

อิทธิพลของแสงและน้ำตาลซูโครสต่อการงอกของเรณูพริกบางเลน พันธุ์เล็กและพริกชี้ฟ้าบางเขน

Effects of Light and Sucrose on Pollen Germination of *Capsicum annuum* cvs. Bang Lane Pan Lak and Prik Chee Pha Bangkhen

นิรันดร์ จันทวงศ์¹

Niran Juntawong

ABSTRACT

The germination of *Capsicum annuum* cv. Bang Lane Pan Lak pollen collected from dehiscent and non-dehiscent anthers in a culture medium containing 25% sucrose, 100 ppm H_3BO_3 , 300 ppm $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 200 ppm $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ and 100 ppm KNO_3 was studied. The result indicated pollen grains derived from both dehiscent and non-dehiscent anthers germinated in dark condition better than in cool light. The germination percentages of pollen grains from dehiscent and non-dehiscent anthers were 2.87 and 7.71 in dark and 0.22 and 0.49 in cool light condition, respectively. Moreover, for *Capsicum annuum* cv. Prik Chee Pha Bangkhen, it was found that germination percentage of pollen was increased in proportion to sucrose concentration, attaining maximum level at 25%.

Key words : pollen germination, *Capsicum annuum*, light, sucrose

บทคัดย่อ

การศึกษาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเรณูพริกบางเลนพันธุ์เล็ก (*Capsicum annuum* cv. Bang Lane Pan Lak) ซึ่งเก็บรวบรวมจากอับเรณูที่แตกและที่ยังไม่แตกแล้วนำมาเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่มี 25% ซูโครส, 100 ppm H_3BO_3 , 300 ppm $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 200 ppm $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ และ 100 ppm

KNO_3 ผลการศึกษาปรากฏว่า ทั้งเรณูจากอับเรณูที่แตกและที่ไม่แตกเมื่อเก็บไว้ในที่มีดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงกว่าเมื่อเก็บไว้ในที่มีแสง โดยเรณูที่เก็บรวบรวมจากอับเรณูที่แตกและที่ไม่แตกมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 2.87 และ 7.71 เมื่อเก็บไว้ในที่มีด และ 0.22 และ 0.49 เมื่อเก็บไว้ในที่มีแสง ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าในพริกชี้ฟ้าบางเขน (*Capsicum annuum* cv. Prik Chee Pha Bangkhen) นั้น เปอร์เซ็นต์ความงอกของ

¹ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dept. of Botany, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

เรณูจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนตามความเข้มข้นของซูโครส โดยมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงสุดที่ซูโครสระดับความเข้มข้น 25%

คำนำ

เรณูและหลอดเรณูมีบทบาทและหน้าที่ที่สำคัญคือเป็นตัวทำหน้าที่สร้าง และถ่ายทอดเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้ (Crocomo, 1986; Heslop-Harrison, 1973; Iwanami et al., 1988) เรณูจะมีอาหารสะสมอยู่ภายในเพื่อนำไปช่วยในกระบวนการงอก พืชชั้นต่ำมีสารคาร์โบไฮเดรตสะสมอยู่ในเรณูปริมาณต่ำ ในขณะที่พืชชั้นสูง เช่น ในเรณูของต้น *Pinus sthunbergii* และ *Typha latifolia* จะมีอาหารประเภทแป้งสะสมอยู่ 2.6% และ 13% ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ (Vasil, 1987) เรณูพืชหลายชนิดสามารถงอกได้ดีในสารละลายน้ำตาล น้ำตาลซูโครสจะเป็นแหล่งที่ง่ายที่สุดของสารประกอบคาร์บอน และพลังงาน อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำตาลราฟิโนส แลคโตส เดกซ์โตรส ก็มีบทบาทส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของเรณู โดยทั่วไปแล้วน้ำตาลซูโครส ราฟิโนส แลคโตส เดกซ์โตรส แรมโนส และแกแลคโตสจะช่วยส่งเสริมการงอกของเรณู ในขณะที่น้ำตาลฟรุคโตส แมนโนส และแมนนิทอลกลับมีผลน้อยมาก สาร polyethylene glycol (PEG-400) จะมีบทบาทส่งเสริมการทำงานของซูโครส ในกระบวนการงอกของเรณูจากต้น *Petunia hybrida* มีการศึกษาพบว่าน้ำตาลแกแลคโตส ราฟิโนส เดกซ์โตรส และ แลคโตส มีบทบาทส่งเสริมการงอกของเรณูได้ดีเช่นเดียวกับน้ำตาลซูโครส ที่น่าสนใจคือปกติแล้วจะไม่พบน้ำตาลแลคโตสในพืช ในทางกลับกันน้ำตาลฟรุคโตสซึ่งปรากฏอยู่ทั่วไปในพืชกลับไม่มีผลต่อกระบวนการงอก การที่น้ำตาลซูโครสมีบทบาทมากกว่านั้นเนื่องจากมี B,D-fructofuranose อยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลซูโครส และเรณูจะใช้ซูโครสโดยเฉพาะ B,D-fructofuranose ในกระบวนการหายใจ นอกจากนี้ยังพบว่าในเรณูยังมีเอนไซม์ B-fructofuranosidase สมมุติฐานนี้ได้รับการ

