



ปัญหาพิเศษ

การประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยวิธีการตรวจ
วัดเอทานอลอย่างรวดเร็วด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก

Evaluation of Maize Seed Vigor using Fast Ethanol Assay
with Ultrasonic Vibration

นางสาวปาริฉัตร เจริญ

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
DEPARTMENT OF AGRONOMY
FACULTY OF AGRICULTURE KASETSART UNIVERSITY



ใบรับรองปัญหาพิเศษ
คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์เกษตร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์เกษตร

สาขา

พืชไร่นา

ภาควิชา

เรื่อง การประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยวิธีการตรวจวัดเอทานอลอย่างรวดเร็วด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก

Evaluation of Maize Seed Vigor using Fast Ethanol Assay with Ultrasonic Vibration

นามผู้วิจัย นางสาวปาริฉัตร เจริญ

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ
(อาจารย์ ดำรงวุฒิ อ่อนวิมล, ประ.ด.)

หัวหน้าภาควิชา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ปิยะ กิตติภาดากุล, Ph.D.)

วันที่.....เดือน.....ตุลาคม.....พ.ศ. 2558

บทคัดย่อ

ปาริฉัตร เจริญ 2561: การประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยวิธีการตรวจวัดเอทานอลอย่างรวดเร็วด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์เกษตร ภาควิชาพืชไร่นา อาจารย์ที่ปรึกษา: ดำรงวุฒิ อ่อนวิมล, ประ.ด.

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์หลังจากได้รับการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นอัลตราโซนิกกับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่วัดได้จากวิธีมาตรฐานเพื่อเสนอวิธีการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ถูกต้องและรวดเร็ว เปรียบอายุเมล็ดพันธุ์เพื่อให้มีความแข็งแรงแตกต่างกันแล้วนำเมล็ดพันธุ์ที่ได้ไปทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีการทดสอบความเร็วในการแทงราก (radicle emergence test) และเวลาในการงอกกล้าปกติเฉลี่ย (mean germination time) จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการเร่งอายุไปกระตุ้นด้วยวิธีการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกเพื่อทดสอบวัดปริมาณเอทานอลโดยวิธีการตรวจวัดเอทานอลอย่างรวดเร็ว วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (4 ซ้ำ) และการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ ผลการทดลองพบว่า การกระตุ้นเมล็ดพันธุ์เป็นเวลา 90 นาที ให้ปริมาณเอทานอลที่วัดได้มีค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ผ่านการเร่งอายุ และพบว่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) ของปริมาณเอทานอลกับเปอร์เซ็นต์การแทงรากและเวลาในการงอกกล้าปกติเฉลี่ยมีความสัมพันธ์กันในระดับสูงมาก (ที่ $R^2 = 0.9572$ และ $R^2 = 0.9205$ ตามลำดับ) ผลการทดลองชี้ว่าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีปริมาณเอทานอลสูงจะมีความแข็งแรงต่ำกว่า การตรวจสอบปริมาณเอทานอลของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยวิธีการตรวจวัดเอทานอลอย่างรวดเร็วด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกจึงสามารถทำนายความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ได้

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

____/____/____

ABSTRACT

The research aimed to analyse relationship between ethanol products of maize seeds after ultrasonic vibrating and seeds vigour derived from standard method. A method of accurate and fast maize seed vigour quantification was anticipated. The treated maize seeds with different vigour levels, using hot-humid treatments, were investigated using germination test, radicle emergence test and mean germination time according the ISTA's rule. A fast ethanol assay with ultrasonic vibration was also used for measuring ethanol product from the seeds. The experiment was conducted in completely randomized designs with four replications and correlation analysis was also analysed. The result showed that ethanol product with ultrasonic vibration for 90 minutes of treated maize seeds were higher than the control (non-treated seed). The correlation coefficients— R^2 —of ethanol production and percentage radicle emergence and mean germination time were high ($R^2 = 0.9572$ and $R^2 = 0.9205$, respectively). The negative linear correlations between ethanol production and seed vigour were observed. Therefore, the fast ethanol assay with ultrasonic vibration can evaluate maize seed vigour.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

___/___/___

กิตติกรรมประกาศ

การทดลองครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีเพราะได้รับความอนุเคราะห์ในการสนับสนุนจัดหาเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ วัสดุอุปกรณ์ในการทดลองและคำปรึกษาแนะนำที่ดีตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา ขอขอบคุณ อาจารย์ดำรงวุฒิ อ่อนวิมล อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

นางสาวธัญภัค รุ่งแสงชัย เจริญ นิสิตปริญญาโท และภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์การทดลอง จึงขอขอบคุณไว้ ณ ที่นี้

ปาริฉัตร เจริญ
พฤษภาคม 2562

สารบัญ

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์	11
อุปกรณ์และวิธีการ	12
อุปกรณ์	12
วิธีการ	13
สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง	15
ผลและวิจารณ์	16
สรุป	21
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	22
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	24

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ด้วยวิธีการสันสะท้อนของคลื่นอัลตราโซนิกกับปริมาณการผลิตเอทานอลที่วัดได้	16
2	ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ต่อความงอกและความแข็งแรง ของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์	17
3	ความสัมพันธ์ระหว่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ถูกชักนำให้มีความแข็งแรง ต่างกันโดยการเร่งอายุกับปริมาณเอทานอลที่วัดได้หลังผ่านการกระตุ้นด้วยการ สันสะท้อนของคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 90 นาที	18

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอล และระยะเวลาในการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์	19
ภาพที่ 2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลและ เปอร์เซ็นต์ความงอก	19
ภาพที่ 3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลและเปอร์เซ็นต์การแทงราก	20
ภาพที่ 4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลและเวลาในการงอกกล้า ปกติเฉลี่ย	20

การประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์โดยวิธีการตรวจวัดเอทานอลอย่างรวดเร็วด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก

Evaluation of Maize Seed Vigor using Fast Ethanol Assay with Ultrasonic Vibration

คำนำ

การเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์เป็นสิ่งที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ ซึ่งเริ่มเกิดขึ้นทันทีที่เมล็ดพันธุ์ผ่านการสุกแก่ทางสรีระวิทยา ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์จะลดลงในขณะที่ความเสื่อมคุณภาพกลับเพิ่มขึ้น การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่เพิ่มขึ้นนอกจากจะทำให้เมล็ดพันธุ์มีความแข็งแรงที่ลดลงแล้วยังมีผลทำให้ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ลดลงด้วยจนสุดท้ายเมล็ดพันธุ์กองนั้นจะสูญเสียความมีชีวิตทั้งหมด

ขั้นแรกของการเสื่อมคุณภาพเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการทางชีวเคมีภายในเมล็ดโดยเริ่มจากการเสื่อมสภาพของเมมเบรนของอวัยวะต่างๆ ภายในเซลล์ เช่น ไมโทคอนเดรีย เซลล์ไมโทคอนเดรียปกติจะสร้างพลังงาน (ATP) ของเซลล์โดยการหายใจระดับเซลล์ ถ้าไมโทคอนเดรียเกิดการเสื่อมสภาพขึ้น ผนังของอวัยวะจะเริ่มเสื่อมสภาพ ส่งผลให้การสร้าง ATP หยุดชะงัก แต่เซลล์ยังคงต้องการพลังงานในการดำเนินกิจกรรมต่างๆ ภายในเซลล์จึงเปลี่ยนกระบวนการสร้างพลังงานเป็นกระบวนการ fermentation ที่เกิดขึ้นภายใน cytosol ในกระบวนการสาร pyruvate จากกระบวนการ glycolysis จะถูกเปลี่ยนเป็น acetaldehyde แล้วถูกเปลี่ยนต่อเป็นเอทานอลให้ได้ NADH สารให้พลังงานแก่เซลล์ขึ้นมาทดแทน (Benamar *et al.*, 2003) ในเมล็ดพันธุ์ที่มีการเสื่อมสภาพเซลล์ต่างๆ ภายในเมล็ดพันธุ์จึงเสียหายมากทำให้ไมโทคอนเดรียผลิตเอทานอลได้มาก ดังนั้นการเปรียบเทียบปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้จึงสามารถนำมาใช้แยกแยะระดับความเสื่อมคุณภาพหรือระดับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ได้

การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีการตรวจวัดเอทานอลเป็นวิธีที่ทันสมัยและตรวจสอบได้อย่างรวดเร็ว เรียกว่า fast ethanol assay หรือ วิธีการตรวจวัดเอทานอลอย่างรวดเร็วโดยใช้เครื่องวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลจากลมหายใจ (ethanol breath analyser) โดยมีปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องหลายปัจจัย คือ ระยะเวลาอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเมล็ดพันธุ์ จำนวนตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ ความชื้นเริ่มต้นภายในเมล็ด และชนิดของเมล็ดพันธุ์ (Buckley and Monreal, 2013) อย่างไรก็ตามอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเมล็ดพันธุ์เป็นปัจจัยที่ต้องพิจารณาเป็นลำดับแรก ซึ่งผู้ทดลองเห็นว่าอาจมีวิธีการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ก่อนการวัดปริมาณเอทานอลด้วยวิธีอื่นนอกเหนือจากการบ่มเมล็ดพันธุ์ในอุณหภูมิสูงจึงได้มีการทดลองนำวิธีการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นอัลตราโซนิกมาใช้ในการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์

