

Received: August 21, 2024; Revised: December 6, 2024; Accepted: March 26, 2025

การประเมินความมีชีวิตและวิธีการเก็บรักษาละอองเกสรมะเขือเทศเพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ Assessment viability and storage method for tomato pollen for seed production

ศุภลักษณ์ สัตยสมิตสถิต^{1*} และเปรมจิต ถิ่นคำ²
Supalak Sattayasamitsathit^{1*} and Premjit Thinkum²

¹ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก จังหวัดพิษณุโลก

¹Phitsanulok Seed Research and Development Center, Phitsanulok Province

²ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

²Khonkaen Seed Research and Development Center, Khonkaen Province

*Corresponding Author E-mail Address : supalakus@yahoo.com

บทคัดย่อ

มะเขือเทศเป็นพืชผักทางเศรษฐกิจที่สำคัญ ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ใหม่ ๆ และการผลิตเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศลูกผสม ต้องใช้ละอองเกสรที่มีคุณภาพ จำเป็นต้องผ่านกระบวนการตรวจสอบคุณภาพของละอองเกสรเริ่มต้นก่อนนำไปผสม โดยงานวิจัยนี้ทำการศึกษาสีย้อมที่เหมาะสมเพื่อประเมินความมีชีวิตของละอองเกสรมะเขือเทศแบบรวดเร็วและประเมินความงอกของละอองเกสรด้วยการหาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่อการชักนำให้เกิดการงอก และศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเก็บรักษาละอองเกสรมะเขือเทศเพื่อยืดอายุละอองเกสร โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ พบว่า สีย้อมที่เหมาะสมต่อการทดสอบความมีชีวิตที่แยกความแตกต่างระหว่างละอองที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตของละอองเกสรมะเขือเทศ คือ สีย้อมซีโตคามิน 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถย้อมติดละอองเกสรได้ดีที่ระยะเวลาการย้อมเพียง 10 นาที สูตรสารละลายน้ำตาลที่เหมาะสม คือ สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ โดยละอองเกสรมะเขือเทศมีการงอกสูงสุดเท่ากับ 67.50 เปอร์เซ็นต์ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาละอองเกสรได้นานถึง 30 วัน โดยละอองเกสรมะเขือเทศยังคงมีชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ และละอองเกสรมีการงอก 22.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำละอองเกสรที่เก็บรักษาไปทดสอบการติดผลและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ พบว่า มะเขือเทศมีการติดผล 42.27 เปอร์เซ็นต์ ให้น้ำหนักผลสดเฉลี่ย 26.50 กรัมต่อผล และน้ำหนักเมล็ดเฉลี่ย 0.09 กรัมต่อผล เมล็ดมีความงอกสูง 99 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นวิธีการเก็บรักษาละอองที่ได้ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์หรือการผลิตเมล็ดพันธุ์ต่อไป

คำสำคัญ: มะเขือเทศ การเก็บรักษาละอองเกสร เมล็ดพันธุ์ลูกผสม

Abstract

Tomato is an important economic vegetable crop. In the breeding process to develop new varieties and in the production of hybrid tomato seeds, high-quality pollen must be used. It is essential for the pollen to undergo an initial quality assessment prior to pollination. This study investigated a suitable dye for rapid assessment of tomato pollen viability, evaluated pollen germination by determining the optimal sucrose concentration to induce germination, and examined appropriate storage temperatures to extend pollen longevity. The experiment was conducted using a Completely Randomized Design (CRD) with four

treatments and five replications. The results showed that 1% Acetocarmine was the most effective dye for distinguishing between viable and non-viable tomato pollen, with clear staining achieved in just 10 minutes. The optimal sucrose solution for inducing pollen germination was found to be 20%, resulting in the highest germination rate of 67.50%. Pollen stored at -20°C remained viable for up to 30 days, retaining 100% viability and a germination rate of 22.5%. When this stored pollen was used for pollination, the resulting fruit set was 42.27%, with an average fresh fruit weight of 26.50 grams per fruit and an average seed weight of 0.09 g/fruit. The seeds had a high germination rate of 99%. Therefore, the developed pollen preservation method can be effectively applied to tomato breeding programs and hybrid seed production in the future.