สนับสนุนเนื่องจากทั้งน้ำตาลราฟิโนสและน้ำตาลสแตคคิโอสสามารถชักนำให้หลอดเรณูมีการเติบโตยาวขึ้นและน้ำตาลทั้งสองชนิดนี้มีองค์ประกอบของ B,D-fructofuranose

นอกเหนือจากปัจจัยเรื่องน้ำตาลแล้วยังพบว่าการงอกของเรณู และหลอดเรณูจะถูกยับยั้งเมื่อได้รับแสงความเข้มสูง (Vasil, 1987) โดยทั่วไปแล้วเรณูพืชสามารถทนต่อระดับความเข้มแสงที่ทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืชได้ ในข้าวโพดพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอก และความยาวของหลอดเรณูจะมีความสัมพันธ์โดยตรงกับความเข้มแสง การศึกษาการปรับปรุงพันธุ์พริกพบว่าการผสมเกสรของพริกจะได้ดีในสภาพท้องฟ้าครึ้ม ซึ่งในสภาพดังกล่าวพบว่ามีปริมาณความเข้มของแสงต่ำ การทดลองนี้มีจุดประสงค์ที่จะศึกษาถึงอิทธิพลของแสงและซูโครสที่มีต่อการงอกของเรณูพริกบางเลนพันธุ์เล็ก และพริกชี้ฟ้าบางเลน

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บตัวอย่างเรณูพริกบางเลนพันธุ์เล็กและพริกชี้ฟ้าบางเลนในช่วงเวลา 9.30 น. จำนวน 100 ดอก โดยเก็บเรณูจากดอกบานที่อับเรณูเริ่มแตกและที่อับเรณูยังไม่แตกบรรจุลงในซองกระดาษขนาดเล็ก แล้วนำไปทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกในห้องปฏิบัติการโดยวิธี hanging drop technique ในอาหารสังเคราะห์ซึ่งประกอบด้วย 100 ppm H_3BO_3 , 300 ppm $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, 200 ppm $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ และ 100 ppm KNO_3 (Brewbaker and Kwack, 1963) โดยการแบ่งการทดลองออกเป็นสองชุด ชุดแรกปรับระดับความเข้มข้นของสารละลายซูโครสในสูตรอาหารดังกล่าวเป็น 25% (นน./ปริมาตร) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ทริทเมนต์ ทริทเมนต์แรกได้แก่เรณูจากอับเรณูที่แตกโคนแสงแล้วนำมาเลี้ยงอาหารในสภาพที่มีแสง cool light ความเข้ม $100 \mu mol/m^2/s$ ทริทเมนต์ที่

สองได้แก่เรณูจากอับเรณูที่ยังไม่แตก นำมาเลี้ยงในอาหารในสภาพที่มีแสง cool light ซึ่งมีความเข้มแสง $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ทริทเมนต์ที่สามได้แก่เรณูจากอับเรณูที่แตกโดนแสงแล้วนำมาเลี้ยงอาหารในสภาพที่มีมืด และทริทเมนต์ที่สี่ได้แก่เรณูจากอับเรณูที่ยังไม่แตกแล้วนำมาเลี้ยงในอาหารในสภาพที่มีมืด ส่วนการทดลองชุดที่สองนั้นเตรียมอาหารตามวิธีการข้างต้นแล้วเติมซูโครสเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 และ 40% (นน./ ปริมาตร) ปรับความเป็นกรด-ด่างของอาหารทั้งสองชุดการทดลองให้อยู่ระหว่าง 5.7–5.8 สูตรละ 20 มล. เก็บไว้ใน petridish แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น เคาเรณูจากอับเรณูที่เก็บมาจากแปลงตัวอย่างลงในอาหารแต่ละสูตร สูตรละ 5 อับเรณูลงใน petridish ใช้แท่งแก้วคนเพื่อให้เรณูกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ จากนั้นจึงใช้ dropper ใสอาหารดังกล่าวไปหยดบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วนำสไลด์ไปวางคว่ำบนสไลด์หลุม ปิดขอบแผ่นกระจกด้วยน้ำยาทาเล็บจากนั้นจึงนำตัวอย่างมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตรวจสอบผลการทดลองโดยนับเปอร์เซ็นต์ความงอกของเรณูทุกๆหนึ่งชั่วโมงระหว่างเวลา 11.00–15.00 น. อุณหภูมิห้องระหว่างการทดลองอยู่ในช่วง $30\text{--}32^\circ\text{C}$