วัตถุประสงค์ในการทดลองครั้งนี้เพื่อศึกษาวิธีการและระยะเวลาที่เหมาะสมในการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีการสั่นสะเทือนด้วยคลื่นอัลตราโซนิกก่อนการตรวจวัดปริมาณเอทานอลอย่าง

รวดเร็วเพื่อให้เมล็ดพันธุ์ผลิตเอทานอลได้มากพอที่จะสร้างความแตกต่างระหว่างระดับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ได้และเพื่อเปรียบเทียบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์จากการวัดปริมาณเอทานอลหลังเมล็ดพันธุ์ถูกกระตุ้นด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกกับวิธีการวัดมาตรฐานในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

การตรวจเอกสาร

ข้าวโพด (*Zea mays*)

ข้าวโพด เป็นธัญพืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่ใช้เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นวัตถุดิบหลักในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์ ในประเทศไทยมีเนื้อที่เพาะปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ประมาณ 6.71 ล้านไร่ ปริมาณผลผลิต 5.03 ล้านตัน ในขณะที่ความต้องการตลาดเฉลี่ยปีละประมาณ 7.95 ล้านตัน ดังนั้น ตลาดต้องการเพิ่มอีกถึง 2.92 ล้านตัน รัฐบาลจึงเห็นควรเพิ่มพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561)

สถานการณ์ผลิตและการตลาดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในต่างประเทศ

กระทรวงเกษตรสหรัฐฯ คาดคะเนความต้องการใช้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของโลก ปี 2561/62 ว่า มี 1,132.36 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจาก 1,085.58 ล้านตัน ในปี 2560/61 ร้อยละ 4.31 โดยสหรัฐอเมริกา จีน สหภาพยุโรป บราซิล เม็กซิโก อินเดีย อียิปต์ แอฟริกาใต้ อินโดนีเซีย อาร์เจนตินา ไนจีเรีย เกาหลีใต้ และอิหร่าน มีความต้องการใช้เพิ่มขึ้น สำหรับการค้าของโลกมี 161.41 ล้านตัน เพิ่มขึ้นจาก 151.18 ล้านตัน ในปี 2560/61 ร้อยละ 6.77 โดยอาร์เจนตินา ยูเครน เซอร์เบีย ปารากวัย และเม็กซิโก ส่งออกเพิ่มขึ้น ประกอบกับผู้นำเข้า เช่น สหภาพยุโรป เม็กซิโก เกาหลีใต้ เวียดนาม อียิปต์ อิหร่าน โคลัมเบีย จีน ซาอุดีอาระเบีย อาร์เจนตินา และมาเลเซีย มีการนำเข้าเพิ่มขึ้น (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561)

การงอกของเมล็ด (seed germination)

การงอกของเมล็ดพันธุ์ คือ กระบวนการที่เริ่มต้นตั้งแต่การดูดน้ำของเมล็ดพันธุ์ (imbibition) ไปจนกระทั่งสิ้นสุดการยืดตัวของแกนคัพพะ ในระหว่างการงอกมีกระบวนการต่างๆ เกิดขึ้น คือการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างต่างๆ ภายในเซลล์ การหายใจ การสังเคราะห์สารโมเลกุลใหญ่ และการยืดตัวของเซลล์ก่อให้เกิดการเปลี่ยนสภาพจากคัพพะแห้งที่อยู่ในสภาวะเย็บกลับไปสู่คัพพะที่มีเมตาโบลิซึมสูง จนปรากฏต้นกล้าที่เจริญเติบโตออกมาให้เป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ (Bewley and black, 1985)

ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกเมล็ดพันธุ์

1. น้ำ เป็นปัจจัยที่สำคัญในการเพิ่มความชื้น (prehydration) ให้แก่เมล็ดพืชส่วนใหญ่ ต้องการความชื้นสูงในการงอกประมาณ 30-60 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง มากน้อยตามชนิดของพืช (จวงจันท์, 2529) โดยน้ำจะทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดอ่อนนุ่มลง ออกซิเจน และคาร์โบไฮเดรตซึมผ่านได้ง่ายจึงส่งเสริมให้อัตราเมตาโบลิซึมต่างๆ และกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งระดับความชื้นภายในเมล็ดจะแตกต่างกันตามชนิดพืชขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดพันธุ์ และขนาดของเมล็ดพันธุ์ (Copeland and Donald, 2001) McCormac and Keefe (1990) พบว่า การดูดน้ำ

ของเมล็ดพันธุ์ขนาดเล็กในวงศ์กะหล่ำปลีมีความเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงด้านการเจริญเติบโตของราก ซึ่งถ้าดูดน้ำมากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อ embryo มีผลทำให้เมล็ดไม่สามารถงอกได้

2. อุณหภูมิ เมล็ดพันธุ์พืชต่างชนิดกันสามารถงอกได้ในช่วงอุณหภูมิที่แตกต่างกันโดยอุณหภูมิที่สูงเกินไปหรือต่ำเกินไปอาจไปยับยั้งการงอกของเมล็ดพันธุ์ได้ ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมเมล็ดอาจดูดน้ำได้แต่ไม่งอก ในขณะเดียวกันถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปเมล็ดอาจดูดน้ำได้เช่นกัน แต่ไม่มีการเจริญเติบโตของคัพภะหรือในบางกรณีเมล็ดอาจงอกได้เป็นต้นกล้าแต่ไม่สามารถสร้างคลอโรฟิลล์ได้เพราะในสภาวะอุณหภูมิสูง plastid ribosome ไม่สามารถทำงานได้อย่างปกติ จึงไม่มีการสังเคราะห์โปรตีน (Frierabend, 1979) อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการงอกของเมล็ดพืชทั่วไป คือ 15-30 องศาเซลเซียส (วันชัย, 2538) และเมล็ดบางชนิดสามารถงอกได้ที่อุณหภูมิสูง 35-40 องศาเซลเซียส แต่มีเมล็ดพันธุ์พืชหลายชนิดที่งอกได้ดีเมื่อได้รับอุณหภูมิสูงกับอุณหภูมิต่ำสลับกัน ซึ่งเป็นสภาพที่เหมือนกับสภาพธรรมชาติ ทำให้ช่วยแก้การพักตัวของเมล็ดพันธุ์ได้ (Copeland and Mcdonald, 2001)

3. ออกซิเจน เมล็ดพันธุ์สามารถงอกได้เมื่อได้รับออกซิเจน โดยออกซิเจนจะเป็นตัวรับอิเล็กตรอนในกระบวนการหายใจ ถ้าไม่มีออกซิเจนหรือมีไม่เพียงพอ เมล็ดจะเกิดกระบวนการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนและเกิดการสะสมสารพิษภายในเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้น คือ เอทานอล ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์พืชและขัดขวางกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเมล็ด (Thomson and Greenway, 1991) ในบรรยากาศทั่วไปมีออกซิเจนอยู่ในปริมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเพียงพอที่เมล็ดจะงอกได้ แต่ถ้าปริมาณออกซิเจนในอากาศลดลง ความงอกของเมล็ดพันธุ์จะลดลง ซึ่งพบได้ในเมล็ดพันธุ์กะหล่ำดอก (McCormac and Keefe, 1990)

4. แสง เมล็ดพันธุ์บางชนิดต้องการแสงในระยะแรกของการงอก (Baskin, 1988) เนื่องจากเมล็ดเกิดการพักตัว โดยเมล็ดขนาดเล็กต้องการแสงในการงอกมากกว่าเมล็ดขนาดใหญ่ (Milberg *et al*, 2000) เช่น เมล็ดพันธุ์ผักกาดขาวปลี พริก และมะเขือเทศเป็นต้น (Copeland and Mcdonald, 2001) และความต้องการแสงในการงอกสามารถทดแทนได้ด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น จิเบอเรลลิน ไซโตไคนิน และสารเคมีบางชนิด เช่น KNO_3 (จวงจันทร, 2529)

การตรวจสอบความงอก (seed germination test)

การทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์เป็นการตรวจสอบจำนวนของเมล็ดที่มีชีวิตและสามารถงอกให้ต้นอ่อนที่สมบูรณ์ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม การทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ต้องดำเนินการภายใต้วิธีการมาตรฐานซึ่งสมาคมผู้ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (International Seed Testing Association, ISTA) หรือสมาคมผู้ตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (Association of Official Seed Analysts, AOSA) ได้กำหนดไว้ สำหรับปัจจัยที่จำเป็นต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์คือ เมล็ดพันธุ์ที่มีชีวิตจะงอกได้นั้นเมล็ดต้องได้รับปัจจัยที่จำเป็นต่อการงอกของเมล็ด 3 อย่างคือ น้ำหรือความชื้น ออกซิเจน และอุณหภูมิที่เหมาะสม แต่เมล็ดพันธุ์พืชบางชนิดต้องการแสงเพื่อกระตุ้นให้เกิดการงอกด้วย (จวงจันทร, 2529) เมล็ดพันธุ์ที่นำมาทดสอบความงอกเป็นเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากเมล็ดพันธุ์บริสุทธิ์ (pure seed) ซึ่งได้จากการตรวจสอบความบริสุทธิ์ ของเมล็ดพันธุ์ จำนวนเมล็ดที่ใช้ในการทดสอบความงอกอย่างน้อยตัวอย่างละ 400 เมล็ด 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด ในกรณีที่เมล็ดพันธุ์มีน้อยหรือมีขนาดใหญ่สามารถลดจำนวนลงเหลือเพียง 200 เมล็ด หรือ 100 เมล็ด โดยแบ่งเป็น 4 ซ้ำ ๆ ละ

50 เมล็ด หรือ 25 เมล็ด ตามลำดับ สำหรับวิธีการเพาะ วัสดุเพาะ อุณหภูมิ และแสงสว่างสำหรับพืชบางชนิดได้กำหนดไว้ตามกฎหมายของ ISTA ซึ่งการจะเลือกใช้วิธีการใดขึ้นอยู่กับชนิดพืช สำหรับวัสดุเพาะที่ใช้ในการทดสอบความงอกของเมล็ดนั้น วัสดุที่นิยมใช้กันมาก คือ กระดาษเพาะ ทราย ซึ่งเป็นวัสดุที่สามารถดูดซับน้ำได้ดีและเพียงพอตลอดระยะเวลาของการทดสอบ การใช้กระดาษเป็นวัสดุเพาะมีวิธีการใช้หลายรูปแบบ ดังนี้ top of paper (TP) คือ การเพาะเมล็ดบนกระดาษเพาะ 1 หรือ 2 ชั้น ที่วางไว้ในจานแก้ว (petri dish) หรือกล่องพลาสติกใส เหมาะสำหรับเมล็ดขนาดเล็กและเมล็ดพันธุ์ที่ต้องการแสงในการงอก เช่นเมล็ดพันธุ์ผัก between paper (BP) คือ การเพาะเมล็ดโดยใช้กระดาษเพาะที่เรียกว่า paper towel ที่มีขนาดกว้าง 25 เซนติเมตร และยาว 40 เซนติเมตร โดยวางเมล็ดบนกระดาษเพาะ 2 ชั้น แล้วทับด้วยกระดาษอีกชั้นหนึ่ง ม้วนกระดาษที่มีเมล็ดอยู่ภายใน นำไปไว้ในตู้เพาะหรือภาชนะอื่นที่สามารถรักษาความชื้นของม้วนกระดาษได้ วิธีนี้เหมาะสำหรับเมล็ดที่มีขนาดใหญ่ เช่น ข้าวโพด ถั่วเหลือง ฝ้าย ถั่วลิสง ละหุ่ง เป็นต้น การเพาะแบบ BP ควรจะม้วนกระดาษให้ไม่แน่น เพื่อให้มีการระบายอากาศที่ดี pleated paper (PP) คือ การเพาะเมล็ดระหว่างกระดาษที่พับเป็นรอยจีบ (pleated) จากนั้นเก็บไว้ในภาชนะปิดป้องกันการสูญเสียความชื้น วิธีการนี้สามารถใช้เป็นทางเลือกแทน TP และ BP

การประเมินผลการทดสอบความงอกของเมล็ดนั้น

ตามกฎหมายการทดสอบความงอก มีกำหนดให้ประเมินความงอก 2 ครั้ง คือ การนับครั้งแรก (first count) และการนับครั้งสุดท้าย (final count) ซึ่ง ระยะเวลาในการประเมินความงอกครั้งแรก และครั้งสุดท้ายแตกต่างกันขึ้นกับชนิดพืชลักษณะต่าง ๆ ของเมล็ดที่จะต้องตรวจสอบนั้น ประกอบด้วย ต้นกล้าปกติ (normal seedling) ต้นกล้าผิดปกติ (abnormal seedling) เมล็ดแข็ง (hard seed) และเมล็ดตาย (dead seed)

1. ต้นกล้าปกติ (normal seedling) คือ ต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดซึ่งมีส่วนประกอบต่าง ๆ ครบถ้วนสมบูรณ์ ดังนี้

1.1 ระบบราก พืชใบเลี้ยงคู่ต้องมีระบบรากแก้วที่สมบูรณ์แข็งแรง ถ้าขาดหายไปต้องมี adventitious root หรือ lateral root ที่ยาวและแข็งแรงเจริญขึ้นแทน พืชใบเลี้ยงเดี่ยวต้องมีระบบราก fibrous root ที่สมบูรณ์และแข็งแรงหรือมี seminal root ที่เจริญและแข็งแรงอย่างน้อย 2 ราก ส่วนของรากแก้วมีรอยร้าวแตกปริแต่เกิดที่ผิวด้านนอกเท่านั้น หรือต้นกล้าที่มีรากแก้วไม่สมบูรณ์แต่มี secondary root ที่แข็งแรงปกติจำนวนมากพอ

1.2 ไฮโปคอติล (hypocotyls) หรืออีพิคอติล (epicotyl) ไม่มีรอยแตกยอดอ่อนสมบูรณ์ พืชตระกูลหญ้าจะต้องมีส่วน plumule ที่เจริญยาวเกินครึ่งของ coleoptile

1.3 ใบเลี้ยงมีจุดต่างดำ ถูกทำลายหรือรูปร่างผิดไป แต่ไม่เกินครึ่งหนึ่งและต้องไม่มีผลต่อเนื้อเยื่อภายใน

1.4 primary leaf มีสีเขียวมีจุดประปราย coleoptile บิดเป็นห่วงแต่หลวม ๆ หรือแยกจากส่วนยอดไม่เกิน 1/3 ของความยาว ใบมีสีเขียวเจริญไม่ถึงยอด coleoptile แต่ไม่เกินครึ่งหนึ่งของความยาว

2. ต้นกล้าผิดปกติ (abnormal seedling) คือ ต้นกล้าที่มีส่วนประกอบที่สำคัญบางส่วนหรือทั้งหมดถูกทำลายเสียหาย ไม่สามารถเจริญเติบโตเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมลักษณะของต้นกล้าผิดปกติได้แก่

2.1 ต้นกล้าที่ไม่มีใบเลี้ยง ต้นกล้าแตกข้ามมีรอยแตกหรือรอยแผลลึกถึงส่วนท่อน้ำท่ออาหาร ไม่มีรากแก้วหรือรากฝอยและไม่มี adventitious root ที่แข็งแรงเจริญเต็มที่ รากแก้วแตกตามยาว และมีสีน้ำตาล

2.2 ต้นกล้ามีรูปร่างผิดปกติ เช่น หักงอ บิดเป็นเกลียว ยอดอ่อนขาดหายไปหรือแตกเป็นสองแฉก ใบเลี้ยงหักงอ มีรอยขีดขนาดใหญ่ ส่วนของ hypocotyl/epicotyl บวมโตผิดปกติ

2.3 ต้นกล้าที่มีส่วนของ cotyledon, hypocotyl, epicotyl, plumule และรากเน่าเสียหายอย่างรุนแรง

3. เมล็ดแข็ง (hard seed) คือ เมล็ดที่มีชีวิตแต่ไม่งอก เนื่องจากเปลือกไม่ยอมให้น้ำซึมผ่านเข้าไป ภายในเมล็ด เมล็ดยังคงมีสภาพและรูปร่างลักษณะเหมือนเมล็ดปกติ พบในเมล็ดพืชตระกูลถั่วตระกูลแตงและตระกูลกะหล่ำ ผักกาด

4. เมล็ดตาย (dead seed) คือ เมล็ดที่ไม่งอกและเน่าเปื่อย เมล็ดมีรูปร่างผิดไปจากเดิม เมล็ดบวม และเน่าละ

ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (seed vigour)

