ปัญหาพิเศษ

การประเมินความแก่ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว พันธุ์กำแพงแสน 2 โดยการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence

Evaluation of Mung Bean (*Vigna radiata* cv. Kampaengsaen 2) Seed Maturity Using Chlorophyll Fluorescence Analysis

นางสาวสุธิดา เลาะไธสง

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

DEPARTMENT OF AGRONOMY

FACULTY OF AGRICULTURE KASETSART UNIVERSITY

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เกษตร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์เกษตร | พืชไร่นา

สาขา | **ภาควิชา**

เรื่อง การประเมินความแก่ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 โดยการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence

Evaluation of Mung Bean (*Vigna radiata* cv. Kampaengsaen 2) Seed Maturity Using Chlorophyll Fluorescence Analysis

นามผู้วิจัย นางสาวสุธิดา เลาะไธสง

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษหลัก .....

(อาจารย์ ดำรงวุฒิ อ่อนวิมล, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษร่วม .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ปิติพงษ์ โตบันลือภพ, Dr.sc.)

หัวหน้าภาควิชา.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ปิยะ กิตติภาดากุล, Ph.D.)

วันที่ เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2561 .

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การประเมินความแก่ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว พันธุ์กำแพงแสน 2 โดยการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence

Evaluation of Mung Bean (*Vigna radiata* cv. Kampaengsaen 2) Seed Maturity Using Chlorophyll Fluorescence Analysis

โดย

นางสาวสุธิดา เลาะไธสง

เสนอ

ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

DEPARTMENT OF AGRONOMY

FACULTY OF AGRICULTURE KASETSART UNIVERSITY

บทคัดย่อ

นางสาวสุธิดา เลาะไธสง 2561: การประเมินความแก่ทางเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 โดยการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence ปัญหาพิเศษปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์เกษตร ภาควิชาพืชไร่นา อาจารย์ที่ปรึกษา: ดำรงวุฒิ อ่อนวิมล, ปร.ด. 41 หน้า

การบริโภคถั่วเขียวแนวโน้มเติบโตอย่างต่อเนื่อง ถั่วเขียวและผลิตภัณฑ์จึงสามารถสร้างรายได้ทางเศรษฐกิจให้กับประเทศได้เป็นอย่างมาก แต่ปัญหาที่พบในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวคือ การทยอยแก่ หรือสุกแก่ในแปลงไม่พร้อมกันเนื่องจากลักษณะเฉพาะตัวของถั่วเขียว การศึกษานี้จึงพยายามวิจัยและพัฒนาวิธีการตรวจสอบความสุกแก่ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่ถูกต้องและแม่นยำสำหรับระบุระยะเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์แบบครั้งเดียว นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ที่มีระยะการพัฒนาแตกต่างกัน 3 ระยะ ที่ปลูกในพื้น 2 จังหวัด คือ จังหวัดลพบุรี และ จังหวัดสุพรรณบุรี มาตรวจสอบความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ รวมทั้งการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence ผลการทดลองพบว่าค่า Chlorophyll fluorescence แปรผกผันกับแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (เปอร์เซ็นต์ความงอกหลังการเร่งอายุ) โดยเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่แก่จะมีค่า Chlorophyll fluorescence ต่ำ และในทางตรงกันข้ามเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่อ่อนจะมีค่า Chlorophyll fluorescence สูง เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรีมีเปอร์เซ็นต์ค่า Chlorophyll fluorescence ต่ำกว่า และมีความงอกและความแข็งแรงแตกต่างกับระยะอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การวิเคราะห์ค่า Chlorophyll fluorescence ด้วยกล้อง Fluorescence microscope จึงสามารถจำแนกความแก่ทางสรีรวิทยาของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 เพื่อการเก็บเกี่ยวสำหรับการผลิตเมล็ดพันธุ์ที่เหมาะสมได้

_____ _____ ___/___/___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ABSTRACT

Suthida Loathaisong. 2018: Evaluation of Mung bean (*Vigna radiata* cv. Kampaengsaen 2) Seed Maturity Using Chlorophyll Fluorescence Analysis. Special Problems, Bachelor's Degree (Agriculture) Major Field Agriculture Science Department of Agronomy Special Problems Advisor: Damrongvudhi Onwimol, Ph.D. 41 pages

The consumption of mung bean has been constantly growing. Mung bean's products was, therefore, a great economic profit for Thailand. However, the major problem of this species is asynchronous in seed maturity because of its unique characteristic. Therefore, this study aimed to develop correct and precise a maturity assessment method of mung bean seeds for searching the one-time seed harvest. Mung bean cv. Kampaengsaen 2 with 3 different developmental states were cultivated in 2 locations which were Lopburi and Suphanburi province. The germination, seed vigour and Chlorophyll fluorescence of the seeds were analysed in each sample. The results showed that Chlorophyll fluorescence inversely proportional to the seed vigour (germination after AA test). Mature mung bean seed emitted lower chlorophyll fluorescence level than fresh mung bean seeds. The mature mung bean seeds harvested in Suphanburi province was lower Chlorophyll fluorescence than from Lopburi province. Chlorophyll fluorescence from each growing stages was statistically significantly different from each other. Analysis of Chlorophyll fluorescence, therefore, allow the assessment of maturity of mung beans seed for appropriate seed harvesting in seed production.

_____ _____ ___ /___ /___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ดำรงวุฒิ อ่อนวิมล อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ปิติพงษ์ โตบันลือภพ ผู้สนับสนุน และจัดหาเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 รวมทั้งอุปกรณ์ต่าง ๆ ในการทดลองครั้งนี้ซึ่งเป็นผู้ชี้แนะแนวทางในการทำการทดลองเป็นอย่างสูง ที่ช่วยทำให้การทำปัญหาพิเศษนี้สำเร็จ รวมทั้งส่งเสริมการเรียนรู้ด้านวิทยาศาสตร์เมล็ดพันธุ์ของข้าพเจ้า และยังเป็นผู้ให้คำปรึกษาและข้อคิดที่มีประโยชน์ ซึ่งสามารถนำไปใช้พัฒนาศักยภาพตนเองในอนาคตได้เป็นอย่างดี

ขอกราบขอบพระคุณ พ่อ แม่ ที่อบรมสั่งสอน สนับสนุนการศึกษาและให้กำลังใจเสมอมา

ขอขอบรุ่นพี่ในห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ที่ให้คำปรึกษาในการทำปัญหาพิเศษและช่วยเก็บข้อมูลในครั้งนี้

และขอขอบคุณนิสิตปริญญาโท และเพื่อน ๆ นิสิตปริญญาตรีที่ช่วยให้คำแนะนำและเป็นกำลังใจในการทำปัญหาพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สุธิดา เลาะไธสง

พฤษภาคม 2561

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	21
อุปกรณ์	21
วิธีการ	22
สถานที่และระยะเวลาการทำวิจัย	23
ผลและวิจารณ์	25
สรุป	32
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก	38
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	41

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์การเก็บเกี่ยวจากการใช้คลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ (CF) ความงอกหลังการเร่งอายุแบบควบคุม (CD) และเปอร์เซ็นต์ในความงอกของต้นกล้า	19
2	คุณภาพผลผลิตของตัวอย่างที่เก็บเกี่ยวในระยะที่มีคุณภาพสูง ปานกลางและต่ำในช่วงเวลาที่แตกต่างกันของการกำหนดอายุการเก็บเกี่ยวของพันธุ์พริกไทย 4 สายพันธุ์ หลังจากการคัดแยกคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ หรือการระงับความงอก ความงอกหลังการเร่งอายุแบบควบคุม (CD) และความงอกออกมาของต้นกล้า	19
3	ความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่เก็บได้จากระยะต่าง ๆ	29
4	ความงอกของถั่วเขียวที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรีทั้ง 3 ตัวอย่างที่ได้จากการเก็บเกี่ยวในระยะต่าง ๆ	29
5	ความงอกของถั่วเขียวที่ปลูกในจังหวัดลพบุรีทั้ง 3 ตัวอย่างที่ได้จากการเก็บเกี่ยวในระยะต่าง ๆ	30

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เปอร์เซ็นต์ความงอกหลังการเร่งอายุแบบควบคุม ของเมล็ดพริกไทยที่มีการจำแนกตาม Chlorophyll fluorescence	16
2	ค่าเฉลี่ยเวลาความงอกของเมล็ดพันธุ์พริกไทย ตามช่วงเวลาการเก็บเกี่ยวต่างกัน ที่ใช้ Chlorophyll fluorescence และไม่ใช้ Chlorophyll fluorescence	17
3	เปอร์เซ็นต์ความงอกของต้นกล้าของเมล็ดพันธุ์จากเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวในช่วงเวลาที่แตกต่างกันของการเจริญเติบโตของพันธุ์พริกไทย ที่มีการคัดแยกตาม Chlorophyll fluorescence และไม่มีการคัดแยก	18
4	ถั่วเขียวในแปลงปลูก a) ถั่วเขียวในแปลงปลูก ที่ต้นอายุ 30 วันหลังการปลูก b) ถั่วเขียวในแปลงปลูก ที่ต้นอายุ 48 วันหลังการปลูก และ c) ถั่วเขียวในแปลงปลูก ที่ต้นอายุ 67 วันหลังการปลูก	26
5	เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว ภายใต้การวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence แบบต่าง ๆ a) ระยะอ่อน อายุ 10 วันหลังดอกบาน b) ระยะสุกแก่ทางสรีระวิทยา อายุ 28 วันหลังดอกบานและ c) ระยะสุกแก่เก็บเกี่ยว อายุ 47 วันหลังดอกบาน	28
6	การทดสอบการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Accelerated Aging (AA) Test ของเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวได้ในระยะต่าง ๆ	31
7	ความสัมพันธ์ของการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence และค่าการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวโดยวิธี Accelerated Aging (AA) Test	32

การประเมินความแก่ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 โดยการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence

Evaluation of Mung Bean (*Vigna radiata* cv. Kampaengsaen 2) Seed Maturity Using Chlorophyll Fluorescence Analysis

คำนำ

ถั่วเขียว เป็นพืชที่เป็นที่คนทั่วไปนิยมบริโภคทั้งทางตรง เช่น ถั่วงอก ถั่วเขียวต้มน้ำตาล และการบริโภคทางอ้อม เช่น วุ้นเส้น แป้งถั่วเขียว เป็นต้น จึงเป็นพืชที่มีความสำคัญกับเศรษฐกิจไทยเป็นอย่างมาก แต่ยังถูกวางเป็นพืชรอง ส่งผลให้เนื้อที่เพาะปลูกถั่วเขียวในปี 2559 ลดลงจากปี 2558 เมื่อปริมาณน้ำเพียงพอเกษตรกรจะเปลี่ยนกลับไปปลูกข้าว ทำให้ความต้องการใช้ถั่วเขียวในประเทศเพิ่มขึ้น รวมทั้งความต้องการในภาคอุตสาหกรรมอาหารมีเพิ่มขึ้น ขณะที่การผลิตในประเทศมีไม่เพียงพอ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559)

กระนั้นถั่วเขียวสามารถสร้างรายได้ทางเศรษฐกิจให้แก่ประเทศไทยได้อย่างงดงาม โดยเมล็ดพันธุ์ดีสามารถขายได้ราคาสูง แต่จะต้องมีคุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่ดี เช่น มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นต่ำ และมีเปอร์เซ็นต์ความงอกและค่าความแข็งแรงสูง ซึ่งต้องทดสอบโดยนักเมล็ดพันธุ์ในห้องปฏิบัติการ แต่ในอนาคตจะมีแนวโน้มการขาดแคลนแรงงานภาคการเกษตร ตลอดจนนักวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เป็นโอกาสอันดีในการเข้ามาของนโยบาย Thailand 4.0 ที่เน้นทำน้อย-ได้มาก โดยมีภาครัฐสนับสนุน เปิดโอกาสให้เกษตรกรได้ปฏิวัติการทำเกษตร เปลี่ยนจากการทำเกษตรดั้งเดิมเป็น Smart farming ส่งผลให้เกษตรกรต้องมีความสามารถในการบังคับแรงงานหุ่นยนต์เพื่อปฏิบัติงานที่มนุษย์เคยเป็นผู้ทำ และนำเทคโนโลยีการเกษตรต่าง ๆ มาใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยหนึ่งในนั้นคือเทคโนโลยีที่สามารถตรวจสอบการสุกแก่ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว เพราะถั่วเขียวยังสุกแก่ไม่พร้อมกันทำให้คุณภาพของผลผลิตไม่ดีเท่าที่ควร เพราะถ้าจะเก็บเกี่ยวครั้งเดียว ก็ต้องทิ้งฝักที่แก่แล้วไว้ในแปลงเพื่อรอฝักที่ทยอยแก่ แต่ถ้าจะเก็บเกี่ยวหลายครั้ง ก็ต้องใช้แรงงานมาก อาจไม่คุ้มต่อค่าใช้จ่าย โดยเฉพาะการเก็บครั้งหลังๆ (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา, 2547) โดยวิธีดั้งเดิมที่เกษตรกรใช้คือการประมาณการสุกแก่จากลักษณะสีฝัก ซึ่งเทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพในการตรวจสอบการสุกแก่ของเมล็ดพันธุ์

ถั่วเขียว คือ เทคโนโลยีเครื่องตรวจวัด Chlorophyll fluorescence ซึ่งมีข้อดีคือ มีประสิทธิภาพสูง แต่ยังมีข้อเสียในเรื่องของราคาที่ค่อนข้างสูง และยังไม่พบการนำมาทดลองในถั่วเขียว

วัตถุประสงค์

1. เพื่อจำแนกความแก่ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ด้วยการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence โดยกล้อง Fluorescence microscope
2. เพื่อจำแนกความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ด้วยเทคนิคการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ของพันธุ์ถั่วเขียวที่นิยมใช้ในประเทศไทยโดยวิธี Accelerated Aging (AA) Test
3. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence กับค่าการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์โดยวิธี AA Test

การตรวจเอกสาร

ถั่วเขียว

ถั่วเขียวเป็นพืชที่อุดมไปด้วยวิตามินอี ซึ่งเป็นสารต่อต้านอนุมูลอิสระและเป็นแหล่งของโปรตีน รวมทั้งคาร์โบไฮเดรตชั้นยอด ถั่วเขียวสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้แทบทุกส่วน โดยเมล็ดใช้เป็นอาหารของมนุษย์และสัตว์ ส่วนลำต้นและเปลือกที่เหลือสามารถนำมาไถกลบลงดินเพื่อช่วยบำรุงดินให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ถั่วเขียวสามารถนำมาแปรรูปและใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย เช่น การนำมาใช้เพาะ ถั่วงอก หรือใช้ทำแป้งถั่วเขียว ทำวุ้นเส้น ทำซาหริ่ม หรือทำเป็นขนมต่างๆ กากถั่วเขียวเหลือจากโรงงานวุ้นเส้นสามารถนำมาใช้ทำเป็นอาหารสัตว์ หรือใช้ทำเป็นปุ๋ยอินทรีย์ (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2559)

