ผลของการแช่เมล็ดในกรดซาลิซิลิกต่อการงอกของเมล็ด การเติบโต และศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนถั่วลันเตา

ชนิกาญจน์ จันทร์มาทอง

Effects of Salicylic Acid Soaking on Seed Germination, Growth and Antioxidant Capacity of Pea Seedlings

Chanikan Junmatong

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000
Biology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Muang, Phitsanulok 65000
Corresponding author. E-mail address: chanikanjunmatong@gmail.com
Received: 29 February 2016; Accepted: 24 May 2016

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของการแช่เมล็ดในกรดซาลิซิลิก (salicylic acid, SA) ต่อการงอกของเมล็ด การเติบโต และศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนถั่วลันเตา (*Pisum sativum* L.) โดยนำเมล็ดถั่วลันเตามาแช่ในสารละลาย SA ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 250, 500 และ 1000 μM เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ก่อนนำไปเพาะในถาดพลาสติกในสภาพมืดที่อุณหภูมิ 30±3 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 65-70% เป็นเวลา 10 วัน ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นอ่อนทุกวันเพื่อวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การงอก ความสูงลำต้นและความยาวราก น้ำหนักสดต้น และวิเคราะห์ศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging activity ผลการทดลองพบว่าการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 500 μM ก่อนการเพาะส่งเสริมการเติบโตของต้นอ่อนถั่วลันเตา โดยมีเปอร์เซ็นต์การงอก ความสูงลำต้น และน้ำหนักสดต้นสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตลอดระยะเวลาการเพาะ และต้นอ่อนถั่วลันเตาชุดที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 250, 500 และ 1000 μM มีศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ตลอดระยะเวลาการเพาะ ทั้งนี้ SA ความเข้มข้น 1000 μM มีประสิทธิภาพสูงสุดในการเพิ่มศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนถั่วลันเตา ดังนั้นการแช่เมล็ดในสารละลาย SA สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อส่งเสริมการเติบโต เพิ่มปริมาณผลผลิต และเพิ่มศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนถั่วลันเตาได้

คำสำคัญ: ต้นอ่อนถั่วลันเตา กรดซาลิซิลิก เมล็ดงอก สารต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

The effects of salicylic acid (SA) soaking on seed germination, growth and antioxidant capacity of pea seedlings (*Pisum sativum* L.) were investigated. Pea seeds were soaked in SA aqueous solution at 0 (control), 250, 500 and 1000 μM for 8 hours prior to be cultivated in plastic trays under dark condition at 30±3 °C and 65-70% relative humidity for 10 days. Seedling were randomly sampled everyday to determine percentage of seed germination, shoot and root lengths, seedling fresh weight, and total antioxidant capacity by using DPPH radical scavenging activity method. The results showed that SA soaking at 500 μM before cultivation was shown to promote growth of pea seedlings. Percentage of seed germination, shoot length and seedling fresh weight of the treatment were significantly ($p<0.05$) higher than those of the control seedlings throughout the germination period. The treatments of SA at 250, 500 and 1000 μM significantly ($p<0.05$) improved total antioxidant capacity when compared with the controls throughout germination time. However, the 1000 μM SA was the most effective in enhancing the total antioxidant capacity. Thus, SA soaking could be applied for enhancing seedling growth, seedling production and antioxidant content of pea seedlings.

Keywords: pea seedlings, salicylic acid, germinated seed, antioxidant

บทนำ

ต้นอ่อนถั่วลันเตา (pea seedlings) กำลังเป็นที่นิยมในกลุ่มผู้บริโภคที่รักสุขภาพ เนื่องจากมีสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายในปริมาณสูง และมีสารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดซึ่งมีหน้าที่ยับยั้งการสร้างและกำจัดอนุมูลอิสระต่าง ๆ ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคได้ การศึกษาหาวิธีการในการเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในต้นอ่อนถั่วลันเตาจึงมีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งต่อเกษตรกรผู้ผลิต เพื่อเพิ่มมูลค่าของผลิตผลทำให้สามารถจำหน่ายในราคาที่สูงขึ้นได้ และยังส่งผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภคด้วย