Keywords: Tomato, Pollen storage, Hybrid seed

บทนำ

มะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*) เป็นพืชผักทางเศรษฐกิจที่สำคัญ มีพื้นที่การเพาะปลูกทั่วโลกในปี พ.ศ. 2565 ประมาณ 32 ล้านไร่ มีผลผลิตมากกว่า 186 ล้านตัน (FAOSTAT, 2023) สำหรับประเทศไทยมีการบริโภคมะเขือเทศกันอย่างแพร่หลายทั้งในรูปแบบการบริโภคสดและผลิตภัณฑ์แปรรูป เช่น น้ำมะเขือเทศ ซอสมะเขือเทศ เป็นต้น การผลิตมะเขือเทศสำหรับโรงงานอุตสาหกรรมเป็นการผลิตที่มีพื้นที่มากที่สุด ประมาณ 39,000 ไร่ และผลผลิตรวมประมาณ 139,760 ตัน (Office of Agricultural Economics, 2023) นอกจากการผลิตเพื่อบริโภคสดและอุตสาหกรรมแล้ว การผลิตเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ก็มีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูงเช่นกัน โดยมีมูลค่าการส่งออกเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศในปี พ.ศ. 2566 มีมูลค่าสูงถึง 1,457 ล้านบาท (Bureau of plant and agricultural materials control, 2023) โดยเมล็ดพันธุ์ที่ส่งออกส่วนใหญ่จะเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสมที่มีหลากหลายสายพันธุ์ตามความต้องการของตลาด ในกระบวนการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ตามความต้องการมีขั้นตอนค่อนข้างยุ่งยากซึ่งหนึ่งในขั้นตอนที่สำคัญคือเรื่องการผสมพันธุ์พืชให้ได้พันธุ์ใหม่ ๆ ปัจจุบันที่เข้ามาเกี่ยวข้องคือการใช้ละอองเกสรของสายพันธุ์พ่อซึ่งมีทั้งการนำเข้าจากต่างประเทศและผลิตเองภายในบริษัท การใช้ละอองเกสรที่มีคุณภาพจึงเป็นจุดเริ่มต้นของกระบวนการต่าง ๆ สำหรับการปรับปรุงพันธุ์พืชและการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชลูกผสมที่มีคุณภาพ ละอองเกสรที่มีคุณภาพจำเป็นต้องผ่านกระบวนการตรวจสอบคุณภาพ ตั้งแต่ขั้นตอนการคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ เพื่อการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมทั้งปริมาณและความมีชีวิตของละอองเกสร เริ่มต้นก่อนนำไปผสม คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของละอองเกสรนี้หลังจากที่ถูกปล่อยจากอับละอองเกสรจะแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์พืช และคุณภาพของละอองเกสรจะถูกประเมินจากควมมีชีวิตซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพและความแข็งแรงของละอองเกสร เพื่อที่จะรักษาควมมีชีวิตและความสามารถในการปฏิสนธิของละอองเกสรที่ยาวนาน การตรวจสอบทางสรีรวิทยาและชีวเคมีเกี่ยวกับการงอกและการเจริญของหลอดละอองเกสรจึงค่อนข้างยาก ดังนั้นเทคนิคการตรวจสอบควมมีชีวิตและการงอกในหลอดทดลองจึงถูกนำมาใช้ในการประเมินคุณภาพละอองเกสรหลากหลายชนิดพืชอย่างกว้างขวาง นอกจากนี้การเก็บรักษาละอองเกสรเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ การอนุรักษ์พันธุกรรม และการผสมเกสรเทียมของไม้ดอก การเข้ากันไม่ได้ของคู่ผสม หรือดอกที่ตัวผู้เป็นหมัน การเก็บละอองเกสรเป็นระยะเวลานานโดยไม่สูญเสียควมมีชีวิต มีความสามารถในการงอกและปฏิสนธิจะแตกต่างกันอย่างมากขึ้นอยู่กับสายพันธุ์พืชและสภาพการจัดเก็บ (Dafni & Firmage, 2000) ละอองเกสรของพืชจำพวกหญ้า เช่น ข้าว ข้าวสาลี และข้าวโพดมีอายุสั้นมากโดยมีอายุเพียงไม่กี่นาทิจนถึงไม่กี่ชั่วโมง (Luna et al., 2001) เมื่อเปรียบเทียบกับแล้ว ละอองเกสรของกกจะมีอายุยืนยาวสูงสุดประมาณ 120 วันที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เมื่ออยู่ในบรรยากาศที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 40 เปอร์เซ็นต์ (van Bilsen & Hoekstra, 1993) สาเหตุหลักประการหนึ่งที่ทำให้ละอองเกสรมีอายุยืนยาวแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิดนั้นเกิดจากความแตกต่างในความทนทานต่อความชื้นที่ต่ำของละอองเกสร (Desiccation tolerance) โดยทั่วไปแล้วละอองเกสรของพืชวงศ์ Gramineae จะไม่สามารถอยู่รอดจากอากาศที่แห้งได้ และมีความอ่อนไหวต่อความเสียหายที่เกิดจากการลดความชื้น อย่างไรก็ตามละอองเกสรส่วนใหญ่โดยเฉพาะละอองเกสร Bicellular pollen รวมทั้งละอองเกสรมะเขือเทศจะทนต่อความแห้ง และสามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่สูญเสียควมมีชีวิตภายใต้สภาวะความชื้นต่ำ (Hanna & Towill, 1995) ละอองเกสรของมะเขือเทศที่เก็บไว้ในสภาวะสัมผัสกับอากาศสูญเสียความสามารถในการงอกไปครึ่งหนึ่งภายใน 2 วัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และภายใน 5 วัน ที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส (Abdul-Baki, 1992) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาเทคนิค

การตรวจสอบความมีชีวิตด้วยการย้อมสีและสูตรอาหารที่เหมาะสมในการงอกของละอองเกสรมะเขือเทศพันธุ์ ศก.19 และวิธีการเก็บรักษาเพื่อยืดอายุของละอองเกสร

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

1. การเตรียมพืชที่ใช้ในการทดลอง

เตรียมมะเขือเทศพันธุ์ ศก.19 เพื่อผลิตละอองเกสร โดยทำการปลูกมะเขือเทศในกระถางขนาด 12 นิ้ว เริ่มจากการเพาะกล้าและย้ายปลูกเมื่อต้นกล้าอายุ 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นดูแลรักษาให้น้ำ ใส่ปุ๋ยอย่างสม่ำเสมอ หลังจากพืชเริ่มออกดอก สุ่มเก็บดอกตูม เลือกดอกที่จะบานในวันถัดไปเก็บไว้ในถุงซิปล็อค และเก็บละอองเกสรในตอนเช้า

2. ศึกษาวิธีการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรโดยการย้อมสี

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ประกอบด้วย 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ได้แก่ กรรมวิธีที่ 1 ย้อมละอองเกสรด้วยแอนีลีนบลู (Aniline blue) 2 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 2 ย้อมละอองเกสรด้วยอะซิโตคาร์มิน (Acetocarmine) 1 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 3 ย้อมละอองเกสรด้วยเอ็มทีที (3-(4, 5-dimethylthiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide) 0.5 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 4 ย้อมละอองเกสรด้วยกรดฟุสซิน (Acid fuchsin) 1 เปอร์เซ็นต์