สถานการณ์ถั่วเขียวในประเทศไทย

จากข้อมูลการผลิตถั่วเขียวของไทย ชี้ให้เห็นว่า เนื้อที่เพาะปลูกถั่วเหลือง ปี 2559ลดลงจากปี 2558 ถึงแม้ว่าภาครัฐจะมีการส่งเสริมให้ขยายเนื้อที่เพาะปลูก แต่ต้นทุนการผลิตต่อไร่สูงขึ้นตามปัจจัยการผลิต ผลตอบแทนที่ได้รับไม่จูงใจให้เกษตรกรขยายเนื้อที่ปลูกเพิ่มขึ้น ประกอบกับขาดแคลนเมล็ดพันธุ์ดีที่ได้มาตรฐานส่งผลให้เกษตรกรปรับเปลี่ยนไปปลูกพืชอื่น เช่น ข้าวโพดหวาน ถั่วเขียว อ้อยโรงงาน และพืชผัก ส่วนผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้น เนื่องจากปริมาณน้ำเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่ว แต่ภาพรวมผลผลิตลดลงตามการลดลงของเนื้อที่เพาะปลูก

การผลิตถั่วเขียวของไทยมีการผลิตอยู่ 2 ช่วง คือ ระหว่างเดือนพฤษภาคม-ตุลาคม และระหว่างเดือน พฤศจิกายน – เมษายน ส่วนระยะการเก็บเกี่ยวอยู่ในช่วงเดือนกรกฎาคม-ธันวาคม และมกราคม- มิถุนายน แหล่งผลิตที่สำคัญคือ จังหวัดเพชรบูรณ์ นครสวรรค์ สุโขทัย ตาก และพิจิตร ผลผลิตเฉลี่ยในปี 2559 คือ 9.63 ตัน (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2559)

การผลิตถั่วเขียวในไทย ผลผลิตมีแนวโน้มลดลง จากผลผลิต 42,395 ตัน ในปี 2558 ลดลงเหลือ 42,080 ตันในปี 2559 เนื่องจากมีพื้นที่ปลูกลดลง ซึ่งในทางกลับกัน ปริมาณการใช้ในประเทศเพิ่มขึ้นจาก 2.60 ล้านตัน ในปี 2558 เป็น 3.01 ล้านตันในปี 2559 ไทยมีการนำเข้าถั่วเขียวเพิ่มทุกปี จาก 1.89 ล้านตัน ในปี 2557 เป็น 2.95 ล้านตัน ในปี 2559 และมีการส่งออกถั่วเขียวลดลงทุกปีจาก 11,595 ตัน ในปี 2557 เป็น 5,477 ตันในปี 2559 ชี้ให้เห็นว่าไทยมีปัญหาปริมาณการผลิตถั่วเขียวไม่เพียงพอสำหรับใช้ในประเทศ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2559)

ไทยมีการนำถั่วเขียวไปใช้ประโยชน์ทั้งทางตรงและการแปรรูปในภาคอุตสาหกรรมไทย การใช้ทางตรง (ในครัวเรือน และชุมชน) ได้แก่ การเพาะถั่วงอก ทำถั่วและทำขนมพื้นบ้านต่างๆ

ส่วนการแปรรูป เช่น ทำวุ้นเส้น แป้งถั่วเขียว โปรตีนเกษตร ฯลฯ (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2559)

ปัญหาหลักของการผลิตถั่วเขียว คือการขาดแคลนพันธุ์และเมล็ดพันธุ์คุณภาพดีสำหรับใช้เพาะปลูกในช่วงเวลาที่ต้องการ (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2559) เกษตรกรส่วนใหญ่จะนำเมล็ดที่เก็บไว้จากฤดูก่อนมาเป็นเมล็ดพันธุ์หรือซื้อหา แบ่งปันจากเพื่อนบ้าน หรือตามร้านค้า หรือเมล็ดพันธุ์จากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร หรือกรมส่งเสริมสหกรณ์ซึ่งมีปริมาณไม่เพียงพอหรือทันต่อความต้องการของเกษตรกร ดังนั้น เมล็ดพันธุ์ส่วนใหญ่ที่ใช้เพาะปลูกจึงมีคุณภาพต่ำ เช่น ความงอกต่ำ งอกไม่สม่ำเสมอ ผลผลิตจึงต่ำและขาดคุณภาพ ส่งผลให้การวางแผนการผลิตถั่วเขียว และปริมาณการผลิตที่แท้จริงกระทำได้ยาก ไม่เป็นไปตามแผนที่ต้องการ นอกจากนี้ การผลิตถั่วเขียวยังขึ้นอยู่กับความต้องการของตลาด ซึ่งราคาจะเป็นปัจจัยหลักในการกำหนดการผลิต ตลอดจนนโยบายประกันราคาพืชผลชนิดอื่นมีส่วนเกี่ยวข้องอย่างมาก และส่งผลกระทบต่อการผลิตถั่วเขียว ทำให้ปริมาณผลผลิตไม่เสถียร

การแก่ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว

ระยะการเจริญพันธุ์ของถั่วเขียวเริ่มตั้งแต่ถั่วเขียวออกดอก ติดฝัก ติดเมล็ด และการพัฒนาการของเมล็ด นับตั้งแต่ระยะการสะสมน้ำหนักแห้งในเมล็ดไปจนถึงระยะสุกแก่และเก็บเกี่ยว (วิไลวรรณ และคณะ, 2536) สำหรับระยะการสะสมน้ำหนักแห้งของเมล็ดถั่วเขียวนั้นอยู่ในระยะ R3 – R5 เป็นระยะที่กางเคลื่อนย้ายน้ำหนักแห้งจากส่วนต่าง ๆ ของถั่วเขียวไปสะสมยังเมล็ด ใช้เวลา 1-2 วัน และระยะเก็บเกี่ยว (R5 – R7) ใช้เวลาประมาณ 5-7 วัน (วิไลวรรณ และคณะ, 2531)

ข้อบนลำต้นในระยะการเจริญพันธุ์ของถั่วเขียว จำแนกได้ 2 พวก คือ พวกแรก เป็นข้อที่อยู่ด้านล่าง ไม่มีการติดของช่อดอก คือ ข้อที่ 1 2 3 และ 4 ซึ่งมีเฉพาะใบประกอบและใบจริงติดอยู่ และพวกที่สอง เป็นข้อที่อยู่ด้านบน มีการติดของช่อดอก คือข้อที่ 5 6 และ 7 โดยข้อหนึ่งข้อใดใน 3 ข้อนี้จะพัฒนากลายเป็นฝัก

ระยะการเจริญเติบโตทางการสืบพันธุ์ของถั่วเขียวแต่ละระยะมีลักษณะต่างกัน กำหนดด้วย R-stage ซึ่ง R ย่อมาจาก Reproductive มี 7 ระยะด้วยกัน (อภิพรรณ และคณะ, 2532) คือ

(1) ระยะเริ่มออกดอก (Beginning bloom) หรือ R1 เป็นระยะที่ดอกแรกเริ่มบานบนข้อหนึ่งข้อใดของลำต้นหลัก

(2) ระยะเริ่มติดฝัก (Beginning pod) หรือ R2 เป็นระยะที่มีฝักใดฝักหนึ่งมีขนาดยาว 1 เซ็นติเมตร เกิดบนข้อใดข้อหนึ่งระหว่างข้อที่ 5-7 ของลำต้นหลัก

(3) ระยะติดเมล็ด (Beginning seed) หรือ R3 เป็นระยะที่ฝักใดฝักหนึ่งมีขนาดยาว 5 เซ็นติเมตร เกิดบนข้อใดข้อหนึ่งในจำนวน 3 ข้อบนสุด

(4) ระยะเมล็ดพัฒนาเต็มที่ (Full seed) หรือ R4 เป็นระยะที่ฝักใดฝักหนึ่งบน 3 ข้อบนสุดมีลักษณะคอด เมล็ดภายในฝักเริ่มนูนขึ้นเห็นได้ชัดเจน

(5) ระยะเริ่มสุกแก่ (Beginning maturity) หรือ R5 เป็นระยะที่ฝักใดฝักหนึ่งบนลำต้นเริ่มสุกแก่โดยฝักเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลไหม้หรือสีดำ

(6) ระยะเก็บเกี่ยวครั้งแรก (First harvest) หรือ R6 เป็นระยะที่ฝักบนลำต้นสุกแก่จำนวน 50 เปอร์เซ็นต์

(7) ระยะเก็บเกี่ยวครั้งที่ 2 (Second harvest) หรือ R7 เป็นระยะที่ฝักบนลำต้นที่เหลือจากการเก็บในครั้งแรก มีการสุกแก่ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์

ถั่วเขียวมีการเจริญเติบโตของเมล็ดในลักษณะที่เรียกว่า Sigmoid curve มีระยะการเจริญเติบโตแบ่งเป็น 5 ระยะ (กรมวิชาการเกษตร, 2547) คือ

(1) ระยะสะสมน้ำหนักแห้ง (Lag phase) เป็นระยะแรกที่เมล็ดเริ่มมีการสะสมน้ำหนักแห้ง โดยอวัยวะต่าง ๆ ของถั่วเขียวเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง ตลอดจนมีการยืดตัวและขยายตัวของเซลล์

(2) ระยะเมล็ดเพิ่มน้ำหนัก (Log phase) เป็นระยะที่สอง เมล็ดมีการเพิ่มน้ำหนักแห้งอย่างรวดเร็ว และเป็นช่วงที่เมล็ดมีการสะสมน้ำหนักแห้งมากที่สุด

(3) ระยะการเจริญเติบโตลดลง (Decreasing growth rate) เป็นระยะที่การเจริญเติบโตของเมล็ดค่อย ๆ ลดลง จนถึงระยะที่เมล็ดมีการเจริญเติบโตสูงสุด

(4) ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา (Physiological maturity) เป็นระยะที่เมล็ดมีการสะสมน้ำหนักแห้งสูงสุด

(5) ระยะชราภาพ (Senescence stage) เป็นระยะหลังการสุกแก่ ใบ ลำต้นฝัก และเมล็ดเริ่มเหี่ยวแห้งและร่วงหล่น

ปัญหาในการผลิต

1. เกษตรกรมักปฏิบัติดูแลรักษาถั่วเขียวน้อยกว่าพืชอื่น ๆ เนื่องจากคิดว่าเป็นพืชเสริมมากกว่าพืชหลัก การใช้เทคโนโลยีต่าง ๆ เช่น การใส่ปุ๋ยและการใช้สารเคมียังไม่ถูกต้อง

2. ถั่วเขียวยังสุกแก่ไม่พร้อมกัน ทำให้คุณภาพของผลผลิตไม่ดีเท่าที่ควร เพราะถ้าจะเก็บเกี่ยวครั้งเดียว ก็ต้องทิ้งฝักที่แก่แล้วไว้ในแปลงเพื่อรอฝักที่ทยอยแก่ แต่ถ้าจะเก็บเกี่ยวหลายครั้ง ก็ต้องใช้แรงงานมาก อาจไม่คุ้มต่อค่าใช้จ่าย โดยเฉพาะการเก็บครั้งหลัง ๆ

ลักษณะทางคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (Quality characteristics of seed) (วันชัย,2542)

คุณภาพของเมล็ดพันธุ์มีความหมายครอบคลุมถึงความมีชีวิตและศักยภาพของเมล็ดพันธุ์ในการสภาวะเจริญเติบโต ตลอดจนมีความตรงตามพันธุ์ ลักษณะทางคุณภาพของเมล็ดพันธุ์มีดังต่อไปนี้

ความบริสุทธิ์การพันธุกรรม (Genetic purity)

ความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมหรือความตรงตามพันธุ์หมายถึงการที่ต้นพืชมีลักษณะต่างๆ ตรงตามพันธุ์ที่ระบุไว้ ไม่มีต้นที่มีลักษณะผิดเพี้ยนไปจากลักษณะประจำพันธุ์ ไม่มีต้นของพันธุ์อื่นปะปน การตรวจของความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมมีหลายวิธี เช่น วิธีปลูกทดสอบ (Field plot test) วิธีทางสัณฐานวิทยา (Moorfowl method) และวิธีทางชีวเคมี (Biochemical method) เป็นต้น

ความบริสุทธิ์ทางกายภาพ (Physical purity)

ความบริสุทธิ์ทางกายภาพหมายถึง ความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากสิ่งเจือปน เมล็ดวัชพืชและเมล็ดพืชชนิดอื่น เมล็ดพันธุ์ที่ดีต้องเป็นเมล็ดพันธุ์บริสุทธิ์ (Pure seed) ไม่มี กรวด หิน ดิน ทราย ไม่มีเมล็ดที่ไม่พึงประสงค์อื่นใด ดังนั้นการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ (purity test) จึงเป็นการตรวจสอบพื้นฐานที่จำเป็นต่อการรับรองคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

ความมีชีวิตหรือความงอก (Viability หรือ Germination capacity)

ความมีชีวิตหรือความงอกของเมล็ดหมายถึง การที่เมล็ดที่ยังมีชีวิตและสามารถงอกเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ได้ ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ได้แก่ ความชื้น อุณหภูมิ อากาศ และแสงที่เหมาะสมต่อเมล็ดพันธุ์พืชชนิดนั้นๆ การตรวจสอบความมีชีวิตหรือความงอกทำได้หลายวิธีด้วยเตตราโซเลียม เป็นต้น

ความแข็งแรงของเมล็ด (Seed vigour)

ความแข็งแรงของเมล็ดหมายถึง ความสามารถที่ดีเด่นของเมล็ดพันธุ์ที่แสดงออกเมื่อสภาวะแวดล้อมในความงอกไม่เหมาะสม ทำให้สามารถงอกและเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าที่ปกติได้ การตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์มีหลายวิธี มีทั้งวิธีทางกายภาพ (Physical test) วิธีทางสรีรวิทยา (Physiological test) และวิธีชีวเคมี (Biochemical test)

ความชื้นของเมล็ด (Seed moisture content)