กรดซาลิซิลิก (salicylic acid; SA) เป็นฮอร์โมนพืชที่สังเคราะห์มาจากกรดอะมิโนฟีนิลอะลานินมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเจริญเติบโตและตอบสนองของพืชต่อสิ่งแวดล้อม เช่น การเปิด-ปิดของปากใบ การงอกของเมล็ด การดูดซับประจุ การแสดงออกของเพศและการต้านทานการเข้าทำลายของโรค (Hayat & Ahmad, 2007) สาร SA มีผลต่อการงอกของเมล็ดและการเติบโตของต้นอ่อนที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่แช่สารละลาย SA ในพืชต่าง ๆ เช่น การแช่เมล็ดพริกขี้หนูในสารละลาย SA ความเข้มข้น 800 μM นาน 48 ชั่วโมงก่อนนำไปเพาะ สามารถเพิ่มความงอกและลดระยะเวลาเฉลี่ยในการงอกของเมล็ดพริกขี้หนูได้ดีที่สุด (Khan et al., 2009) ส่วนในเมล็ดมะเขือเทศ ใช้ความเข้มข้นสารละลาย SA ความเข้มข้นต่ำ คือ 150 μM นาน 24 ชั่วโมงก่อนนำไปเพาะ จึงสามารถเพิ่มความงอกของเมล็ดมะเขือเทศได้ (Ghoohestani et al., 2012) นอกจากนี้ SA ยังมีผลเพิ่มศักยภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ด้วย โดยระดับความเข้มข้นของ SA ที่เหมาะสมและมีประสิทธิภาพในการเพิ่มศักยภาพในต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดที่กำลังงอกแตกต่างกันตามชนิดพืช เช่น การแช่เมล็ดถั่วลันเตาพันธุ์ Gloucester ในสารละลาย acetyl salicylic acid ความเข้มข้น 50 μM ก่อนการเพาะเมล็ด มีผลเพิ่มศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดเมื่อต้นกล้าอายุ 10 วัน สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิค (Andarwulan & Shetty, 1999) ในการแช่เมล็ดข้าวสาลีในสารละลาย SA ความเข้มข้น 1000 μM ก่อนการเพาะเมล็ด มีผลเพิ่มศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อต้นกล้าอายุได้ 2 วัน โดยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ catalase (CAT) และ superoxide dismutase (SOD) ขึ้น 3 และ 2 เท่าตามลำดับ เมื่อเทียบกับชุดไม่ได้แช่สารละลาย (Agarwal et al., 2005) ทั้งนี้สันนิษฐานว่าการแช่ในสารละลาย SA มีผลทำให้เมล็ดเกิดสภาวะเครียด (stress) แล้วชักนำให้มีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้นในระหว่างการงอก (Shetty, 2004) โดยทำหน้าที่เป็น signal molecule กระตุ้นให้เมล็ดงอกมีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น (Agarwal et al., 2005) ส่งผลให้มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นด้วย

ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการแช่เมล็ดใน SA ต่อการงอกของเมล็ด การเติบโตและศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนถั่วลันเตา และระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลาย SA ในการส่งเสริมการเติบโตและเพิ่มศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนถั่วลันเตาได้ดีที่สุด

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมตัวอย่าง

คัดเลือกเมล็ดถั่วลันเตาจากบริษัทจอมทอง จังหวัดกรุงเทพมหานคร ที่สมบูรณ์ ขนาดใกล้เคียงกัน ไม่มีรอยตำหนิจากโรคหรือแมลง แบ่งเมล็ดถั่วลันเตาออกเป็น 4 กลุ่ม ทำการแช่เมล็ดในสารละลาย SA 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0 (ชุดควบคุม), 250, 500 และ 1000 μM ตามลำดับ เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง (27±1 °C) เมื่อครบกำหนดนำเมล็ดมาล้างน้ำไหลนาน 5 นาที จากนั้นนำมาห่อด้วยผ้าขาวบางทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดถั่วลันเตามาเพาะในถาดพลาสติกขนาด 25×25×6.5 เซนติเมตร ที่บรรจุด้วยแกลบดำและขุยมะพร้าว ในอัตราส่วน 1:1 ที่เพาะในสภาพมีแสงธรรมชาติ อุณหภูมิ 30±3 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 65-70% เป็นเวลา 10 วัน ให้น้ำโดยการฉีดพ่นวันละ 2 ครั้ง เช้า-เย็น ในปริมาตร 40 มิลลิลิตรต่อถาด ทั้งนี้ในแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ด ในทุก ๆ วันทำการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นอ่อนถั่ว