โดยเขียนละอองเกสรของมะเขือเทศวางบนแผ่นกระจกสไลด์ แล้วหยดด้วยสารละลายสีตามกรรมวิธีทดสอบ จำนวน 2 หยด ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์นำแผ่นกระจกสไลด์ไปวางในจานแก้วที่มีกระดาษทิชชูเปียกน้ำชุ่มพอประมาณ แล้วปิดฝาจานแก้ว และนำไปเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แต่ละซ้ำนับละอองเกสรทั้งหมด 200 ละอองเกสร เมื่อครบกำหนดนำมาตรวจนับความมีชีวิตของละอองเกสรโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 10 เท่า ละอองเกสรที่มีชีวิตจะติดสี ส่วนละอองเกสรที่ไม่มีชีวิตจะไม่ติดสี

3. ศึกษาวิธีการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรด้วยการทดสอบการงอก

ทดสอบความงอกโดยเขียนละอองเกสรลงในสไลด์หลุมและหยดสารละลายน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ โดยในสารละลายน้ำตาลจะมีองค์ประกอบของกรดบอริก 0.01 กรัม แคลเซียมไนเตรด 0.03 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.02 กรัม โพแทสเซียมไนเตรด 0.01 กรัม (Brewbaker & Kwack, 1963) จากนั้นนำไปวางในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แต่ละซ้ำนับละอองเกสรทั้งหมด 200 ละอองเกสร โดยละอองเกสรที่มีชีวิตจะมีความยาวของหลอดละอองเกสรมากกว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของละอองเกสร คำนวณความงอกของละอองเกสรจากสมการความงอก (เปอร์เซ็นต์) = (จำนวนละอองเกสรงอก × 100)/จำนวนละอองเกสรทั้งหมด

4. ศึกษาวิธีการเก็บรักษาละอองเกสรมะเขือเทศ

เตรียมมะเขือเทศเพื่อผลิตละอองเกสรโดยดำเนินการในช่วงเดือนพฤศจิกายน – มกราคม โดยปลูกในถาดเพาะแล้วย้ายปลูกเมื่อต้นกล้าอายุ 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นดูแลรักษาให้น้ำ ใส่ปุ๋ยอย่างสม่ำเสมอ หลังจากพืชเริ่มออกดอก สุ่มเก็บดอกตูม เลือกดอกที่จะบานในวันถัดไปเก็บไว้ในถุงซิปล็อค ทำการเก็บละอองเกสรในตอนเช้าและนำไปบรรจุลงในหลอด Plastic cryopreservation vial ขนาด 1.8 มิลลิลิตร นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง ทำการสุ่มตัวอย่างละอองเกสรทุก 10 วัน มาตรวจสอบความมีชีวิตด้วยการทดสอบความมีชีวิตด้วยการย้อมสี และทดสอบการงอกจนครบ 30 วัน โดยก่อนการตรวจสอบนำตัวอย่างละอองเกสรมาบ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

5. การทดสอบการผสมเกสรมะเขือเทศหลังการเก็บรักษาละอองเกสรเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์

ทำการเลือกดอกที่พร้อมจะผสม และกำจัดเกสรตัวผู้ที่อยู่ภายในดอกตัวเมียออกก่อนโดยใช้ปากคิบนขนาดเล็กดึงเกสรตัวผู้ ออกให้หมดเพื่อป้องกันการเกิดการปนเปื้อนของละอองเกสร เมื่อทำการตอนดอกแล้วทำความสะอาดปากคิบ โดยใช้แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ ทำความสะอาดทุกครั้งก่อนที่จะเริ่มทำดอกต่อไป เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของละอองเกสร เช่นกัน นำละอองเกสรที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 วัน มาแต่ละลงบนปลายยอดเกสรตัวเมียที่ เตรียมไว้ในปริมาณที่มากพอ หลังจากนั้นปิดดอกไว้ตามเดิม หลังจากการผสมเกสรเรียบร้อยแล้ว เขียนป้ายระบุรายละเอียด ได้แก่ วันผสม ชื่อผู้ผสม และอื่น ๆ ที่จำเป็น ดูแลรักษาให้น้ำ ใส่ปุ๋ย กำจัดวัชพืชตลอดการปลูก หลังจากมะเขือเทศสุกแดง เต็มที่ทำการนับการติดผล และเก็บผลนำมาผ่าตามขวางและบีบเมล็ดออกจากผล นำไปล้างให้สะอาดจากนั้นนำเมล็ดมาผึ่งให้ แห้ง นำเมล็ดไปตรวจสอบคุณภาพด้านความงอก ความแข็งแรง

6. การตรวจสอบความงอกแบบเพาะเมล็ดบนกระดาษ (Top of paper)

เตรียมวัสดุเพาะโดยตัดกระดาษเพาะขนาดกว้าง 4 นิ้ว x ยาว 4 นิ้ว จำนวน 6 แผ่น มีจำนวนช่องการเพาะเมล็ดพันธุ์ 100 เมล็ด นำกระดาษที่เตรียมไว้ใส่กล่องพลาสติกขนาดเล็กและเติมน้ำกลั่นใส่กล่อง 12 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้กระดาษอิ่มตัวด้วย น้ำประมาณ 15 นาที ใช้ปากคิบนเมล็ดพันธุ์วางบนกระดาษ โดยวางช่องละ 1 เมล็ด จำนวน 100 ช่อง ทำทั้งหมด 4 ซ้ำ จากนั้น ปิดฝาให้สนิทเพื่อป้องกันการสูญเสียความชื้น นำไปเพาะในตู้เพาะที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนด นำตัวอย่างออกจาก ห้องเพาะเพื่อประเมินความงอกครั้งแรกที่ 5 วันและครั้งสุดท้ายที่ 14 วัน หลังการเพาะ ทำการประเมินของต้นอ่อนปกติ ต้นอ่อนผิดปกติ เมล็ดแข็ง เมล็ดสดไม่งอก และเมล็ดตาย นำข้อมูลมาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอก (ISTA, 2023)

