

ผลของอายุเมล็ดข้าวต่อการเร่งการงอกด้วยการเพาะเลี้ยงเมล็ด

Effects of Rice Seed Ages on Rapid Germination

Using Seed Culture Technique

เสาวลักษณ์ อัคราช, ธาณี ศรีวงศ์ชัย* และประภา ศรีพิจิตร

ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน

แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

Saovaluck Uckarach, Tanee Sreewongchai* and Prapa Sripichitt

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok Campus,

Ladyao, Chatuchak, Bangkok, 10900

บทคัดย่อ

การเพาะเลี้ยงเมล็ดเป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจระยะเวลาการปลูกข้าวให้สั้นลง การสร้างคัพภะที่สมบูรณ์ของข้าวใช้เวลาประมาณ 7 วัน หลังการผสมเกสร จากนั้นเป็นกระบวนการสร้างเอ็นโดสเปิร์มและจะเริ่มเข้าสู่ระยะพักตัวประมาณ 15 วัน หลังการผสมเกสร การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการเร่งการงอกของเมล็ดข้าวด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเมล็ดคัพภะ โดยการนำเมล็ดข้าวอายุ 8-14 วัน หลังการผสมเกสร มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับพีเอช 5.8 พบว่าอายุเมล็ดที่เหมาะสมที่สุดคือ 9-11 วัน หลังการผสมเกสร มีอัตรางอก 81.08-86.05 เปอร์เซ็นต์ และสามารถย้ายออกปลูกลงในดินนาได้เมื่อต้นกล้าข้าวอายุ 14 วัน จากวิธีการข้างต้นทำให้สามารถร่นระยะเวลาในการงอกของเมล็ดข้าวได้ประมาณ 18-19 วัน เมื่อเทียบกับวิธีการปลูกโดยเมล็ด

คำสำคัญ : การเร่งการงอก; การเพาะเลี้ยงเมล็ด; การพักตัวของเมล็ดข้าว; เมล็ด; เอ็นโดสเปิร์ม

Abstract

Seed culture can be used for speed up the life cycle of rice plant. Development of complete embryo formation in rice needs about 7 days after pollination (DAP). After that, endosperm was developed and seed dormancy occurred at 15 DAP. This study aimed to accelerate germination of young embryos using embryo culture technique. The embryos at 8 to 15 DAP were cultured on ½ MS medium at pH 5.8. The result showed that the embryos at the ages of 9 to 11 DAP had the highest germination rate of 81.08 to 86.05 %. The 14 DAP seedlings could be transplanted into paddy soil. This method could accelerate rice seed germination about 18-19 days earlier than normal seed planting.

Keywords: rapid germination; seed culture; rice seed dormancy; seed; endosperm

1. คำนำ

เมล็ดข้าวประกอบด้วยส่วนของคัพภะและเอ็นโดสเปิร์ม ในกระบวนการสร้างคัพภะจะใช้เวลาประมาณ 7 วัน หลังการผสมเกสร คัพภะจึงสมบูรณ์ ซึ่งจะอยู่ในระยะน้ำนม (milk stage) หลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะแป้งนึ่ง (dough grain stage) แล้วเริ่มพัฒนาเป็นแป้งแข็ง (hard dough) ระยะนี้เป็นกระบวนการสร้างเอ็นโดสเปิร์ม ซึ่งเอ็นโดสเปิร์มเป็นเนื้อเยื่อที่ทำหน้าที่เป็นแหล่งอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของคัพภะ อาหารที่สะสมไว้นั้นเป็นอาหารประเภทแป้ง โปรตีนและไขมัน จากนั้นเมล็ดจะเข้าสู่ระยะสุกแก่ (mature) (Gaur *et al.*, 2011)

โดยทั่วไปคัพภะของข้าวจะเริ่มเข้าสู่ระยะพักตัวภายหลังการผสมเกสรประมาณ 15 วัน และถึงระยะเก็บเกี่ยวประมาณ 30 วัน หลังการผสมเกสร เมล็ดจะมีระยะพักตัวยาวนาน 0-2 เดือน ซึ่งจะขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว (Baskin and Baskin, 1998; Koornneef *et al.*, 2002) ดังนั้นในการเพาะปลูกข้าวในฤดูกาลถัดไปจึงจำเป็นต้องทำลายระยะพักตัวของเมล็ดก่อน เพื่อให้น้ำสามารถซึมผ่านเอ็นโดสเปิร์มแล้วไปกระตุ้นให้คัพภะเจริญเป็นต้นอ่อนได้ โดยการลดความชื้นด้วยวิธีการตากแดดจัดเป็นเวลา 7-10 วัน หรือใช้วิธีการอบด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน (Bewley and Black, 1994; Bewley, 1997) รวมทั้งสิ้นใช้เวลาประมาณ 40-47 วัน จึงจะสามารถเพาะปลูกในฤดูกาลถัดไปได้ ถ้าหากมีวิธีการที่สามารถลดขั้นตอนในการทำลายระยะพักตัวของเมล็ดได้นั้น จะสามารถทำให้งานด้านปรับปรุงพันธุ์ข้าวใช้ระยะเวลาที่สั้นลง งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอายุของเมล็ดที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ เพื่อร่นระยะเวลาของการปลูกข้าวในฤดูกาลต่อไปของการปรับปรุงพันธุ์ข้าว