ผลและวิจารณ์

การทดลองศึกษาอิทธิพลของแสงที่มีต่อการงอกของเรณูพริกบางเลนพันธุ์เล็กสามารถสรุปได้ดัง Table 1

ผลการทดลองปรากฏว่าเรณูจากอับเรณูที่แตกโดนแสงและจากอับเรณูที่ไม่แตก แล้วนำมาเลี้ยงอาหารในสภาพที่มีแสง cool light ความเข้มแสง $100 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ มีความงอก 0.22 และ 0.49% ตามลำดับ ส่วนความงอกของเรณูจากอับเรณูที่แตกโดนแสงแล้วนำมาเลี้ยงอาหารในสภาพที่มีมืดมีความงอก 2.87% ในขณะที่เรณูจากอับเรณูที่ยังไม่แตกแล้วนำมาเลี้ยงในอาหารในที่มีมืดมีความงอกถึง 7.71% จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนพบว่าทั้งสี่ทริทเมนต์มีความแตกต่างทางสถิติอย่าง

มีนัยสำคัญยิ่ง ($P < 0.001$) นอกจากนี้ยังพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเรณูในทริทเมนต์หนึ่งและสองยังมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับทริทเมนต์ที่สามและสี่ ($P < 0.001$) จากการศึกษาเปรียบเทียบชนิดพันธุ์พบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเรณูพริกบางเลนพันธุ์เล็กและพริกชี้ฟ้าบางเขนทั้งในที่มืดและที่มีแสงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.001$)

Figure 1 เป็นผลการทดลองศึกษาอิทธิพลของแสงต่อการงอกของเรณูพบว่าเปอร์เซ็นต์ความงอกของเรณูพริกชี้ฟ้าบางเขนเพิ่มขึ้นเมื่อซูโครสมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ความงอกของเรณูเกิดได้ดีที่สุดเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารที่มีซูโครสความเข้มข้น 25% ซึ่งที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวเรณูมีความงอก 13.43% ที่ระดับความเข้มข้นของซูโครสต่ำเรณูไม่สามารถเจริญและพัฒนาต่อไปได้เพียงแต่มีตุ่มยื่นออกมาตรงช่องเปิด (aperture) บางเรณูมีการงอกของหลอดเรณูออกมาแล้วตามด้วยการแตกของหลอดเรณู (bursting)

ผลการทดลองพบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความงอกของเรณูพริกก่อนข้างต่ำ ซึ่งปัญหาที่สำคัญในการเลี้ยงเรณูพริกได้แก่ลักษณะความไม่สม่ำเสมอของเรณู สาเหตุหนึ่งจากการเก็บรวบรวมเรณูจากดอกหลายๆดอกและจากหลายๆอับเรณูในดอกเดียวกัน ความไม่สม่ำเสมอดังกล่าว

Table 1 Inhibitory effects of light on germination percentage of *Capsicum annuum* cv. Prik Chee Pha Bangkhen pollen collected from dehiscent and non-dehiscent anthers.