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Statistics 26

ผลการวิจัย และการอภิปรายผล

1. การตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรโดยการย้อมสี

จากการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรมะเขือเทศ ละอองเกสรที่มีชีวิตจะย้อมติดสีแดงหรือชมพู เมื่อย้อมด้วย อะซิโดคาร์มิน กรดฟอสฟิโน ละอองเกสรที่มีชีวิตจะย้อมติดสีน้ำเงินเข้มเมื่อย้อมด้วยแอนนีลีนบลู และเอมที่ที ละอองเกสรที่ไม่มี ชีวิตจะไม่พบการติดสี (Figure 1) สีย้อมที่เหมาะสมต่อการทดสอบความมีชีวิตของละอองเกสรมะเขือเทศ พันธุ์ ศก. 19 ได้แก่ Acetocarmine 1 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ค่าความมีชีวิตสูงสุด 93.25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ระยะเวลาในการย้อม 10 นาที แต่การใช้สีย้อมเอมที่ที ให้ค่าความมีชีวิต 91 เปอร์เซ็นต์ แต่ใช้เวลาในการย้อม 30 นาที ส่วนสีย้อมกรดฟอสฟิโน 1 เปอร์เซ็นต์ และ แอนนีลีนบลู 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถย้อมติดละอองเกสรได้ดีเช่นเดียวกัน โดยให้ค่าความมีชีวิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ มีค่าเท่ากับ 89.12 และ 88.50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการย้อม 10 นาที ตามลำดับ (Table 1) เนื่องจากการย้อมสีละออง เกสรเพื่อดูความมีชีวิตเป็นวิธีการที่ง่ายและรวดเร็ว แต่อย่างไรก็ตามวิธีการย้อมสีอาจจะไม่เหมาะสมกับพืชทุกชนิด ซึ่งการใช้ วิธีการย้อมสีเพื่อดูความแตกต่างของละอองเกสรที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตนั้นขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ความเข้มข้นของสีย้อม ความหนาของผนังละอองเกสร และค่าพีเอชของสารละลายย้อมสี การย้อมสีโปรโตพลาสซึมและสีของละอองเกสรที่มีชีวิตจาก สีแดงเป็นสีแดงเข้มขึ้นอยู่กับชนิดของละอองเกสร ความเข้มข้นของสีย้อม และค่า pH ของสีย้อม (Impe et al., 2020) ความเข้มข้นของสีย้อมบางชนิด เช่น สี Aniline blue หากใช้ความเข้มข้นสูงจะทำให้ผนังของละอองเกสรมีรอยเปื้อนทำให้ แยกความแตกต่างระหว่างละอองที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตได้ยากและเมื่อความเข้มข้นลดลง โปรโตพลาสซึมจะติดสีย้อมจากไป นอกจากนี้ยังพบว่าความต่างนั้นขึ้นอยู่กับค่าพีเอชของส่วนผสมของสีย้อม เช่นในสีย้อม Acetocarmine ที่ต้องละลายด้วย กรดอะซิติก ส่วนผสมของสีย้อมมีค่าพีเอชเท่ากับ 3.2 ซึ่งที่ค่าพีเอชนี้จะเห็นเฉพาะสีเขียวของผนังเกสรเท่านั้น เมื่อลดค่าพีเอ ชลงเหลือ 2.8-2.4 โปรโตพลาสซึมของละอองเกสรที่มีผนังบางจะถูกย้อมด้วยสีแดง ซึ่งสามารถมองเห็นได้ผ่าน ผนังละอองเกสร ในกรณีของละอองเกสรที่มีผนังหนาหรือมีหนามหรือทั้งสองอย่างสามารถสร้างความแตกต่างที่ดีได้

โดยการลดค่าพีเอชลงอีกเป็น 2.3 โดยการเติมกรดอะซิติกโปรโตพลาสซึมจะถูกย่อยและเกิดสีแดงเข้มขึ้น การสัมผัสกับกรดแก่ทำให้ผนังละอองเกสรจับตัวกันอย่างรวดเร็ว จากสารละลายที่เป็นของเหลวที่มีฟีนอล แอลกอฮอล์ กลีเซอรอล และคลอโรลไฮเดรต น้ำและแอลกอฮอล์จะระเหยออกไปโดยที่ส่วนประกอบที่ไม่ระเหยไว้ การซีลฝาปิดจึงอาจจะไม่มีความจำเป็นแต่อย่างไรก็ตามอาจจะต้องมีการซีลเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดฟองอากาศได้สไลด์