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดลอง

ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 เป็นข้าวเจ้าหอมไม่ไวต่อช่วงแสง ลำต้นสูงประมาณ 104-133 เซนติเมตร อายุเก็บเกี่ยวประมาณ 104-126 วัน มีระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 3-4 สัปดาห์ ผลผลิต 650-774 กิโลกรัมต่อไร่ (กรมการข้าว, 2559) โดยปลูกข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ลงในกระถาง กระถางละ 3 ต้น จำนวน 5 กระถาง ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 และ 15-15-15 เมื่อข้าวอายุ 30 และ 45 วันตามลำดับ

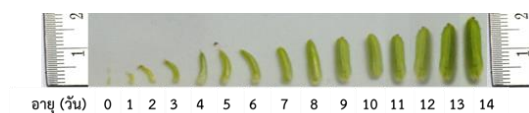
2.2 การเตรียมเมล็ดหลังการผสมเกสร

เมื่อต้นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่อยู่ในระยะดอกบาน (flowering stage) ก่อนดอกบาน 1 วัน ใช้กรรไกรตัดกลีบดอกทิ้งไปประมาณ 1 ใน 3 ของดอก แล้วคลุมช่อดอกด้วยถุงกระดาษไข เพื่อผลิตเมล็ด จากนั้นเก็บเมล็ดที่อายุ 8-14 วัน หลังการผสมเกสร

2.3 การเร่งการงอกโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเมล็ด

นำเมล็ดที่อายุ 8-14 วัน หลังการผสมเกสร (รูปที่ 1) แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกแล้วล้างทำความสะอาดสิ่งสกปรกที่อาจติดมากับเมล็ดด้วยน้ำไหลจากก๊อกน้ำประปาเป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำเมล็ดที่ได้บรรจุลงในตะแกรงลวด จุ่มลงในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ พร้อมเขย่าเบา ๆ นาน 5 นาที เพื่อขจัดคราบไขมันบนผิวเมล็ด ฟอกฆ่าเชื้ออีกครั้งด้วยสารละลายคลอโรกซ์ 20 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม tween® 20 ประมาณ 2 หยด เพื่อลดความตึงผิว แช่ทิ้งไว้ 20 นาที พร้อมเขย่าเบา ๆ เป็นระยะ หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งแรงดันไอน้ำ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที พร้อมเขย่าเบา ๆ แล้วซับให้แห้งด้วยกระดาษกรอง จากนั้นวางเมล็ดที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อแล้วลงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ความเข้มข้น 50

เปอร์เซ็นต์ หรือ ½ MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ระดับ pH 5.8 จำนวน 1 เมล็ดต่อขวด แล้วปิดฝาให้สนิท พันท์บรอตระหว่างฝากับขวดด้วยแผ่นพาราฟิล์มอีก 1 รอบ บรรจุขวดลงในกล่องกระดาษทึบแสงเพื่อกระตุ้นการงอก เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน บันทึกจำนวนเมล็ดที่งอกในอาหารแต่ละสูตรแต่ละสูตร โดยนับเฉพาะต้นที่ปกติและสมบูรณ์ (รูปที่ 2) และนับจำนวนต้นที่รอดชีวิตหลังเพาะเลี้ยง 14 วัน (รูปที่ 3) หลังจากนั้นนำขวดที่ต้นกล้างอกและมีความยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ออกจากกล่องทึบแสงวางในตู้ควบคุมอุณหภูมิ ให้ได้รับแสงตามปกติเพื่อให้ต้นกล้างอกมีสีเขียวและสามารถสังเคราะห์แสงเองได้



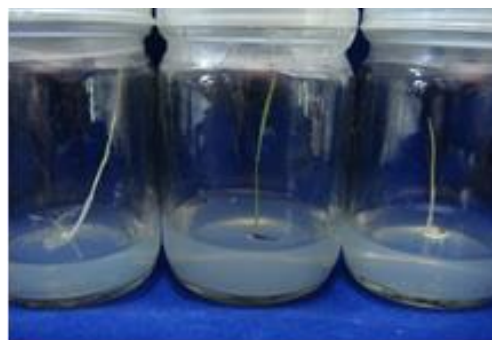
รูปที่ 1 เมล็ดข้าวที่เกิดจากการผสมตัวเองอายุ ตั้งแต่ 0 ถึง 14 วัน หลังการผสมเกสร



