

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของความงอกและการรั่วไหลของสารอิเล็คโทรไลต์
จากเมล็ดพันธุ์พริกหวานที่ผ่านการเร่งอายุ
The study of germination changes and electrolytes leaked from accelerated aging
of sweet pepper seeds

ปรีญา แก้วนารี¹ คณิตวิชิตพันธุ์¹ ปรียกมล กลั่นฤทธิ์¹ และ บุญมี สิริ²
Preeya Kaewnaree¹, Kanit Vichitphan¹, Preekramol Klanrit¹ and Boonmee SIRI²

Abstract

Seed quality is very important in seed value and seed germination, particularly, sweet pepper seed. The percentage of germinated sweet pepper seed and rapid deterioration during storage of sweet pepper seed are major problems that impact on seed quality. In this study, the effects of accelerated aging of sweet pepper seeds in an incubator with 100% relative humidity at 42 °C for day 0, 6, 12, 14, 16, 18, and 20 were evaluated the association between seed germination and electrolyte leaked from soaked seeds in distilled water. The results revealed that longer aging time decreased the ability of seed germination. The electrolyte leaked from seeds such as electrical conductivity (EC) values, K⁺, Na⁺ and Ca²⁺ were increased in soaked seed solution in all accelerated aging time. However, the EC values and K⁺ in soaked solution were increased from 6-16 days of aging seeds. The Na⁺ and Ca²⁺ in soaked seed solution were increased from 6-16 days and 12-16 days of aging seeds, respectively. This information implied that the possibility of the cell membrane damage level from different accelerated aging time impact the ability of membrane to control the leakage of K⁺, Na⁺ and Ca²⁺ in different mechanism. The result obtained from this study is probably used to detect the seed quality in the future.

Keywords: sweet pepper(*Capsicum annuum* L.), sweet pepper seed, accelerated aging, electrolyte leak

บทคัดย่อ

คุณภาพของเมล็ดพันธุ์มีความสำคัญต่อการงอกของเมล็ด โดยเฉพาะเมล็ดพริกหวานที่เกิดการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดอย่างรวดเร็วในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งการเสื่อมของเมล็ดมีผลมาจากการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดทางสรีรวิทยาและชีวเคมี ในการศึกษาครั้งนี้ เร่งเมล็ดพริกหวานให้เสื่อมคุณภาพที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100% เป็นเวลา 20 วันและตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างการงอกของเมล็ดกับความสามารถในการกักเก็บสารอิเล็คโทรไลต์ของผนังเซลล์โดยการวัด ค่าการนำไฟฟ้า(EC) ปริมาณ K⁺ Na⁺ และ Ca²⁺ ของน้ำที่แช่เมล็ดของเมล็ดพริกหวานที่มีคุณภาพแตกต่างกันที่ผ่านผนังเซลล์ออกมาในสารละลาย การทดลองพบว่าเมื่อใช้เวลาเร่งอายุเมล็ดนานขึ้น เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดลดลง เมื่อตรวจสอบค่าการนำไฟฟ้าและปริมาณแร่ธาตุในสารละลายที่แช่เมล็ด ค่าการนำไฟฟ้าและปริมาณ K⁺ มีช่วงการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น ในเมล็ดที่มีการเร่งอายุระหว่างวันที่ 6 ถึงวันที่ 16 ซึ่งมีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงคล้ายกัน ส่วนการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Na⁺ นั้นเพิ่มขึ้นในเมล็ดที่มีการเร่งอายุระหว่างวันที่ 6 ถึงวันที่ 12 เท่านั้น ในกรณีปริมาณของ Ca²⁺ นั้นเพิ่มขึ้นในเมล็ดที่มีการเร่งอายุระหว่างวันที่ 12 ถึงวันที่ 16 โดยสรุปจะเห็นว่าค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณ K⁺ Na⁺ และ Ca²⁺ ของเมล็ดพริกหวานมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นในเมล็ดที่มีการเร่งอายุในช่วง 6-16 วัน แต่อย่างไรก็ตามตามความสามารถของผนังเซลล์ในเมล็ดที่มีการเร่งอายุที่มีความสามารถในการกักเก็บ K⁺ Na⁺ และ Ca²⁺ ต่างกัน มีความเป็นไปได้ที่จะใช้ปริมาณอิเล็คโทรไลต์ในการบ่งบอกระดับคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