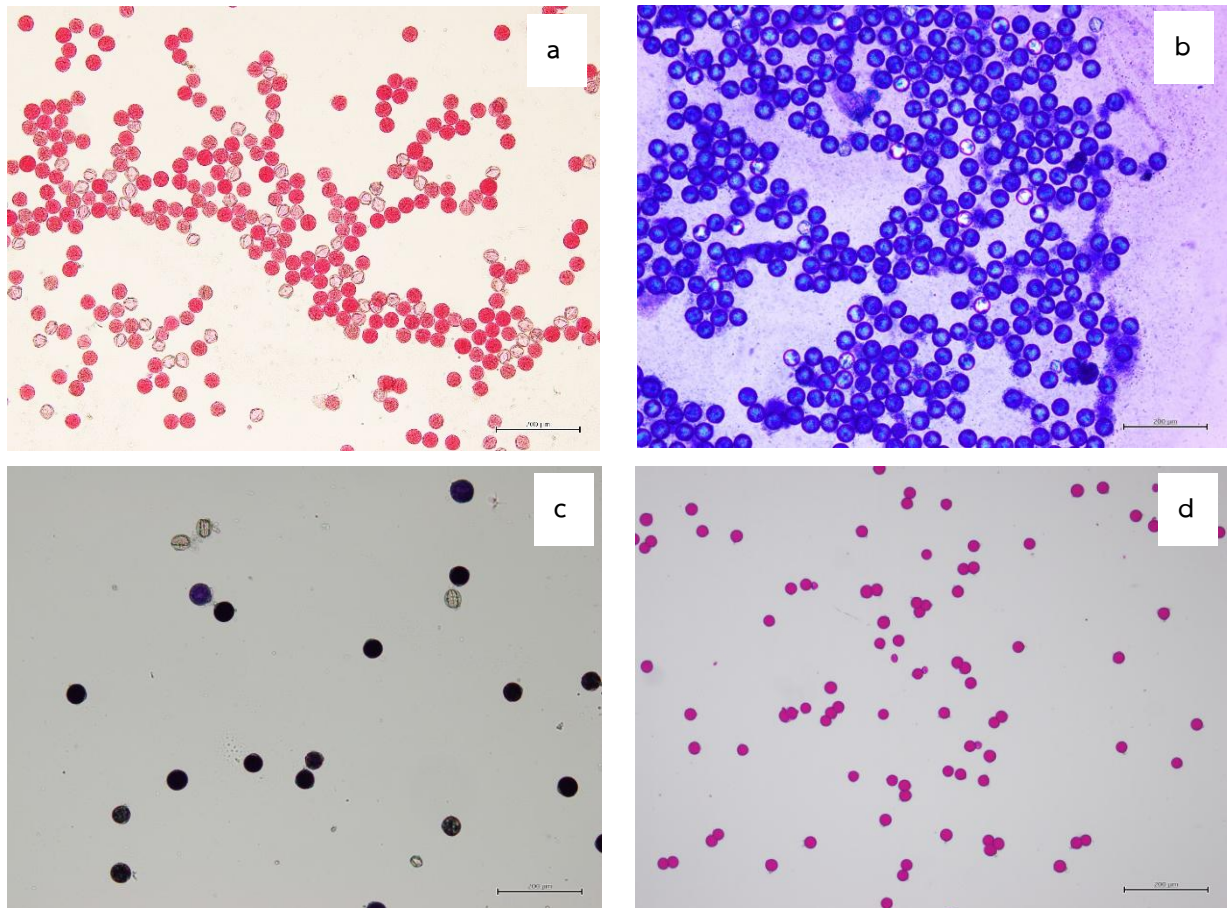


Figure 1 Staining of tomato pollen by different dyes stained with 1% Acetocarmine (a), 2% Aniline blue, 0.5% MTT (c), and 1% Acid fuchsin (d) under a microscope at 10x magnification.

Table 1 Percentage of pollen germination of tomato variety SK19 by staining with different dyes and incubation time

Incubation Time (Min) /dyes	Percentage of pollen germination ¹			
	2% Aniline blue	1% Acetocarmine	0.5% MTT	1% Acid fuchsin
10	88.50±1.22	93.25±1.19a	59.12±3.04a	89.12±2.78
20	90.87±1.18	87.25±1.32c	70.37±2.17b	90.12±1.93
30	87.87±3.97	76.37±3.79b	91.00±0.82d	90.00±2.55
45	90.62±0.85	72.38±1.70a	89.87±1.18d	90.75±2.38
60	90.12±1.70	76.75±2.60b	80.12±3.49c	91.75±0.64
F-test	ns	*	*	ns
CV (%)	16.09	10.15	2.49	2.37

¹ In the same column, means followed by different letters are significantly different at the 95% confidence level by DMRT

* = significant at the 0.05 probability levels

ns = not significantly

2. วิธีการตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรด้วยการทดสอบการงอก

จากการศึกษาการงอกของละอองเกสรมะเขือเทศ โดยใช้สารละลายน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ละอองเกสรสามารถงอกในสารละลายน้ำตาลซูโครสทุกความเข้มข้น เปอร์เซ็นต์การงอกจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น โดยละอองเกสรมะเขือเทศมีการงอกสูงสุดเท่ากับ 67.50 เปอร์เซ็นต์ ที่น้ำตาลซูโครสเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมน้ำตาลซูโครส พบว่า ละอองเกสรไม่งอก (Table 2) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าน้ำตาลมีผลต่อการงอกของละอองเกสรเป็นอย่างดี ทั้งนี้มีรายงานว่าซูโครสมีผลต่อการงอกของละอองเกสร 2 ประการได้แก่ ควบคุมแรงดันออสโมติกและเป็นแหล่งพลังงาน ซูโครสเป็นน้ำตาลที่สามารถเคลื่อนย้ายไปยังเนื้อเยื่อที่ไม่สังเคราะห์แสง เช่น ดอก และถูกขับออกทางเกสรตัวเมียและช่องสไตลาร์เพื่อเพิ่มความชื้นให้ละอองเกสรและช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของท่อละอองเกสร เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ Cell wall invertase เป็นตัวควบคุมการงอกและการยืดยาวของละอองเกสรโดยผ่านการย่อยซูโครสที่เป็นแหล่งพลังงานให้เซลล์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Karapanos et al. (2006) พบว่า สารที่สามารถชักนำการงอกของละอองเกสรมะเขือเทศได้ดีได้แก่ น้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์ (w/v) PEG-6000 15.1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) และวุ้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่มีการเติมเควอซิติน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และไมริเซติน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ทั้งนี้หากน้ำตาลมีความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้ละอองเกสรมีอัตราการงอกต่ำเนื่องจากค่าความดันออสโมติก ทำให้เกิดแรงดันเพิ่มขึ้นส่งผลให้ละอองเกสรแตกหรือบิดเบี้ยวจนไม่สามารถงอกได้ อย่างไรก็ตาม Brewbaker & Kwack (1963) ได้รายงานว่าความเข้มข้นของสารละลายที่เหมาะสมในอาหารสังเคราะห์ที่เลี้ยงละอองเกสรนั้นอาจมีความแตกต่างกันตามชนิดพืชและสายพันธุ์ ความแตกต่างในปริมาณโพสเฟอรัสที่ละลายน้ำได้และปริมาณกรดอะมิโนของละอองเกสร ซึ่งส่งผลต่อลักษณะการสังเคราะห์โปรตีนและออสโมติก (Vasil, 1987) นอกจากนี้ยังมีการบอริคเป็นสารสำคัญต่อการงอกของหลอดละอองเกสร (Pollen tube) เพราะกรดบอริคมีโบรอนเป็นสารประกอบที่จำเป็นต่อการสร้างสารเพคตินซึ่งเป็นองค์ประกอบของผนังละอองเกสรและเยื่อหุ้มหลอดละอองเกสร