ในทางทฤษฎีเมล็ดที่มีความแข็งแรงสูงจะมีความงอกสูง เมื่อเมล็ดเกิดการเสื่อมสภาพความสามารถในการแสดงออก (potential performance) ด้านความงอก ความแข็งแรง และความสม่ำเสมอในการงอกลดลง ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมและการเจริญเติบโตของต้นอ่อนลดลง ซึ่งอัตราการเสื่อมสภาพดังกล่าวขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมและระยะเวลาการเก็บรักษา (Spear, 1995) ดังนั้นเมล็ดที่มีความแข็งแรงสูงควรงอกได้อย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอรวมทั้งสามารถงอกได้ดีในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ (Hampton and TeKrony, 1995) ซึ่ง ISTA (1999) ให้คำจำกัดความของความแข็งแรงคือ ผลรวมของลักษณะต่างๆของเมล็ดพันธุ์ซึ่งกำหนดระดับศักยภาพของกิจกรรม และการแสดงออกของเมล็ดพันธุ์หรือกองเมล็ดพันธุ์ระหว่างการงอกและการเจริญเติบโตเป็นต้นกล้า เมล็ดแสดงออกได้ดีเป็นเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูง ในขณะที่เมล็ดที่แสดงออกได้ต่ำถูกว่าเป็นเมล็ดที่มีความอ่อนแอ ทำให้ความแข็งแรงไม่ได้เป็นคุณสมบัติที่วัดด้วยวิธีการเดียวได้ จำเป็นต้องอาศัยหลักเกณฑ์หลายอย่าง เช่น การทดสอบในสภาพแปลงและการเก็บรักษาเข้ามาเกี่ยวข้อง เพื่อให้สามารถประเมินคุณภาพเมล็ดและคาดคะเนอายุเมล็ดพันธุ์ได้ (Delouch and Baskin, 1973)

ความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆซึ่ง Copeland and McDonald (2001) อธิบายไว้ดังนี้

1. ลักษณะทางพันธุกรรม (genetic constitution) เป็นลักษณะที่อยู่ภายใต้การควบคุมของพันธุกรรมได้แก่ hybrid vigor เมล็ดแข็ง (hard seed) การอ่อนแอต่อความเสียหายจากเครื่องจักรกล (susceptibility to mechanical damage) และองค์ประกอบทางเคมี (seed chemical composition) ซึ่งลักษณะเหล่านี้จะแตกต่างกันไปตามชนิดและพันธุ์พืช ส่งผลให้มีความ

แข็งแรงแตกต่างกันไป ระยะที่เมล็ดพันธุ์มีความแข็งแรงสูงสุด คือระยะที่เมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยา จากนั้นความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ก็จะลดลง

2.สภาพแวดล้อมระหว่างการพัฒนาของเมล็ด (environment during seed development) ได้แก่อุณหภูมิ ความชื้นในดินและในบรรยากาศ ความอุดมสมบูรณ์ของดิน โรค และแมลงเป็นต้น ซึ่งสาเหตุภายนอกที่เกิดขึ้นตั้งแต่เมล็ดเกิดการปฏิสนธิจนถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา รวมทั้งระยะก่อนการเก็บเกี่ยวและหลังเก็บเกี่ยว

3.สภาพการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (seed storage) คือ สภาพตั้งแต่ก่อนระยะเวลาเก็บรักษา วิธีการ และสภาพแวดล้อมในการเก็บรักษา เช่น อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ และความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์ มีผลต่อความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ เช่น การเก็บรักษาเมล็ดไว้นานในสภาพที่ไม่เหมาะสมจะทำให้เมล็ดพันธุ์มีอัตราการเสื่อมคุณภาพเพิ่มขึ้น แสดงว่าเมล็ดพันธุ์นั้นจะเก็บรักษาได้อีกไม่นาน

การเสื่อมของเมล็ดพันธุ์ (seed deterioration)

เมล็ดพันธุ์ก็เหมือนกับสิ่งมีชีวิตทั่วไปหลังจากการเจริญเติบโตและพัฒนาถึงจุดที่สมบูรณ์แล้ว ย่อมมีการเสื่อมสภาพและอ่อนแอลงจนกระทั่งตายไปในที่สุด จุดที่สมบูรณ์ของเมล็ดพันธุ์นั้นอยู่ในระยะที่เมล็ดพันธุ์ยังอยู่บนต้นแม่ เป็นจุดที่เมล็ดพันธุ์มีการพัฒนาจนกระทั่งมีน้ำหนักแห้งสูงสุด นิยมเรียกว่า ระยะแก่ทางสรีรวิทยา (physiological maturity) ที่จุดนี้เมล็ดจะมีความงอกและความแข็งแรงสูงสุด ขณะเดียวกันก็เริ่มมีกระบวนการเสื่อมสภาพของเมล็ด (seed deterioration) เกิดขึ้นด้วย การเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์เป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติ ไม่สามารถป้องกันหรือหยุดยั้งได้แต่หากมีวิธีการเก็บรักษาที่ดี อาจทำให้อัตราการเสื่อมสภาพช้าลงได้ (วันชัย, 2538)

การเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์สรีรวิทยา

การเสื่อมทางสรีรวิทยาที่เสนอโดย Delouche and baskins (1973) เริ่มต้นดังนี้

1. การเสื่อมสภาพของผนังเซลล์และผนังอวัยวะอื่นๆ (membrane degradation) ผนังเซลล์ (cell membrane) และผนังอวัยวะอื่นๆภายในเซลล์ (subcell membrane) ของเมล็ดพันธุ์ จะสูญเสียคุณสมบัติในการควบคุมและเก็บกักสารต่างๆ ทำให้เกิดการรั่วไหลของสารต่างๆ ออกจากเมล็ดเมื่อเมล็ดสัมผัสกับน้ำ การเสื่อมสภาพของผนังเป็นลักษณะแรกที่เกิดเมื่อเมล็ดเสื่อมสภาพ เมล็ดยิ่งเก่า (aged) เท่าใดการรั่วไหลออกของสารต่างๆ ภายในเซลล์ยิ่งเพิ่มมากขึ้น การรั่วไหลของสารภายในเมล็ดสามารถตรวจสอบได้โดยการวัดการนำไฟฟ้า (electrical conductivity) หรือการตรวจสอบปริมาณน้ำตาลในสารต่างๆที่รั่วออกมาจากเมล็ด การตรวจสอบทั้งสองแบบเป็นการตรวจสอบทางอ้อม ทั้งนี้เนื่องจากการตรวจสอบโครงสร้างของผนังโดยตรงไม่สามารถทำได้

2. กิจของเอนไซม์ลดลง (loss of enzyme activity) เมล็ดพันธุ์ที่ยังมีชีวิตอยู่จะมีเอนไซม์ภายในเมล็ดหลายชนิดเช่น ดีไฮโดรจีเนสเอนไซม์ (dehydrogenase enzyme) กลูตาเมก แอซิด ดีคาร์บอกซิเลส (glutamic acid decarboxylase) อะมัยเลส (amylase) แคทาเลส (catalase) เพอรอกซิเดส (peroxidase) และฟีโนเลส (phenolase) เมื่อเมล็ดเสื่อมสภาพกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้จะลดลง สามารถตรวจสอบได้โดยวิธีการตรวจสอบทางเคมี (biochemical test) เช่นวิธี

GADA (glutamic acid decarboxylase activity test) หรือวิธี เตตราโซเลียม (tetrazolium test หรือ TZ energy)

3. อัตราการหายใจลดลง (reduction of respiration) การหายใจเป็นการแสดงออกของกิจกรรมของเอนไซม์ต่างๆ ที่รวมกันในการย่อยสลายอาหารสะสมในเมล็ด (break down of food reserve) เพื่อเปลี่ยนเป็นพลังงาน เมื่อเมล็ดที่เสื่อมสภาพอัตราการหายใจจะลดลงทำให้สูญเสียพลังงานในการงอก ดังนั้นในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของอัตราการหายใจ คือ ค่า R.Q. (respiration quotient) ซึ่งหมายถึงสัดส่วนคาร์บอนไดออกไซด์ที่เมล็ดปลดปล่อยออกมาต่อปริมาตรของออกซิเจนที่เมล็ดดูดซับไปใช้เมล็ดที่เก็บรักษาไว้นานจนเสื่อมสภาพจะมีค่า R.Q. เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากเมล็ดสามารถดูดซับออกซิเจนได้น้อยลงขณะที่ปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น

4. กรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น (increase in free fatty acid) เมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพจะมีปริมาณของกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นเนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (lipase) ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายไขมัน (storage lipid) ซึ่งอยู่ในรูปของไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ของกรดไขมันเป็นกลีเซอรอล (glycerol) และกรดไขมันอิสระเมล็ดพันธุ์ที่มีกรดไขมันสูงถึง 2 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าเป็นเมล็ดที่มีการเสื่อมคุณภาพค่อนข้างสูง นอกจากนี้เชื้อรา (fungi) ยังบทบาทช่วยให้การเสื่อมของเมล็ดเพิ่มขึ้น โดยช่วยย่อยสลายไขมันให้เป็นกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น เมื่อสภาพความชื้นในเมล็ดสูงกว่า 12 เปอร์เซ็นต์ การเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระจะมีผลต่อการงอกของเมล็ด