คำสำคัญ: พริกหวาน เมล็ดพันธุ์พริกหวาน การเร่งอายุ การรั่วไหลของสารอิเล็คโทรไลต์

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

¹ Department of Biotechnology, Faculty of Technology, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

² ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

² Department of Plant Science and Agricultural Resource, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

บทนำ

เมล็ดพริกหวานมีความสำคัญทางเศรษฐกิจและมีมูลค่าสูง แต่เกิดปัญหาการเสื่อมคุณภาพเมล็ดอย่างรวดเร็วระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพริกหวานจึงเป็นเรื่องน่าสนใจ ทั้งนี้ เพื่อนำผลจากการศึกษานี้มาปรับปรุงคุณภาพเมล็ดพริกหวานให้ดีขึ้น การติดตามการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพริกหวาน สามารถตรวจสอบได้จากเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด ซึ่งเป็นการตรวจสอบด้านสรีรวิทยา แต่ข้อมูลสำคัญในการอธิบายกลไกของการเสื่อมสภาพจะต้องใช้ข้อมูลด้านชีวเคมีซึ่งต้องศึกษาควบคู่กันไป การเปลี่ยนแปลงด้านชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพริกหวาน คือ 1) การสังเคราะห์ DNA และการซ่อมแซม 2) ปริมาณ RNA และการสังเคราะห์ 3) การสังเคราะห์โปรตีนที่เกี่ยวข้อง เช่น เอ็นไซม์ เป็นต้น 4) การเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์และการซ่อมแซม ซึ่งการเปลี่ยนแปลงข้างต้นล้วนมีความสัมพันธ์กัน

การศึกษาค้นคว้านี้ได้ศึกษาความสามารถในการกักเก็บสารอิเล็กโทรไลต์ของผนังเซลล์ของเมล็ดพริกหวานเมื่อมีการเร่งการเสื่อมคุณภาพ (accelerated aging) สารอิเล็กโทรไลต์ที่ตรวจวัดได้แก่ ปริมาณของ โพแทสเซียมไอออน (K^+) โซเดียมไอออน (Na^+) และ แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) และค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity, EC) ในสารละลายที่แช่เมล็ดพริกหวานที่เร่งอายุ จากผลการศึกษาครั้งนี้ จะใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นของการเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงผนังเซลล์ ที่มีความสัมพันธ์กับการเสื่อมคุณภาพของเมล็ด ส่วนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีด้านอื่นจะได้อีกศึกษาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเร่งอายุการเสื่อมของเมล็ด

นำเมล็ดพริกหวานมาเร่งอายุ ที่อุณหภูมิ $42^\circ C$ และความชื้นสัมพัทธ์ 100% โดยใช้เวลาในการเร่งอายุ 0 6 8 12 14 16 18 และ 20 วัน จากนั้นนำมาลดความชื้นโดยเครื่องลดความชื้นให้เท่าระดับความชื้นเดิม (6-7% moisture content, MC)

2. ทดสอบการงอกในห้องปฏิบัติการ

ตรวจสอบการงอกของเมล็ดในห้องปฏิบัติการโดยศึกษา การงอกของเมล็ด (seed germination; G), ความเร็วของการงอกของเมล็ด (seed germination index; GI) การงอกของราก (emergence radicles; ER) ที่ความยาวราก 0.5 cm และ ความเร็วของการงอกของราก (emergence radicle index; ERI)

3. วิเคราะห์ปริมาณ K^+ Na^+ Ca^{2+} และ ค่าการนำไฟฟ้า

นำเมล็ดที่ผ่านการเร่งอายุ จากข้อ 2.2 จำนวน 100 เมล็ด (0.8 กรัม) แช่ในน้ำกลั่นปราศจากไอออน (deionization water) 50 ml เป็นเวลา 12 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 เก็บตัวอย่างสารละลายไปวิเคราะห์ค่าการนำไฟฟ้า K^+ Na^+ และ Ca^{2+} โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ ดังต่อไปนี้

