสามารถในการซึมผ่านของเมมเบรนของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง [*Glycine max* (L.) Merr.พันธุ์ ช.ม. 4] ในระหว่างการเร่งอายุ ทำการเก็บเกี่ยวเมื่อเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสุกแก่ทางสรีรวิทยา (ฝักเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งฝัก) นำมาลดความชื้นในร่มให้เหลือประมาณ 11% จากนั้นจึงนำเมล็ดพันธุ์ไปเร่งอายุเป็นระยะเวลา 0 - 7 วัน ในระหว่างการเร่งอายุตรวจสอบความงอก ความแข็งแรง การรั่วไหล และการย้อมสีด้วย TZ และ Evans blue ผลที่ได้พบว่าความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลงตามระยะเวลาของการเร่งอายุที่เพิ่มขึ้นคุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่ลดลงนี้มีแนวโน้มที่จะมีความสัมพันธ์กับการรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์ในระยะ 2 วันแรกของการเร่งอายุดูเหมือนกับว่าเป็นระยะเริ่มแรกของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เพราะทั้งความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ไม่แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้การรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์ที่เพิ่มขึ้นในระยะแรกของการดูดน้ำหลังจากเร่งอายุ 1 วัน ชี้ให้เห็นถึงระยะแรกของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการเสื่อมคุณภาพของเมมเบรน ผลของการย้อมสีเมล็ดพันธุ์ด้วย TZ และ Evans blue เป็นสิ่งที่สนับสนุนให้เห็นถึงการเกิดขึ้นของความเสียหายของเมมเบรน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABSTRACT

The aim of this research was to investigate the effect of changes in germination, vigor and membrane permeability of soybean [*Glycine max* . (L.) Merr. cv. CM4] during accelerated ageing. Seeds were harvested at physiological maturity (the pod was completely yellow) and then dried in the shade until seed moisture was reduced to about 11%. The seeds were subjected to accelerated ageing during 0 – 7 days. During accelerated ageing the seeds were tested for germination, vigor, leachate and stained with TZ and Evans blue. The results showed that germination and vigor of seeds decreased with increasing of ageing period. This decreaes in seed quality had a tendency to associate with increase in seed leachate. In the first 2 days of accelerated ageing appeared to be the early stage of seed deterioration. Since both germination and vigor of seeds did not show any significant difference. In addition, increase in seed leachate during early imbibition following 1 day of accelerated ageing indicated the early stage of seed deterioration which may be due to deterioration of membrane. The results of stained seeds with TZ and Evans blue supported that membrane damage had occured.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(1)
สารบัญภาพ	(2)
สารบัญตารางผนวก	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
ตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	7
ผลการทดลอง	11
วิจารณ์ผลการทดลอง	21
สรุปผลการทดลอง	23
เอกสารอ้างอิง	24
ภาคผนวก	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

Table		หน้า
1	Effect of accelerated ageing on germination, vigor, conductivity of seed leachate and seed imbibition of soybean.	12
2	Effect of accelerated ageing on TZ staining pattern of soybean seeds.	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

Figure		หน้า
1	Effect of accelerated ageing on conductivity of leachate at different periods of soaking of soybean seeds.	13
2	Effect of accelerated ageing of soybean seeds on the course of water imbibition.	14
3	TZ staining pattern of soybean seeds following accelerated ageing.	15
4	Effect of acclerated ageing on cotyledonary cross section staining with Evans blue.	19
5	Effect of accelerated ageing on damaged cells of cotyledons expressed by staining with Evans blue.	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางผนวก

Table		หน้า
1	Analysis of variance for seed germination.	28
2	Analysis of variance for seedling growth rate.	28
3	Analysis of variance for speed of germination.	28
4	Analysis of variance for electrical conductivity of seed leachate (EC).	29
5	Analysis of variance for water imbibition.	29
6	Analysis of variance for viability (TZ test).	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

การใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงปลูกเป็นกุญแจสำคัญเบื้องต้นของความสำเร็จในการผลิตพืช การเกษตรในปัจจุบันมีความต้องการใช้เมล็ดพันธุ์ที่งอกเป็นต้นกล้าอย่างรวดเร็ว สม่ำเสมอและแข็งแรงเพื่อให้เกิดความมั่นใจและความพึงพอใจในผลผลิตที่จะได้รับ นอกจากนี้การใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดีปลูกทำให้การใช้อัตราปลูกและระยะปลูกที่เหมาะสม การถอนแยกและปลูกซ่อมอาจเป็นสิ่งที่ไม่มีความจำเป็นเพราะ การใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพปลูกทำให้พืชมีความสม่ำเสมอในการเจริญเติบโตและการสุกแก่ในเวลาเดียวกัน คุณสมบัติเช่นนี้เป็นสิ่งที่จำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการใช้เครื่องเก็บเกี่ยว ดังนั้นการใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงซึ่งหมายความรวมถึง การมีความงอกและความแข็งแรงสูง ความบริสุทธิ์ของเมล็ดและปราศจากโรคที่ติดมากับเมล็ด (Basu,1994) จึงเป็นปัจจัยพื้นฐานที่สำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับเกษตรกรในเขตร้อนชื้นที่จะนำไปสู่ความสำเร็จในการผลิตพืช

การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เป็นสาเหตุที่ทำให้คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ลดลง การใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพไม่ดีปลูกทำให้เกิดความสูญเสียไม่ว่าจะเป็นในด้านเวลา เงินทุนและประสิทธิภาพโดยรวมในการผลิต McDonald (1999) กล่าวว่า การใช้เมล็ดพันธุ์คุณภาพต่ำปลูกในประเทศสหรัฐอเมริกาทำให้เกิดการสูญเสียมูลค่าทางเศรษฐกิจคิดเป็นมูลค่าสูงถึง 8,600 ล้านบาทต่อปี การสูญเสียจะสูงยิ่งกว่านี้มากนักเมื่อ คิดในระดับทั้งโลก การสูญเสียคุณภาพของเมล็ดพันธุ์โดยเฉพาะถั่วเหลืองอาจเกิดขึ้นในระยะหลังการสุกแก่ก่อนเก็บเกี่ยว ระหว่างการเก็บเกี่ยวและระหว่างการเก็บรักษา การเสื่อมคุณภาพจะเกิดเร็วยิ่งขึ้นถ้าเมล็ดพันธุ์อยู่ภายใต้สภาพที่มีอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์สูง (Delouche *et al* ., 1973) ดังนั้นการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์จึงเป็นอุปสรรคสำคัญในการผลิตพืช

การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นอย่างช้าๆ โดยจะเริ่มขึ้นภายหลังการสุกแก่ทางสรีรวิทยาของเมล็ดพันธุ์และดำเนินไปเรื่อยจนกระทั่งเมล็ดพันธุ์ตาย กลไกที่แท้จริงหรือสาเหตุของการเสื่อมคุณภาพซึ่งนำไปสู่การสูญเสียความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ยังไม่เป็นที่เข้าใจกันดี มีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีหลายอย่างเกิดขึ้นในเมล็ดพันธุ์ขณะที่การเสื่อมคุณภาพได้เริ่มต้นขึ้น (Delouche and Baskin,1973)ในบรรดาการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เชื่อกันว่าความเสียหายที่เกิดขึ้นกับเมมเบรนในเซลล์ซึ่งทำให้เกิดการรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์เป็นปรากฏการณ์แรกสุดของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์(Stewert and Bewley ,1980 ; Delouche and Baskin ,1973) เนื่องจากเอนไซม์ในวิถีของเมตาโบลิซึม (metabolic pathway) ดำเนินกิจกรรมอยู่ในโครงสร้างของเมมเบรน เมื่อเมมเบรนได้รับความเสียหายอาจมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเมตาโบลิซึมซึ่งจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไปสู่การสูญเสียความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ในที่สุด (Delouche and Baskin , 1973) การมีความรู้ความเข้าใจในกระบวนการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์จะทำให้ได้ข้อมูลที่อาจนำไปสู่วิธีการที่ใช้ควบคุมแก้ไขและปรับปรุงให้เมล็ดพันธุ์เกิดการเสื่อมคุณภาพช้าลง ทำให้เมล็ดพันธุ์ยังคงมีความงอกและความแข็งแรงเมื่อถึงฤดูปลูกถัดไป