Table 2 Effect of sucrose concentration on pollen germination in tomato variety SK19

Sucrose concentration (%)	Pollen germination (%) ¹
0 (Control)	0.25±0.50a
5	1.75±0.80a
10	16.00±2.72ab
15	22.88±6.41b
20	67.50±23.00c
F-test	*
CV (%)	123.1

¹In the same column, means followed by different letters are significantly different at the 95% confidence level by DMRT

* = significant at the 0.05 probability levels

ns = not significantly

3. วิธีการเก็บรักษาละอองเกสรมะเขือเทศ

จากการศึกษาการเก็บรักษาละอองเกสรที่อุณหภูมิ 4 และ -20 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 30 วัน พบว่า ละอองเกสรยังคงมีชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องความมีชีวิตของละอองเกสรลดลงอย่างรวดเร็วเหลือเพียง 35 เปอร์เซ็นต์ ที่ 10 วันของการเก็บรักษา แต่เมื่อทดสอบความงอกพบว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ละอองเกสรมีความงอกสูงสุดที่ระยะเวลา 10 วัน โดยละอองเกสรมีความงอกเท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์ และลดลงตามลำดับเมื่อเก็บที่ระยะเวลานานขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า ละอองเกสรมีชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการเก็บ 30 วัน แต่ละอองเกสรกลับไม่งอก (Table 3) ถึงแม้ว่าละอองเกสรจะมีชีวิต อาจเป็นไปได้ว่าละอองเกสรเหล่านั้นยังคงมีระดับขององค์ประกอบทางเคมีภายในเรณุนั้นสูงมากพอที่จะสามารถทำให้ติดสีย้อม (Beyhan & Serdar, 2008) แต่ก็ไม่สามารถงอกออกมาได้ อาจเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสไม่เหมาะสม ความชื้นสัมพัทธ์ในที่สูงเกินไปกระบวนการทางชีวเคมีภายในเซลล์ยังมีการเมตาบอลิซึมมีผลต่ออัตราการหายใจและการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนรวมถึงเอนไซม์ Pectate lyase-like (PLL) ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการงอกของละอองเกสรสูญเสียกิจกรรม (Song et al., 2002) แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดสอบ พบว่า ความงอกไม่มีความสอดคล้องกับความมีชีวิตของละอองเกสรเมื่อเก็บรักษาตามกรรมวิธีทดลอง อาจเกิดเนื่องจากกระบวนการงอกของละอองเกสรมีความซับซ้อนและมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องมากมาย มีรายงานว่ากระบวนการงอกของละอองเกสรที่ลดลงในช่วงเวลาที่เก็บรักษานั้นเกี่ยวข้องกับกิจกรรมเอนไซม์ลดลง การสะสมน้ำมันที่ผนังเซลล์ของละอองเกสรเปลี่ยนแปลง และขบวนการเมตาบอลิซึมของสารที่เกี่ยวข้องกับการงอกของละอองเกสรเปลี่ยนแปลงไป ส่วนอุณหภูมิและความชื้นก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อความงอกของละอองเกสรพืช มีรายงานว่าละอองเกสรเมื่อเก็บรักษาที่มีความงอกสูงสุดที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส (Karapanos et al., 2006) แต่ละอองเกสรจะยืดอายุได้ดีหากมีอุณหภูมิระหว่าง 22-25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่สูงกว่า 25 องศาเซลเซียส ทำให้ความยาวท่อละอองเกสรลดลงและอัตราการแตกของละอองเกสรเพิ่มขึ้น จากรายงานของ Buitink and Leprince (2004) พบว่า การเก็บรักษาของละอองเกสรภายใต้สภาวะที่แห้งหรือความชื้นต่ำมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดสถานะคล้ายแก้ว (Glassy state) (ความหนืดสูงและมีความสมดุลกึ่งหนึ่งระหว่างของแข็งของเหลว) ในไซโตพลาซึม ความหนืดสูงภายในเซลล์จะเป็นการลดการเคลื่อนที่ของโมเลกุลและขัดขวางการแพร่กระจายภายในไซโทพลาซึม จึงทำให้การเสื่อมสภาพของละอองเกสรระหว่างการเก็บรักษาช้าลง นอกจากนี้การเก็บรักษาที่นานขึ้น การเสื่อมสภาพของละอองเกสรภายในเซลล์จะเพิ่มขึ้นเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ลดลง เช่น เอนไซม์ไซโตโครมออกซิเดส เกิดการสะสมอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และการเกิดดีเอสเทอร์ิฟิเคชันและเปอร์ออกซิเดชันของลิพิดเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้ส่วนประกอบของเซลล์ร้าวไหลมากขึ้นเมื่อมีการดูดน้ำกลับเข้าไปใหม่การร้าวไหลของของเหลว (Taylor & Hepler, 1997) ความเสียหายของเยื่อหุ้มละอองเกสรที่เกิดจากความแก่ไม่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีน (Wolkers & Hoekstra, 1995) นอกจากนี้ปัญหาคืออีกประการหนึ่งของละอองเกสรที่งอกต่ำ คือลักษณะความไม่สม่ำเสมอของละอองเกสร สาเหตุเนื่องจากการเก็บรวบรวมละอองเกสรจากดอกหลาย ๆ ดอก และจากหลาย ๆ อับเรณูในดอกเดียวกัน ความไม่สม่ำเสมอดังกล่าวมีผลถึงความแปรปรวนต่อความงอกของละอองเกสรเป็นอย่างมาก ความหนาแน่นของละอองเกสรในอาหารเลี้ยงก็มีผลต่อความงอกและการเติบโตของละอองเกสร (Vasil, 1987) ดังนั้นจึงอาจจะมีการผสมเกสรเข้าด้วยกันก่อนนำมาเพาะเลี้ยง และให้ละอองเกสรมีการกระจายตัวในตัวอาหารเลี้ยงอย่างสม่ำเสมอ ในกรณีที่สำคัญของการเจริญของหลอดละอองเกสรในอาหารซึ่งมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบหลัก คือหยุดการเจริญในระยะเวลา 1-12 ชั่วโมง และจะมีแบคทีเรียและเชื้อราปนเปื้อนแต่สามารถเดิมาปฏิบัติชะงักในอาหารเพื่อป้องกันการปนเปื้อนได้รวมถึงการเก็บตัวอย่างดอกและเกสรจะต้องใช้เทคนิคลดการปนเปื้อน เช่น ทำความสะอาดพื้นผิวของดอกหรือการดูดความชื้นในสภาวะปลอดเชื้อ เป็นต้น