ลันเตาในแต่ละชุดการทดลองเพื่อวิเคราะห์ผลในเรื่องต่อไปนี้

เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด

คำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดจากจำนวนของเมล็ดที่งอกทั้งหมดในแต่ละวันต่อจำนวนเมล็ดที่เริ่มการทดลองทั้งหมดของแต่ละถาดเพาะ โดยถือว่าเมล็ดนั้นงอกเมื่อเมล็ดงอกยอดยาวขึ้นออกมาเหนือวัสดุปลูก

ความสูงลำต้นและความยาวรากของต้นอ่อน

วัดความสูงลำต้นจากบริเวณเอพิคอทิลจนถึงปลายยอด และความยาวรากของต้นอ่อนถั่วลันเตาจำนวน 10 ต้น จากเมล็ดที่งอกเท่านั้น ความยาวที่วัดได้ให้มีหน่วยเป็นเซนติเมตร

น้ำหนักสดของต้นอ่อน

วัดน้ำหนักสดของต้นอ่อนจากการชั่งน้ำหนักสดของต้นอ่อนถั่วลันเตาทั้งต้นที่มีเมล็ดติดอยู่ด้วยจำนวน 10 ต้น โดยชั่งครั้งละต้น น้ำหนักสดของต้นอ่อนมีหน่วยเป็นกรัมต่อต้น

ศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2, 2 -Diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Mun'im et al. (2003) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

ทำการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระภายใต้อุณหภูมิ 4 °C โดยนำส่วนลำต้นของต้นอ่อนถั่วลันเตาจำนวน 10 ต้น ที่หั่นละเอียดหนัก 1 กรัม บดสกัดด้วย 80% ethanol ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารผสมที่ได้จากการบดไปเหวี่ยงตกตะกอนด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 30 นาที นำเฉพาะส่วนของเหลวใสซึ่งเป็น crude extract ไปใช้วิเคราะห์ศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระต่อไป

การวิเคราะห์ศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระ

ทำการวิเคราะห์ศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระจำนวน 3 ซ้ำ โดยเตรียมสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ซึ่งประกอบด้วย 0.1 mM DPPH ซึ่งละลายใน 95% ethanol ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และ crude extract ปริมาตร 500 ไมโครลิตรในชุดทดลอง (สำหรับชุด blank ใช้ 80% ethanol แทน crude extract) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง mixer วางทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิ 25 °C นาน 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ ดังนี้

ศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระ(%) = $[(A_b - A_s)/A_b] \times 100$

เมื่อ A_b คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นในชุด blank ที่ 517 นาโนเมตร

A_s คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นในชุดทดลองที่ 517 นาโนเมตร

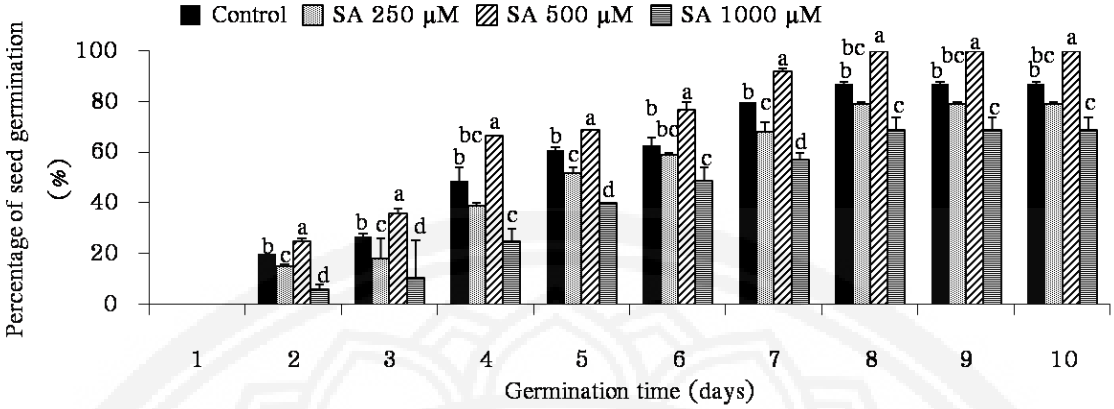
การวิเคราะห์สถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) และวิเคราะห์สถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 22 ทดสอบความแปรปรวนและแสดงผลการทดลองด้วยค่าเฉลี่ย (mean) ± ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SE) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple rang test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)