(ก)

(ข)

รูปที่ 2 ต้นกล้าอายุ 7 วัน ที่เกิดจากเพาะเลี้ยงเมล็ดโดยใช้อาหารสูตร ½ MS โดย (ก) ต้นกล้าผุดปกติจากเมล็ดอายุ 8 วัน หลังการผสมเกสร และ (ข) ต้นกล้าสมบูรณ์จากเมล็ดอายุ 10 วัน หลังการผสมเกสร



รูปที่ 3 ต้นกล้าอายุ 14 วัน ที่เกิดจากเพาะเลี้ยงเมล็ดโดยใช้อาหารสูตร ½ MS

2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design จำนวน 4 ซ้ำ โดยแบ่งเมล็ดที่เริ่มต้นที่ได้ออกเป็น 4 ส่วน บันทึกจำนวนเมล็ดที่งอก หลังเพาะเลี้ยง 7 วัน จำนวนต้นที่รอดชีวิตหลังเพาะเลี้ยง 14 วัน แล้วนำมาคำนวณการงอกของเมล็ด (%) และการรอดชีวิตของต้นกล้า (%) แล้ววิเคราะห์ค่าความแปรปรวนและความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test

4. ผลการวิจัย

การเพาะเลี้ยงเมล็ดที่มีอายุ 8, 9, 10, 11, 12, 13 และ 14 วัน หลังการผสมเกสร บนอาหารสังเคราะห์สูตร ½ MS ตรวจนับจำนวนเมล็ดที่งอกหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7 วัน พบว่ามีอัตราการงอกของเมล็ดเท่ากับ 77.78, 81.08, 83.33, 86.05, 71.43, 68.42 และ 55.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1) โดยเมล็ดที่มีอายุ 11 วัน มีจำนวนเมล็ดที่งอกสูงสุดเท่ากับ 37 เมล็ด หรือ 86.05 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดที่มีอายุ 14 วัน มีจำนวนเมล็ดที่งอกต่ำที่สุดเท่ากับ 22 เมล็ด หรือ 55.0 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาจำนวนต้นที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตพบที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเมล็ดที่มีอายุ 11

และ 13 วัน มีจำนวนต้นที่รอดชีวิตมากที่สุดเท่ากับ 37 และ 26 ต้น มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100.00 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดที่มีอายุ 8 วัน 12

วัน และ 14 วัน มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตต่ำที่สุดเท่ากับ 89.29, 90.00 และ 90.91 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 เปอร์เซนต์การงอกและเปอร์เซนต์การรอดชีวิตของต้นกล้า จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดที่อายุ 8 ถึง 14 วัน หลังการผสมเกสรด้วยอาหารสูตร ½ MS

อายุเมล็ด (วัน)	จำนวนที่เพาะเลี้ยง (เมล็ด)	จำนวนที่งอก (เมล็ด)	การงอก (%)	จำนวนที่รอดชีวิต (ต้น)	การรอดชีวิต (%)
8	36	28 ^{bcd}	77.78 ^{bc}	25 ^{cd}	89.29 ^b
9	37	30 ^{abc}	81.08 ^{ab}	28 ^{bc}	93.33 ^{ab}
10	42	35 ^{ab}	83.33 ^{ab}	33 ^{ab}	94.29 ^{ab}
11	43	37 ^a	86.05 ^a	37 ^a	100.00 ^a
12	42	30 ^{abc}	71.43 ^{cd}	27 ^{bcd}	90.00 ^b
13	38	26 ^{cd}	68.42 ^d	26 ^{bcd}	100.00 ^a
14	40	22 ^d	55.00 ^e	20 ^d	90.91 ^b
F-test	-	**	**	**	**
CV (%)	7.55	10.10	4.01	10.71	3.19

^{abc}เปรียบเทียบแต่ละในสัปดาห์อักษรที่ต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ โดยวิธี DMRT; ns = ไม่แตกต่างกันทางสถิติ; ** = มีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