1) การวัดค่าการนำไฟฟ้า นำสารละลายที่แช่เมล็ดที่ผ่านการเร่งอายุ มาวัดค่าการนำไฟฟ้าโดยเครื่องวัดการนำไฟฟ้า (electrical conductometer) แล้วนำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหาค่าการนำไฟฟ้าในหน่วยเป็นไมโครซีเมนต์ ต่อ น้ำหนัก 1 กรัม ของเมล็ดพริกหวาน ($\mu S/g$)

2) การหาปริมาณของ K^+ Na^+ และ Ca^{2+} เตรียมสารละลายมาตรฐาน K Na และ Ca จากความเข้มข้นเริ่มต้น 1,000 mg/l ให้มีความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐาน K เป็น 2 4 6 8 และ 10 mg/l และ Na เป็น 1 2 3 4 และ 5 mg/l โดยเติม 5% $SrCl_2$ ปริมาตร 2 ml ก่อนปรับปริมาตรด้วย 1% HNO_3 ให้ได้ปริมาตร 50 ml และเตรียมความเข้มข้นของ สารละลายมาตรฐานแคลเซียม 200 $\mu g/l$ นำไปวิเคราะห์หาปริมาณ K Na และ Ca โดยเครื่องอะตอมมิคแอบซอร์พชัน (atomic absorption spectrophotometer; AAS)

ผลและวิจารณ์

1. การศึกษาการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพริกหวานโดยการเร่งอายุ

การทดสอบคุณภาพของเมล็ดโดยตรวจสอบการงอก ผลการทดลองของเปอร์เซ็นต์การงอก อัตราเร็วในการงอก เปอร์เซ็นต์การงอกของราก และอัตราเร็วในการงอกของราก ผลการทดลองดังแสดงใน Table 1 สรุปได้ว่าเมื่อเพิ่มเวลาในการเร่งอายุเมล็ดพริกหวานที่อุณหภูมิและความชื้นสูงมีผลทำให้การงอกของเมล็ดและการงอกของรากลดลง สอดคล้องกับรายงานของ McDonald MB, 1999 ที่สรุปว่าเวลาที่ใช้เร่งอายุเมล็ดพริกหวานนานขึ้นมีผลทำให้การงอกและอัตราเร็วในการงอกลดลง

Table 1 Changes of some quality characters of seed after different accelerated aging periods

Aging period (days)	Changing of some quality characters of seed			
	Seed germination (%) ^{1/}	Seed germination index	Emergence radicle (%)	Emergence radicle index
0	99a	11a	100a	14a
6	89b	9b	91b	13b
12	74c	7c	77c	11c
14	75c	7c	76cd	10d
16	77c	7c	77c	10d
18	77c	7c	78c	10cd
20	50d	4d	71d	9e
F-test	**	**	**	**

ns non-significant

^{1/} Means within a column followed by the same letter do not different significantly according to F-test at $p \leq 0.05$ (DMRT)

2. การศึกษาการกักเก็บสารอิเล็กโทรไลต์ ของผนังเซลล์ของเมล็ดพริกหวานที่ผ่านการเร่งอายุ

หลังการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ต่างกัน พบว่าปริมาณของ K^+ Na^+ และ Ca^{2+} และค่าการนำไฟฟ้า(EC) ดังแสดงใน Table 2 เมื่อพิจารณา EC ที่เวลาต่างๆ กันพบว่า มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงคล้ายกับ K^+ โดยช่วงเวลาที่พบว่ามี K^+ ในสารละลายที่แช่เมล็ดเพิ่มขึ้น คือเมล็ดที่มีการเร่งอายุในช่วง 6-16 วัน มีปริมาณมากที่สุดในสารละลายประมาณ 94% เมื่อเทียบกับ Na^+ และ Ca^{2+} ส่วนปริมาณของ Na^+ และ Ca^{2+} ในสารละลายที่แช่เมล็ดเพิ่มขึ้น ในเมล็ดที่มีการเร่งอายุในช่วง 6-16 และ 12-16 วัน ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณในสารละลายที่แช่เมล็ดน้อยเมื่อเทียบกับปริมาณของ K^+ มีประมาณ 5 และ 1% ตามลำดับ ซึ่งปริมาณที่น้อยมากนั้นไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าการนำไฟฟ้ามากนัก

Table 2 Changes of seed germination, electrical conductivity, K^+ , Na^+ and Ca^{2+} after different accelerated aging periods of aged sweet pepper seed