ผลการศึกษา

เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด

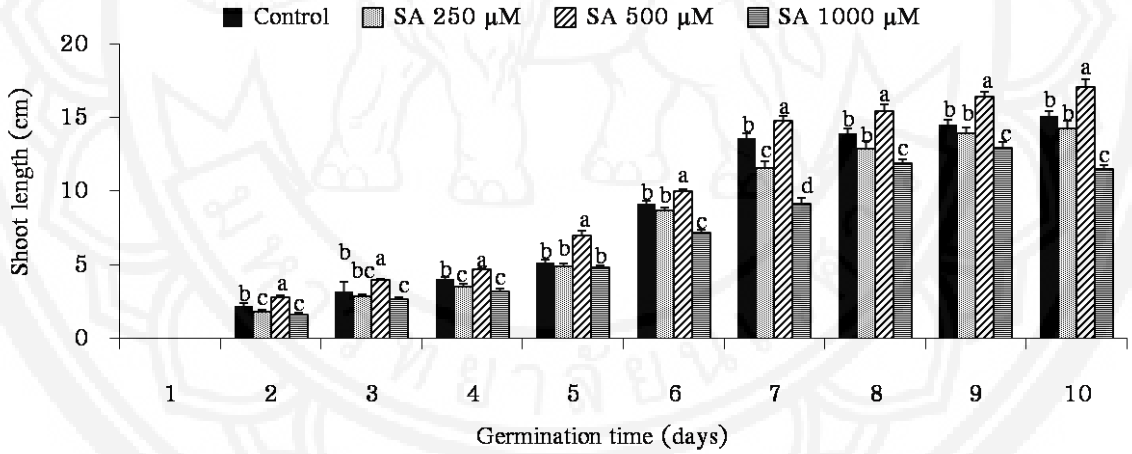
เมล็ดถั่วลันเตาเริ่มงอกโดยแทงรากออกมาก่อนส่วนไฮโปคอทิลและเอพิคอทิล โดยสังเกตได้ชัดเจนในวันที่ 2 และมีเปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาการเพาะ ในชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุดเท่ากับ 87% ในวันที่ 8 ส่วนเมล็ดถั่วลันเตาที่แช่ในสารละลาย SA ความเข้มข้น 250, 500 และ 1000 μM พบว่า ชุดที่แช่ในสารละลาย SA ความเข้มข้น 500 μM มีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดเท่ากับ 100% ในวันที่ 8 ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยทางสถิติสำคัญถึง 14.94% ส่วนชุดที่แช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 250 และ 1000 μM มีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 79% และ 69% ตามลำดับ ในวันที่ 8 ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติถึง 9.19 และ 20.69% ตามลำดับ (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดถั่วลันเตาที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้นต่าง ๆ ในระหว่างการเพาะเป็นเวลา 10 วัน