โดยทั่วไปอัตราการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์จะเพิ่มขึ้น เมื่อเมล็ดพันธุ์มีความชื้นและอุณหภูมิเพิ่มขึ้น Harrington (1972) ได้เสนอว่าการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้อยู่ภายในช่วงที่มีความชื้นและอุณหภูมิปกติแล้ว อายุในการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์จะเพิ่มขึ้น 2 เท่าเมื่อความชื้นเมล็ดพันธุ์ในแต่ละครั้งลดลง 1 % หรือเมื่ออุณหภูมิในแต่ละครั้งลดลง 5°ซ จากข้อเสนอนี้เราจึงสามารถที่จะประเมินได้ว่าคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่อุณหภูมิ 40°ซ และเมล็ดพันธุ์มีความชื้น 18 % จะเสื่อมอย่างรวดเร็วประมาณ 500 เท่าซึ่งมากกว่าการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์ที่อุณหภูมิ 20 °ซ และความชื้น 8 % (Parrish and Leopold , 1978) ดังนั้นการให้เมล็ดพันธุ์ได้รับสิ่งแวดล้อมที่มีความชื้นและอุณหภูมิสูง จึงเป็นวิธีการที่สะดวกในการนำมาใช้ศึกษาการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์ หรือการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เพราะใช้เวลาเพียงไม่กี่วัน แทนที่จะต้องรอคอยเป็นระยะเวลาหลายเดือนในสภาพการเก็บรักษาปกติ (Delouche and Baskin, 1973; McDonald, 1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1.เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของความงอก ความแข็งแรง และความสามารถในการซึมผ่านของเมมเบรนของเมล็ดถั่วเหลืองภายหลังการเร่งอายุ

2.เพื่อศึกษาลักษณะการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เมื่อย้อมสีด้วยสารละลายเตรทตราโซเลียมคลอไรด์ และEvans blue ภายหลังการเร่งอายุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจเอกสาร

คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่ปลูกเป็นปัจจัยพื้นฐานสำคัญต่อการตั้งตัวของต้นกล้าที่จะไปสู่ความสำเร็จในผลผลิตที่จะได้รับ ความงอกและความแข็งแรงจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นในระหว่างการพัฒนาของเมล็ดพันธุ์ เมื่อเมล็ดพันธุ์สุกแก่ทางสรีรวิทยา(physiological maturity,PM) เมล็ดพันธุ์จะมีความงอกและความแข็งแรงสูงสุด(Tekrony *et al.*,1980) ถึงแม้ว่าที่ระยะ PM เป็นระยะที่เมล็ดพันธุ์มีคุณภาพสูง โดยปกติเราจะไม่ทำการเก็บเกี่ยวกันในระยะนี้เนื่องจากเมล็ดพันธุ์มีความชื้นสูงมากเกินไป ต้องรอจนกว่าความชื้นของเมล็ดพันธุ์จะลดลงเหลือประมาณ 14% ซึ่งเป็นระยะสุกแก่ที่เก็บเกี่ยวได้ (harvest maturity,HM) (Tekrony *et al.*,1979;Delouche,1980) โดยปกติการเสื่อมคุณภาพจะเริ่มขึ้นเมื่อเมล็ดพันธุ์สุกแก่ที่ระยะ PM เป็นต้นไปช่วงระยะเวลาระหว่าง PM ถึง HM นี้กล่าวได้ว่าเป็นระยะแรกของการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์โดยที่ยังอยู่ในแปลง(filed storage) ดังนั้นการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์จึงเกิดขึ้นได้ทั้งในระยะหลังการสุกแก่ก่อนการเก็บเกี่ยวและในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเมล็ดพันธุ์ การศึกษาการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่ PM น่าจะมีความเหมาะสมเนื่องจากเป็นระยะที่การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เกิดขึ้นน้อยที่สุด การเปลี่ยนแปลงใดๆ ที่เกิดขึ้นก่อนการสูญเสียความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์อาจเป็นสาเหตุเบื้องต้นของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

โดยทั่วไปอัตราการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์จะเพิ่มขึ้นเมื่อความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิของอากาศเพิ่มขึ้น ในระหว่าง 2 ปัจจัยนี้ความชื้นสัมพัทธ์มีอิทธิพลต่ออายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์มากกว่า(Delouche *et al.*,1973; Bass,1979) เมล็ดพันธุ์มีคุณสมบัติเป็น hygroscopic เมล็ดพันธุ์สามารถที่จะดูดหรือคายความชื้นจนกว่าจะเกิดความสมดุลระหว่างความดันไอของความชื้นเมล็ดพันธุ์และความดันของความชื้นบรรยากาศ เมล็ดพันธุ์ต่างชนิดกันจะมีความสมดุลดังกล่าวต่างกัน ความผันแปรดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดพันธุ์ เมล็ดพันธุ์ที่มีน้ำมันเป็นองค์ประกอบในสัดส่วนที่สูงจะทำให้ความสมดุลดังกล่าวลดลง(Delouche,1982) Delouche (1982) ได้ให้ตัวอย่างความสมดุลระหว่างความชื้นเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองกับความชื้นสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 25 °ซ ดังนี้

ความชื้นสัมพัทธ์(%)	ความสมดุลของความชื้นเมล็ด(%)
15	4.3
30	6.5
45	7.4
60	9.3
75	13.1
90	18.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความชื้นสัมพัทธ์นอกจากจะมีอิทธิพลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงของความชื้นเมล็ดพันธุ์แล้ว ยังมีผลโดยอ้อมต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์อีกด้วย Christensen and Kaufman (1969) ได้สาธิตให้เห็นถึงอิทธิพลของความชื้นสัมพัทธ์ต่อการเจริญของเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ดังนี้

1.เชื้อราที่เกิดในระหว่างการเก็บรักษา(storage fungi) เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เมล็ดพันธุ์สูญเสียความงอก

2.เชื้อรานี้ไม่สามารถเจริญและขยายพันธุ์ในสภาพที่เมล็ดพันธุ์มีความชื้นสมดุลกับความชื้นสัมพัทธ์ที่ต่ำกว่า 65-75 % และ

3.การลดความชื้นเมล็ดให้สมดุลกับความชื้นสัมพัทธ์ที่ต่ำกว่า 65-70 % เชื้อราดังกล่าวก็จะไม่ทำความเสียหายให้กับเมล็ดพันธุ์

ดังนั้นการศึกษาการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์จึงไม่ควรมองข้ามเชื้อราซึ่งอาจมีส่วนร่วมไม่มากก็น้อยในการทำให้เกิดการสูญเสียในคุณภาพเมล็ดพันธุ์

การเสื่อมคุณภาพทำให้เมล็ดพันธุ์เกิดการเปลี่ยนแปลงในลักษณะต่างๆ Delouche and Baskin (1973) ได้เสนอลำดับการเปลี่ยนแปลงการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ดังนี้

1.การเสื่อมของเมมเบรนและการสูญเสียความสามารถในการควบคุมการซึมผ่านของสาร

2.การสูญเสียระบบการสร้างพลังงานและกลไกการสังเคราะห์

3.การหายใจและการสังเคราะห์ลดลง

4.อัตราความงอกและอัตราการเจริญของต้นกล้าในระยะแรกลดลง

5.อัตราการเจริญและพัฒนาของพืชลดลง

7.ความสม่ำเสมอของการเจริญและพัฒนาในประชากรพืชลดลง

8.อ่อนแอต่อสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมโดยเฉพาะในระหว่างการงอกและการพัฒนาของต้นกล้าในระยะแรก

9.เปอร์เซ็นต์การงอกของต้นกล้าลดลง

10.เปอร์เซ็นต์ต้นกล้าผิดปกติเพิ่มขึ้น

11.สูญเสียความสามารถในการงอก

ลำดับของการเสื่อมคุณภาพนี้จะเห็นได้ว่าเมล็ดพันธุ์ที่สูญเสียความงอกโดยสิ้นเชิงจะเป็นลำดับสุดท้ายของการเสื่อมและเป็นลำดับที่การเสื่อมคุณภาพเกิดขึ้นอย่างรุนแรงมากที่สุด ส่วนลำดับที่เกิดขึ้นมาก่อนนั้นเป็นการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและสรีรวิทยา การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเป็นผลที่เกิดจากการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ การมีความรู้ความเข้าใจในกลไกของการเสื่อมทำให้เราสามารถค้นหาวิธีการที่จะควบคุมหรือปรับปรุงให้เมล็ดพันธุ์มีความแข็งแรงในระดับที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลไกหรือสาเหตุของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่จะนำไปสู่การสูญเสียความงอกและความแข็งแรงยังไม่เป็นที่ทราบกันดี นักวิทยาศาสตร์หลายท่านได้นำเสนอกระบวนการหรือปรากฏการณ์ซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ได้แก่ ความเสียหายของ DNA (Chea and Osbosne,1978) การสูญเสียเอนไซม์ (Woodstock,1973) การสะสมสารพิษ (Harrington,1973) ระบบการหายใจเสียหาย(Leopold and Musgrave,1980) ระบบการสังเคราะห์โปรตีนเสียหาย (Blowers *et al.*,1980) และ lipid peroxidation ซึ่งทำให้เมมเบรนเปลี่ยนแปลง (Kalpana and Madhava Rao,1995; Mcdonald,1999)