Source of pollen	Germination (%)
1. Dehiscent anthers + Light	0.22 a ¹
2. Non-dehiscent anthers + Light	0.49 a
3. Dehiscent anthers + Dark	2.87 b
4. Non-dehiscent anthers + Dark	7.71 c

1 Values followed by the same letter are not significantly different by LSD ($P < 0.001$).

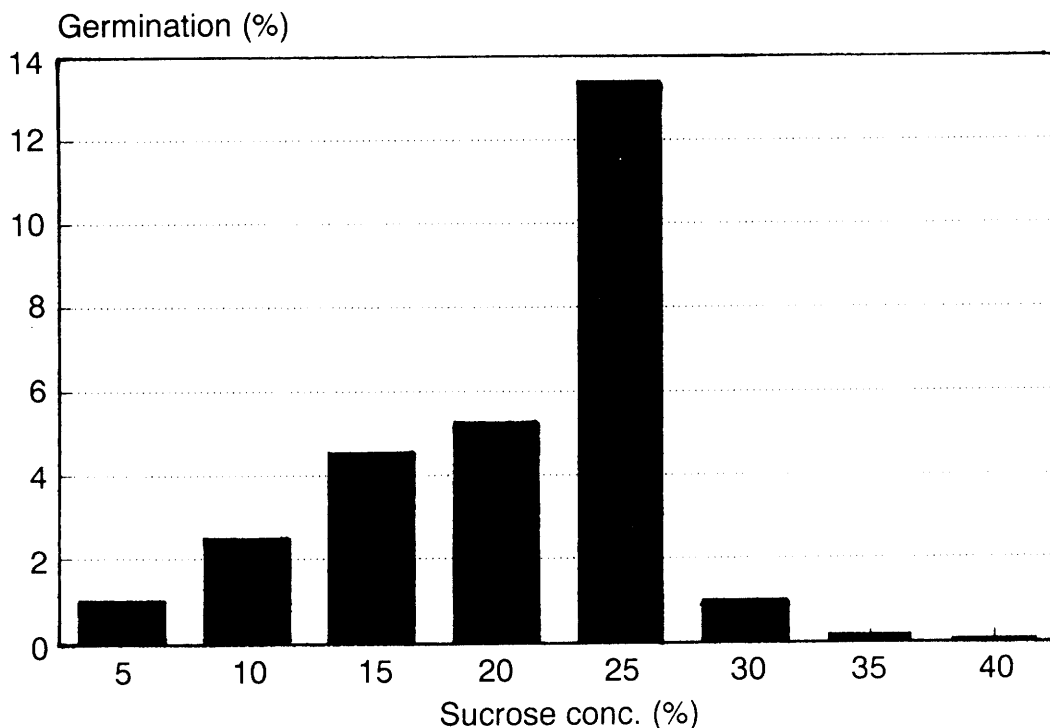


Figure 1 Histogram illustrates the germination percentage of pollen of *Capsicum annuum* cv. Prik Chee Pha Bangkhen cultured in media containing 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 and 40% sucrose.

มีผลถึงความแปรปรวนต่อความงอกของเรณูเป็นอย่างมาก ความหนาแน่นของเรณูในอาหารเลี้ยงก็มีผลต่อความงอกและการเติบโตของเรณู (Vasil, 1987) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องผสมเรณูเข้าด้วยกันก่อนนำมาเลี้ยง และ ให้เรณูมีการกระจายตัวในอาหารเลี้ยงอย่างสม่ำเสมอ สำหรับในพริกนั้นยังไม่ได้มีการศึกษาถึงปัจจัยดังกล่าว และแม้ว่าความแปรปรวนของเรณูยังมีสาเหตุมาจากลักษณะทางพันธุกรรมแต่จากการศึกษาไม่พบความแตกต่างในพริกบางเลนพันธุ์เล็กและพริกชี้ฟ้าบางเขน

บทบาทของน้ำตาลซูโครสในกระบวนการงอกของเรณูนั้นมีอยู่ 2 ประการ คือทำหน้าที่ควบคุมสมดุลของน้ำภายในและภายนอกเรณูและเป็นอาหารของเรณู มีงานทดลองแสดงให้เห็นถึงบทบาทของน้ำตาลซูโครสทั้งในแง่ของการควบคุมสมดุลออสโมติกและเป็นแหล่งของพลังงานของเรณู ซึ่งมีหลักฐานที่แสดงให้เห็นถึงบทบาททั้งทางตรงและทางอ้อมของน้ำตาลที่มีต่อการเจริญเติบโตของเรณู เช่นเรณู *Hippeastrum*

aulicum สามารถสร้างหลอดเรณูที่ยาวถึง 17-22 มม. เมื่อนำมาเลี้ยงในน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 1% แต่เมื่อนำมาเลี้ยงในน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0.25-0.50% หลอดเรณูจะยาวเพียง 7-8 มม. งานทดลองแสดงให้เห็นถึงการใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตของหลอดเรณู โดยการทดลองใช้ ^{14}C ที่เป็นองค์ประกอบในน้ำตาลซูโครส ฟรุคโตส และกลูโคส พบว่า 36, 66 และ 72% ของ $^{14}\text{CO}_2$ มาจากกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ตามลำดับ การทดลองในพริกชี้ฟ้าบางเขนก็แสดงให้เห็นถึงบทบาทของซูโครสในการควบคุมการเจริญเติบโตของเรณู ซึ่งพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของซูโครส 25% เรณูมีความงอกถึง 13.43% ในขณะที่ซูโครสความเข้มข้น 5% เรณูมีความงอกเพียง 1% เท่านั้น