5. เมล็ดงอกได้ในสภาพแวดล้อมที่จำกัด (narrow germination environment) โดยปกติเมล็ดพันธุ์มีความสามารถในการงอกได้ในสภาพแวดล้อมหรือปัจจัยที่จำเป็นต่อการงอกอยู่ในพิสัยช่วงใดช่วงหนึ่งตั้งแต่ต่ำสุดไปถึงสูงสุด แต่เมื่อเมล็ดลงพิสัยในการงอกจะแคบลง นั่นคือเมล็ดจะงอกได้ในสภาพแวดล้อมที่ค่อนข้างจำกัดหรือเฉพาะเจาะจงที่ระดับหนึ่ง เช่น ในข้าวโพด ในขณะที่เมล็ดเสื่อมคุณภาพเล็กน้อยจะสามารถงอกได้ในพิสัยของอุณหภูมิ 10-4 องศาเซลเซียส แต่ในขณะที่เมล็ดเสื่อมคุณภาพมากขึ้นพิสัยของอุณหภูมิแคบลง เมล็ดสามารถงอกได้ในระดับอุณหภูมิ 15-38 องศาเซลเซียส

6. อัตราการงอกของเมล็ดลดลง (slow germination rate) เมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพยังคงสามารถงอกตามปกติ แต่อัตราในการงอกของเมล็ดพันธุ์จะลดลง คือ เมล็ดจะงอกได้ช้า หากเมล็ดยังเสื่อมสภาพมากเท่าใดการงอกจะช้ามากขึ้น ซึ่งหมายถึงผลรวมของสัดส่วนจำนวนต้นที่งอกในแต่ละวันต่อจำนวนวันหลังเพาะ

7. ความสามารถในการเก็บรักษาลดลง (reduction of storability) เมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพมีความสามารถในการเก็บรักษาลดลง วิธีการประเมินความสามารถในการเก็บรักษาที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ วิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (accelerated aging test) ซึ่งเป็นวิธีการที่สามารถประเมินค่าความสามารถในการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ (seed storability) ของเมล็ดทุกชนิด และยังสามารถเปรียบเทียบความสามารถในการเก็บรักษาของเมล็ดชนิดเดียวกันแต่มาจากกลุ่มหรือกองต่างกันได้

8. อัตราการเจริญเติบโตและพัฒนาของต้นกล้าลดลง (decreasing rate of seedling growth and development) เมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพไม่มากนักยังสามารถงอกในแปลงปลูกได้ตามปกติแต่การพัฒนาและการเจริญเติบโตของต้นกล้าค่อนข้างช้ากว่าเมล็ดที่ไม่เสื่อมคุณภาพ นอกจากนี้ยังมีผลให้การออกดอกและการติดผลหรือเมล็ดลดลง

9. สูญเสียความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แปรปรวน (loss of environmental stress resistance) กล้าที่งอกจากเมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพแล้ว จะมีความแปรปรวนของอุณหภูมิ เป็นต้น

การตรวจสอบคุณสมบัติในการสูญเสียความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แปรปรวนใช้วิธีการทดสอบในสภาพอากาศหนาว (cold test)

10. ความสม่ำเสมอของต้นกล้าในแปลงปลูกทดลอง (decreasing uniformity of seedling) เมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพนอกจากมีการงอกช้ากว่าเมล็ดที่ไม่เสื่อมสภาพแล้วยังทำให้กล้าไม่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ผิดปกติลดลง จึงเป็นสาเหตุให้กล้าไม่มีการเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอ เช่น การออกดอกไม่พร้อมกัน และการแก่ของผลไม่พร้อมกัน

11. เมล็ดพันธุ์เปลี่ยนสี (changing of seed color) เมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพจะมีสีของเมล็ดเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม เมล็ดที่เคยมีสีสดใสเมื่อเสื่อมสภาพจะมีสีมัวหมองลงสีเมล็ดส่วนใหญ่เมื่อเก่าจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (browning) โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมล็ดที่โดนแสง

12. ผลผลิตลดลง (yield loss) เมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพเมื่อนำไปปลูกจะทำให้ได้ผลผลิตต่ำกว่าเมล็ดที่ยังไม่เสื่อมคุณภาพ นอกจากนี้คุณภาพของผลผลิตยังลดต่ำลงไปด้วย

13. ความงอกในไร่ลดลง (loss of field emergence) เมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพมากๆ จึงจะแสดงออกถึงความสามารถในการงอกในไร่ลดลงจากเมล็ดที่ไม่เสื่อมคุณภาพ

14. ต้นกล้าผิดปกติมากขึ้น (abnormal seedling increasing) ต้นกล้าที่เพาะจากเมล็ดที่เสื่อมคุณภาพจะมีความผิดปกติมากกว่าเมล็ดที่มีคุณภาพดี ทั้งนี้เนื่องจากเนื้อเยื่อบางส่วนภายในเมล็ดเสื่อมสลายหรือตายไป จึงทำให้เกิดอาการผิดปกติทางสัณฐาน (morphology) เช่น การเจริญเติบโตของรากหยุดชะงัก (stunt root) การที่ส่วนยอด (hypocotyl) ไม่ยืดตัวจึงไม่สามารถโผล่ขึ้นเหนือผิวดินได้

การทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (seed vigour test)

การวัดความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์คือ การวัดลักษณะการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ก่อนเมล็ดพันธุ์ตาย ลักษณะการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์อาจทดสอบได้โดยการทดสอบความแข็งแรงที่สัมพันธ์กับการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์ เช่น การประเมินการเจริญเติบโตของต้นกล้า การทดสอบในสภาวะเครียด และการทดสอบทางชีวเคมี เป็นต้น วิธีทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่ดีควรมีลักษณะดังนี้ให้ผลการทดสอบเหมือนกันเมื่อทำซ้ำ ให้ผลการทดสอบที่สัมพันธ์กับการตั้งตัวของต้นกล้า ให้ผลการทดสอบที่รวดเร็ว เป็นวิธีที่ง่าย และราคาถูก (ศานิต, 2552)

การทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีการวัดปริมาณเอทานอลอย่างรวดเร็ว (fast ethanol assay)

เป็นวิธีที่สามารถตรวจสอบได้รวดเร็ว โดยก่อนหน้านี้ได้มีการวัดปริมาณเอทานอลโดยใช้เครื่อง gas chromatography หรือการวัดปริมาณเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ซึ่งมีขั้นตอนที่ยุ่งยากและมีความค่าใช้จ่ายสูง จึงไม่เป็นที่นิยมในการนำมาใช้เป็นวิธีการเพื่อทดสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ในระดับห้องปฏิบัติการ ต่อมาได้มีการพัฒนาวิธีการวัดเอทานอลที่เมล็ดโผล่ขึ้นโดยใช้เครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์จากลมหายใจ (breath analyzer) แบบพกพาขึ้น ได้มีการดัดแปลงเครื่องตรงปากเป่าให้เป็นเข็ม เพื่อแทงลงในขวดแก้วและดูดอากาศจากหลอดขึ้นมาวัดปริมาณเอทานอลที่เมล็ดผลิตขึ้น จึงทำให้วิธีการวัดเอทานอลนำมาใช้เป็นวิธีในการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่ง่ายและสะดวก

มีรายงานการตรวจวัดปริมาณเอทานอลเพื่อจำแนกการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์โดย Kodde and Buckley (2011) ได้นำเสนอวิธีการที่ง่ายและรวดเร็วในการวิเคราะห์การเสื่อมสภาพของเมล็ดกะหล่ำปลีโดยการวัดการผลิตเอทานอล วิธีการวิเคราะห์และตรวจสอบลมหายใจเป็นเรื่องง่าย เมื่อเปรียบเทียบกับ การตรวจวัดปริมาณก๊าซโครมาโตกราฟี หรือขั้นตอนการตรวจวัดเอนไซม์เป็น การวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์ผกผันระหว่างการผลิตเอทานอลของเมล็ดพันธุ์และคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

ปริมาณการผลิตเอทานอลที่เมล็ดพันธุ์ผลิตออกมานั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ ได้แก่ ระยะเวลาและอุณหภูมิในการบ่มเมล็ดพันธุ์ จำนวนตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ ความชื้นเริ่มต้นภายในเมล็ดพันธุ์ และชนิดของเมล็ดพันธุ์ (Buckley and Monreal, 2013) ซึ่งในการนำวิธีการวัดปริมาณเอทานอลของเมล็ดพันธุ์ เพื่อประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิด จึงต้องศึกษาสภาพแวดล้อมและปัจจัยต่างๆที่เหมาะสมที่จะทำให้สามารถแยกความแตกต่างของความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ชนิดนั้นๆ ได้

จากการศึกษาถึงปัจจัยที่สำคัญในการผลิตเอทานอลของเมล็ดพันธุ์ที่กล่าวมาจึงเป็นแนวทางในการทดลองหาวิธีการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีอื่นแทนการบ่มเร่งอายุโดยต้องทำให้เซลล์ของเมล็ดพันธุ์เพิ่มอัตราการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ รวมทั้งเพิ่มอัตราการหายใจเพื่อให้เมล็ดพันธุ์ผลิตเอทานอลออกมาให้มากพอที่จะใช้ในการวัดปริมาณ