Table 3 Viability and germination of pollen in tomato variety SK19 at various storage temperature

Temperature storage	Viability (%)				Germination (%)			
	0 day	10 day	20 day	30 day	0 day	10 day	20 day	30 day
4°C	100	100a	100a	100a	87.5	0a	0a	0a
-20°C	100	100a	100a	100a	87.5	75b	45b	22.5b
Ambient	100	35b	0b	0b	87.5	0a	0a	0a
F-test	ns	*	*	*	ns	*	*	*

¹ In the same column, means followed by different letters are significantly different at the 95% confidence level by DMRT

* = significant at the 0.05 probability levels

ns = not significantly

4. การทดสอบการผสมเกสรมะเขือเทศหลังการเก็บรักษาละอองเกสรเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์

จากการเปรียบเทียบการผสมละอองเกสรระหว่างการผสมตัวเองโดยธรรมชาติ (Self-pollination) และการผสมด้วยมือจากละอองเกสรที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน ด้วยวิธี T-test พบว่า มะเขือเทศมีผลที่สมบูรณ์ไม่แตกต่างกัน (Figure 2) เมื่อนำมาคำนวณการติดผลจากจำนวนดอกที่ได้รับการผสม พบว่า การผสมเกสรทั้ง 2 วิธีให้เปอร์เซ็นต์การติดผลแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยการผสมตัวเองโดยธรรมชาติ (Self-pollination) ให้การติดผลสูงกว่าการผสมด้วยมือจากละอองเกสรที่เก็บรักษา โดยมีการติดผลเท่ากับ 98.40 เปอร์เซ็นต์ และ 42.27 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับน้ำหนักผลสดเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยวิธีผสมตัวเองโดยธรรมชาติ (Self-pollination) ให้น้ำหนักผลสดเฉลี่ยต่ำกว่าการผสมด้วยมือจากละอองเกสรที่เก็บรักษา โดยให้น้ำหนักผลสดเฉลี่ยเท่ากับ 17.50 กรัมต่อผล และ 26.50 กรัมต่อผล ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากขนาดผลมีความแตกต่างกันโดยผลมะเขือเทศที่ได้จากการผสมด้วยมือจากละอองเกสรที่เก็บรักษามีขนาดผลที่ใหญ่กว่า รวมทั้งน้ำหนักเมล็ดเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ และความงอกของเมล็ดไม่แตกต่างกันทางสถิติโดยเมล็ดมีความงอกระหว่าง 95-98 เปอร์เซ็นต์ (Table 4) ในการนำละอองเกสรที่เก็บรักษาไปผสมมีการติดผลน้อยกว่าการผสมตัวเอง เนื่องจากมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายปัจจัย เช่น ความชื้น อุณหภูมิ แสงและระดับไนโตรเจน มีรายงานว่าความชื้นจะมีผลต่อการผสมเกสรโดยตรง โดยความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์ จะมีประสิทธิภาพสูงสุดในการผสมเกสร โดยสภาวะที่ความชื้นที่สูงละอองเกสรมีแนวโน้มที่จะคงอยู่ในอับเรณู ในขณะที่ในความชื้นที่ต่ำกว่าละอองเกสรอาจไม่เกาะติดกับพื้นผิวเกสรตัวเมีย โดยความชื้นที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วงระหว่าง 50-90 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยเรื่องโครงสร้างของดอกโดยตำแหน่งเกสรตัวผู้ปกติจะอยู่ภายในโคน (Cone) ของเกสรตัวผู้ แต่ถ้ายื่นออกมาเกินโคนของเกสรตัวผู้ การติดผลจะลดลง

ดังนั้นจากผลการทดลองการเก็บรักษาละอองเกสรที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จึงมีความเหมาะสมต่อการนำละอองไปใช้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมและการปรับปรุงพันธุ์เพื่อพัฒนาพันธุ์ใหม่ได้ต่อไปอีกด้วย



Figure 2 Characteristics of tomato variety SK 19 after self-pollination (a) and hand pollination from pollen stored at -20 °C for 30 days (b).