5. วิจัยรณ

การเพาะเลี้ยงเมล็ดข้าวอายุ 8-14 วัน หลังการผสมเกสรด้วยอาหารสูตร ½ MS สามารถช่วยเร่งเวลาสำหรับการเพาะปลูกในฤดูกาลถัดไปได้ เนื่องจากอายุเมล็ดที่นำมาเพาะเลี้ยงนั้นมีกระบวนการสร้างคัพภะที่เสร็จสมบูรณ์แล้ว เมล็ดดังกล่าวจึงมีความพร้อมที่จะงอกเป็นต้นได้และไม่มีความจำเป็นที่จะต้องรอให้เมล็ดสร้างเอ็นโดสเปิร์มจนเสร็จสิ้นกระบวนการ เมล็ดที่อายุ 8, 9, 10 และ 11 วัน หลังการผสมเกสร เนื่องจากกระบวนการสร้างเอ็นโดสเปิร์มยังอยู่ในระยะแรก ๆ ทำให้เอ็นโดสเปิร์มซึ่งมีแบง์เป็นองค์ประกอบหลักยังมีความนิ่ม (Gaur *et al.*, 2011) เมื่อนำเมล็ดที่อายุดังกล่าวมา

เพาะเลี้ยง น้ำและสารอาหารจึงสามารถซึมผ่านเนื้อเยื่อชั้นต่าง ๆ และไปกระตุ้นให้คัพภะงอกเป็นต้นได้ง่าย และเปอร์เซนต์การงอกเริ่มลดลงเมื่อเมล็ดมีอายุ 12 วัน หลังการผสมเกสรและจะลดลงเรื่อย ๆ เมื่อเมล็ดมีอายุมากขึ้น เมล็ดที่อายุ 14 วัน หลังการผสมเกสร มีเปอร์เซนต์การงอกต่ำสุดเพียง 55.00 เปอร์เซนต์ เท่านั้น (ตารางที่ 1) เนื่องจากแบง์ที่เป็นองค์ประกอบหลักในเอ็นโดสเปิร์มเริ่มแข็งตัวและเริ่มเข้าสู่ระยะพักตัว (Gaur *et al.*, 2011) เมื่อนำเมล็ดที่อายุดังกล่าวมาเพาะเลี้ยง น้ำและสารอาหารจึงซึมผ่านเนื้อเยื่อชั้นต่าง ๆ และไปกระตุ้นให้คัพภะงอกเป็นต้นได้ลดลง ซึ่งวิธีการนำเมล็ดมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร ½ MS นี้ จึงเป็น

การตัดช่วงการพัฒนาของเอนโดสเปิร์มในเมล็ดและการพักตัวของเมล็ดข้าว ซึ่งตลอดระยะเวลาตั้งแต่ดอกข้าวเริ่มบานจนถึงสามารถย้ายต้นกล้าที่เพาะเลี้ยงในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลงปลูกในดินนั้นใช้เวลารวมทั้งสิ้นประมาณ 22-28 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการปกติตั้งแต่ดอกข้าวเริ่มบานจนถึงเก็บเกี่ยวจะใช้เวลา ประมาณ 30 วัน จากนั้นทำลายระยะพักตัวด้วยวิธีตากแดดเป็นเวลา 7-10 วัน หรืออบด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 วัน จึงสามารถนำมาเพาะเมล็ดให้งอกเป็นต้นกล้าและสามารถย้ายปลูกลงดินเมื่อต้นกล้าอายุประมาณ 7 วัน วิธีการปกตินี้ใช้เวลารวมทั้งสิ้นประมาณประมาณ 40-47 วัน ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างการใช้วิธีการเร่งการงอกของเมล็ดกับการใช้วิธีทำลายระยะพักตัวของเมล็ดด้วยวิธีปกติ นั้น จะเห็นได้ว่าวิธีการนี้สามารถลดระยะเวลาในการงอกของข้าวได้ประมาณ 18-19 วัน ถือได้ว่าวิธีการนี้เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่องานปรับปรุงพันธุ์ข้าว เนื่องจากสามารถช่วยให้ร่นระยะเวลาและทำให้งานวิจัยนั้นสำเร็จได้เร็วขึ้น

6. สรุป

อายุเมล็ดที่เหมาะสมที่สุด คือ 9-11 วัน เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดอยู่ระหว่าง 81.08-86.05 เปอร์เซ็นต์

7. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และ

เทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

8. รายการอ้างอิง

- กรมการข้าว, 2559, เอกสารบันทึกประวัติศาสตร์ 100 ปี ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี, ปทุมธานี.
- Baskin, C.C. and Baskin, J.M., 1998, Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination, Academic Press.
- Bewley, J.D. and Black, M., 1994, Seeds, Physiology of Development and Germination, Plenum Press.
- Bewley, J.D., 1997, Seed germination and dormancy, Plant Cell 9: 1055-1066.
- Gaur, V.S., Singh, U.S. and Kumar, A., 2011, Transcriptional profiling and in silico analysis of Dof transcription factor gene family for understanding their regulation during seed development of rice *Oryza sativa* L., Mol. Biol. Rep. 38: 2827-2848.
- Koornneef, M., Bentsink, L. and Hilhorst, H., 2002, Seed dormancy and germination, Plant Biol. 5: 33-36.
- Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, Physiol Plant 15: 473-497.