ปัจจุบันเชื่อกันว่า lipid peroxidation เป็นสาเหตุสำคัญของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์โดยก่อให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์ในลักษณะต่างๆ ได้แก่ mitochondria เสียหาย กลไกการสังเคราะห์เอนไซม์เสื่อม เมมเบรนและ nuclear membrane เสียหาย การที่ระบบเมมเบรนของเซลล์ได้รับความเสียหายได้ง่ายก็เพราะเมมเบรนนั้นประกอบไปด้วยสัดส่วนของไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูง จึงทำให้เกิดความเสียหายจาก peroxidation ได้ง่าย (Harrington,1973; Ferguson *et al.*,1990) การเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันดังกล่าวทำให้โครงสร้างต่างๆ ของเมมเบรนไม่สามารถกลับคืนมาในลักษณะเดิมจึงทำให้เกิดการรั่วไหลของสารอินทรีย์ต่างๆ ออกจากเมล็ดพันธุ์ (Parrish and Leopold,1978; Sreeramulu,1983) Anderson *et al.*(1970) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงในเซลล์คัภพะของเมล็ดข้าวสาลีที่เสื่อมคุณภาพพบว่ามีการแยกตัวของผนังเมมเบรนออกห่างจากผนังเซลล์วอลล์และมีการฉีกขาดเกิดขึ้น(rupture) นอกจากนี้ยังพบสารมีลักษณะเป็นเม็ด(grainy material) อยู่ระหว่างผนังเมมเบรนและผนังเซลล์วอลล์ ซึ่งอาจเป็นสารที่กำลังรั่วไหลออกจากเซลล์ ในทำนองเดียวกัน Sakunnarak (1992) ทำการศึกษาในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพบการแยกตัวของผนังเมมเบรนออกจากผนังเซลล์วอลล์ในเซลล์ของเนื้อเยื่อชั้นโปรคอร์เทกซ์(procotical tissue) ของรากอ่อนของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุเป็นเวลา 6 วัน ที่ 40 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 100% และพบการรวมตัวกันของเม็ดโปรตีน(protein body) ซึ่งสันนิษฐานว่าเป็นความเสียหายที่เกิดจากการย่อยทำลายของเอนไซม์(hydrolytic damage) จากการศึกษาในข้างต้นทำให้เราเข้าใจว่าความเสียหายของผนังเมมเบรนเป็นปรากฏการณ์แรกของเมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์การทดลอง

เครื่องแก้ว

1. โถดูดความชื้น (Desiccator)
2. Petri dish
3. Beaker
4. Cylinder

เครื่องมืออุปกรณ์สำหรับตรวจสอบความชื้น

1. ตู้อบ (Hot air oven)
2. กระป๋องอลูมิเนียม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 ซม. สูง 4 ซม.
3. เทอร์โมมิเตอร์
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า (ทศนิยม 3 ตำแหน่ง)

อุปกรณ์สำหรับตรวจสอบความงอก

1. กระดาษเพาะ (Paper towel)
2. ถุงพลาสติก ขนาด 35.5 x 55.5 ซม.
3. ตู้เพาะ (Incubator)
4. กล่องพลาสติกสำหรับเพาะ ขนาด 18 x 27 x 10 ซม.
5. เมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 4
6. น้ำกลั่น
7. แอลกอฮอล์

เครื่องมือวัดค่าการนำไฟฟ้า

1. Jenway 4014 conductivity meter และ PCM 121 (K) conductivity cell

สารเคมี

1. Evans blue
2. 2 , 3 , 5 – Triphenyl tetrazolium chloride (TZ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 4 ผลิตที่อำเภอพระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี โดยปลูกเมื่อวันที่ 30 พฤษภาคม 2543 ทำการเก็บเกี่ยวเมื่อเมล็ดพันธุ์สุกแก่ในระยะ PM (ฝักเป็นสีเหลืองทั้งฝัก) นำเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวในระยะนี้มาตรวจสอบความชื้นเบื้องต้นและลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ให้เหลือประมาณ 11% โดยการตากเมล็ดพันธุ์ในที่ร่มหลังจากนี้นำเมล็ดพันธุ์ไปเร่งอายุและตรวจสอบความงอก ความแข็งแรง การรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์ การย้อมสีเมล็ดพันธุ์ด้วย TZ และ Evans blue

การตรวจสอบความชื้นของเมล็ดพันธุ์

หาโดยนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจำนวน 150 เมล็ด ทำ 3 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด อบที่อุณหภูมิ 105°ซ นาน 24 ชั่วโมง หาเปอร์เซ็นต์ความชื้น (wet weight basis) โดยคำนวนจากสูตร

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{\text{(น้ำหนักสด – น้ำหนักแห้ง) x 100}}{\text{น้ำหนักสด}}$$

การเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

แบ่งเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองออกเป็น 8 กลุ่มๆ ละ 150 เมล็ด วางเมล็ดให้เป็นชั้นเดียวบนตะแกรงลวด (9.5 x 9.5 x 4.5 ซม.) ในกล่องพลาสติก (10.5 x 10.5 x 6 ซม.) ที่บรรจุน้ำ 110 มล. หรืออยู่ห่างจากน้ำ 2 ซม. ปิดฝากล่องให้สนิทนำไปอบที่อุณหภูมิ 40°ซ ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 100% ใช้เวลานาน 0 (control) ,1, 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 วัน เมื่อครบกำหนดให้นำเมล็ดพันธุ์ออกมาผึ่งลมให้แห้งในห้องปฏิบัติการนาน 3 วันและบรรจุลงในถุงพลาสติกพร้อมกับรัดปากถุงให้แน่นและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°ซ เพื่อรอการตรวจสอบความงอก ความแข็งแรง การรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์ การย้อมสีด้วย TZ และ Evans blue

การตรวจสอบความงอก

นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุแล้วจำนวน 150 เมล็ด ทำ 3 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด วางบนกระดาษเพาะ(paper towel) ที่ชื้นด้วยน้ำกลั่น โดยวางให้ส่วนของ micropyle หันไปทางขอบบนของกระดาษโดยให้แถวแรกห่างจากขอบกระดาษด้านบน 6.5 ซม. แถวที่ 2 ห่างจากแถวแรก 6.5 ซม. วางเมล็ดพันธุ์ให้เหลื่อมกันในแต่ละแถว(AOSA,1983) ม้วนกระดาษหลวมๆ ใส่ในถุงพลาสติกที่เติมน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อยแล้วใช้ยางมัดปากถุงเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25°ซ ประเมินผลสองครั้งหลังเพาะได้ 5 วันและ 8 วัน (ISTA,1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจสอบความแข็งแรง

การตรวจสอบความแข็งแรงที่ใช้มีดังนี้

1.อัตราการเจริญของต้นกล้า (Seedling growth rate, SGR)

นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุจำนวน 150 เมล็ด ทำ 3 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด นำมาเพาะตามการตรวจสอบความงอกมาตรฐาน (ISTA,1985) ที่อุณหภูมิ 25°ซ นาน 8 วัน หาน้ำหนักแห้งของต้นกล้าที่งอกปกติโดยใช้มีดโกนตัดใบเลี้ยงของต้นกล้าทิ้ง นำต้นกล้าที่ได้ใส่ถุงกระดาษอบที่อุณหภูมิ 105°ซ นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง (มก.) คำนวนหาอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าดังนี้

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

2.ความเร็วในการงอก (Speed of germination)

นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุจำนวน 150 เมล็ด ทำ 3 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด เพาะตามวิธีการตรวจสอบความงอกมาตรฐาน โดยประเมินผล 2 ครั้ง ที่ 5 วันและ 8 วัน แล้วคำนวนหาอัตราเร็วในการงอกจากสูตร (AOSA,1983)

$$\text{อัตราเร็วในการงอก} = \frac{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}{\text{จำนวนวันที่นับครั้งแรก}} + \frac{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}{\text{จำนวนวันที่นับครั้งสุดท้าย}}$$

การย้อมสีเมล็ดพันธุ์

1.การย้อมสีเมล็ดพันธุ์ด้วย TZ

นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุจำนวน 150 เมล็ด ทำ 3 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด มาทำให้อ่อนนุ่มด้วยการให้ดูดน้ำระหว่างกระดาษเพาะที่ชื้นด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 1 คืน แล้วจึงนำเมล็ดพันธุ์แช่ในสารละลาย TZ 1% ที่อุณหภูมิ 35°ซ ในที่มืดนาน 3 ชั่วโมง (Grabe,1970) แกะเยื่อหุ้มเมล็ดพันธุ์ออกแล้วประเมินรูปแบบการติดสีและความเข้มของสีออกเป็นเมล็ดพันธุ์ที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต

2.การย้อมสีด้วย Evans blue

นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุในระยะต่างๆ จำนวน 10 เมล็ด ทำให้อ่อนนุ่มด้วยการให้ดูดน้ำระหว่างกระดาษเพาะที่ทำให้ชื้นด้วยน้ำกลั่นนาน 1 คืน จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ไปผ่าตามขวางโดยที่เยื่อหุ้มเมล็ดยังไม่ขาดจากกันแล้วนำไปแช่สารละลาย Evans blue 1% นาน 2 ชั่วโมง ล้างเมล็ดพันธุ์ด้วยน้ำประปาและใช้มีดโกนตัดเซลล์เนื้อเยื่อที่ติดสีไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจสอบการรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์

วิธีที่ใช้มีดังนี้

1.การดูดน้ำของเมล็ด

นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุจำนวน 150 เมล็ด ทำ 3 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด ไปชั่งน้ำหนักแล้วจึงแช่ในน้ำกลั่น 120 มล.ในบีกเกอร์ (250 มล.) ที่อุณหภูมิ 20°ซ วัดการดูดน้ำทุกๆ ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมง และวัดครั้งสุดท้ายที่ 24 ชั่วโมง

2.การนำไฟฟ้าของสารที่รั่วไหลออกจากเมล็ดพันธุ์ (Electrical conductivity of seed leachate)

นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการเร่งอายุจำนวน 150 เมล็ด ทำ 3 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด ชั่งน้ำหนักแล้วแช่ในน้ำกลั่น 120 มล. ในบีกเกอร์ (250 มล.) ปิดด้วย Aluminium foil อบที่อุณหภูมิ 20°ซ วัดค่าการนำไฟฟ้าของสารละลายที่รั่วไหลออกจากเมล็ดพันธุ์ด้วย Jenway 4014 conductivity mater และ PCM 121 (k=1) conductivity cell ทุกๆ 1 ชั่วโมง เป็นระยะ 10 ชั่วโมง และวัดครั้งสุดท้ายที่ 24 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปวนทางสถิติของการเปลี่ยนแปลงการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในระหว่างการเร่งอายุโดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design ทำ 3 ซ้ำ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองก่อนการเร่งอายุมีความงอก ความมีชีวิตและความแข็งแรงสูง แต่ภายหลังการเร่งอายุมีผลทำให้คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวลดลงอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ (Table1) ความงอกและความมีชีวิตเริ่มลดลงอย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติเมื่อเร่งอายุได้ 3 วัน ส่วนความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ซึ่งแสดงออกมาในรูปของอัตราการเจริญของต้นกล้าและความเร็วในการงอกก็เป็นไปในทำนองเดียวกันกับความงอกและความมีชีวิต เมล็ดพันธุ์สูญเสียความงอกหมดสิ้นเมื่อทำการเร่งอายุตั้งแต่ 5 วัน ขึ้นไป

การรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์

เมล็ดพันธุ์มีการรั่วไหลเพิ่มขึ้นโดยตลอดระยะเวลาของการเร่งอายุ (Table1) แต่การรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์เริ่มแสดงความแตกต่างทางสถิติหลังจากที่เร่งอายุไปได้ 2 วัน อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจสอบการรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์เป็นระยะๆ ภายในเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ามีการรั่วไหลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากที่แช่น้ำไปได้เพียง 1 ชั่วโมง (Figure1) หลังจากนี้ไปแล้วอัตราการรั่วไหลโดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์ที่เร่งอายุไปได้ 1,2,3 และ 4 วัน จะมีลักษณะเป็นเส้นตรง ซึ่งเป็นการแสดงให้เห็นว่าระบบเมมเบรนกำลังอยู่ในระหว่างการซ่อมแซมตัวเองหรือการจัดเรียงตัวใหม่ (Villiers,1973; Parrish and Leopold,1978) จึงทำให้การรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์ลดลงในเวลาต่อมา

การดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์

เมล็ดพันธุ์ไม่แสดงความแตกต่างทางสถิติตลอดระยะเวลา 4 วัน ของการเร่งอายุเมื่อเปรียบเทียบกับ control (Table1) อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจสอบการดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์เป็นระยะๆ ภายใน 24 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่เร่งอายุมีการดูดน้ำเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วนานถึง 5 ชั่วโมง หลังจากนี้จึงเพิ่มขึ้นช้าลงโดยตลอด ในขณะที่การดูดน้ำของ control ก็เพิ่มขึ้นในลักษณะที่เป็นคู่ขนานไปกับเมล็ดพันธุ์ภายหลังการเร่งอายุ 1,2,3 และ 4 วัน แต่เพิ่มขึ้นช้ากว่าโดยตลอด (Figure 2) การดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์ภายหลังจากการเร่งอายุ 5,6, และ 7 วัน น้อยกว่า control เมื่อสิ้นสุดการดูดน้ำที่ 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table1 Effect of accelerated ageing on germination, viability, vigor, conductivity of seed leachate and seed imbibition of soybeans.

Days aged	Germ (%)	Viability (%)	SGR (mg/seedling)	Speed (index)	Conductivity (μs/cm/g seed)	Imbibition (mg/seed)
0	98.0a[1]	99.3a	48.3a	9.8a	49.8f	181.8a
1	97.3a	94.6a	47.4a	9.7a	56.9f	187.7a
2	96.0a	88.6a	48.9a	9.6a	80.6e	188.1a
3	49.0b	60.0b	41.0b	4.8b	114.8d	186.2a
4	29.0c	54.0b	29.9c	2.8c	145.3c	185.9a
5	0d	0d	0d	0d	201.8b	143.5c
6	0d	0d	0d	0d	211.9b	163.4b
7	0d	0d	0d	0d	253.2a	163.9b

[1]Means followed by the same letter within a column are not statistically different at p = 0.01 according to Duncan's multiple range test.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