ความชื้นของเมล็ดก็คือน้ำหรือความชื้นที่มีอยู่ในเมล็ดทั้งในรูปน้ำอิสระ (Free water) และน้ำไม่อิสระ(Bound water) น้ำในเมล็ดเกี่ยวข้องกับคุณภาพเนื่องจากมีผลต่อกระบวนการทางเสรีรวิทยาภายในเมล็ด เช่น การหายใจ การทำหน้าที่ย่อยของเอนไซม์ และความงอก ตลอดจนมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และแมลง ดังนั้นเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงจึง

ควรมีความชื้นของเมล็ดต่ำ การตรวจวัดทำได้หลายวิธีดังได้กล่าวแล้วในบทที่ 5 วิธีนิยมและยอมรับโดย ISTA ได้แก่ วิธีอบ (Hot – air oven method)

สุขภาพเมล็ดพันธุ์ (Seed health)

สุขภาพของเมล็ดพันธุ์ หมายถึงการปรากฏหรือปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคของเมล็ดพันธุ์ เช่น รา บักเตรี วิสา รวมทั้งสัตว์ศัตรู เช่น Eelworm และแมลงต่างๆ แต่โรคทางสรีรวิทยา เช่นการขาดธาตุก็อาจเกี่ยวข้องด้วย จุลินทรีย์หรือสัตว์ศัตรูเมล็ดเหล่านี้เป็นสาเหตุให้เมล็ดเสื่อมความงอกหรือเกิดโรคกับต้นกล้า ตลอดจนเกิดการแพร่ระบาดของโรคจากแหล่งหนึ่งไปอีกแหล่งหนึ่ง การตรวจสอบสุขภาพเมล็ดพันธุ์ (Seed health testing) จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการกักกันพืช (Plant quarantine)

ความเสียหายของเมล็ดพันธุ์ (Seed damage)

ความเสียหายของเมล็ดพันธุ์หมายถึงร่องรอยหรือความบอบช้ำที่เมล็ดได้รับตั้งแต่เก็บเกี่ยวจนถึงก่อนการเก็บรักษา ส่วนใหญ่เรียกว่าความเสียหายเชิงกล (Mechanical damage) ซึ่งอาจกระทบกระเทือนความงอกทันที (Immediate effect) หรือมีผลแฝง (Latent effect) คือไม่ปรากฏทันทีแต่ไปปรากฏขณะเก็บรักษา การตรวจสอบความเสียหายของเมล็ดมีหลายวิธี เช่น การตรวจสอบด้วยสายตา การตรวจสอบโดยวิธี Fast green test เป็นต้น

ความสม่ำเสมอของเมล็ดพันธุ์ (Homogeneity)

เมล็ดพันธุ์ที่ดีควรมีลักษณะตลอดจนคุณภาพของเมล็ดสม่ำเสมอทั่วกันทุกเมล็ด นอกจากนี้ยังมีลักษณะทางคุณภาพอื่นๆ ที่ไม่ใช่ลักษณะทางคุณภาพโดยตรง แต่เป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์กับความงอกและความแข็งแรง เช่น ขนาดเมล็ด น้ำหลักเมล็ด รูปร่างเมล็ด สีของเมล็ด และความสม่ำเสมอภายในกองเมล็ดพันธุ์ (Homogeneity of the seed) ซึ่งลักษณะเหล่านี้ไม่มีมาตรฐานสากลที่แน่นอนสำหรับทุกพืช

ความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

ความสัมพันธ์ ระหว่างความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์นั้นความมีชีวิตหรือความงอกจะลดลงช้ากว่าความแข็งแรง แม้ว่าจะที่ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์จะมีความงอกและความแข็งแรงสูงสุด (Delouche and Caldwell, 1960) ความแตกต่างระหว่างความแข็งแรงและความมีชีวิตนี้ สามารถตรวจวัดได้จากการทดสอบแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

ปัจจัยที่มีผลต่อความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (Factors affecting seed vigor)

เมล็ดพืชต่างชนิดกัน ต่างพันธุ์กัน เก็บเกี่ยวที่อายุต่างกันและมีสภาวะทางศรีรวิทยาต่างกัน จะมีความแข็งแรงแตกต่างกัน ปัจจัยที่มีผลต่อความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ได้แก่

1. ลักษณะทางพันธุกรรม (Genetic make-up)

ลักษณะทางพันธุกรรมของพืชเป็นตัวกำหนดหรือระบุให้เมล็ดพันธุ์มีระดับความแข็งแรงแตกต่างกัน ดังนั้นเมล็ดพืชต่างชนิดกันหรือต่างพันธุ์กันจึงมีความแข็งแรงต่างกัน บทบาทของพันธุกรรมที่ควบคุมหรือกำหนดให้เมล็ดพันธุ์มีความแข็งแรงแตกต่างกันได้แก่ ลูกผสมของพืชพวก โพลีพลอยด์ (Polyyploid) หรือดิพพลอยด์ (Diploid) เช่น ในข้าวบาร์เลย์ เป็นต้น ลูกผสม (Hybrids) ของข้าวบาร์เลย์จะงอกได้รวดเร็ว เจริญเติบโตได้ดีและมีอัตราการหายใจ (Respiration rate) สูงกว่าในพ่อแม่ นอกจากนี้ยังพบว่า ในข้าวโพดนั้น ลูกผสมก็มีความแข็งแรงสูงกว่าพ่อแม่เช่นเดียวกับในข้าวบาร์เลย์ (McDonald *et al*., 1969)

2. การสุกแก่ของเมล็ดพันธุ์ (Seed maturity)

ที่ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์จะมีลักษณะต่างๆของเมล็ดดีที่สุด ที่ระยะนี้เมล็ดจึงมีความแข็งแรงสูงสุดด้วย และในระหว่างการสุกแก่ของเมล็ด ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ หลังจากการผสมเกสรเป็นต้นมา ดังนั้นยิ่งใกล้ระยะสุกแก่เท่าใด เมล็ดพันธุ์ก็จะยิ่งมีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้น แต่หลังจากการสุกแก่ทางสรีรวิทยาแล้ว ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์จะเริ่มลดลง

3. การเก็บเกี่ยว (Harvesting)

เมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวหลังจากที่เมล็ดพันธุ์เจริญเติบโตเต็มที่ (Physiological maturity) แล้ว จะมีความแข็งแรงลดลง ฉะนั้นถ้ายังเก็บเกี่ยวช้าเท่าใด เมล็ดพันธุ์ก็จะยิ่งมีความแข็งแรงลดลงไปเรื่อยๆ

4. สภาพแวดล้อมระหว่างการพัฒนาของเมล็ด (Environment during seed development)

สภาพแวดล้อมต่างๆในระหว่างที่เมล็ดพันธุ์กำลังสุกแก่และพัฒนาที่มีผลต่อความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ได้แก่

ก. อุณหภูมิ (Temperature) อุณหภูมิของอากาศมีบทบาทต่อการพัฒนาของเมล็ดพันธุ์อันมีผลต่อความแข็งแรงโดยตรง (Harris *et al*., 1965) รายงานว่า ในระหว่าง 45 วันที่เมล็ดถั่วเหลืองกำลังพัฒนา ถ้าอุณหภูมิสูงจะมีผลทำให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีความแข็งแรงต่ำ นอกจากนี้เมื่อนำเมล็ดพันธุ์เหล่านี้ไปปลูกจะทำให้ผลผลิตลดลงด้วย

ข. ความชื้นในดิน (Soil moisture) ความชื้นหรือน้ำในดินมีผลทางอ้อมต่อความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ มีรายงานว่า อุณหภูมิที่สูงและฝนตกน้อยจะมีผลทำให้ความแข็งแรงและผลผลิตของฝ้ายลดลง

ค. ความอุดมสมบูรณ์ของดิน (Soil fertility) ความอุดมสมบูรณ์ของดินที่ปลูกพืชมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดที่กำลังพัฒนาและเมตาโบลิซึม (Metabolism) ของเมล็ดพันธุ์ (Fox and Albrecht *et al*., 1957) รายงานว่า ความงอกในไร่ (Seedling emergence) ของข้าวสาลีจะเพิ่มมากขึ้น ถ้าดินที่ปลูกข้าวสาลีมีไนโตรเจนสูงและปริมาณธาตุฟอสฟอรัสที่พอเหมาะ จะทำให้เมล็ดพันธุ์ข้าวสาลีมีความแข็งแรงสูงและมีความงอกในไร่สูงขึ้น แต่ถ้าปริมาณธาตุฟอสฟอรัสมากเกินไป จะมีผลทำให้ความแข็งแรงลดลง (Iwata and Eguchi *et al*., 1958) รายงานว่า อัตราการเจริญเติบโตของรากอ่อน (Radicle growth) ของพวกผักกาดขาวปลี (Chinese cabbage) จะเพิ่มขึ้นถ้าดินมีฟอสฟอรัสมากในระหว่างการพัฒนาของเมล็ด อย่างไรก็ตาม ถ้าดินมีปริมาณธาตุอาหารต่างๆมากเกินไป ก็จะมีผลทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์พืชบางชนิดลดลงได้เช่นใน ชูก้าบีท (Sugar beet) และข้าวสาลี เป็นต้น

5. ผลเสียหายจากการใช้เครื่องจักรกล (Mechanical damage)

เมล็ดพันธุ์ที่ได้รับความกระทบกระเทือนอันเนื่องมาจากการนวด การกะเทาะ การตาก การคัดแยกขนาดและบรรจุหีบห่อหรือในระหว่างการขนย้ายต่างๆ จะมีผลทำให้มีความแข็งแรงลดลง ผลเสียหายจากการใช้เครื่องจักรที่เกิดขึ้นกับเมล็ดนั้น อาจทำให้เมล็ดแตกร้าวหรือบางครั้งเป็นความเสียหายที่เกิดขึ้นกับส่วนอื่นๆที่อยู่ภายในเมล็ด และไม่สามารถมองเห็นได้จากภายนอก บางครั้งเมล็ดอาจจะงอกได้ตามปกติ แต่ผลผลิตลดลง ผลเสียหายจากการใช้เครื่องจักรกลนี้จะมีมากขึ้น ถ้าเมล็ดพันธุ์มีความชื้นต่ำ ดังนั้นวิธีที่จะหลีกเลี่ยงไม่ให้มีความเสียหายเกิดขึ้นกับเมล็ดพันธุ์ จึงควรเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์หรือปรับปรุงสภาพของเมล็ดพันธุ์ในขณะที่มีความชื้นพอเหมาะ เพื่อให้ได้มาซึ่งเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูง (จวงจันทร์,2529)

6. ขนาดและน้ำหนักของเมล็ดพันธุ์ (Seed size and weight)

เมล็ดพืชที่มีขนาดใหญ่หรือเมล็ดที่มีน้ำหนักมาก ย่อมมีอาหารต่าง ๆ ที่สะสมอยู่ในเมล็ดมาก ดังนั้นอาหารทีเก็บสะสมไว้เพื่อให้เมล็ดพันธุ์ใช้ตอนงอก จึงมีมากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีขนาดเล็กหรือน้ำหนักน้อย ในถั่วเหลืองนั้นในปี ค.ศ. 1975 เวทเซล (Wetzel) พบว่า ถั่วเหลืองที่มีเมล็ดขนาดใหญ่จะมีความแข็งแรงสูงน้อยกว่าเมล็ดขนาดเล็ก และเขายังพบว่า เมล็ดพันธุ์ขนาดใหญ่จะให้ต้นอ่อนที่อายุ 30 – 80 วันที่มีความสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ขนาดเล็ก (จวงจันทร์,2529)

7. ความเก่าใหม่และการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (Age and deterioration)

เมล็ดเก่า (age) จะมีการเสื่อมคุณภาพเกิดขึ้น มีผลทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง ฉะนั้นเมล็ดที่ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาจึงมีความแข็งแรงสูงสุด (จวงจันทร์,2529)

8. โรคและแมลง

พวกโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์หรือที่เข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ในระหว่างการเก็บรักษา ตลอดไปจนถึงพวกแมลงต่าง ๆ ที่เข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ ทั้งที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ตอนเก็บเกี่ยวหรือที่มาเข้าทำลายภายหลังการเก็บเกี่ยวแล้วก็ตาม จะมีผลทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง ส่วนพวกเชื้อราซึ่งจะเข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ตอนที่เมล็ดงอก (Seedling) การเจริญเติบโตของเชื้อราเหล่านี้จะมีมากขึ้นในเมล็ดที่มีการเสื่อมคุณภาพ นอกจากนี้เชื้อราพวกแอสเพอจิลลัส ฟลาวัส (*Aspergillus flavus*) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดสารพิษที่เรียกว่า อะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) ขึ้นนั้นจะทำให้เมล็ดมีความแข็งแรงลดลงอย่างรวดเร็ว (จวงจันทร์,2529)

สำหรับแมลงนั้น การที่ทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง เนื่องจากแมลงเข้ากัดทำลายเมล็ดพันธุ์ทั้งส่วนของเนื้อเยื่อที่เก็บสะสมอาหารและส่วนของต้นอ่อน ซึ่งบางครั้งอาจจะมองไม่เห็นจากภายนอก แมลงบางชนิดจะติดมากับเมล็ดพันธุ์ตั้งแต่ตอนเก็บเกี่ยว แมลงบางชนิดมีวงจรชีวิตสั้นมาก ภายในเวลา 2-3เดือน อาจทำลายเมล็ดพันธุ์ ทำให้ความแข็งแรงและความมีชีวิตลดลง

การทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว

การตรวจสอบหรือวัดระดับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์นั้น เป็นการวัดความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์แต่ละกอง การวัดความแข็งแรงนี้เพื่อใช้ประเมินค่าของเมล็ดพันธุ์ในกอง ๆ นั้นเมื่อนำไปปลูกในไร่นา หรือวัดเพื่อประเมินความสามารถในการเก็บรักษา วิธีที่นิยมใช้กันมากในปัจจุบันคือการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์ (Accelerated aging test)

การเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์ (Accelerated aging test)

เป็นวิธีวัดความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ซึ่งเสนอโดย (Delouche and Baskin, 1973) วัตถุประสงค์ของการวัดความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์วิธีนี้ ก็เพื่อใช้ประเมินค่าความสามารถในการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ (Seed storability) การวัดความแข็งแรงวิธีนี้ใช้ได้กับเมล็ดพันธุ์ทุกชนิด และผลของการเร่งอายุนี้มีความสัมพันธ์กับอายุของเมล็ดพันธุ์จริงๆที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ ฉะนั้นเมล็ดพันธุ์กองใดที่ผ่านการเร่งอายุแล้วมีความงอกสูง ก็แสดงว่าเมล็ดพันธุ์กองนั้นสามารถเก็บไว้ได้นาน วิธีการเร่งอายุนี้เป็นการนำตัวอย่างของเมล็ดพันธุ์จากกองที่จะตรวจสอบมาใส่ไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิระหว่าง 40-45 องศาเซลเซียส และมีความชื้นสัมพันธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 2-8 วัน เมล็ดที่ผ่านการเร่งอายุแล้วนี้เปรียบเสมือนเมล็ดที่ได้เก็บไว้ในสภาพของการเก็บรักษาที่ไม่มีการ

ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพันธ์ คือ มีอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพันธ์ 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลานานประมาณ 12-18 เดือน ดังนั้นเมื่อนำเมล็ดพันธุ์เหล่านี้มาตรวจสอบความงอก เมล็ดพันธุ์กองใดที่มีความงอกสูง ก็แสดงว่าจะมีความสามารถในการเก็บรักษาไว้ได้นาน ส่วนกองใดที่มีความงอกต่ำ ก็เป็นพวกที่เก็บรักษาไว้ได้ไม่นาน (จวงจันทร์,2529)

สำหรับการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์นี้ สมาคมผู้ตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ (AOSA) ในสหรัฐอเมริกาได้กำหนดไว้ว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองซึ่งผ่านการเร่งอายุที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส- ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 96 ชั่วโมงแล้ว หากมีความงอก 70 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จัดว่าเป็นเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูง ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่มีความงอก 55-60 เปอร์เซ็นต์ จัดเป็นเมล็ดพันธุ์ที่มีความงอกปานกลาง และถ้ามีความงอกต่ำกว่า 54 เปอร์เซ็นต์ ให้จัดว่าเป็นเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงต่ำ การเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์นั้น นอกจากใช้ประเมินค่าความสามารถในการเก็บรักษาของกองเมล็ดพันธุ์แล้ว ปัจจุบันนี้เป็นวิธีการวัดความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่นิยมใช้กันมากในถั่วเขียว

การสุกแก่ของเมล็ดพันธุ์ (Seed maturation)

1. ความชื้นของเมล็ด ระยะที่เมล็ดเปลี่ยนแปลงการลดความชื้นอย่างช้าๆ สม่ำเสมอ มาเป็นการลดความชื้นอย่างรวดเร็วนี้คือ ระยะที่เมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยา โดยปกติเมื่อเมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยานั้น เมล็ดยังมีความชื้นสูงคือ ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยาแล้ว ความชื้นของเมล็ดลดลงอย่างรวดเร็วจนมีความชื้นประมาณ 14-20 เปอร์เซ็นต์ขณะเก็บเกี่ยว (Harvesting maturity หรือ Field maturity)

2. ขนาดของเมล็ด หลังปฏิสนธิแล้ว มีอาหารที่ส่งจากส่วนต่าง ๆ ของต้นแม่มาสะสมไว้มากขึ้นเรื่อย ๆ ทำให้เมล็ดมีขนาดใหญ่ขึ้น จนมีขนาดใหญ่ที่สุดเมื่อเมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยา ซึ่งเป็นระยะที่เมล็ดยังมีความชื้นสูง หลังจากการสุกแก่ทางสรีรวิทยาแล้ว ความชื้นของเมล็ดลดลงอย่างรวดเร็ว มีผลทำให้เมล็ดมีขนาดเล็กลง

3. น้ำหนักแห้งของเมล็ด ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา เมล็ดมีน้ำหนักแห้งสูงสุด ระยะที่เมล็ดมีน้ำหนักแห้งสูงสุดนี้ เป็นระยะที่การขนย้ายถ่ายเทอาหารจากส่วนต่าง ๆ ของลำต้นมาให้แก่เมล็ดหยุดชะงัก ที่ระยะนี้อัตราการสร้างอาหารเท่ากับอัตราการใช้ หลังจากระยะนี้ไปแล้วเมล็ดมีน้ำหนักแห้งลดลง เนื่องจากไม่มีอาหารส่งไปสะสม

4. ความงอกของเมล็ด เมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยานั้นเมล็ดยังคงมีความงอกสูงสุด ความงอกสูงสุดนี้จะคงอยู่ชั่วระยะเวลาหนึ่งแล้วค่อย ๆ ลดลง เนื่องจากมีการเสื่อมคุณภาพ (Deterioration) เกิดขึ้นในเมล็ดหลังจากที่เมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยาแล้ว

5. ความแข็งแรงของเมล็ด ความแข็งแรงของเมล็ดเพิ่มขึ้นช้ากว่าความงอกของเมล็ด และสูงสุดเฉพาะขณะที่เมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยาเท่านั้น หลังจากเมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยาไปแล้ว ความแข็งแรงของเมล็ดจะค่อย ๆ ลดลงในอัตราที่เร็วกว่าการลดลงของความงอก

6. การเปลี่ยนแปลงอื่นๆ เช่น ลักษณะอื่น ๆ ของเมล็ดที่มีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการสุกแก่ของเมล็ด (Seed maturation) ลักษณะเหล่านี้ได้แก่ ปริมาณ Chlorophyll สีฝัก และ สีเมล็ด

7. การเสื่อมคุณภาพของเมล็ด เมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยานั้น เป็นระยะที่เมล็ดมีลักษณะต่าง ๆ ของเมล็ดอยู่ในระดับสูงสุด ฉะนั้น ที่ระยะนี้อาจกล่าวได้ว่าเมล็ดมีการเสื่อมคุณภาพน้อยที่สุด แต่เมื่อพ้นระยะนี้ไปแล้ว เมล็ดเริ่มเสื่อมคุณภาพ เนื่องจากไม่มีอาหารมาสะสมเพิ่มขึ้น ในขณะเดียวกันเมล็ดยังมีการหายใจ

คลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (Chlorophyll fluorescence)

การดูดกลืนแสงของโมเลกุลของสารใด ๆ นั้น จะขึ้นอยู่กับระดับพลังงานหรือช่วงคลื่นของแสงแต่ละชนิด แสงในช่วงที่ตามองเห็นจะมีความยาวช่วงคลื่นประมาณ 380-760 นาโนเมตร เมื่อโมเลกุลของสารดูดแสงช่วงคลื่นนี้จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของโมเลกุลทำให้มีอิเล็กตรอนอยู่ในสภาพเร่งเร้า (Exciting state) ในสภาพปกติก่อนที่โมเลกุลจะดูดพลังงานแสงโมเลกุลอยู่ในสภาพเสถียรหรือคงตัว (Ground state) พลังงานของอิเล็กตรอนหรือโมเลกุลที่สูงขึ้นจากระดับปกติและอยู่ในสภาพเร่งเร้านี้เรียกว่า พลังงานเร่งเร้า (Excitation energy) ซึ่งเป็นพลังงานที่ไม่คงตัวและเกิดในสภาพสั้นมากเพียงเสี้ยววินาที ถ้าต้องการใช้พลังงานนี้ให้เป็นประโยชน์จะต้องส่งถ่ายอิเล็กตรอนหรือพลังงานผ่านโมเลกุลของรงควัตถุที่อยู่ติดกันเป็นทอดๆ โดยต่อเนื่องกันจนถึงศูนย์กลางของปฏิกิริยาสังเคราะห์แสง ถ้าพลังงานเร่งเร้านี้ไม่สามารถส่งถ่ายอิเล็กตรอนไปยังสารอื่นได้ภายในระยะเวลา 10^{-9} วินาที พลังงานเร่งเร้านี้จะต้องขจัดออกไปจากระบบในรูปของความร้อน หรือเปลี่ยนเป็นแสงที่มีความยาวคลื่นมากกว่าเดิมหรือเกิดการเรืองแสงที่เรียกว่า ฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) (สมบุญ, 2536; Fracheboud, 2001)

สำหรับพืชโดยทั่วไปแล้วพลังงานแสงจะถูกดูดกลืนด้วยโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ เพื่อนำไปใช้ในปฏิบัติการสังเคราะห์แสง อย่างไรก็ตามจะมีพลังงานอีกส่วนหนึ่งที่ไม่ได้ใช้ในปฏิกิริยานี้ พืชจึงมีกลไกในการปลดปล่อยพลังงานนี้ออกมาในลักษณะต่างๆ เช่นการสะท้อนกลับ ของรังสี และการเปล่งรังสีฟลูออเรสเซนซ์ (Hall *et al*., 1993) ซึ่งจำนวนของคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์จะเป็นสิ่งชี้วัดความคงตัวของไทลาคอยด์เมมเบรน และประสิทธิภาพความสัมพันธ์ของการส่งถ่ายอิเล็กตรอนจาก Photosystem II (PSII) ไปยัง Photosystem I (PSI) (Schreiber and Armond, 1978; Smillie, 1979; Krause and Weis, 1984)

ในสภาพปกติเมื่อใบพืชได้รับความมืดประมาณ 30 นาที พบว่าส่วนของตัวรับอิล็กตรอน (electron acceptor) ใน Photosystem II (PSII) จะอยู่ในสภาพ ground state และสามารถเปิดรับพลังงานจากรังสีดวงอาทิตย์ได้สูงสุด แต่อย่างไรก็ตามในสภาพนี้คลอโรฟิลล์ก็สามารถเปล่งฟลูออเรสเซนซ์ออกมาได้ต่ำสุดเรียกว่า Fo (mimimum fluorescence) ในทันทีที่พืชได้รับรังสีดวงอาทิตย์ electron acceptor เปลี่ยนไปอยู่ในสภาพ excited state และการเปล่งรังสีฟลูออเรสเซนซ์จากคลอโรฟิลล์ก็จะเพิ่มไปสู่สภาพสูงสุดเรียกว่า Fm (maximum fluorescence) จากนั้นค่านี้ก็จะลดลงสู่รับดับ Fo อีกครั้งเมื่อพลังงานถูกส่งต่อไปยัง Photosystem I (PSI) ส่วนของ electron acceptor ก็จะสามารถรับพลังงานจากรังสีดวงอาทิตย์ได้อีกต่อไป ความแตกต่างระหว่างค่า Fm และ Fo เรียกว่า variable fluorescence (Fv) อัตราส่วนของ Fv/Fm แสดงถึงความสามารถของ PSII ในคลอโรฟิลล์ของพืชในการรับพลังงานจากรังสีดวงอาทิตย์ และถ่ายทอดไปสู่ PSI (Maxwell and Johnson, 2000; Fracheboud, 2001) ซึ่งเรียกว่า Maximum quantum yield of PSII มีสูตรดังนี้

$$Fv/Fm = (Fm-Fo)/Fm$$

ค่านี้มีความสัมพันธ์กับประสิทธิ์ภาพของปฏิกิริยาเคมีของการใช้แสงในกระบวนการสังเคราะห์แสงที่เรียกว่า quantum yield (Bjorkman and Demming, 1987; Krause and Weis, 1991; Kocheva *et al*., 2004)

ดังนั้นการวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถบ่งบอกถึงประสิทธิภาพของกระบวนการสังเคราะห์แสง ปัจจุบันได้มีการปรับปรุงเทคนิคนี้เพื่อมาใช้เป็นเครื่องมือศึกษาการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืชต่อสภาวะเครียดของสิ่งแวดล้อมภายนอก (Sayed, 1992; Flagella *et al*., 1994; Bilger *et al*., 1995; Maxwell and Johnson, 2000; Strasser *et al*., 2000; Fracheboud, 2001) ซึ่งผลของสภาวะเครียดที่มีต่อการทำงานของ PSII ของพืชนั้น จะมีผลนำไปสู่การลดลงของค่า Fv/Fm (Krause and Weis, 1984) และถ้ากระบวนการสังเคราะห์แสงได้รับความเสียหาย อันเนื่องมาจากอุณหภูมิสูง ค่า Fo จะเพิ่มสูงขึ้น โดยการวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์สามารถใช้ได้กับพืชทุกสปีชีส์ (Wilson and Greaves, 1993) เช่น ข้าวบาร์เลย์ (Kocheva *et al*., 2004) มันฝรั่ง (Smillie and Hetherington, 1990) เป็นต้น

Nogues *et al*. (1994) มีการใช้เทคนิคคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ในการคัดแยกความทนทานแล้งในจีโนไทป์ข้าวบาร์เลย์ และประเมินการแลกเปลี่ยน คาร์บอนไดออกไซด์ และ water potential ในใบ และมีการศึกษากับความทนทานร้อนในข้าวบาร์เลย์ ต่ออุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

โดยเทคนิคคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ ในการตรวจสอบความเสียหายในระดับไทลาคอยด์เมมเบรน (Ilik *et al*., 2000)

Wilson and Greaves (1993) ใช้ค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ในการจำแนกประชากรที่ทนทานความสภาพร้อนในข้าวโพด 6 สายพันธุ์ หลังจากที่ได้รับอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่า ค่า Fv/Fm ลดลง สามารถจำแนกความแตกต่างของพันธุ์ที่ทนทานต่อสภาพร้อนได้และยังได้ทดลองกับทานตะวัน 6 คู่ผสม พบว่า ค่า Fv/Fm ไม่เปลี่ยนแปลง และสามารถประเมินความแตกต่างของพันธุ์ได้ในช่วงที่ได้รับอุณหภูมิ 35-40 องศาเซลเซียส เนื่องจากทานตะวันมีกลไกในการหลีกเลี่ยงต่อสภาพร้อนได้ดี

Flagell *et al*. (1994) ได้ศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ในข้างสาลี พบว่า ข้าวสาลีที่เจริญในสภาพน้ำมากจะให้ค่า Fv/Fm สูงและให้ผลผลิตสูงกว่าข้าวสาลีที่เจริญในสภาพน้ำน้อย และ Selmani and Wassom (1993) รายงานว่า ในการทดลองวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ของข้าวสาลีในสภาพที่มีน้ำมากจะมีค่า Fv/Fm สูงกว่าในสภาพที่มีน้ำน้อย

Hidekaza *et al*. (1994) ศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ในใบแตงกว่า พบว่า ค่า Fv/Fm มีความสัมพันธ์ในเชิงเส้นตรงกับค่า Quantum yield ของการสังเคราะห์แสง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์สามารถใช้อธิบายถึงประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แสงของพืชได้

Srinivasan *et al*. (1996) ศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์และเสถียรภาพของเซลล์เมมเบรนในการประเมินความทนทานร้อนในพืชตระกูลถั่ว ได้แก่ *Cicer arietinum* (L.), *Arachis hypogaea* (L.), *Cajanus cajan* (L.), and *Glycine max* (L.) ซึ่งพบว่า มีการเพิ่มขึ้นของสารอิเล็กโตรไลต์ และประสิทธิภาพของ PSII ทำงานลดลง และมีการฟื้นตัวของถั่วลิสงมากกว่าถั่วชนิดอื่นๆ และความเสียหายของเมมเบรน มีความสัมพันธ์ทางลบกับน้ำหนักใบในถั่วลิสง (r = -0.69 **) และถั่วเหลือง (r = -0.56 **) แต่ไม่พบในเมล็ดถั่ว