Hatti-Kaul and Mattiason (2003) พบว่าการทำลายผนังเซลล์สามารถทำได้หลายวิธี แต่สามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ การใช้แรงกล เช่น เครื่องบด คลื่นอัลตราโซนิก และการใช้แรงดันสูง การทำลายทางกายภาพ เช่น ความร้อน หรือการแช่เยือกแข็งสลับกับการละลาย 2-3 รอบ และการย่อยด้วยเอนไซม์หรือสารเคมี

คลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonic)

คลื่นอัลตราโซนิกหรือคลื่นเหนือเสียง (ultrasonic Waves) หมายถึง คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงเกินกว่าที่มนุษย์จะได้ยินโดยมีความถี่สูงกว่า 18 kHz ซึ่งความถี่ที่ใช้ในการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยคลื่นอัลตราโซนิกอยู่ในช่วง 20-100kHz

การใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ก่อนการตรวจวัดเอทานอล จึงเป็นแนวทางการทดลองในครั้งนี้ เนื่องจากคลื่นอัลตราโซนิกมีผลในการทำลายผนังเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เซลล์เสื่อมสภาพเพิ่มขึ้น เพิ่มอัตราการทำงานของเอนไซม์และกระตุ้นการผลิตเอทานอล

อ่างส่งคลื่นความถี่สูง (ultrasonic bath) โดยส่วนมากจะมีรูปทรงเป็นสี่เหลี่ยมและหลายขนาด เช่นอ่างขนาดเล็กที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการทดลอง หรือโรงงานขนาดเล็ก และอ่างขนาดใหญ่ที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรม อ่างส่งคลื่นความถี่สูงนี้นี้จะมีทรานสดิวเซอร์สำหรับสร้างคลื่นอัลตราโซนิก เมื่อทรานสดิวเซอร์เกิดการสั่นสะเทือนที่ความถี่ประมาณ 20-80 kHz จะทำให้เกิดฟองอากาศเล็กๆ จำนวนมาก หลังจากนั้นฟองอากาศเหล่านี้จะเกิดการแตกตัวดังนั้นในอ่างที่บรรจุทรานสดิวเซอร์จะมีฟองอากาศเล็กๆ ก่อนตัว เป็นฟองและเกิดการแตกตัวในเวลาเข้าไปเข้ามาเป็นจำนวนมาก การก่อตัวและการแตกตัวของฟองอากาศนี้ทำให้เกิดการทำลายเซลล์ได้ (John, 1995)ปัจจุบันยังไม่พบรายงานความสำเร็จของการใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ก่อนการตรวจวัดเอทานอลที่ผลิตได้จากเมล็ดผ่านวิธีการตรวจวัดเอทานอลอย่างรวดเร็ว

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกสำหรับเทคนิคการตรวจวัดปริมาณเอทานอลอย่างรวดเร็ว
2. เพื่อเปรียบเทียบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จากการวัดปริมาณเอทานอลหลังเมล็ดพันธุ์ถูกกระตุ้นด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกกับวิธีการวัดมาตรฐาน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พันธุ์ CP888 ที่เก็บเกี่ยวใน พ.ศ. 2558 และไม่ผ่านการคลุกสารเคมี
2. การสุ่มเมล็ดพันธุ์
 - 2.1 ถุงมือยาง
 - 2.2 ถุงพลาสติกหรือกระสอบ ที่มีความลึกน้อยกว่า 40 เซนติเมตร
 - 2.3 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
3. การตรวจสอบความงอก
 - 3.1 ตู้เพาะเมล็ด (Seed Germination) ปรับอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์
 - 3.2 กล่องพลาสติกใสที่มีฝาปิดและแสงสามารถส่องถึง
 - 3.3 กระดาษ (Towel paper) และอุปกรณ์การเพาะ
 - 3.4 ปากคีบ ปากกา และกระดาษสติกเกอร์
 - 3.5 น้ำจัดไอออน
 - 3.6 แบบบันทึกผลการตรวจสอบความงอก
4. การปรับความชื้นภายในเมล็ด
 - 4.1 เครื่องปั่นเมล็ด
 - 4.2 ปีเปต และน้ำจัดไอออน
5. การทำให้เมล็ดพันธุ์มีความแข็งแรงต่ำโดยวิธีการเร่งอายุ (accelerated aging)
 - 5.1 ตู้อบอุณหภูมิสูง (hot air oven)
 - 5.2 ขวดโหลเร่งอายุและตะแกรงลวด
 - 5.3 ปีคเกอร์ และน้ำจัดไอออน
6. การกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยคลื่นอัลตราโซนิกก่อนการตรวจวัดปริมาณเอทานอล
 - 6.1 ขวดแก้ว (Vial) ปริมาตร 20 มิลลิลิตรและฝาขวดแก้วด้วยฝายางขอบอะลูมิเนียม
 - 6.2 เครื่องหนีบฝาขวด
 - 6.3 อ่างส่งคลื่นความถี่สูง (Ultrasonic bath)
 - 6.4 เครื่อง ethanol breath analyzer
7. โปรแกรมคำนวณ
 1. โปรแกรม GERMINATOR®
 2. โปรแกรม STATISTIX SX version 8.0
 3. โปรแกรม Excel® 2010

วิธีการ

การทดลองที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผ่านการกระตุ้นด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกที่ระยะเวลาต่างๆ

1.1 การชักนำให้เมล็ดพันธุ์มีความแข็งแรงแตกต่างกัน

ใช้วิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ด้วยการบ่มเมล็ดพันธุ์ในสภาวะร้อน-ชื้นโดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ CP888 330 กรัม แบ่งเมล็ดออกเป็น 3 ล็อต ล็อตละ 110 กรัม ส่วนหนึ่งเป็นคอนโทรล (ไม่ดำเนินการใด ๆ) อีก 2 ส่วนที่เหลือ นำขวดโหลเร่งอายุ 2 ใบ ใส่น้ำจืดไอออนไบละ 100 มิลลิลิตร แล้วนำเมล็ดพันธุ์ใส่ในตะแกรงลวดที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร และมีขาตั้งสูง 3 เซนติเมตร จากนั้นนำตะแกรงที่มีเมล็ดพันธุ์ใส่ในขวดโหลเร่งอายุ แล้วนำเข้าตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 42 องศา เป็นระยะเวลาที่แตกต่างกัน 2 ระยะ คือ 72 และ 144 ชั่วโมงจากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ออกจากตู้อบลมร้อนและนำไปตรวจวัดปริมาณเอทานอลและทดสอบความงอกต่อไป

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผ่านการกระตุ้นด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกที่ระยะเวลาต่างๆ

สุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ CP888 จนได้ตัวอย่างสำหรับทดสอบ (working sample) นำเมล็ดพันธุ์ที่สุ่มได้ใส่ในขวดแก้ว (vial) ที่มีปริมาตร 20 มิลลิลิตร ขวดละ 10 เมล็ด จำนวนทั้งสิ้น 20 ขวด แล้วใส่น้ำจืดไอออนเพื่อเพิ่มความชื้นในเมล็ดพันธุ์ให้เท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ คำนวณโดยอาศัยความชื้นเริ่มต้นของเมล็ดพันธุ์ (Hill et al. 2008) หลังจากนั้นทำการปิดฝาขวดแก้วด้วยฝายางขอบอะลูมิเนียมทันทีและใช้เครื่องปั๊มฝาให้แน่น นำขวดบรรจุเมล็ดพันธุ์ไปทำการกระตุ้นด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกจากอ่างสร้างความถี่สูงในระยะเวลาที่แตกต่างกัน ทั้งหมด 5 ระยะ คือ ที่ไม่ผ่านการกระตุ้น ที่ 15, 30, 45 และ 90 นาที โดยแต่ละระยะเวลาใช้เมล็ดพันธุ์ทดสอบระยะละ 4 ขวด (ซ้ำ) นำขวดแก้วบรรจุเมล็ดพันธุ์มาวัดปริมาณเอทานอลด้วยเครื่อง ethanol breath analyzer การวัดปริมาณเอทานอลทำได้โดยแทงเข็มฉีดยาลึกลงในขวดตรงบริเวณด้านบนของฝายางเพื่อลดความดันอากาศในขวด แล้วรีบแทงปลายเข็มของเครื่องวัดปริมาณเอทานอลตามลงไป เมื่อเครื่องอ่านค่าเสร็จจึงถอนเข็มออกนำค่าที่ได้ไปคำนวณโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (ANOVA)

การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์กับปริมาณเอทานอลที่วัดได้ หลังวิธีการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ถูกทำให้มีความแข็งแรงแตกต่างกันโดยการเร่งอายุ (การทดลองที่ 1.1) ทั้ง 3 ระดับ ไปกระตุ้นด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกเป็นระยะเวลา 90 นาที ด้วยวิธีการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.2 โดยทำการทดลอง 4 ซ้ำ

จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ทั้งหมดไปตรวจสอบความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ ตามวิธีการดังต่อไปนี้