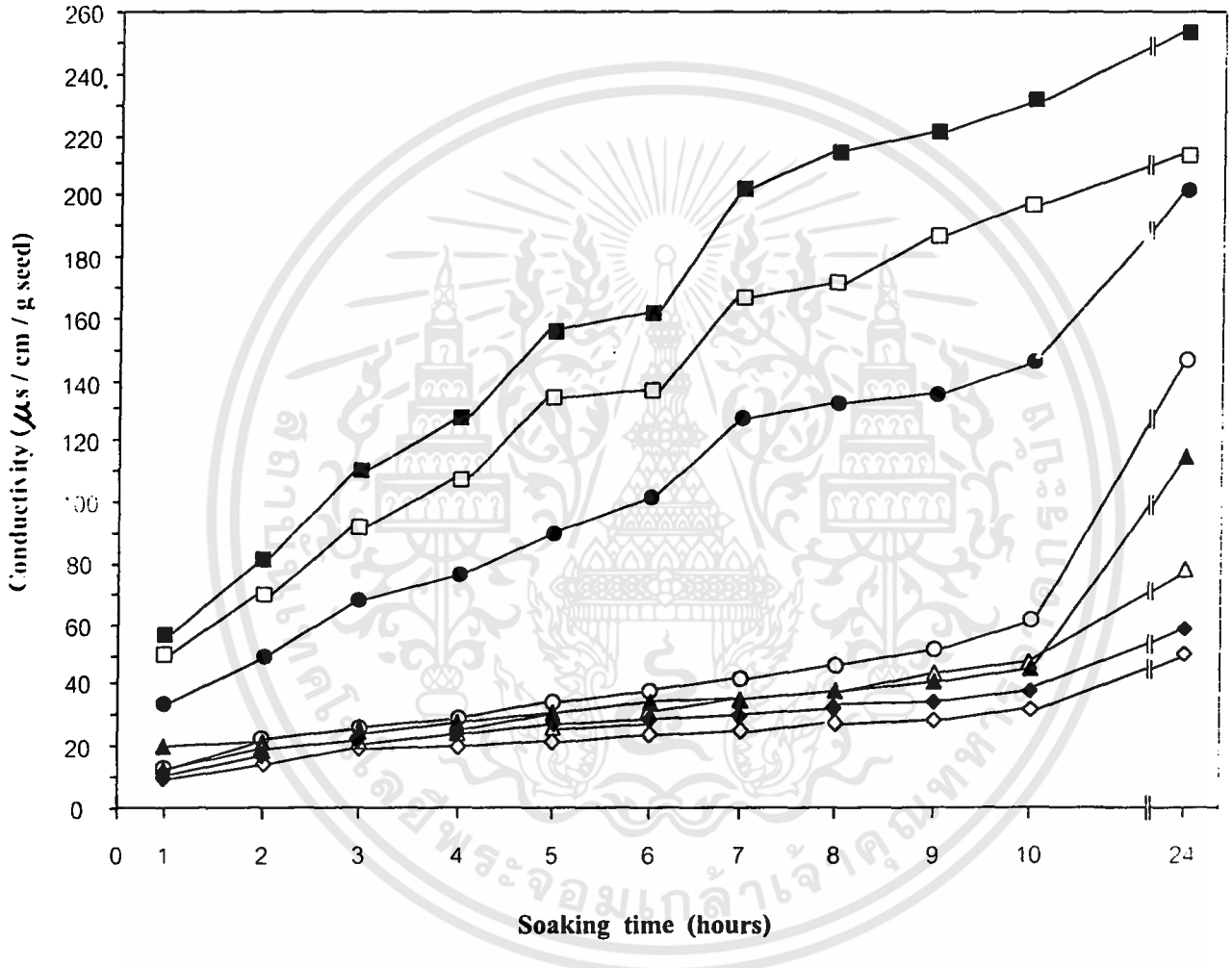

Figure 1 Effect of accelerated ageing on conductivity of leachate at different periods of soaking of soybean seeds.

◊ , 0 day aged ; ♦ , 1 day aged ; Δ , 2 day aged ; ▲ , 3 day aged, ○, 4 day aged ; ● , 5 day aged ; □ , 6 day aged ; ■ , 7 day aged.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

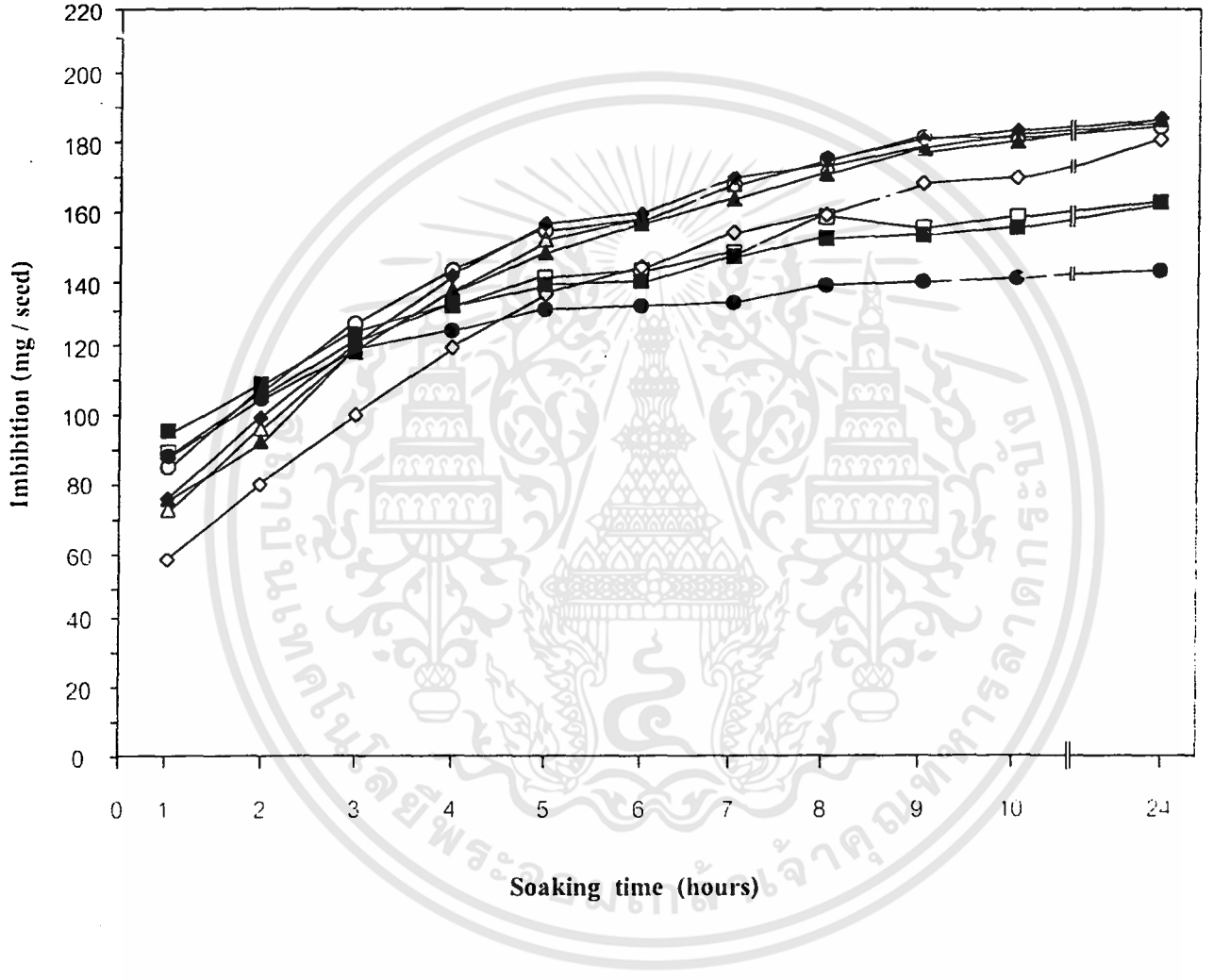

Figure 2 Effect of accelerated ageing of soybean seeds on the course of water imbibition.

◊ , 0 day aged ; ♦ , 1 day aged ; Δ , 2 day aged ; ▲ , 3 day aged, O, 4 day aged ; ● , 5 day aged ; □ , 6 day aged ; ■ , 7 day aged.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Figure 3 TZ staining pattern of soybean seeds following accelerated ageing.

Viable seed TZ1 Seed completely stained, stain is normal red color and uniform.

TZ2 Seed completely stained with minor light stained area.

TZ3 Seed completely stained with dark red patches (less than 50%) irregulary distributed on cotyledons except radicle hypocotyl axis.

TZ4 Seed stained with dark red patches (less than 50%) irregulary distributed on cotyledons except radicle hypocotyl axis together with minor unstain areas on cotyledons except on the axis.

Nonviable seed TZ5 Seed with dark red patches (more than 50%) together with unstained areas: (1) at juncture of radicle hypocotyl axis and cotyledons; (2) on area where plumule located; (3) more than one half of cotyledons.

TZ6 Seed completely stained with dark red: (1) on radicle hypocotyl axis; (2) more than 50% of upper cotyledons.

TZ7 Seed stained with dark red together with unstained areas which are similar to TZ5.

TZ8 Seed completely stained with dark red on entire seed.

TZ9 Seed almost entirely unstained except dark red color at radicle hypocotyl axis and peripheeal cotyledons.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Figure 3 TZ staining pattern of soybean seeds following accelerated ageing.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

Table2 Effect of accelerated ageing on TZ staining pattern of soybeans.