Rong-hua *et al*. (2006) ศึกษาคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ ในการประเมินความทนทานแล้งในข้าวบาร์เลย์ 4 พันธุ์ พบว่า มีความสัมพันธ์ทางลบของลักษณะทางการเกษตรกับความทนทานแล้ง และมีความแตกต่างของระดับความเครียดต่อสภาพแล้ง และสามารถแยกความเสียหายทั้ง 4 พันธุ์ได้ ซึ่งพบว่าพันธุ์ที่ทนทานจะมีค่า Fo, Fv/Fo และ Fv/Fm แตกต่างกันมากกว่าค่าที่พบในพันธุ์ที่อ่อนแอ

Petkova *et al*. (2007) ศึกษาการคัดแยกความทนทานร้อน โดยการประเมินค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ ใน *Phaseolus vulgaris* (L.) 12 พันธุ์ ที่อุณหภูมิ 26 องศาเซลเซียส ในตอนเช้า และ 40 องศาเซลเซียส ในตอนกลางวัน ซึ่งพบว่า อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจาก 26 เป็น 42 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ค่า Fo, Fm และ Fv/Fo มีความแตกต่างกันทางสถิติ และพบว่ามี 2 พันธุ์ ที่ทนทานต่อสภาพ

ร้อนและมีค่า Fo, Fv และ Fv/Fo ไม่เปลี่ยนแปลง และเหมาะที่จะเป็นพ่อแม่พันธุ์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป

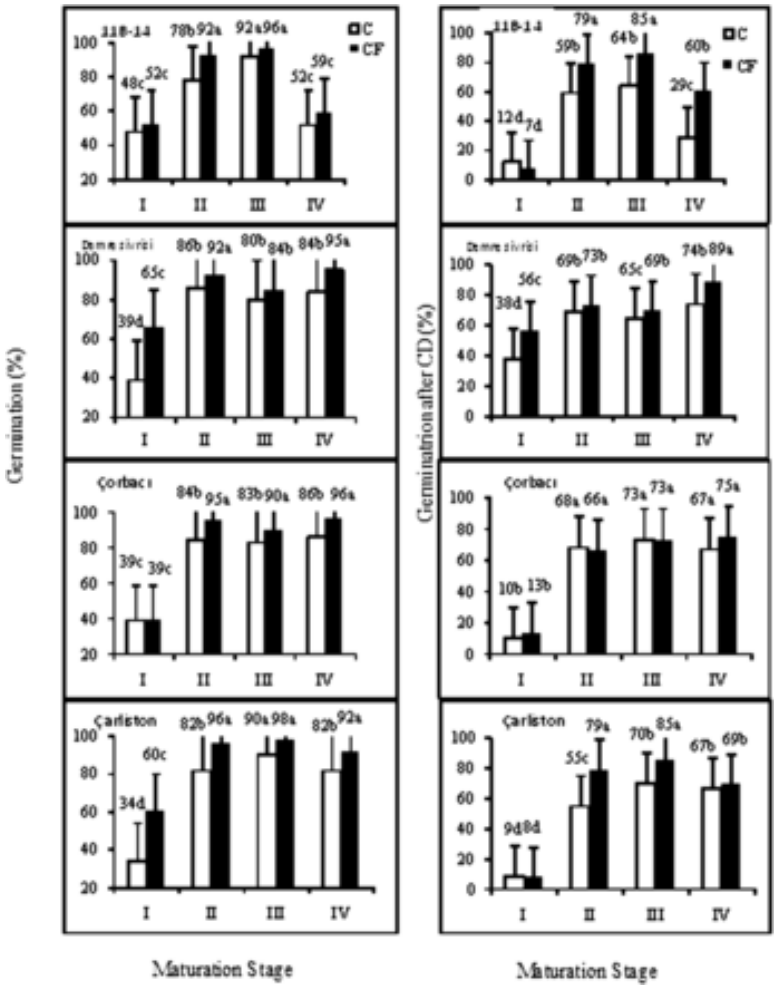
เทคนิคนี้เมื่อนำมาใช้ร่วมกับคอมพิวเตอร์จะสามารถวัดได้ง่าย รวดเร็ว ไม่ทำลายต้นพืช (Sellmani and Wassom, 1993) ทั้งยังสามารถใช้ได้ทั้งภาคสนามและห้องปฏิบัติการ (Olaf and Snel, 1990)

การตรวจสอบความแก่ของเมล็ดพันธุ์ (Seed maturity) ใช้หลักการวัดปริมาณ Chlorophyll ในเมล็ดพันธุ์โดยใช้ Chlorophyll fluorescence

ในการตรวจสอบความแก่ของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งในระหว่างที่เมล็ดพันธุ์ส่วนใหญ่กำลังพัฒนาอยู่บนต้นแม่นั้นปริมาณ Chlorophyll จะค่อย ๆ ลดลงจนกระทั่งเมล็ดแก่ ดังนั้นเมล็ดแก่จะมีปริมาณ Chlorophyll น้อยกว่าเมล็ดอ่อน ซึ่งนำมาเคยประยุกต์ใช้กับเครื่องมือ Seed analyzer

วิธีการคัดแยกแบบคลอโรฟิลล์ด้วยฟลูออเรสเซนส์ (Chlorophyll fluorescence) เพื่อปรับปรุงคุณภาพเมล็ดพันธุ์พริกที่ผลิตจากเมล็ดที่มีอายุต่างกัน ได้ผลการศึกษาว่า

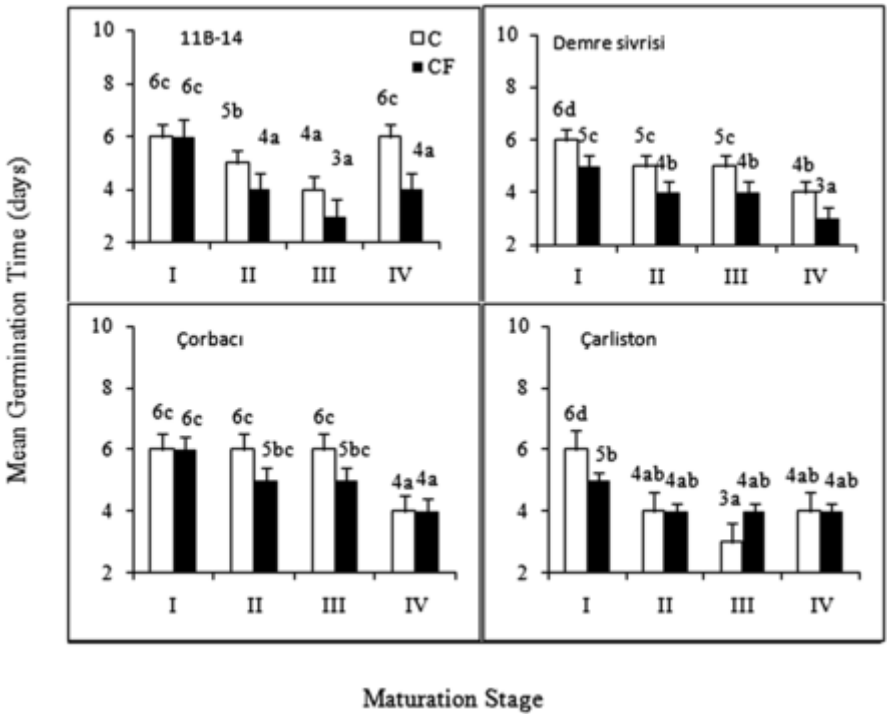
วิธีการจำแนกคลอโรฟิลล์ด้วยฟลูออเรสเซนส์ (CF) ช่วยเพิ่มเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์จำนวน 10 เมล็ดจาก 16 เมล็ด คุณภาพเมล็ดพันธุ์โดยรวมในระยะที่ 2, 3 และ 4 มีการพัฒนาดีขึ้นกว่าในช่วงแรก (ภาพที่ 1) แต่มีข้อยกเว้นในพันธุ์ 11B-14 ที่มีความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดลดลงอย่างมีนัยสำคัญในเมล็ดที่แก่เกินไป ($P < 0.05$) ในการเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้ายนี้ความงอกของเมล็ดลดลงเหลือ 52 เปอร์เซ็นต์ และ 59 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในเมล็ดที่ไม่มีการคัดแยกและมีการคัดแยก จาก 92 เปอร์เซ็นต์ และ 96 เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดแก่ในช่วง 3 ในอีกสามสายพันธุ์ ค่าความงอกของเมล็ดมีความผันผวนเล็กน้อย แต่ยังคงสูงกว่า 78 เปอร์เซ็นต์ ในการเก็บเกี่ยวครั้งที่สองและครั้งถัดไป สำหรับเมล็ดพันธุ์ที่ยังไม่แก่และแก่มากเกินไป ค่า SDSA (การจำแนกเมล็ดที่ตรวจพบข้างต้น) อยู่ระหว่าง 350 ถึง 300 นาโนเมตร แต่จะลดลงในเมล็ดพันธุ์ที่โตเต็มที่เป็น 250 ถึง 230 นาโนเมตร



ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความงอกหลังการเร่งอายุแบบควบคุม (controlled deterioration; CD) (45 ° C, 20 เปอร์เซ็นต์ปริมาณความชื้น, 48 ชั่วโมง) ของเมล็ดพริกไทยที่มีการจำแนกตามคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ (CF) และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่มีการจำแนก (C) เมล็ดพันธุ์พริกไทยที่เก็บเกี่ยวในช่วงเวลาที่แตกต่างกันของอายุ 4 การเก็บเกี่ยวจากที่มีการจำแนกตามคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ (CF) และไม่มีการจำแนก (C) แถบจะแสดงเป็นค่า mean (± SE) ค่า mean จะตัวอักษรตัวที่เหมือนกันในสายพันธุ์เดียวกันและการเก็บเกี่ยวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P> 0.05)

ความงอกหลังการเร่งอายุแบบควบคุม (CD) มีแนวโน้มคล้ายคลึงกันระหว่างการเก็บเกี่ยวกับการทดสอบความงอกของเมล็ด การเก็บเกี่ยวครั้งแรกมีความแข็งแรง (Vigor) ต่ำสุด การเก็บเกี่ยวครั้งต่อ ๆ ไปยังคงมีเสถียรภาพอยู่ แต่การเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้ายใน '11B-14' มีความแข็งแรงต่ำกว่าในการเก็บเกี่ยวนั้น ความงอกหลังการเร่งอายุแบบควบคุมจะลดลงจาก 64เปอร์เซ็นต์ เหลือ 29เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดที่ไม่มีการคัดแยกและ 85เปอร์เซ็นต์ ถึง 60เปอร์เซ็นต์ ในเมล็ดที่มีการคัดแยก (ภาพที่ 1)

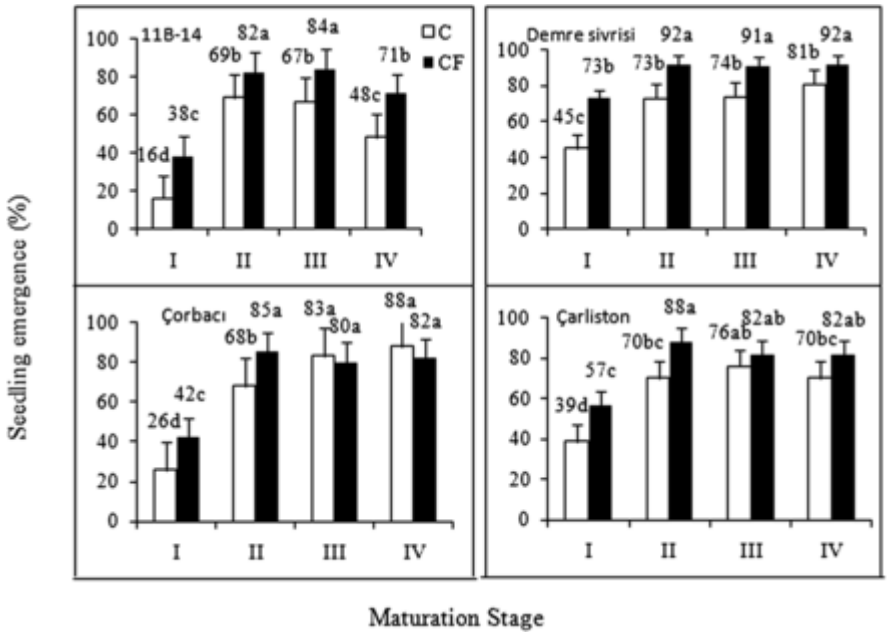
เมล็ดพันธุ์ที่มีการคัดแยกพบว่ามีงอกเร็วกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้รับการคัดแยก ยกเว้นการเก็บเกี่ยวครั้งที่3 ของ 'Çarliston' ค่าความงอกเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 3 ถึง 6 วัน (ภาพที่ 2) ซึ่งความแตกต่างระหว่าง 0 ถึง 2 วันมีความงอกเร็วกว่าเมื่อเก็บเกี่ยวที่สาม (ภาพที่ 2) ระยะการแก่ของเมล็ดไม่ได้ลดระยะเวลาในความงอกในสายพันธุ์ Çorbacı ค่าเวลาความงอกเฉลี่ย (MGT) ของการเก็บเกี่ยวสามครั้งแรกในเมล็ดพันธุ์ที่ไม่มีการคัดแยกคือ 6 วัน '11B-14' และ 'Çarliston' เป็นพันธุ์ที่มีความงอกที่ค่อนข้างเร็ว แต่ในทุกสายพันธุ์เมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ (การเก็บเกี่ยวครั้งแรก) เป็นกลุ่มที่งอกช้าที่สุด เมล็ดเหล่านี้มีค่าเวลาความงอกเฉลี่ย (MGT) 5 ถึง 6 วัน



ภาพที่ 2 ค่าเวลาความงอกเฉลี่ย (MGT)ที่เก็บเกี่ยวช่วงเวลาการเก็บเกี่ยวผลผลิตที่แตกต่างกันของการเมล็ดพันธุ์พริกไทย 4 สายพันธุ์ ที่ได้จากการคัดแยกตามคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ (CF) และการไม่ไม่คัดแยก (C) แถบจะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (Mean) (± SE) ค่าเฉลี่ยจะใช้ตัวอักษรที่เหมือนกันในสายพันธุ์เดียวกันและการเก็บเกี่ยวซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P> 0.05)