Table 4 Fruit set percentage and seed quality of tomato variety SK 19 after self-pollination and hand pollination after pollen stored at -20 °C for 30 days.

Pollination	Fruit set (%)	Fresh fruit weight (gram/fruit)	Seed weight (gram/fruit)	Seed germination (%)
Self-pollination	98.40 ± 0.89	17.50 ± 1.58	0.076 ± 0.008	95 ± 0.83
Hand pollination after pollen stored at -20 °C for 30 days	42.27 ± 0.66	26.50 ± 1.22	0.091 ± 0.004	99 ± 1.00

บทสรุป

สีย้อมที่เหมาะสมต่อการทดสอบความมีชีวิตที่แยกความแตกต่างระหว่างละอองที่มีชีวิตและไม่มีชีวิตละอองเกสรละอองเกสรมะเขือเทศ ได้แก่ Acetocarmine 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถย้อมติดละอองเกสรได้ดีที่ระยะเวลาการย้อมเพียง 10 นาที สำหรับสูตรสารละลายน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการชักนำการงอกของเกสรมะเขือเทศ ได้แก่ น้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ บอริก 0.01 กรัม แคลเซียมไนเตรด 0.03 กรัม แมกนีเซียมซัลเฟต 0.02 กรัม และ โพแทสเซียมไนเตรด 0.01 กรัม การเก็บรักษาละอองเกสรมะเขือเทศที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้นาน 30 วัน โดยละอองเกสรยังสามารถนำไปผสมและมีการติดผลมะเขือเทศและเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศพันธุ์ ศก.19 ที่ได้มีความงอกสูงสุด 99 เปอร์เซ็นต์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก กรมวิชาการเกษตร ที่ให้ความช่วยเหลือสนับสนุนทำให้การวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Abdul-Baki, A. (1992). Determination of pollen viability in tomatoes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 117(3), 473-476. <https://doi.org/10.21273/JASHS.117.3.473>
- Brewbaker, J. L., & Kwack, B. H. (1963). The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. *American Journal of Botany*, 50(9), 859-865. <https://doi.org/10.2307/2439772>
- Beyhan, N., & Serdar, U. (2008). Assessment of pollen viability and germinability in some European chestnut genotypes (*Castanea sativa* L.). *Horticultural Science*, 35(4), 171-178. <https://doi.org/10.17221/23/2008-hortsci>
- Buitink, J., & Leprince, O. (2004). Glass formation in plant anhydrobiotes: survival in the dry state. *Cryobiology*, 48(3), 215-228. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2004.02.011>
- Bureau of plant and agricultural materials control. (2023). Seed export form Thailand in 2023. <https://www.doa.go.th/ard/wp-content/uploads/2024/06/export-2566.pdf> (In Thai)
- Dafni, A., & Firmage, D. (2000). Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. *Plant Systematics and Evolution*, 222, 113-132. <https://doi.org/10.1007/BF00984098>
- FAOSTAT. (2023, August 11). Food and agriculture organization of the united nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.

- Hanna, W. W., & Towill, L. E. (1995). Long-term pollen storage. *Plant Breeding Reviews*, 13, 179-207.
<https://doi.org/10.1002/9780470650059.ch5>
- Impe, D., Reitz, J., Köpnick, C., Rolletschek, H., Börner, A., Senula, A., & Nagel, M. (2020). Assessment of pollen viability for wheat. *Frontiers in Plant Science*, 10, 1588.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01588>
- ISTA (International Seed Testing Association). (2023). *International rules for seed testing*. Bassersdorf, Switzerland. 300p.
- Karapanos, I. C., Fasseas, K., Olympios, C., & Passam, H. C. (2006). Factors affecting the efficacy of agar-based substrates for the study of tomato pollen germination. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 81(4), 631-638. <https://doi.org/10.1080/14620316.2006.11512116>
- Office of Agricultural Economics. (2023). Tomato: area production and yield In Thailand 2023.
<http://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/> (In Thai)
- Luna, S. V., Fugueroa, J. M., Baltazar, B. M., Gomez, R. L., Townsend, R., & Schoper J. B. (2001). Maize pollen longevity and distance isolation for effective pollen control. *Crop Science*, 41(5), 1551-1557. <https://doi.org/10.2135/cropsci2001.4151551x>
- Song J., & Shoji, T. (2007). Loss of viability of tomato pollen during long-term dry storage is associated with reduced capacity for translating polyamine biosynthetic enzyme genes after rehydration. *Journal of Experimental Botany*, 58(15-16), 4235-4244. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm280>.
- Taylor L. P., & Hepler, P. K. (1997). Pollen germination and tube growth. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 48, 461-491.
<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.48.1.461>
- van Bilsen, D. G. J. L., & Hoekstra, F. A. (1993). Decreased membrane integrity in aging *Typha latifolia* L. pollen (accumulation of lysolipids and free fatty acids). *Plant Physiology*, 101(2), 675-682.
<https://doi.org/10.1104/pp.101.2.675>.
- Vasil, I. K. (1987). Physiology and culture of pollen. *International Review of Cytology*, 107, 127-174.
[https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(08\)61075-X](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61075-X)
- Wolkers, W. F., & Hoekstra, F. A. (1995). Aging of dry desiccation tolerant pollen does not affect protein secondary structure. *Plant Physiology*, 109, 907-915. <https://doi.org/10.1104/pp.109.3.907>