ความสูงลำต้นของต้นอ่อน

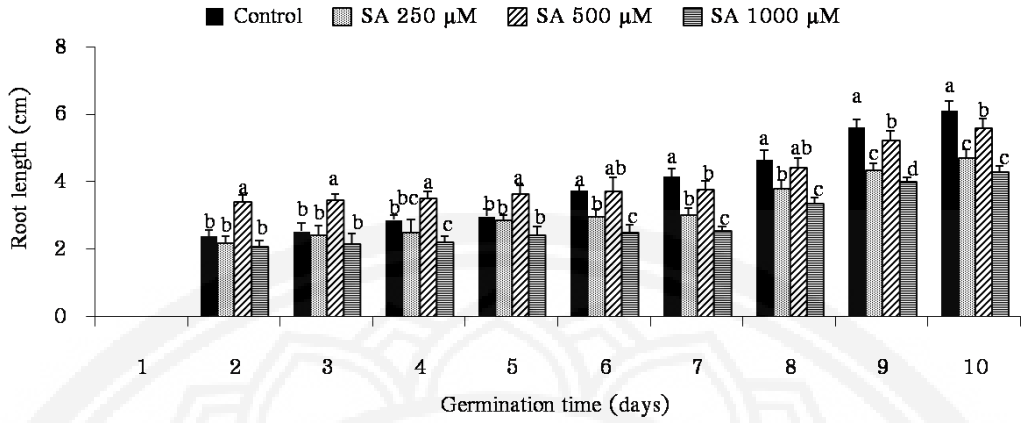
ต้นอ่อนถั่วลันเตามีความสูงลำต้นเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะการเพาะ โดยในวันที่ 10 ชุดควบคุมมีความสูงลำต้นเท่ากับ 15.14 เซนติเมตร ชุดที่แช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 500 μM มีความสูงลำต้นสูงที่สุดเท่ากับ 17.08 เซนติเมตร ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติถึง 12.81% และชุดที่แช่เมล็ดในสารละลาย SA 250 และ 1000 μM มีความสูงลำต้นเท่ากับ 14.29 และ 11.54 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุมคิดเป็น 16.33 และ 32.43% ตามลำดับ (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ความสูงลำต้นของต้นอ่อนถั่วลันเตาที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้นต่าง ๆ ในระหว่างการเพาะเป็นเวลา 10 วัน

ความยาวรากของต้นอ่อน

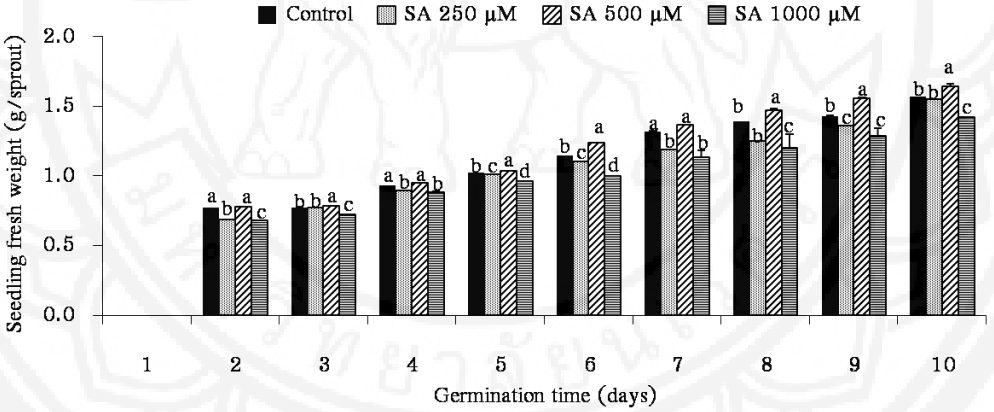
ต้นอ่อนถั่วลันเตามีความยาวรากเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาการเพาะ โดยในวันที่ 10 ชุดควบคุมมีความยาวรากเท่ากับ 6.12 เซนติเมตร ชุดที่แช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 500 μM มีความยาวรากสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วง 5 วันแรกของการเพาะ หลังจากนั้นมีความยาวรากต่ำกว่าชุดควบคุม ซึ่งในวันที่ 10 ของการเพาะมีความยาวรากเท่ากับ 5.60 เซนติเมตร ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ 8.50% ในขณะที่ชุดที่แช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 250 และ 1000 μM มีความยาวรากต่ำกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเพาะ โดยในวันที่ 10 มีความยาวรากเท่ากับ 4.72 และ 4.29 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคิดเป็น 22.88 และ 29.90% ตามลำดับ (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ความยาวรากของต้นอ่อนถั่วลันเตาที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้นต่าง ๆ ในระหว่างการเพาะเป็นเวลา 10 วัน