เปอร์เซ็นต์การเติบโตของต้นกล้าเพิ่มขึ้นตามการคัดแยกเมล็ดพันธุ์ตามคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ ในทุกระยะการเจริญเติบโตใน '11B-14', 'Demre Sivrisi' และ 'Çarliston' การคัดแยกไม่มีผลต่อการเก็บเกี่ยวสองครั้งสุดท้ายของ Çorbacı (ภาพที่ 3) การเก็บเกี่ยวครั้งแรกมีเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตต่ำสุด แต่การคัดแยกเมล็ดพันธุ์เป็นการเพิ่มระดับการเจริญเติบโตให้อยู่ในระดับ

เดียวกับการเก็บเกี่ยวที่ไม่มีการคัดแยกใน 'Demre Sivrisi' โดยมีการปรับปรุงที่ดีขึ้นเป็น 28 เปอร์เซ็นต์ ในการเกิดเป็นต้นกล้า



ภาพที่ 3 เปอร์เซ็นต์ความงอกของต้นกล้าของเมล็ดพันธุ์จากเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวในช่วงเวลาที่แตกต่างกันของการเจริญเติบโตของพันธุ์พริกไทย 4 สายพันธุ์ ที่มีการคัดแยกตามคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ (CF) และไม่มีการคัดแยก (C) แถบ จะแสดงเป็นค่าเฉลี่ย (Mean) (± SE) ค่าเฉลี่ย จะเป็นตัวอักษรที่เหมือนกันในสายพันธุ์เดียวกันและการเก็บเกี่ยวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (P> 0.05)

การปรับปรุงการคัดแยกเมล็ดพันธุ์ตามคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ โดยรวมได้สรุปในตารางที่ 1 และ 2 การปรับปรุงในสามลักษณะมากที่สุดคือ 39 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเก็บเกี่ยวครั้งที่ 1 และครั้งที่2 ในการเก็บเกี่ยวครั้งที่สามการปรับปรุงเล็กน้อย การเปรียบเทียบแต่ละเกณฑ์จะใช้ผลการทดสอบความงอกของต้นกล้าที่สะท้อนถึงการปรับปรุงที่ดีที่สุดหลังการคัดแยกเมล็ดพันธุ์ การแยกเมล็ดพันธุ์ตามคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ ทั้งหมดมีความงอกของต้นหล้าเพิ่มขึ้นเป็น 57 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 2) ตารางที่ 2 แสดงให้เห็นว่าจำนวนของเมล็ดพันธุ์ที่มีการคัดแยกตามคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ มีคุณภาพดีกว่ามากกว่าพันธุ์ที่ไม่ได้รับการแยกเมื่อมีการพิจารณาพันธุ์ทั้งหมด โดยส่วนใหญ่มีคุณภาพสูง 21 พันธุ์ (มีความงอกและการโผล่ออกมา น้อยกว่า 90เปอร์เซ็นต์ และมีความงอกหลังการเร่งอายุแบบควบคุม น้อยกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ แต่มีอยู่ 5 พันธุ์ ที่ไม่ได้รับการแยก หลังจากมีการทดสอบคุณภาพของเมล็ดในทั้งสามพันธุ์ กลุ่มที่ไม่ได้รับการแยกมีจำนวนทั้งหมด

18 พันธุ์ ซึ่งมีคุณภาพต่ำกว่า แต่ในรูปภาพนี้ได้แสดงเพียงแค่ 11 พันธุ์ของกลุ่มที่ได้รับการแยกตามคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์

ตารางที่ 1 การยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์การเก็บเกี่ยวจากการใช้คลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ (CF) ความงอกหลังการเร่งอายุแบบควบคุม (CD) และเปอร์เซ็นต์ในความงอกของต้นกล้า

	Improvement			
Harvest stage period	Germination (%)	CD (%)	Emergence (%)	Total
I (orange)	14[y]	4[y]	21[y]	39
II (bright red)	11[y]	11[y]	17[y]	39
III (dark red)	6[y]	10[y]	9[y]	25
IV (dark red and soft)	9[y]	14[y]	10[y]	33
Total	39	39	57	

[z]The values were obtained by subtracting control values from CF-sorted treatments.
[y]Mean of all cultivars (CF-C/four cultivars).

ตารางที่ 2 คุณภาพผลผลิตของตัวอย่างที่เก็บเกี่ยวในระยะที่มีคุณภาพสูง ปานกลางและต่ำ ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันของการกำหนดอายุการเก็บเกี่ยวของพันธุ์พริกไทย 4 สายพันธุ์ หลังจากการคัดแยกคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ หรือการระงับความงอก ความงอกหลังการเร่งอายุแบบควบคุม (CD) และความงอกออกมาของต้นกล้า

		Number of lots	
Seed quality range		CF-sorted	Nonsorted
Germination	Higher than 90%	10	2
	Medium 70% to 90%	1	9
	Lower than 70%	5	5
CD germination	Higher than 70%	8	3
	Medium 50% to 70%	5	8
	Lower than 50%	3	5
Emergence	Higher than 90%	3	0
	Medium 70% to 90%	10	8
	Lower than 70%	3	8

CF, chlorophyll fluorescence; CD, controlled deterioration.

การคัดแยกคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ เป็นเทคนิคที่ไม่ทำลายเมล็ด โดยอาศัยการวัดความกว้างของสัญญาณในคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ ในเมล็ดที่สมบูรณ์ การคัดแยกคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ จะมีการอนุญาตให้มีการทดสอบทางสรีรวิทยาและการทดสอบอื่น ๆ ในเมล็ดเดียวกันหลังถูกคัดแยก การแสดงของคลอโรฟิลล์หลังจากการเจริญเติบโตของเมล็ดเป็นสิ่งที่ไม่พึงประสงค์เนื่องจากสัมพันธ์กับคุณภาพที่ต่ำ การค้นพบนี้จึงเป็นเรื่องน่าสนใจสำหรับการเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์

อย่างไรก็ตามยังมีข้อจำกัดในการใช้เมล็ดพันธุ์ในการคัดแยกคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ โดยที่เทคนิคนี้ไม่มีประสิทธิภาพ ได้แก่ มะเขือ (*Solanum melongena*) ข้าวโพด (*Zea Mays*) และดอกทานตะวัน (*Helianthus Annus*) ซึ่งไม่มีหรือมีคลอโรฟิลในเปลือกเมล็ดน้อย นอกจากนี้การใช้เทคนิคนี้อาจมีข้อจำกัดของปริมาณคลอโรฟิลล์หรือสีของเมล็ดที่มีความแตกต่างกันอย่างมากระหว่างพันธุ์ที่อยู่ในสายพันธุ์เดียวกัน เช่น ผักกาดก้านขาว (*Brassica napus*) (Zhang and Gusta, 2010) ในการทำงานของคลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์ ในสี่สายพันธุ์ที่ได้รับการตรวจสอบ ได้แสดงให้เห็นว่าเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับพริก (*Capsicum annuum*)

เมล็ดพันธุ์อ่อนที่ปนมาจากการเก็บเกี่ยวเมล็ดจะคัดออกจากกองเมล็ดพันธุ์จำนวนมากทำให้เกิดการสูญเสียทางด้านการเงินสำหรับผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ การศึกษานี้จึงอาจจะช่วยบรรเทาการสูญเสียทางด้านการเงินโดยการปฏิบัติในการผลิตเมล็ดพันธุ์ได้ โดยการเก็บเกี่ยวในระยะเวลาที่เหมาะสมพร้อมกัน ซึ่งจะช่วยลดสัดส่วนของเมล็ดที่มีคุณภาพต่ำ คลอโรฟิลฟลูโอเรสเซนส์สามารถเป็นเครื่องมือที่มีความน่าเชื่อถือในการแยกเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูง (เช่น เมล็ดที่เจริญเติบโตเต็มที่) ออกจากเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพต่ำ (เช่น เมล็ดที่มีการเจริญเติบโตไม่เต็มที่) ในเมล็ดพริกที่เจริญเติบโตเต็มที่ซึ่งอาจช่วยปรับปรุงในด้านการผลิตและความสม่ำเสมอของต้นกล้าโดยการเพิ่มความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ อย่างไรก็ตามการประเมินความแก่ทางสรีระวิทยาของเมล็ดพันธุ์โดยใช้ Chlorophyll fluorescence ยังไม่มีบทสรุปที่ชัดเจนในถั่วเขียว ดังนั้นหากสามารถหาความสัมพันธ์ของ Chlorophyll fluorescence กับระยะการสุกแก่ได้ จะช่วยแก้ปัญหาในการเก็บเกี่ยวถั่วเขียวที่ทยอยแก่ได้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์
    1.1. เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 (ปลูกที่จังหวัดลพบุรี เดือนมกราคม พ.ศ.2559)
    1.2. เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 (ปลูกที่จังหวัดสุพรรณบุรี เดือนมกราคม พ.ศ.2559)
2. การสุ่มเมล็ด (Seed Sampling)
    2.1. ถุงมือยาง
    2.2. เครื่องแบ่งเมล็ดแบบกรวย
    2.3. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
3. การเพาะทดสอบความงอก (Germination test)
    3.1. ตู้เพาะเมล็ด (Seed germinator) ปรับอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์
    3.2. กระดาษเพาะ (Paper towel) และอุปกรณ์การเพาะ
    3.3. แผงเพาะเมล็ด (Seed counting board)
    3.4. ปากคีบ ปากกา และกระดาษสติ๊กเกอร์
    3.5. น้ำกลั่น
4. การวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence
    4.1. Leica Fluorescence microscope labX4 รุ่น DFC7000T ผลิตที่ประเทศสิงค์โปร์ โดยใช้ 3 filter คือ DAPI ,mCHERRY และ GFP magn. 7.81x
    4.2. Petri dish
    4.3. Forceps
5. การประเมินความแข็งแรงต่ำโดยวิธีการเร่งอายุ (Accelerated aging test)
    5.1. ตู้อบลมร้อน (Hot-air oven)
    5.2. ขวดโหลเร่งอายุ (ขวดโหลอับอากาศ พร้อมตะแกรงลวดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 เซนติเมตร ขาตั้งสูง 3 เซนติเมตร)
    5.3. บีกเกอร์ และน้ำกลั่น
6. การวิเคราะห์ข้อมูล
    6.1. โปรแกรมวิเคราะห์สถิติ
    6.2. โปรแกรม Microsoft office excel®

วิธีการ

ทำการทดลองในถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ที่ระยะอ่อน (30 วันหลังการปลูก) ระยะแก่ทางสรีรวิทยา (48 วันหลังการปลูก) และระยะแก่พร้อมเก็บเกี่ยว (67 วันหลังการปลูก) ที่ปลูกในพื้นที่ปลูกต่างกัน คือ จังหวัดสุพรรณบุรีและจังหวัดลพบุรี โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การจำแนกความแก่ของเมล็ดพันธุ์ ด้วยการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence โดยกล้อง Fluorescence microscope และการประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการเก็บเกี่ยว

การวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence

การจำแนกความแก่ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ด้วยการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence โดยกล้อง Fluorescence microscope วางแผนการทดลองแบบ 2x3 Factorial in CRD สุ่มเมล็ดพันธุ์ 15 เมล็ด

วิธีการทดลองคือ นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวในจาน petri dish และนำไปส่องใต้กล้อง Fluorescence microscope ส่องที่ filter ทั้งหมด 3 ชนิด นั่นคือ DAPI เป็นฟิลเตอร์สีน้ำเงิน , mCHERRY เป็นฟิลเตอร์สีแดง และ GFP เป็นฟิลเตอร์สีเขียว

เก็บข้อมูลโดยบันทึกจำนวนเมล็ดที่เปล่งแสง Chlorophyll fluorescence แล้วการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยการหาเปอร์เซ็นต์ จำนวนเมล็ดที่เปล่งแสง Chlorophyll fluorescence

การประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการเก็บเกี่ยว ประกอบด้วย การประเมินความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์ , การทดสอบความงอก และ การเร่งอายุเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Accelerated Aging (AA) Test

การประเมินความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ 2x3 Factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ (Replication) มีสิ่งทดลอง 2 กรรมวิธี (Treatment) สุ่มเมล็ดพันธุ์ 200 กรัม วิธีการทดลองคือ นำเมล็ดพันธุ์ใส่ใน Moisture Can บันทึกน้ำหนักก่อนอบ แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 104 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปใส่โถดูดความชื้น 30 นาที และบันทึกน้ำหนักหลังอบ เก็บข้อมูลน้ำหนักแห้งและน้ำหนักสด วิเคราะห์ข้อมูลโดยวัดเปอร์เซ็นต์ความชื้น

การทดสอบความงอก วางแผนการทดลองแบบ 2x3 Factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ (Replication) มีสิ่งทดลอง 2 กรรมวิธี (Treatment) สุ่มเมล็ดพันธุ์ 50 เมล็ด

วิธีการทดลองคือนำกระดาษเพาะไปชุบน้ำกลั่น วางเมล็ดถั่วเขียวลงบนกระดาษเพาะ จากนั้นนำไปใส่ในตู้เพาะเมล็ด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แสงสลับ เก็บข้อมูลจำนวนกล้าปกติ วิเคราะห์ข้อมูลโดยวัดเปอร์เซ็นต์ความงอก

การเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ของพันธุ์ถั่วเขียวที่นิยมใช้ในประเทศไทยโดยวิธี Accelerated Aging (AA) Test วางแผนการทดลองแบบ 2x3 Factorial in CRD จำนวน 4 ซ้ำ (Replication) มีสิ่งทดลอง 2 กรรมวิธี (Treatment) สุ่มเมล็ดพันธุ์ 50 เมล็ด วิธีการทดลองคือนำนำเมล็ดถั่วเขียวใส่ในขวดโหลเร่งอายุ นำไปอบในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง จากนั้นเพาะทดสอบความงอก เก็บข้อมูลจำนวนกล้าปกติ วิเคราะห์ข้อมูลโดยวัดเปอร์เซ็นต์ความงอกหลังการเร่งอายุ

สถานที่และระยะเวลาการทำวิจัย

1. สถานที่การทำวิจัย

ห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน และฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ (อาคารปฏิบัติการวิจัยกลาง) สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์กรุงเทพมหานคร