2.1 การทดสอบงอก

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผ่านการเร่งอายุข้างต้นและเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ไม่ผ่านการเร่งอายุมาทดสอบความงอกด้วยวิธี between paper ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด ตรวจนับจำนวนต้นกล้าปกติที่ 5 และ 7 วัน ตามมาตรฐานในการทดสอบความงอก ISTA (2003)

2.2 การทดสอบความแข็งแรงด้วยวิธีการทดสอบความเร็วในการแทงราก (radicle emergence test) และเวลาในการงอกกล้าปกติเฉลี่ย (mean germination time)

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผ่านการเร่งอายุข้างต้นและเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ไม่ผ่านการเร่งอายุมาทดสอบความงอกด้วยวิธี between paper ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด ตรวจนับการแทงราก (2 มิลลิเมตร) ที่ 40 ชั่วโมงหลังเพาะเมล็ด

2.3 การทดสอบความแข็งแรงด้วยการวิเคราะห์เวลาในการงอกกล้าปกติเฉลี่ย (mean germination time)

นำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผ่านการเร่งอายุข้างต้นและเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ไม่ผ่านการเร่งอายุมาทดสอบความงอกด้วยวิธี between paper ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ดตรวจนับจำนวนต้นกล้าปกติทุกวันจนครบระยะเวลาที่ 7 วัน ตามมาตรฐานในการทดสอบความงอก ISTA (2003) คำนวณหาความเร็วในการงอกกล้าปกติเฉลี่ย โดยโปรแกรม Germinator (version 2.01)

2.4 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์

นำปริมาณเอทานอลเปอร์เซ็นต์ความงอกเปอร์เซ็นต์การแทงรากและเวลาในการงอกกล้าปกติเฉลี่ยไปพล็อตกราฟเส้นตรงและคำนวณสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel® 2010

สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

ทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ ภาควิชาพืชไร่นา และห้องปฏิบัติการกลาง
ชั้น 5 อาคารวชิรานุสรณ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน ระหว่างเดือนพฤษภาคม –
มิถุนายน พ.ศ. 2561

ผลและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผ่านการกระตุ้นด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกที่ระยะเวลาต่างๆ

จากการทดสอบพบว่า เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ CP888 ที่ผ่านการกระตุ้นด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 90 นาที มีปริมาณการผลิตเอทานอลสูงสุดมีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ไม่ผ่านการกระตุ้น หรือถูกกระตุ้นเป็นเวลา 15, 30 และ 45 นาที (ตารางที่1) แสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกมีผลต่อปริมาณเอทานอลที่วัดได้ด้วยวิธีการตรวจวัดเอทานอลอย่างรวดเร็ว

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบระยะเวลาที่ใช้ในการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยวิธีการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกกับปริมาณการผลิตเอทานอลที่วัดได้

ระยะเวลาในการกระตุ้นด้วยการ สั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก (นาที)	ปริมาณเอทานอล (ไมโครกรัมต่อลิตร)
0	0.5b ⁺
15	6.25b
30	9.25b
45	9.75b
90	71.00a
F-test	**
C.V. (%)	39.97

**แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $P \leq 0.01$

+ อักษรหลังค่าเฉลี่ยที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์กับปริมาณเอทานอลที่วัดได้หลังวิธีการสันสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก

เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ไปกระตุ้นให้มีความแข็งแรงแตกต่างกัน 3 ระดับ โดยการเร่งอายุ (การทดลองที่ 1.1) จากนั้นนำตรวจวัดปริมาณเอทานอลวิธีการสันสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกเป็นระยะเวลา 90 นาที และตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีการต่าง ๆ พบว่า

ปริมาณเอทานอล

จากการทดลองวัดปริมาณการผลิตเอทานอลของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยวิธีการตรวจวัดเอทานอลอย่างรวดเร็ว โดยใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงแตกต่างกัน (ชักนำโดยการบ่มเร่งอายุ) และผ่านการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยการสันสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก เป็นเวลา 90 นาที พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงต่ำสุด (ผ่านการบ่มเร่งอายุเป็นเวลา 144 ชั่วโมง) มีปริมาณเอทานอลที่วัดได้สูงสุด เท่ากับ 151.00 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งค่าที่ได้มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$) เปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ไม่ผ่านการบ่มเร่งอายุและผ่านการบ่มเร่งอายุเป็นเวลา 72 ชั่วโมง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ถูกชักนำให้มีความแข็งแรงต่างกันโดยการเร่งอายุกับปริมาณเอทานอลที่วัดได้หลังผ่านการกระตุ้นด้วยการสันสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกเป็นเวลา 90 นาที

ระยะเวลาในการเร่งอายุ (ชั่วโมง)	ปริมาณเอทานอล (ไมโครกรัมต่อลิตร)
0	71.00b ⁺
72	63.00b
144	151.00a
F-test	**
C.V. (%)	15.71

**แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ $P \leq 0.01$

+ อักษรหลังค่าเฉลี่ยที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ CP888 มีเปอร์เซ็นต์ความงอกก่อนนำไปบ่มเร่งอายุ เท่ากับ 99 เปอร์เซนต์ เมื่อผ่านการเร่งอายุเป็นระยะเวลา 72 และ 144 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะทดสอบความงอกพบว่าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ผ่านการบ่มเร่งอายุเป็นเวลา 144 ชั่วโมง มีค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำที่สุดคือ 63 เปอร์เซนต์

เมื่อพิจารณาการทดสอบความเร็วในการแทงราก (2 มิลลิเมตร) ที่ 40 ชั่วโมงพบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการบ่มเร่งอายุเป็นเวลา 144 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์การแทงรากต่ำสุดคือ 66 เปอร์เซ็นต์ และใช้เวลาในการงอกกล้าปกติเฉลี่ยสูงที่สุดเท่ากับ 129.74 ชั่วโมง ซึ่งค่าที่ได้มีค่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P \leq 0.01$) เปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ไม่ผ่านการบ่มเร่งอายุและผ่านการบ่มเร่งอายุเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จึงสรุปได้ว่าเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการบ่มเร่งอายุเป็นเวลา 144 ชั่วโมง มีความแข็งแรงต่ำที่สุด ผลที่ได้สอดคล้องกับการตรวจสอบความแข็งแรงโดยการวิเคราะห์เวลาในการงอกเฉลี่ย ต่างกันเพียงเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการบ่มเร่งอายุเป็นเวลา 144 ชั่วโมงจะใช้เวลาในการงอกเฉลี่ยสูงที่สุด (งอกช้าที่สุด) (ตารางที่3)

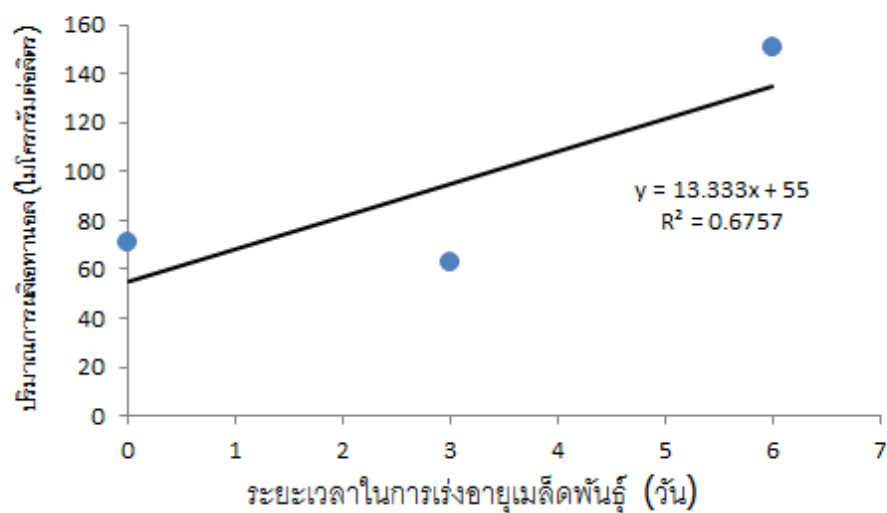
ตารางที่ 3 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

ระยะเวลาในการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (ชั่วโมง)	ความงอก (เปอร์เซ็นต์)	การแทงราก (เปอร์เซ็นต์)	เวลาในการงอกเฉลี่ย (ชั่วโมง)
0	99.00a ⁺	99.00a	124.19ab
72	95.00a	94.50a	121.01b
144	63.00b	66.00b	129.74a
F-test	**	**	**
C.V. (%)	7.44	8.94	2.38