น้ำหนักสดต้นของต้นอ่อน

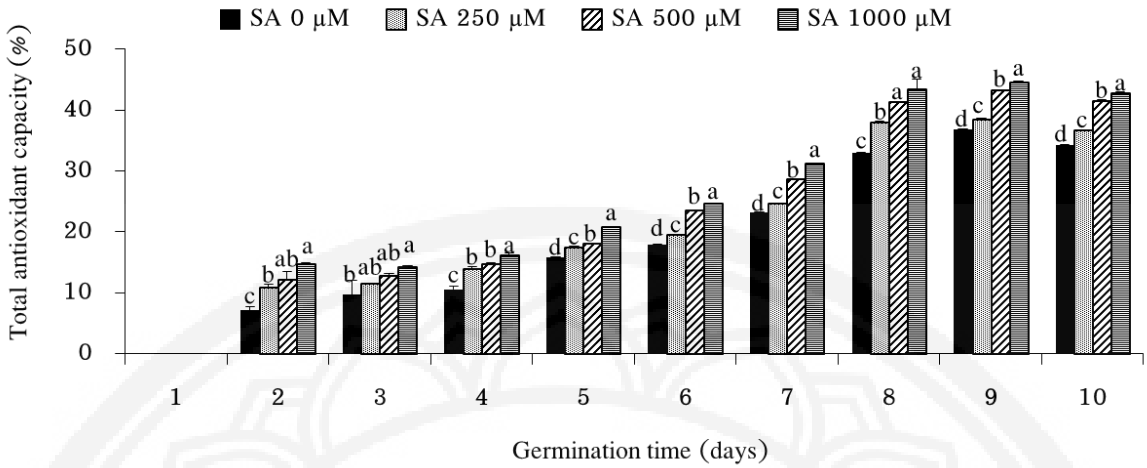
ต้นอ่อนถั่วลันเตามีน้ำหนักสดต้นเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาการเพาะ โดยในวันที่ 10 ชุดควบคุมมีน้ำหนักสดต้นเท่ากับ 1.57 กรัม ชุดที่แช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 500 μM มีน้ำหนักสดต้นสูงกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเพาะ โดยในวันที่ 10 มีน้ำหนักสดต้นเท่ากับ 1.65 กรัม ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ 5.10% ส่วนชุดที่แช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 250 และ 1000 μM มีน้ำหนักสดต้นต่ำกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเพาะ โดยในวันที่ 10 มีน้ำหนักสดต้นเท่ากับ 1.55 และ 1.42 กรัม ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุมคิดเป็น 1.27 และ 9.55% ตามลำดับ (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 น้ำหนักสดของต้นอ่อนถั่วลันเตาที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้นต่าง ๆ ในระหว่างการเพาะเป็นเวลา 10 วัน

ศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อน

ศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนถั่วลันเตามีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ และมีค่าสูงสุดเท่ากับ 34.34% ในวันที่ 9 แล้วลดต่ำลงในวันที่ 10 การแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 250, 500 และ 1000 μM นาน 8 ชั่วโมงก่อนการเพาะ มีผลเพิ่มศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนถั่วลันเตาให้สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะเวลาการเพาะ ในวันที่ 9 ชุดที่แช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 1000 μM มีศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเท่ากับ 42.76% โดยมีค่ามากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติสูงถึง 24.52% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดที่แช่เมล็ดสารละลาย SA ความเข้มข้น 500 และ 250 μM ที่มีศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 41.56 และ 36.69% ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติคิดเป็น 21.03 และ 6.84% ตามลำดับ (รูปที่ 5)



รูปที่ 5 ศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนถั่วลันเตาที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้นต่าง ๆ ในระหว่างการเพาะเป็นเวลา 10 วัน