Days	Viable seed (%)				Nonviable seed (%)				
aged	TZ1	TZ2	TZ3	TZ4	TZ5	TZ6	TZ7	TZ8	TZ9
0	71.3	1.3	14.0	12.6	0.6	ND[1]	ND	ND	ND
1	39.3	ND	5.3	43.3	5.3	ND	ND	ND	ND
2	32.0	ND	17.3	39.3	10.0	1.3	ND	ND	ND
3	7.3	ND	21.3	31.3	10.0	24.0	5.3	ND	ND
4	17.3	ND	10.6	26.0	21.3	18.6	5.3	0.6	0.3

[1]ND = not detect

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

109053

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การติดสีของเมล็ดพันธุ์

ลักษณะการติดสีของเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมสีด้วย TZ แบ่งออกได้เป็น 9 แบบ (TZ1 – TZ9) (Figure3) รูปแบบการติดสีผันแปรไปตามระยะเวลาของการเร่งอายุ (Table2)

จากการย้อมสีเมล็ดพันธุ์ด้วยสารละลาย TZ พบว่าสัดส่วนของเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมติดสีปกติโดยสมบูรณ์ทั้งเมล็ด (TZ1) ลดลงโดยตลอดระยะเวลาของการเร่งอายุที่เพิ่มขึ้น (Table2) การลดลงของสัดส่วนเมล็ดพันธุ์ใน TZ1 พร้อมกับการเพิ่มขึ้นของสัดส่วนของเมล็ดพันธุ์ในลำดับที่สูงขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งตั้งแต่ TZ3 ขึ้นไปแสดงให้เห็นว่าเมล็ดพันธุ์มีการเสื่อมคุณภาพเกิดขึ้น การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นโดยทันทีหลังจากที่เร่งอายุได้เพียง 1 วัน เท่านั้น

จากการประเมินความเสียหายของเนื้อเยื่อใบเลี้ยงที่ตัดตามขวางของเมล็ดพันธุ์ที่เร่งอายุในระยะเวลาต่างๆ กันด้วย Evans blue พบว่ามีการติดสีน้อยมากใน control การติดสีนี้จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการเร่งอายุที่เพิ่มขึ้น (Figure4) ซึ่งเมื่อตัดเนื้อเยื่อดังกล่าวไปส่องกล้องจุลทรรศน์ก็จะเห็นความแตกต่างได้อย่างชัดเจน โดยเซลล์ปกติจะย้อมสีไม่ติด แต่เซลล์ที่เมมเบรนเสียหายหรือเสื่อมสภาพจะยินยอมให้สีซึมผ่านเข้าไปได้ (Schoettle and Leopold,1984) ผลจากการย้อมสีด้วย Evans blue แสดงให้เห็นว่าจำนวนเซลล์ของเมล็ดพันธุ์ที่ยังไม่เสื่อมคุณภาพ (control) ติดสีน้อยมาก (Figure 5a) จำนวนเซลล์ที่ย้อมสีติดนี้จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์เมล็ดที่ผ่านการเร่งอายุตั้งแต่ 5 วัน ขึ้นไปพื้นที่ของเนื้อเยื่อส่วนใหญ่ย้อมสีติดเกือบทั้งหมด (Figure 5f,5gและ 5h)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

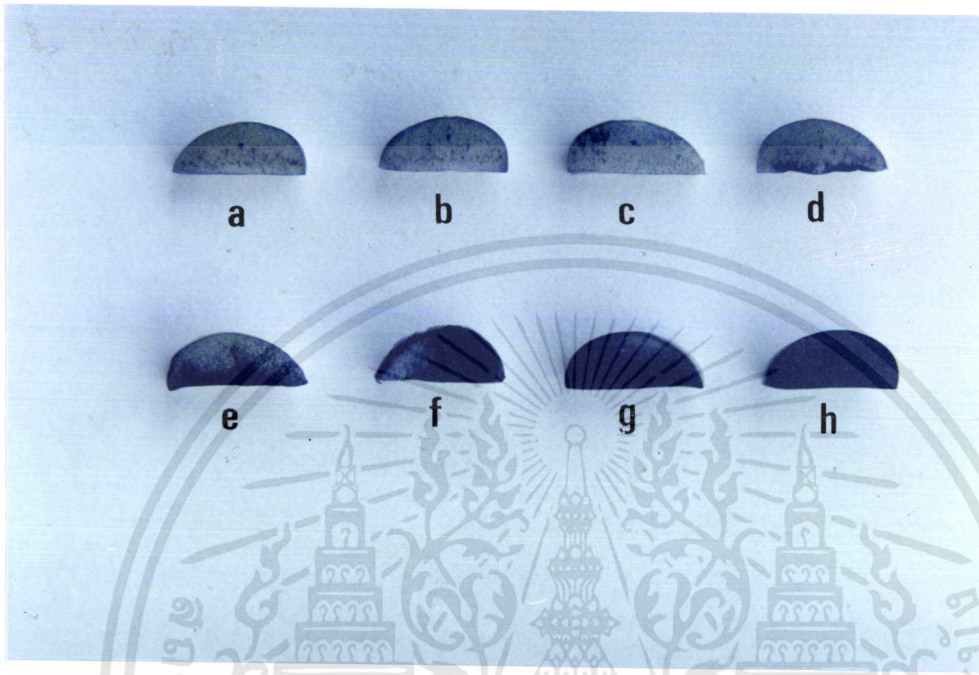

Figure 4 Effect of accelerated ageing (0 - 7 days) on cotyledonary cross section staining with Evans blue. Control (a); 1 day aged (b); 2 day aged (c); 3 day aged (d); 4 day aged (e); 5 day aged (f); 6 day aged (g); 7 day aged (h) .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

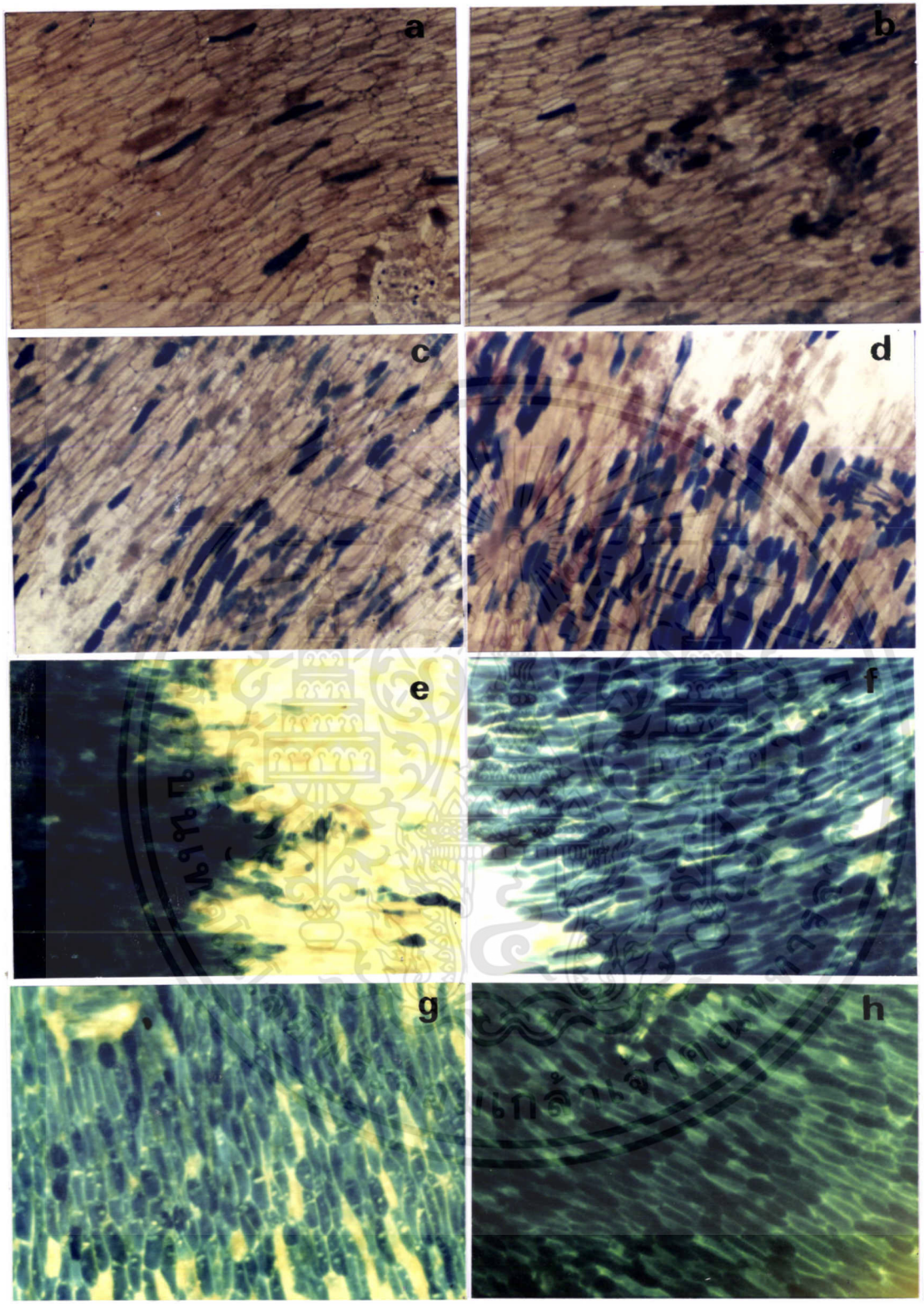

Figure 5 Effect of accelerated ageing on damaged cells of cotyledons expressed by staining with Evans blue. Control (a); 1 day aged (b); 2 day aged (c); 3 day aged (d); 4 day aged (e); 5 day aged (f); 6 day aged (g); 7 day aged (h) .