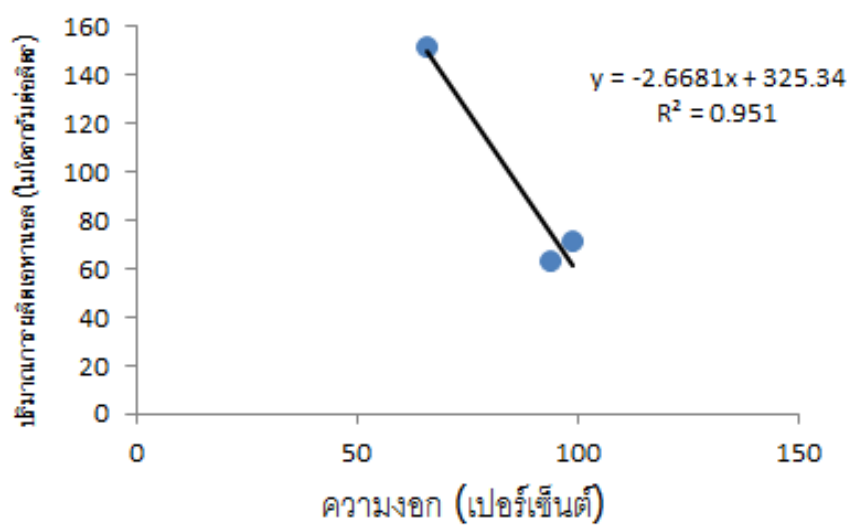
**แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ $P \leq 0.01$

+ อักษรหลังค่าเฉลี่ยที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

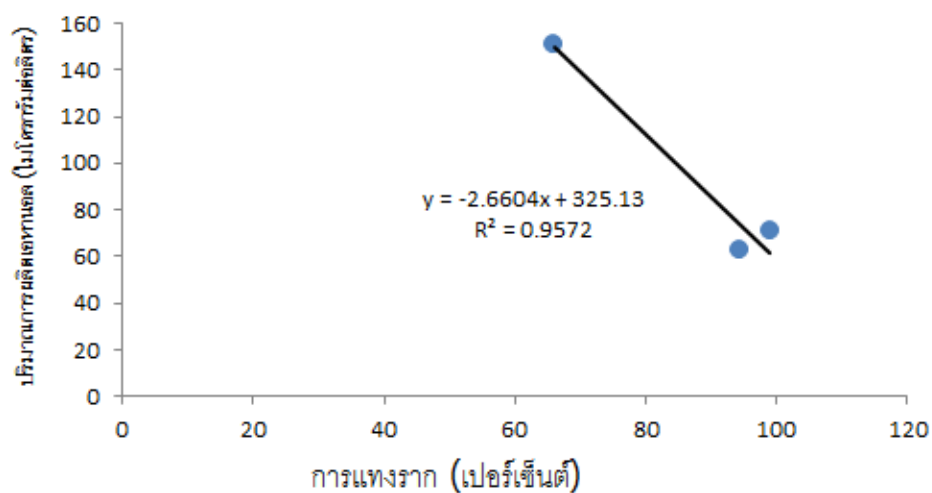
จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของกราฟระหว่างระยะเวลาในการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และปริมาณการผลิตเอทานอล พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.6757 ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีความสัมพันธ์กันในระดับปานกลาง (ภาพที่ 1) อย่างไรก็ตามกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความงอก เปอร์เซ็นต์การแทงรากและเวลาในการงอกกล้าปกติเฉลี่ยกับปริมาณการผลิตเอทานอล พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจเท่ากับ 0.951, 0.9572 และ 0.9025 ตามลำดับ ซึ่งแสดงว่ามีความสัมพันธ์กันในระดับสูง กล่าวคือเมื่อเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีความเสื่อมมากขึ้น จะมีแนวโน้มการผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 1)



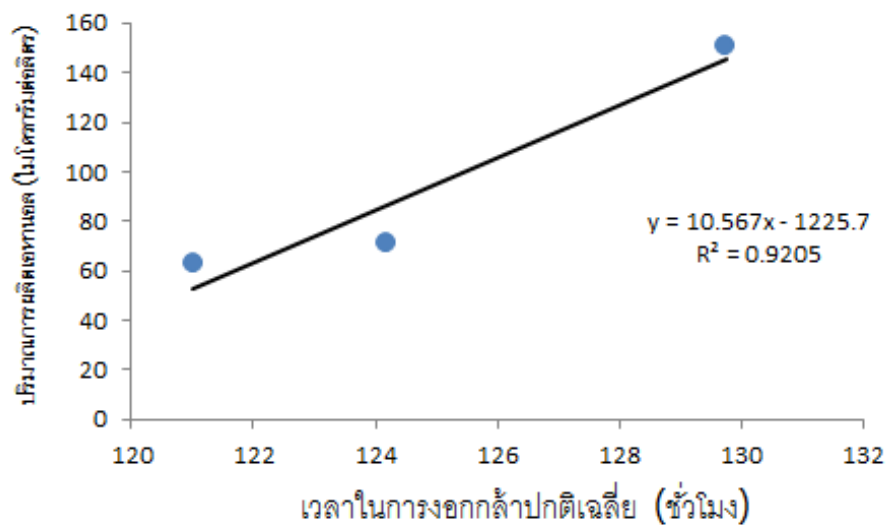
ภาพที่ 1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลและระยะเวลาในการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์



ภาพที่ 2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลและเปอร์เซ็นต์ความงอก



ภาพที่ 3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลและเพอร์เซ็นต์การแทรกแรง



ภาพที่ 4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเอทานอลและเวลาในการรอกกล้ำปกติเฉลี่ย

สรุป

เวลาที่ใช้ในการกระตุ้นเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก มีผลต่อปริมาณการผลิตเอทานอล และพบว่าเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีความเสื่อม (จากสภาพ ร้อน-ชื้น) เมื่อผ่านการกระตุ้นด้วยการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก เป็นเวลา 90 นาที แล้วนำไป ตรวจวัดเอทานอลด้วยวิธีการตรวจวัดเอทานอลอย่างรวดเร็วจะมีปริมาณการผลิตเอทานอลสูงกว่า เมล็ดที่มีความเสื่อมน้อย นอกจากนี้ปริมาณเอทานอลที่วัดได้ยังมีความสัมพันธ์กับความแข็งแรงของ เมล็ดพันธุ์ในระดับสูงจึงมีความเป็นไปได้ที่จะใช้วิธีการตรวจวัดปริมาณเอทานอลอย่างรวดเร็วที่ กระตุ้นเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิก เป็นเวลา 90 นาทีในการประเมินความ เสื่อมของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

จวงจันท์ ดวงพัตรา. 2529. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ.

วันชัย จันท์ประเสริฐ. 2538. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืชไร่. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศานิต สวัสดิกาญจน์. 2552. ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์และวิธีการประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์. วารสารวิทยาศาสตร์ประยุกต์ 1, (1) 2552

Benamar, A., C. Tallon, and D. Macherl 2003. Membrane integrity and oxidative properties of mitochondria isolated from imbibing pea seeds after priming or accelerated aging. Seed Science Research 13-45.

Bewley, J.D. and M. Black. 1985. Seed: Physiology of Development and Germination. Plenum Press, New York and London. 376p.

Buckley, W.T., Huang, J. and Monreal, M.A. 2013. Ethanol emission seed vigor test for canola: minimal effects from variation in incubations, sample size and seed moisture content. Seed Sci. & Technol. 41: 270-280.

Copeland, L.O. and M.B. McDonald. 2001. Principles of Seed Science and Technology. 4th ed. Kluwer Academic Publishers, Norwell, Massachusetts.

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

- Feierabend, J. 1979. Role of cytoplasmic protein synthesis and its coordination with the plastidic protein synthesis in the biogenesis of chloroplasts. *Ber.Dtsch. Bot. Ges.* 92:553-594.
- Hampton and D.M. TeKrony. 1995. *Handbook of Vigour Test Methods*. The International Seed Testing Association, Switzerland.
- International Seed Testing Association. 1999. *International Rule for Seed Testing Rule* 1999. *Seed Sci. & Technol.* 27 Supplement.
- Kodde, J. and W.T. Buckley. 2011. A fast ethanol assay to detect seed deterioration. *Seed Science Research.* 22: 55-62.
- McCormac, A.C. and P.D. Keefe. 1990. Cauliflower (*Brassica oleracea* L.) seed vigour: imbibitions effect. *J. Exp. Bot.* 41 (228): 893-899.
- Milberg, P.,L. Anderson and K. Thomson. 2000. Large-seeded species are less dependent on light for germination than small-seeded ones. *Seed Sci. Res.* 10: 99-104.
- Spear, J.F. 1995. An introduction to seed vigour testing. In *seed vigour testing, Contributions to a Seminar Presented at the 24th Congress of the International Seed Testing Association, Copenhagen.* 97 p.
- Thomson, C.J. and H. Greenway. 1991. Metabolic evidence of stellar anoxia in maize roots expose to low O₂ concentrations. *Plant Physiol.* 96: 1294-1302.

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวปาริฉัตร เจริญ
วัน เดือน ปี เกิด	14 มีนาคม พ.ศ. 2540
สถานที่เกิด	นครราชสีมา
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนพิบูลวิทยาลัย
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	-
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	-
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-