อภิปรายผลการศึกษา

การแช่เมล็ดถั่วลันเตาในสารละลาย SA ก่อนการเพาะสามารถกระตุ้นการงอกและการเติบโตของต้นอ่อนถั่วลันเตาได้ อาจเป็นเพราะ SA มีผลเพิ่มการแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์จึงทำให้เมล็ดงอกได้ดีและต้นกล้าเจริญเติบโตเร็ว (Yildirim et al., 2008) โดย SA สามารถกระตุ้นการสังเคราะห์ฮอร์โมนพืชในกลุ่ม auxin, gibberellin และ abscisic acid ซึ่งมีบทบาทในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์ เร่งการขยายขนาดของเซลล์ การยืดยาวของลำต้น และการงอกของเมล็ดได้ ดังผลการทดลองในต้นอ่อนถั่วแขก 6 สายพันธุ์ ที่มีปริมาณฮอร์โมน IAA, GA_3, ABA และอัตราส่วนของ GA_3/ABA เพิ่มสูงขึ้นสอดคล้องกับมีเปอร์เซ็นต์การงอก ความสูงต้นและความยาวของราก และน้ำหนักสดต้นเพิ่มสูงขึ้น เมื่อแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 0.1 mM ก่อนการเพาะ (Gharib & Hegazi, 2010) รวมทั้ง SA ยังทำหน้าที่เป็น signal molecule กระตุ้นการสร้างและการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระบางชนิด เช่น CAT และ SOD เพิ่มมากขึ้น (Hayat et al., 2010) จึงทำให้ต้นอ่อนแข็งแรงและเจริญเติบโตดีกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของ SA ที่ใช้ต้องเหมาะสม ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของ SA ที่เหมาะสมต่อการงอกของเมล็ดและการเติบโตของต้นอ่อนถั่วลันเตา คือ 500 μM โดยมีผลเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอก ความสูงต้น น้ำหนักสดต้น ความยาวของรากได้ดีในช่วง 5 วันแรกของการเพาะ ดังแสดงในรูปที่ 1, 2, 4 และ 3 ตามลำดับ ในขณะที่การใช้ SA ความเข้มข้นต่ำ (250 μM) หรือ สูงเกินไป (1000 μM) กลับมีผลลดการเจริญเติบโตของต้นอ่อนถั่วลันเตาเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 1-4 โดยระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ยังมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืชด้วย ในการทดลองครั้งนี้พบว่าความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมในการแช่เมล็ดถั่วลันเตาคือ 500 μM นาน 8 ชั่วโมง แตกต่างจากเมล็ดพริกขี้หนูที่ต้องแช่ในความเข้มข้นและระยะเวลาที่มากกว่า คือ 800 μM นาน 48 ชั่วโมง จึงสามารถเพิ่มความงอกและลดระยะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอกได้ (Khan et al., 2009) ในขณะที่เมล็ดมะเขือเทศใช้ความเข้มข้นต่ำกว่าแต่ระยะเวลาในการแช่นานกว่า คือ 150 μM นาน 24 ชั่วโมง เพื่อเพิ่มความงอกได้ (Ghoohestani et al., 2012)

การแช่เมล็ดถั่วลันเตาในสารละลาย SA มีผลเพิ่มศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนให้เพิ่มสูงขึ้นตามระดับความเข้มข้นของ SA ที่เพิ่มขึ้น โดย SA ความเข้มข้น 1000 μM มีประสิทธิภาพสูงที่สุดดังแสดงในรูปที่ 5 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์สจ. 5 และ เชียงใหม่ 60 ที่พบว่าการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 1000 μM นาน 6 ชั่วโมงก่อนการเพาะ สามารถเพิ่มศักยภาพในการต้าน