2. ระยะเวลาการทำวิจัย

แผนงานวิจัย	ระยะเวลาดำเนินงาน																
	พ.ศ. 2560												พ.ศ. 2561				
	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.
1. กำหนดหัวข้อปัญหาพิเศษ วางแผนการทดลองและปฏิบัติงาน	●																
2. ปลูกถั่วเขียว	●																
3. ออกแบบแผนการทดลองเบื้องต้น กำหนดกรอบการทดลองและสร้างแบบบันทึกผลการทดลอง																	
4. จัดเตรียมอุปกรณ์สำหรับการทดลอง		●	●														
5. ทำการทดลอง การทดลองที่ 1 – 2			●	●	●	●											
6. วิเคราะห์ผลการทดลอง				●	●	●	●										
7. เขียนและจัดรูปเล่มปัญหาพิเศษ								●	●	●	●	●	●	●	●	●	
8. ส่งรูปเล่มปัญหาพิเศษ																	●

ผลและวิจารณ์

จากการทดลองจำแนกความแก่ทางสรีระวิทยาของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ด้วยการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence โดยกล้อง Fluorescence microscope ผลการทดลองพบว่าความแก่ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 มีผลต่อจำนวนเมล็ดที่เปล่งแสง Chlorophyll fluorescence ดังนี้

1. ผลการดำเนินการในแปลงปลูก (ภาพที่ 4)

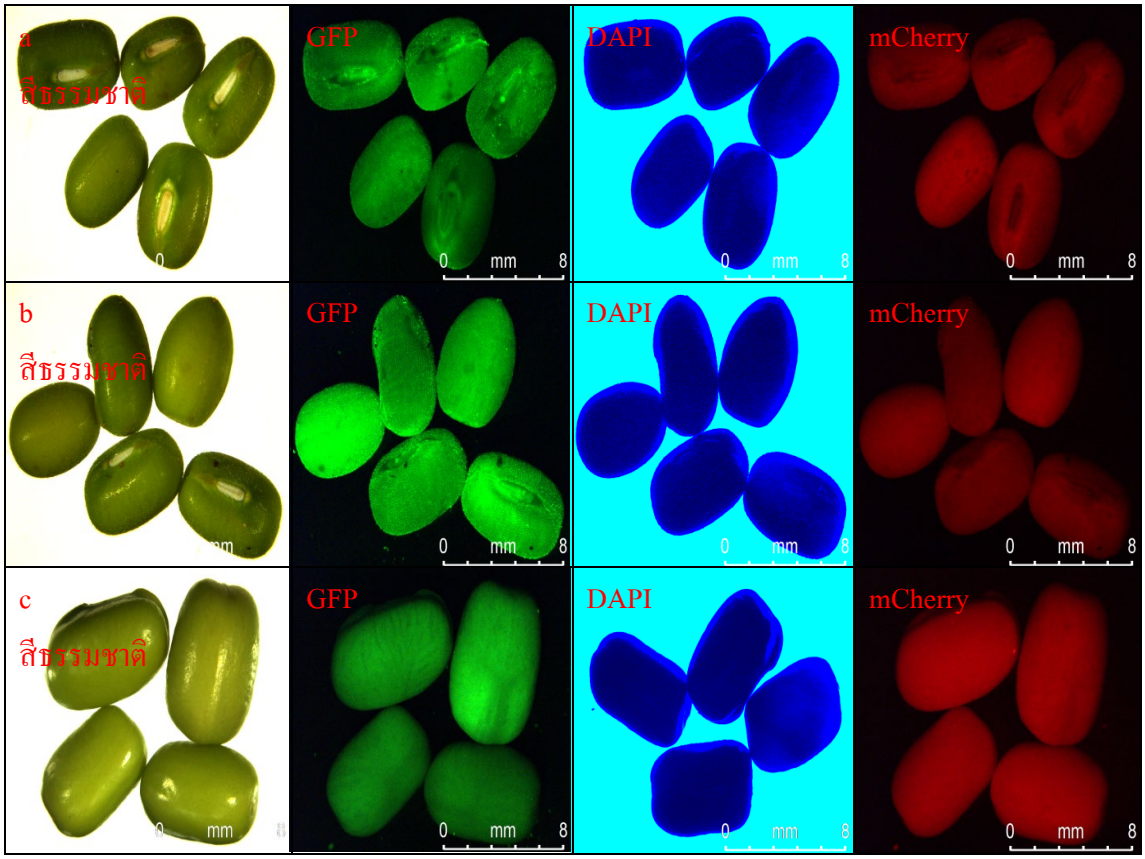
ต้นถั่วเขียวที่ 30 วันหลังการปลูก ถั่วเขียวติดฝักและให้เมล็ดระยะอ่อน โดยฝักค่อนข้างเล็ก มีสีเขียวอ่อน ความสูงต้น 40 เซนติเมตร ต้นถั่วเขียวที่ 48 วันหลังการปลูก ถั่วเขียวติดฝักและให้เมล็ดระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา โดยฝักมีขนาดใหญ่ขึ้น มีสีเขียวซีด ความสูงต้น 60 เซนติเมตร ต้นถั่วเขียวที่ 30 วันหลังการปลูก ถั่วเขียวติดฝักและให้เมล็ดระยะอ่อน โดยฝักค่อนข้างเล็ก มีสีเขียวอ่อน ความสูงต้น 40 เซนติเมตร

ภาพที่ 4 ถั่วเขียวในแปลงปลูก a) ถั่วเขียวในแปลงปลูก ที่ต้นอายุ 30 วันหลังการปลูก b) ถั่วเขียวในแปลงปลูก ที่ต้นอายุ 48 วันหลังการปลูก และ c) ถั่วเขียวในแปลงปลูก ที่ต้นอายุ 67 วันหลังการปลูก

2. การจำแนกความแก่ทางสรีระวิทยาของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ด้วยการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence โดยกล้อง Fluorescence microscope

พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวระยะสุกแก่ทางสรีระวิทยาที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรีและลพบุรี มีเปอร์เซ็นต์ค่า Chlorophyll fluorescence ต่างจากเมล็ดถั่วเขียวระยะอ่อนที่ปลูกในทั้งสองจังหวัด (ภาพที่ 5) และเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรี มีเปอร์เซ็นต์ค่า Chlorophyll fluorescence ต่ำสุด แต่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวที่ปลูกในจังหวัดลพบุรีมีเปอร์เซ็นต์ค่า Chlorophyll fluorescence สูงสุด จึงเป็นไปได้ว่าเมล็ดพันธุ์สะสมคลอโรฟิลด์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนพืชถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา และเมื่อพืชเข้าสู่ระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวจะค่อยสลายไป ทำให้มีปริมาณคลอโรฟิลด์ลดลง แต่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวที่ปลูกในจังหวัดลพบุรีมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง เช่น ฝนตก ทำให้แก่ช้าและยังไม่มีการลดลงของคลอโรฟิลด์

พบว่าเทคนิคนี้ให้ผลสอดคล้องกับการจำแนกความแก่ของเมล็ดพันธุ์พริก Burcu *et al.* (2013) เพราะคลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุสีเขียวอยู่ภายในคลอโรพลาสต์ มีบทบาทสำคัญต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง การที่เมล็ดพันธุ์สะสมคลอโรฟิลด์เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนพืชถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยานั้น เกิดจากการสร้างและสะสมอาหารภายในเมล็ดพันธุ์ พืชจึงต้องสังเคราะห์คลอโรฟิลล์มาทำหน้าที่เป็นโมเลกุลรับพลังงานจากแสง และนำพลังงานดังกล่าวไปใช้ในการสร้างพลังงานเคมีโดยกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เพื่อสร้างสารอินทรีย์ เช่น น้ำตาล และการที่พืชปริมาณคลอโรฟิลด์ลดลง เนื่องจากการสลายตัวเมื่อเมล็ดเข้าสู่ระยะสุกแก่นั้น เกิดขึ้นเพราะเมล็ดพันธุ์มีอาหารสะสมเพียงพอต่อการเจริญเติบโตแล้ว กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจึงไม่จำเป็น จนกว่าเมล็ดจะงอกและเติบโตเป็นต้นใหม่อีกครั้ง พืชจึงสลายคลอโรฟิลล์ จึงทำให้เมล็ดพันธุ์มีเปอร์เซ็นต์ค่า Chlorophyll fluorescence ต่ำสุดในระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยว



ภาพที่ 5 เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว ภายใต้การวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence แบบต่าง ๆ a) ระยะอ่อน อายุ 10 วันหลังดอกบาน b) ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา อายุ 28 วันหลังดอกบานและ c) ระยะสุกแก่เก็บเกี่ยว อายุ 47 วันหลังดอกบาน

การประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการเก็บเกี่ยว

1. การประเมินความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์

จากผลการทดลอง เปอร์เซ็นต์ความชื้นของถั่วเขียวที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรีและลพบุรีที่ระยะอ่อนและระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ทั้งสองระยะนี้ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยว (ตารางที่ 3) และระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวมีเปอร์เซ็นต์ความชื้นต่ำสุด ซึ่งหากเก็บถั่วเขียวในระยะนี้ จะทำให้ได้ถั่วเขียวที่มีคุณภาพดี

ตารางที่ 3 ความชื้นภายในเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่เก็บได้จากระยะต่าง ๆ

Maturity fractions (days after anthesis)	Seed moisture content (%FW)
1 (10)	74.00
2 (28)	38.71
3 (47)	8.46
P-value	0.004
CV (%)	30.52

2. การทดสอบความงอก

จากผลการทดลอง เปอร์เซ็นต์ความงอกของถั่วเขียวที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรีและลพบุรีที่ระยะอ่อน ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา และระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งหากเก็บถั่วเขียวในระยะนี้ จะทำให้ได้ถั่วเขียวที่มีคุณภาพดี (ตารางที่ 4 และ 5)

ตารางที่ 4 ความงอกของถั่วเขียวที่ปลูกในจังหวัดสุพรรณบุรีทั้ง 3 ตัวอย่างที่ได้จากการเก็บเกี่ยวในระยะต่าง ๆ

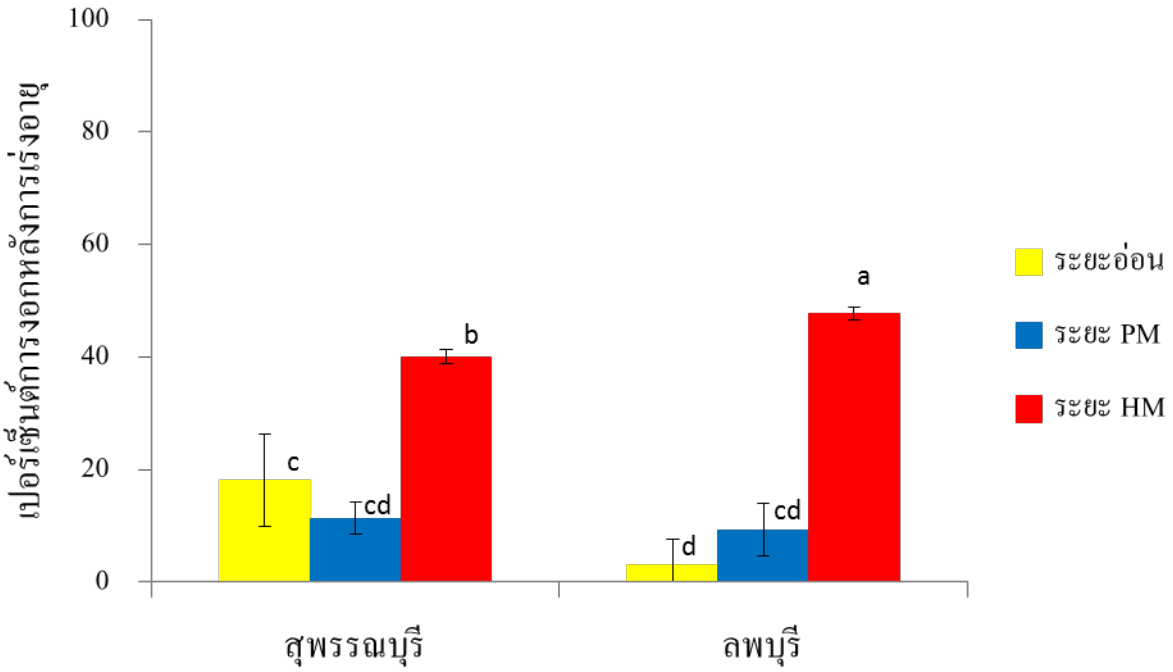
Maturity fractions (days after anthesis)	Germination (%)
1 (10)	80.00
2 (28)	63.5
3 (47)	87.5
P-value	0.0038
CV (%)	20.84

ตารางที่ 5 ความงอกของถั่วเขียวที่ปลูกในจังหวัดลพบุรีทั้ง 3 ตัวอย่างที่ได้จากการเก็บเกี่ยวในระยะต่าง ๆ

Maturity fractions (days after anthesis)	**Germination (%)**
1 (10)	46.0
2 (28)	69.0
3 (47)	98.5
P-value	0.0038
CV (%)	20.84

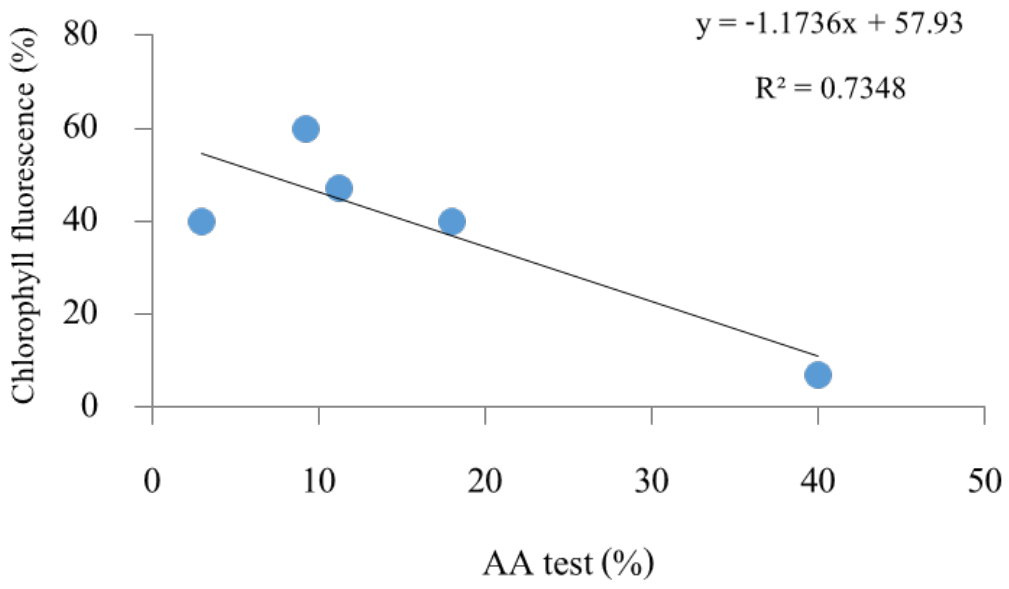
3. การเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ของพันธุ์ถั่วเขียวที่นิยมใช้ในประเทศไทยโดยวิธี Accelerated Aging (AA) Test