Aging (days)	Changing of electrolytes				
	Seed germination (%)	Electrical conductivity ($\mu\text{s/g}$) ^{1/}	K^+ (mg/g)	Na^+ (mg/g)	Ca^{2+} (mg/g)
0	99a	164b	1.55bc	0.077c	0.0119
6	89b	138b	1.31c	0.070c	0.0116
12	74c	196a	1.72b	0.140ab	0.0116
14	75c	207a	2.04a	0.143ab	0.0138
16	77c	215a	2.04a	0.146ab	0.0162
18	77c	149b	1.51bc	0.133b	0.0135
20	50d	164b	1.66b	0.159a	0.0117
F-test	**	**	**	**	ns

ns non-significant

^{1/} Means within a column followed by the same letter do not different significantly according to F-test at $p \leq 0.05$ (DMRT)

เมื่อพิจารณาปริมาณสารละลายอิเล็กโทรไลต์กับประสิทธิภาพในการงอกของเมล็ดจะพบว่า เมล็ดที่มีการเร่งอายุในช่วง 12-18 วัน พบว่ามีประสิทธิภาพในการงอกไม่เปลี่ยนแปลงแต่มีความสามารถในการกักเก็บสารอิเล็กโทรไลต์เปลี่ยนแปลงลดลงหรือเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าช่วง 12-18 วัน ของการเร่งอายุเป็นช่วงตอบสนองของเซลล์ในการซ่อมแซมผนังเซลล์เพื่อรักษาประสิทธิภาพการงอกไว้ไม่ให้ลดลง แต่เมื่อเร่งอายุมากกว่า 18 วัน เมล็ดจะมีการเสื่อมสภาพลงอีกครั้งหนึ่ง

มีผลทำให้ความสามารถในการกักเก็บสารอิเล็กโทรไลต์ลดลง จึงพบปริมาณ K^+ สูงขึ้นในสารละลายแช่เมล็ดที่มีการเร่งอายุ 20 วัน จากผลการทดลองนี้สนับสนุนให้มีการศึกษาการเกิดเปอร์ออกซิเดชันและกลไกการป้องกันการเกิดเปอร์ออกซิเดชันในเซลล์ของเมล็ดพริกหวาน เพื่ออธิบายการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับผนังเซลล์ของเมล็ดพันธุ์ต่อไป

สรุป

เมล็ดพริกหวานเกิดการเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็วโดยธรรมชาติและจากการเร่งอายุที่อุณหภูมิและความชื้นสูง การเร่งอายุทำให้การงอกและอัตราเร็วในการงอกของเมล็ดพริกหวานลดลง เวลาที่ใช้ในการเร่งอายุเพิ่มขึ้นจะทำให้เมล็ดพริกหวานเสื่อมคุณภาพเพิ่มขึ้น จากการตรวจวัดพบว่าการเพิ่มขึ้นของสารอิเล็กโทรไลต์ในสารละลายที่แช่เมล็ดพริกหวานที่เร่งอายุเกิดจากการรั่วไหลของ K^+ Na^+ และ Ca^{2+} ออกนอกผนังเซลล์ ซึ่ง ค่าการนำไฟฟ้า ปริมาณ K^+ และ Na^+ มีความเป็นไปได้ที่จะใช้ในการบอกรักษาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์โดยไม่ต้องทดสอบการงอกซึ่งใช้เวลานาน แต่ปริมาณ Ca^{2+} ไม่สามารถใช้อบกระดัดการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพริกหวานได้

เอกสารอ้างอิง

- Anuradha G, Ajaykumar G, Inder SS. Changes oxidative stress enzymes during artificial ageing in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) seeds. *Journal of Plant Physiology* 2003; 160: 1093-1100.
- Cifford MB, Biochemical Processes During the osmopriming of seeds. In: Jaime K, Gad G. *Seed development and germination* 1995; pp. 767-789.
- McDonald MB. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. *Seed Science Technology* 1999; 27: 177-237.
- Perayos K. The biochemical and quality changes during an accelerated aging process and using of chemical to delay deterioration and improve quality of sweet pepper (*Capsicum anuum* L.) seeds. Khon Kean University, Thailand, 2003.
- McDonald MB. Seed priming. In: Black M, Bewley JD. (Eds), *Seed Technology and Its Biological Basis*. Sheffield Academic Press, Sheffield, England, 2000; pp. 287-325.