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผลการทดลอง

ผลจากการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าการเร่งอายุทำให้เกิดการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ดังนี้ เมล็ดพันธุ์สูญเสียความมีชีวิตและความแข็งแรงเพิ่มขึ้นจนกระทั่งเมล็ดตายหมด เมล็ดพันธุ์มีอัตราการรั่วไหลเพิ่มขึ้นและผลจากการย้อมสีแสดงให้เห็นถึงความเสียหายของเนื้อเยื่อเมล็ดพันธุ์ การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เป็นไปตามหลักการที่ว่ามีการเสื่อมสภาพเกิดขึ้นในระบบของเมมเบรนของเมล็ดพันธุ์ที่เร่งอายุ เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของเมมเบรนเกิดขึ้นไปพร้อมกับการลดลงของความงอกและความแข็งแรงเป็นการแสดงให้เห็นถึงการมีความสัมพันธ์ระหว่างกันและกัน นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของเมมเบรนที่เกิดขึ้นโดยทันทีที่เมล็ดดูดน้ำในขณะที่ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงในความงอกและความแข็งแรงในระยะแรกของการเร่งอายุ ปรากฏการณ์นี้จึงเป็นการสนับสนุนแนวคิดที่ว่าการเสื่อมสภาพของเมเมบรนเป็นสาเหตุเบื้องต้นของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

ในระยะ 2 วันแรกของการเร่งอายุน่าจะเป็นระยะแรกของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากไม่พบการเปลี่ยนแปลงในความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ในระยะเวลาดังกล่าว นอกจากนี้ค่าการนำไฟฟ้าของสารที่รั่วไหลออกมาจากเมล็ดพันธุ์ได้เพิ่มขึ้นหลังจากที่เร่งอายุไปได้เพียง 1 วัน เป็นการสนับสนุนระยะเริ่มแรกของการเสื่อมคุณภาพโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเสื่อมสภาพของเมมเบรน (Parrish and Leopold,1978;Schoettle and Leopold,1984;Ferguson *et al.*,1990)

การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์นั้น Delouche and Baskin (1973) ได้เสนอว่าการเสื่อมสภาพของเมมเบรนน่าที่จะเป็นปรากฏการณ์แรกที่จะนำไปสู่การสูญเสียความสามารถในการงอกของเมล็ดพันธุ์ ถ้าการเสื่อมสภาพของเมมเบรนเป็นสาเหตุเบื้องต้นที่ทำให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพหรือสูญเสียความแข็งแรงแล้ว การรั่วไหลของเมมเบรนก็ควรที่จะแสดงออกมาให้เห็นในระยะสั้นๆ ในช่วงแรกที่เมล็ดดูดน้ำ Simon and Raja Harun (1972) ได้เสนอข้อสมมุติฐานว่าขณะที่เมล็ดแห้งเมมเบรนของเมล็ดที่ยังไม่เสื่อมจะไม่เรียงตัวกันอยู่ในลักษณะปกติขณะที่เมล็ดแห้ง แต่เมื่อนำเมล็ดไปแช่น้ำเมมเบรนก็จะมีการจัดเรียงตัวกันใหม่หรือซ่อมแซมตัวเอง (Villiers,1973) ทำให้เมล็ดพันธุ์มีการรั่วไหลลดน้อยลง ข้อสมมุติฐานนี้จึงใช้อธิบายถึงลักษณะการรั่วไหลในช่วงแรกๆ ในระหว่างการดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เร่งอายุ ดังนั้นการรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์ที่ยังคงดำเนินไปโดยตลอดในระยะ 4,5,6 และ 7 วัน ของการเร่งอายุจึงอาจเกิดจากการเสื่อมสภาพของเมมเบรนซึ่งเกิดขึ้นมากจนเกินกว่าที่จะซ่อมแซมตัวเองได้หรือกลไกการซ่อมแซมได้สูญเสียไป (Berjak and Villiers,1972; Villiers,1973)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะการดูดน้ำที่เพิ่มขึ้นมากในระยะแรกของการดูดน้ำภายหลังการเร่งอายุอาจเกิดจากการเสื่อมของเมมเบรน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Sreeramulu (1983) และ Kalpana and Madhava Rao (1995) ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่ไม่มีชีวิตหรือสูญเสียความงอกไปแล้วมีการดูดน้ำน้อยกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีชีวิต อาจเกิดจากมีการรั่วไหลของสารเช่น คาร์โบไฮเดรท โปรตีน เป็นต้น ออกมาจากเมล็ดพันธุ์มาก (Sreeramulu,1983) จนทำให้มีสารประกอบดังกล่าวในเมล็ดพันธุ์ลดน้อยลง เนื่องจากปริมาณของสารประกอบนี้เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการดูดน้ำการมีปริมาณสารประกอบดังกล่าวลดน้อยลงจึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำทั้งหมดของเมล็ด (Mayber and Poljakoff-Mayber,1989) ดังนั้นลักษณะการดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพจึงสอดคล้องกับลักษณะการรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์และเป็นการสนับสนุนว่าการเสื่อมสภาพของเมมเบรนเป็นสาเหตุเบื้องต้นที่จะนำไปสู่การสูญเสียความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

การย้อมสีเมล็ดพันธุ์ด้วย TZ และ Evans blue เป็นการสนับสนุนให้เห็นถึงการเสื่อมสภาพของเมมเบรน การเพิ่มขึ้นของสัดส่วนเมล็ดพันธุ์โดยเฉพาะใน TZ3, TZ4,TZ5 และ TZ6 น่าที่จะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เมล็ดพันธุ์มีการรั่วไหลเพิ่มขึ้น เพราะสัดส่วนเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวประกอบไปด้วยเนื้อเยื่อที่ติดสีแดงเข้มผิดปกติและไม่ติดสี(เนื้อเยื่อตาย) การติดสีแดงเข้มเกิดจากสารละลาย TZ ซึมเข้าไปภายในเนื้อเยื่อได้เร็วและลึก เป็นการบ่งชี้ให้เห็นว่าเมมเบรนของเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ได้รับความเสียหายจนทำให้ทั้งการรั่วไหลและการดูดสารเคมีเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (Powell and Matthews.1977) จำนวนเซลล์ที่ย้อมติดสีของ Evans blue เพิ่มขึ้นตามอัตราการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (Figure2) ซึ่งมีลักษณะเป็นคู่ขนานไปกับการรั่วไหล (Table1) ปรากฏการณ์เช่นนี้เป็นการยืนยันให้เห็นถึงความเสียหายของเมมเบรน ซึ่งสอดคล้องกับ Schoettle and Leopold (1984) ที่ได้สาธิตให้เห็นถึงการมีความสัมพันธ์กันอย่างใกล้ชิดระหว่างการรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองกับเปอร์เซ็นต์การติดสีของ Evans blue ในใบเลี้ยง การทดลองนี้จึงสอดคล้องกับแนวคิดที่ว่าการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์อาจมีสาเหตุเบื้องต้นมาจากการเสื่อมสภาพของเมมเบรน อย่างไรก็ตามการเร่งอายุเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา นอกจากนี้การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่เกิดจากการเร่งอายุและตามธรรมชาติอาจมีกลไกที่ต่างกัน ดังนั้นการศึกษาการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในอนาคตน่าที่จะมีการประเมินการเกิดขึ้นของเชื้อราและความแตกต่างระหว่างเมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพเนื่องจากการเร่งอายุและเมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพตามธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองลดลงเมื่อระยะเวลาการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้น ในระยะ 2 วัน แรกของการเร่งอายุเป็นระยะเริ่มแรกของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เพราะไม่พบการเปลี่ยนแปลงในคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ นอกจากนี้การรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์ที่เพิ่มขึ้นโดยทันทีในระยะแรกของการดูดน้ำหลังจากที่เร่งอายุได้ 1 วัน เป็นการชี้ให้เห็นถึงระยะเริ่มแรกของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งอาจมีสาเหตุสำคัญมาจากการเสื่อมสภาพของเมมเบรนยิ่งไปกว่านั้นการย้อมสีเมล็ดพันธุ์ด้วยสารละลาย TZ และ Evans blue แสดงให้เห็นถึงความเสียหายของเมมเบรนซึ่งอาจเป็นสาเหตุของการรั่วไหล ดังนั้นการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์จึงอาจมีสาเหตุเบื้องต้นมาจากการเสื่อมสภาพของเมมเบรน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

Anderson.J.D., J.E. Baker and E.K. Worthington. 1970. Ultrastructural changes of embryos in wheat infected with storage fungi. Plant Pnysiol. 46:857-859.