เปอร์เซ็นต์ความงอกหลังการเร่งอายุ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 (ภาพที่ 3) โดยถั่วเขียวที่ปลูกในจังหวัดลพบุรีในระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวมีเปอร์เซ็นต์ความงอกหลังการเร่งอายุสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือระยะสุกแก่พร้อมเก็บเกี่ยวของจังหวัดลพบุรี มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับถั่วเขียวในระยะอ่อนของจังหวัดสุพรรณบุรีและจังหวัดลพบุรี แต่ไม่มีความแตกต่างกันกับถั่วเขียวระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาของจังหวัดสุพรรณบุรีและลพบุรี ดังนั้น จึงควรเก็บเกี่ยวที่ระยะแก่พร้อมเก็บเกี่ยว



ภาพที่ 6 การทดสอบการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Accelerated Aging (AA) Test ของเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวได้ในระยะต่าง ๆ

ผลการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence กับค่าการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์โดยวิธี AA Test พบว่าค่า Chlorophyll fluorescence กับค่าการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์โดยวิธี AA Test มีความสัมพันธ์กันในทางลบ (ภาพที่ 7) นั่นคือ เมื่อมีค่า Chlorophyll fluorescence สูง จะทำให้มีค่าการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์โดยวิธีAA Test ต่ำ พบว่าเทคนิคนี้ให้ผลสอดคล้องกับการจำแนกความแก่ของเมล็ดพันธุ์พริก Burcu *et al*. (2013)



ภาพที่ 7 ความสัมพันธ์ของการวิเคราะห์ Chlorophyll fluorescence และค่าการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวโดยวิธี Accelerated Aging (AA) Test

สรุป

1.การวิเคราะห์ค่า Chlorophyll fluorescence ด้วยกล้อง Fluorescence microscope สามารถจำแนกความแก่ทางสรีรวิทยาของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 เพื่อการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมได้ โดยเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่แก่จะมีค่า Chlorophyll fluorescence ต่ำ และในทางตรงกันข้ามเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่อ่อนจะมีค่า Chlorophyll fluorescence สูง

2.เทคนิคการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Accelerated Aging (AA) Test สามารถจำแนกความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 2 ได้ โดยเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่อ่อนจะมีความแข็งแรงของเมล็ดต่ำ และในทางตรงกันข้ามเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่แก่จะมีความแข็งแรงสูง

3.ค่า Chlorophyll fluorescence กับค่าการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์โดยวิธี AA Test มีความสัมพันธ์กันโดยมีค่าผกผันกัน นั่นคือ โดยเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่อ่อนจะมีปริมาณคลอโรฟิลด์สูง แต่มีความแข็งแรงต่ำ และในทางตรงกันข้ามเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่แก่จะมีปริมาณคลอโรฟิลด์ต่ำ แต่มีความแข็งแรงสูง

เอกสารอ้างอิง

คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2547. **พืชเศรษฐกิจ.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. **เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์.** พิมพ์ครั้งที่ 2. กลุ่มหนังสือเกษตร. กรุงเทพฯ.

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2552. **ก้าวล้ำกับเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ Advanced Seed Technology**. แหล่งที่มา : http://www3.rdi.ku.ac.th/exhibition/52/04-plant/plant-ku/plant_00.html, 15 สิงหาคม 2560.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2542. **เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืชไร่**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิไลวรรณ พรหมคำ. 2531. **การศึกษาช่วงระยะการเจริญเติบโตของถั่วเขียว**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิไลวรรณ พรหมคำ. 2536. **การกำหนดระยะการเจริญเติบโตของถั่วเขียวผิวดำ**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. **สารสนเทศเศรษฐกิจการเกษตรรายสินค้า ปี 2559**. บริษัท 21 เซ็นจูรี่ จำกัด, กรุงเทพฯ.

อภิพรรณ พุกภักดี. 2532. **การกำหนดระยะการเจริญเติบโตของถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) Wilczek)**. กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการพลังงาน, กรุงเทพฯ.

Selmani A. and C.E. Wassom. 1993. **Daytime Chlorophyll fluorescence measurement in field-grown maize and its genetic variability under well-watered and water-stressed conditions.** Elsevier Science Publishers B.V. Field Crops Research, 173-184, Amsterdam

Bilger W. 1995. **Chlorophyll fluorescence as a non-intrusive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis.** *In:* Schulze ED, Caldwell MM (eds) Ecophysiology of photosynthesis. (Ecological Studies, vol 100) Springer, Berlin Heidelberg New York

Björkman, O. and B. Demming. 1987. Photon yield of O_2 evolution and Chlorophyll fluorescence characteristics at 77 K among vascular plants of diverse origin**. Planta**, New York 170: 489-504.

Burcu, B.K., I. Demir and H. Jalink. 2013. Chlorophyll fluorescence Sorting Method to Improve Quality of *Capsicum* Pepper Seed Lots Produced from Different Maturity Fruits. **HortScience**, 48(8):965-968.

Delouche, J. C., and W. P. Caldwell 1960. Seed vigor and vigor tests**.** Proc. Assoc. Off. **Seed Anal** 50:124-129.

Hall, D.O. 1 9 9 3 . **Photosynthesis and production in a changing environment: a field and laboratory manual**. Chapman and Hall, London

Flagella, Z., D. Pastore, R. Campanile and N. Fonzo. 1995. The quantum yield of photosynthetic electron transport evaluated by Chlorophyll fluorescence as an indicator of drought tolerance in durum wheat**. The Journal of Agricultural Science**, 125(3), 325-329.

Fox, R. L., and W. A. Albrecht. 1 9 5 7 . **Soil fertility and the quality of seeds.** Missouri Agricultural Experiment Station Research Bulletin 619.

Harris, H.C., J.R. McWilliam and W.K. Masson. 1978. **Influence of temperature on oil content and composition of sunflower seed**. Aust. J. Agric. Res., 29

Hidekaza, S., L.I. Zhijun, T. Kenkou and O.D.A. Masayuki. 1994. Factors affecting the measurement chlorophyll a fluorescence in cucumber leaves**. Japan Agricultural Research Quarterly** 28; 242-246.

Iwata, M. and Y. Eguchi. 1958. **Effects of phosphorus and potassium supplied for various stages of growth on the yield and quality of seeds of Chinese cabbage**. J. hort. Assoc. Japan 27: 171-78.

Jalink, H., R. Van der Schoor, A. Frandas, J.G. Van Pijlen, and R.J. Bino. 1998. Chlorophyll fluorescence of Brassica oleraceae seeds as a non-destructive marker for maturity and seed performance**. Seed Science Research** 8, 437-443.

Jalink, H., R. Van der Schoor, Y. E. Birnbaum and R. J. Bino. 1999. Seed chlorophyll content as an indicator for seed maturity and seed quality**. Acta Horticulturae**, 504, 219-227.

Kocheva K., P. Lambrev, G. Georgiev, V. Goltsev, M. Karabaliev. 2004. Evaluation of Chlorophyll fluorescence and membrane injury in the leaves of barley cultivars under osmotic stress**. Bioelectrochemistry** 63:121–124

Krause, G.H. and E. Weis. 1984. **Chlorophyll fluorescence as a tool in plant physiology : II. Interpretation of fluorescence signals.** Photosynth Res. 1984 Jun;5(2):139-57

Maxwell, K. and G.N. Johnson. 2000. Chlorophyll fluorescence-a practical guide**. Journal Experimental Botany** 51(345): 659-668

McDonald, M.B. and K. B. Porter. 1969. **Barley Production in Texas**. Texas Agricultural Experiment Station.

McDonald, M.B. 1999. Differential leakage of substances from two soybean genotypes during imbibition is influenced by seed coat characteristics. **Acta Hort.** 504, 161-176.

Nogués, S., L. Alegre, J. Araus, L. Perez-Aranda and R. Lannoye. 1994. Modulated Chlorophyll fluorescence and photosynthetic gas exchange as rapid screening methods for drought tolerance in barley genotypes**. Photosynthetica** 30: 465-474

Olaf, V.K. and J.F.H. Snel. 1990. The use of Chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology**. Photosynthesis Research** 25; 147-150.

Rong-hua, L., G. Pei-guo, M. Baum, S. Grando and S. Ceccarelli. 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley**. Agricultural Sciences in Chaina** 5(10); 751-757.

Sayed, O.H. 1992. Photosynthetic acclimation to high temperature in wheat**. Acta Botanica Neerlandica**, 41

Schreiber, U. and P.A. Armond. 1978. Heat-induced changes of Chlorophyll fluorescence in isolated chloroplasts and related heat-damage at the pigment level Biochem**. Biophys. Acta,** 502

Smillie, RM. 1979. Coloured components of chloroplast membranes as intrinsic membrane probes for monitoring the development of heat injury in intact tissues**. Aust J Plant Physiol** 6:121–133

Srinivasan, A., H. Takeda and T. Senboku. 1996. Heat tolerance in food legumes as evaluated by cell membrance thermostability and Chlorophyll fluorescence techniques. **Euphytica** 88; 35-45.

Strasser, R.J., A. Srivastava and M. Tsimilli-Michael. 2000. The Fluorescence Transient As a Tool to Characterize and Screen Photosynthetic Samples. *In* M. Yunus, Pathre U,

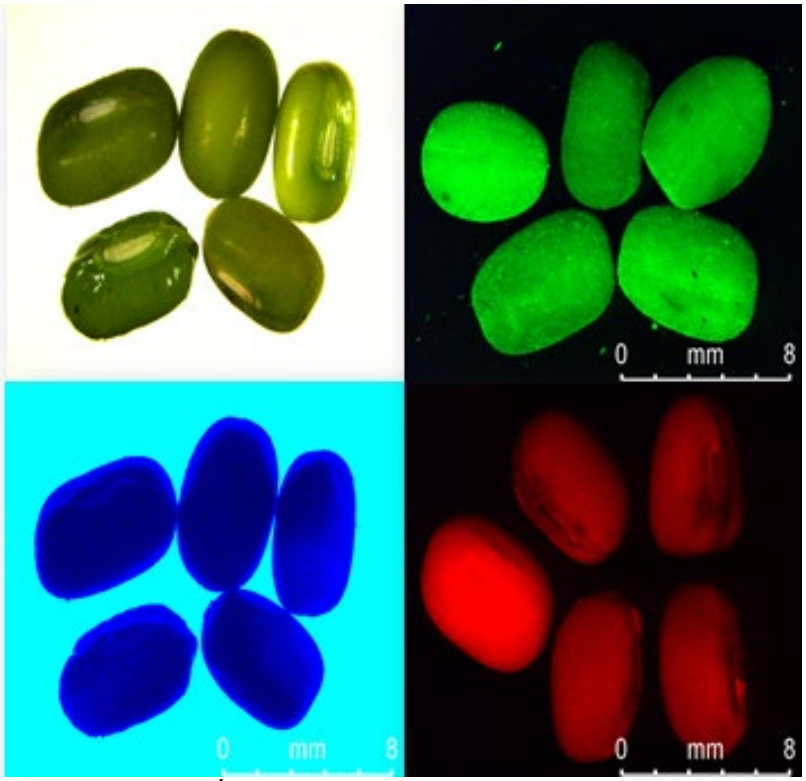
Mohanty P (eds.), **Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation.** Taylor & Francis: London

Wilson, J.M. and J.A. Greaves. 1993. **Development of fluorescence-based screening programs for temperature and water stress in crop plants**. Adaptation of Food Crops to Temperature and Water StressC.G. Kuo (Ed.), Proc. Int. Symp. Taiwan, Asian Vegetable Research and Development Center, Taipei, Taiwan

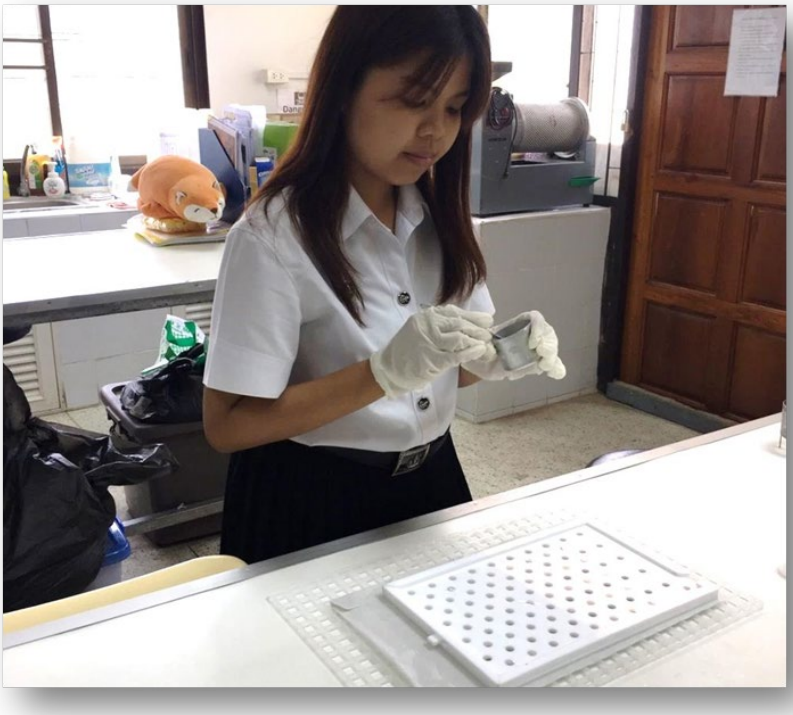
Wetzel, C.T. 1975. **Some effects of seeds size on perfomance of soybeans.** Mississippi State University, Mississippi.

ภาคผนวก

ชั่งเมล็ดเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น



ภาพที่ได้จากกล้อง Fluorescent Microscope



เพาะเมล็ดถั่วเขียวเพื่อทดสอบความงอก

ทดสอบความงอกหลังการเร่งอายุโดยวิธี AA test

ประวัติการศึกษาและการทำงาน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวสุธิดา เลาะไธสง
วัน เดือน ปี เกิด	3 มีนาคม 2539
สถานที่เกิด	จังหวัดสมุทรปราการ
ประวัติการศึกษา	ประถมศึกษา-โรงเรียนวัดสวนส้ม จังหวัดสมุทรปราการ มัธยมศึกษา-โรงเรียนวัดทรงธรรม จังหวัดสมุทรปราการ
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	นิสิตปริญญาตรี ชั้นปีที่ 4
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	-
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	-