ลักษณะการแตกของหลอดเรณูเป็นสิ่งปกติที่จะพบได้ในการศึกษาการงอกและการเจริญเติบโตของเรณู สาเหตุเกิดมาจากความไม่สมดุลของแรงดันออสโมติกเนื่องจากเรณูมีการดูดน้ำเข้าไปหรือสูญเสียน้ำมากเกินไป

ลักษณะการแตกของหลอดเรณูจะสามารถควบคุมได้โดยการเปลี่ยนความเข้มข้นของสาร osmoticum เช่น โดยการเปลี่ยนความเข้มข้นของน้ำตาล หรือโดยการเติมโบรอนลงไปตัวอย่างเช่นการแตกของหลอดเรณูแดงโม (Curcumismelo) ที่เลี้ยงในสารละลายซูโครสจะลดลงและหยุดลงได้เมื่อเพิ่มค่าแรงดันออสโมติกโดยการเติมน้ำตาลแมนนิทอลลงไป สมดุลระหว่างแรงดันออสโมติกของอาหารและเรณูจะนำไปสู่กระบวนการงอกและเจริญเติบโตที่สมบูรณ์ของเรณู การทดลองในพริกชี้ฟ้าก็พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของซูโครสต่ำหรือสูงกว่า 25% การแตกของหลอดเรณูจะเพิ่มขึ้นนอกเหนือจากอิทธิพลของแสงซึ่งจะไปมีอิทธิพลต่อ cytoplasmic streaming โครงสร้างและการสังเคราะห์เซลล์เมมเบรนของหลอดเรณู (Vasil, 1987) ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิในอาหารเลี้ยง (Kyo and Harada, 1986; Savithri and Ganapathy, 1980)

สรุป

แสงมีอิทธิพลยับยั้งการงอกของเรณูพริกบางเลนพันธุ์เล็กในขณะที่ความมืดสามารถส่งเสริมการงอกของเรณูให้เกิดได้ดีขึ้น เมื่อเลี้ยงไว้ในที่มีแสงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเรณูจากอับเรณูที่แตกและเรณูจากอับเรณูที่ไม่แตกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และเปอร์เซ็นต์ความงอกจะเกิดได้สูงสุดเมื่อนำเรณูจากอับเรณูที่ยังไม่แตกและไม่โดนแสงมาก่อนมาเลี้ยงในอาหารในที่มืด ในพริกชี้ฟ้าบางเขนเปอร์เซ็นต์ความงอกของเรณูจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของซูโครส โดยมีเปอร์เซ็นต์

ความงอกสูงสุดเมื่อมีซูโครสความเข้มข้น 25%

เอกสารอ้างอิง

- Brewbaker, J. and B. Kwack. 1963. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. Amer. J. of Botany. 50(9):859-865.
- Crocomo, O.J., W.R. Sharp, D.A. Evans, J.E. Bravo, F.C.A. Tavares and E.F. Paddock. 1986. Biotechnology of plants and microorganisms. Ohio State University Press, 473 pp.
- Heslop-Harrison, J. 1973. Pollen: Development and Physiology. London, Butterworth & Co. Ltd., 337 pp.
- Iwanami, Y., T. Sasakuma, and Y. Yamada. 1988. Pollen. Tokyo, Kodansha Co., 198 pp.
- Kyo, M. and H. Harada. 1986. Control of the developmental pathway of tobacco pollen *in vitro*. Planta 168:427-432.
- Savithri, K. and P. Ganapathy. 1980. Sensitivity to low temperature in pollen germination and fruit-set in *Acer arietinum* L. J. of Exp. Bot. 31:475-481.
- Vasil, I.K. 1987. Physiology and Culture of Pollen, pp. 127-217. In G.H. Bourne, K. Jeon and M. Friedlander (eds). Pollen : Cytology and Development. Academic Press, Inc., London.