AOSA. 1970. Tetrazolium testing handbook for agricultural seeds. Contribution No. 29 to the Handbook on Seed Testing. The Assoc. Off. Seed Anal. 62 p.

AOSA. 1983. Seed vigor testing handbook. Contribution No. 32. The Assoc. Off. Seed Anal.88 p.

Bass, L.N. 1979. Physiological and other aspects of seed preservation. Pages 145-170. In I. Rubenstein,R.L. Phillips, C.E. Green and B.G. Gengenback, eds. The plant seed: development, preservation, and germination. Academic Press, Inc., New york.

Basu, R.N. 1994. An appraisal of research on wet and dry physiological seed treatments and their applicability with special reference to tropical and sub-tropical countries. Seed Sci. and Technol. 22:10 -126.

Berjak, P. And T.A. Villier. 1972. Aging in plant embryos 2. age-induces damage and its repair during early germination. New Phytol. 71:13 -140.

Blowers, L.E., D.A. Stormonth and C.M.Bray. 1980. Nucleic acid and protein systhesis and loss of vigor in gernimating wheat embryos. Planta 150:19-25.

Buchavarov, P. and T. Gantcheff. 1984. Influence of accelerated and natural ageing of free radical Levels in soybean seed. Physiol. Plant. 60:53-56.

Chea, K.S.E. and D.L. Osborne. 1978. DNA lesions occur with loss of viability in embryos of ageing rye seed. Nature 272:593-599.

Ching, T.M. 1972. Aging stresses on physiological and biochemical activities of crimson clover (*Trifolium incarnatum* L. Var. Dixie) seeds. Crop Sci. 12:415-418.

Das, G. And S. Sen-mandi. 1992. Triphenyl tetrazolium chloride staining pattern of differentially aged wheat seed embryos. Seed Sci. and Technol. 20:367-373.

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

Delouche, J.C., R.K. Matthes, G.M. Dougherty and A.H. Boyd.1973. Storage of seed in sub-tropical and tropical regions. Seed Sci. and Technol. 1:427-452.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Delouche, J.C. 1980. Environmental effects on seed development and seed quality. HortScience 15:775-780.

Delouche, J.C. 1982. Physiological changes during storage that affect soybean seed quality. Pages 57-66. In J.B. Sinelair and J.A. Jackobs,eds. Soybean seed quality and stand establishment. Proceedings of a Conference for Scientists of Asia. International Agriculture . Publications INTSOY Series No. 22.

Ferguson, J.M., D.M. Tekrony and D.B. Egli. 1990. Changes during early soybean seed and axes deterioration: I. seed quality and mitochondrial respiration. Crop Sci. 30:175-179.

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

Harrington, J.C. 1972. Seed storage and longevity. Pages 145-240. In T.T. Kozlowski, rd. Seed Biology Vol. 3. Acadamic Press, New York.

Harrington, J.F. 1973. Problems of seed storage. Pages 251-263. In.W. Heydecker,ed. Seed Ecology. Butterworth, London.

ISTA. 1985. International rules for seed testing. Seed Sci. and Technol. 13:299-355.

Kalpana, R. and K.V. Madhava Rao. 1995. On the ageing mechanism in pigeonpea [*Cajanus Cajan* (L.) Millsp.] seeds. Seed Sci and Technol. 23:1-9.

Leopold, A.C. and M.E. Musgrave. 1980. Respiratory pathway in aged seed. Physiol. Plant. 49:49-54.

Maguire, J.D. 1962. Speed of germination aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. Crop. Sci. 2:176–177.

McDonald, M.B., Jr. and B.R. Phaneendranath. 1978. A modified accelerated aging seed vigor test for soybean. J. Seed Technol. 31:27-37.

McDonal, M.B. 1999. Seed deterioration: physiological, repair and assessment. Seed Sci. and Technol. 27:177-237.

McDonold, M.B., Jr. A review and evaluation of seed vigor tests. Proc. Assoc. Off. Seed . Analysis. 65:109-139.

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Parrish, D.J. and A.C. Leopold. 1978. On the mechanism of aging in soybean seeds. Plant Physiol. 61:365–368.

Powell, A.A. and S. Mathews. 1977. Deteriorative changes in pea seed (*Pisum sativum* L.) Storage in humid or dry conditions. J.Exp. Bot. 28:225-234.

Sakunnarak, N. 1992. An evaluation of antioxidant and hydration treatments for the improvment of the storability of soybean [*Glycine max* (L.) Merrill] Seeds. Ph.D. Thesis. Massey University, Palmerston North, New Zealand.

Schoettle, A.W. and A.C. Leopold. 1984. Solute leakage from artificially aged soybean seeds after imbibition. Crop Sci. 24:835 -838.

Simon, E.W. and Raja Harun, R.M. 1972. Leakage during seed imbibition. J. Exp. Bot. 23: 1076 – 1085.

Sreeramulu, N. 1983. Leakage during imbibition by seeds of bambara groundnut [*Voandzeia Subterrance* (L.) Thouass] at different stages of loss of viability. Trop. Agric. (Trinidad) 60:265–268.

Stewart, R.R.C. and J.D. Bewley. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated ageing of soybean axes. Plant Physiol. 65:245-249.

Tekrony, D.M., D.B. Egli, J. Balles, T.Pfeiffer and R.J. Fellows. 1979. Physiological maturity in soybean. Agron.J. 71:771-775.

Tekrony, D.M.,D.B. Egli and A.D. Phillips. 1980. Effect of field weathering on the viability and vigor of soybean seed. Agron. J. 72:749–753.

Villiers,T.A. 1973. Aging and the longevity of seed in field condition, pp. 265 - 288. In W. Heydecker, ed. Seed Ecology. Butterworths, London.

Woodstock, L.W. 1973. Physiological tests for seed vigor. Seed Sci. and Technol. 1:127-157.

Woodstock, L.W. 1973. Physiological and biochemical tests for seed vigor. Seed Sci. and Technol. 1:127-157.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table1 Analysis of variance for seed germination.

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	7	43483.83	6211.98	326.946**	2.66	4.03
Error	16	304.00	19.00			
Total	23	43787.83	1903.82			

Grand Mean = 46.083

CV = 9.46%

Table2 Analysis of variance for seedling growth rate.

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	7	40398.597	5771.228	1340.227**	2.66	4.03
Error	16	68.899	4.31			
Total	23	40467.496	1759.456			

Grand Mean = 37.49

CV = 5.54%

Table3 Analysis of variance for speed of germinatoin.

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	7	434.838	62.120	326.945**	2.66	4.03
Error	16	3.040	0.19			
Total	23	437.878	19.038			

Grand Mean = 4.6083

CV = 9.46%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table4 Analysis of variance for electrical conductivity of seed leachate (EC).

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	7	123175.075	1759.439	482.451**	2.66	4.03
Error	16	583.568	36.47			
Total	23	123758.646	5380.811			

Grand Mean = 139.345

CV = 4.33%

Table5 Analysis of variance for water imbibition.

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	7	11122.230	1588.890	480.57**	2.66	4.03
Error	16	52.900	3.31			
Total	23	11175.130	485.875			

Grand Mean = 26.8490

CV = 6.77%

Table6 Analysis of variance for viability (TZ test).

Source	df	SS	MS	F	F.05	F.01
Treatment	7	40615.833	5802.262	109.477**	2.66	4.03
Error	16	848.000	53.00			
Total	23	41463.833	1802.775			

Grand Mean = 49.583

CV = 14.68%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้