อนุมูลอิสระในต้นอ่อนได้สูงที่สุด ในขณะที่ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 2 ใช้ความเข้มข้นต่ำกว่าคือ 500 μM (Suknit, 2009) ทั้งนี้สันนิษฐานว่าศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นในต้นอ่อนถั่วลันเตานั้น อาจเป็นผลมาจากมีการสร้างและการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระทั้งชนิดที่เป็นเอนไซม์และไม่ใช่เอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นโดยการกระตุ้นของ SA ดังผลการทดลองในต้นอ่อนถั่วลันเตาพันธุ์ Gloucester ที่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิคซึ่งมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น เมื่อแช่เมล็ดในสารละลาย acetyl salicylic acid (สารอนุพันธ์ของ SA) ความเข้มข้น 50 μM ก่อนการเพาะ (Andarwulan & Shetty, 1999) เช่นเดียวกับต้นอ่อนข้าวสาลีที่มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นสอดคล้องกับมีกิจกรรมของเอนไซม์ CAT และ SOD ซึ่งมีหน้าที่ในการกำจัดอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น เมื่อผ่านการแช่เมล็ดในสารละลาย SA ความเข้มข้น 1000 μM ก่อนการเพาะ (Agarwal et al., 2005)

สรุปผลการศึกษา

การแช่เมล็ดใน SA ก่อนการเพาะ สามารถเพิ่มการงอกของเมล็ด การเติบโต และศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนถั่วลันเตาได้ โดย SA ความเข้มข้น 500 μM ให้ผลดีที่สุดในการกระตุ้นความงอกของเมล็ดและส่งเสริมการเติบโตของต้นอ่อน ในขณะที่ SA ความเข้มข้น 1000 μM ให้ผลดีที่สุดในการเพิ่มศักยภาพรวมในการต้านอนุมูลอิสระ แต่มีผลลดการงอกและการเติบโตของต้นอ่อน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ โดยได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม และความเห็นในรายงานผลการวิจัยเป็นของผู้รับทุน มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงครามไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป (สัญญารับทุนเลขที่ RDI-2-59-6-24) ผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ สนับสนุนอุปกรณ์ และเครื่องมือต่าง ๆ ในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณ นางสาวกฤษณา สั่งสอน นักศึกษาปริญญาตรี ที่ช่วยเหลือในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Andarwulan, N., & Shetty, K. (1999). Improvement of pea (*Pisum sativum*) seed vigour response by fish protein hydrolysates in combination with acetyl salicylic acid. *Process Biochem.*, *35*(1-2), 159-165.

Agarwal, S., Sairam, R. K., Srivastava, G. C., Aruna, T., & Meena, R. C. (2005). Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedlings. *Plant Sci.*, *169*(3), 559-570.

Ghoohestani, A., Gheisary, H. S., Zahedi, M., & Dolatkhahi, A. (2012). Effect of seed priming of tomato with salicylic acid, ascorbic acid and hydrogen peroxide on germination and plantlet growth in saline conditions. *Intl. J. Agron. Plant Prod.*, *3*, 700-704.

Gharib, F. A., & Hegazi, A. Z. (2010). Salicylic acid ameliorates germination, seedling growth, phytohormone and enzymes activity in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under cold stress. *J. Am. Sci.*, *6*(10), 675-683.

Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M., & Ahmad, A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environ. Exp. Bot.*, *68*(1), 14-25.

Hayat, S., & Ahmad, A. (2007). *Salicylic Acid: A Plant Hormone*. Dordrecht: Springer.

Khan, H. A., Pervez, M. A., Ayub, C. M., Ziaf, K., Balal, R. M., Shahid, M. A., & Akhtar, N. (2009).

Hormonal priming alleviates salt stress in hot pepper (*Capsicum annuum* L.). *Soil Sci. Soc. Pak.*, *28*(2), 130-135.

Mun'im, A., Negishi, O., & Ozawa, T. (2003). Antioxidant compounds from *Crotalaria sessiliflora*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, *67*(2), 410-414.

Shetty, K. (2004). Role of proline-linked pentose phosphate pathway in biosynthesis of plant phenolics for functional food and environmental applications: a review. *Process Biochem.*, *39*(7), 789-803.

Suknit, K. (2009). *Antioxidant activity and some antioxidant contents in germinating soybean (Glycine max L.) seeds*. (Master's thesis). Chiang Mai University, Chiang Mai. [in Thai] [1]

Yildirim, E., Turan, M., & Guvenc, I. (2008). Effect of foliar salicylic acid applications on growth, chlorophyll and mineral content of cucumber (*Cucumis sativus* L.) grown under salt stress. *J. Plant Nutr.*, *31*(3), 593-612.