การประเมินอิทธิพลของสารประกอบที่ว่องไวปฏิกิริยาต่อการส่งเสริมการงอกของเมล็ด การเติบโต และเมตาบอลิซึมของหญ้ารูซี่

Evaluation the Influence of Reactive Species Compounds for Enhancement on Seed Germination, Growth, and Metabolisms of Ruzi Grass

กมลพร ปานง่อม*, ธัญญรัตน์ เชื้อสะอาด และขวัญจรัส เชิงปัญญา

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์พื้นฐาน มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ ตำบลแม่ทราย อำเภอร้องกวาง จังหวัดแพร่ 54140

พจนา มีแก้ว

สาขาวิชาเกษตรป่าไม้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ ตำบลแม่ทราย อำเภอร้องกวาง จังหวัดแพร่ 54140

Kamonporn Panngom*, Thanyarat Chuesaard and Khuanjarat Choengpanya

Basic Science Program, Maejo University Phrae Campus, Mae Sai, Rong Kwang, Phrae, 54140

Potjana Meekaew

Agroforestry Program, Maejo University Phrae Campus, Mae Sai, Rong Kwang, Phrae, 54140

บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และไนตริกออกไซด์ที่ผลิตจากสารโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ต่อการงอก การเติบโต และเมตาบอลิซึมของเมล็ดหญ้ารูซี่ (*Bracheria ruzizensis*) โดยการแช่เมล็ดในสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ และสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่าสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ที่แช่เมล็ดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดเท่ากับ 79.00 และ 83.00 % ตามลำดับ ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ ให้ความยาวต้นอ่อนเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 5.82 เซนติเมตร และค่าเฉลี่ยน้ำหนักสดสูงสุดเท่ากับ 1.04 กรัม และความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดเท่ากับ 1272.51 ไมโครโมลต่อกรัม และสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ที่แช่เมล็ดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 25 ไมโครโมลาร์ ให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดเท่ากับ 41.33 % ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ ให้ความยาวต้นอ่อนเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 3.03 เซนติเมตร และความเข้มข้น 12.5 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดเท่ากับ 533.54 ไมโครโมลต่อกรัม ขณะที่ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดไม่มีความแตกต่างกัน สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์มีผลต่อเมล็ดหญ้ารูซี่มากกว่าสารไนตริกออกไซด์

คำสำคัญ : หญ้ารูซี่; การงอกของเมล็ด; การเติบโต; เมตาบอลิซึม; น้ำตารีดิวซ์

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** kamonporn@phrae.mju.ac.th

doi: 10.14456/tstj.2018.34

Abstract

A comparative study on the effect of hydrogen peroxide (H_2O_2) and nitric oxide (NO) generated from sodium nitroprusside (SNP) on seed germination, growth, and metabolisms processes of ruzi grass (*Brachiaria ruzizeinsis*) were investigated. Seeds were soaked in hydrogen peroxide solutions in concentrations; 50, 100, 200 and 300 millimolar (mM) and nitric oxide generated from SNP in concentrations; 12.5, 25, 50 and 100 micromolar (μM), and incubation for 6, 12, and 24 hrs. The results showed that the seed of ruzi grass treatment with 200 and 300 mM of H_2O_2 for 24 hrs significantly increased the percentage of seed germination up to 79.00 and 83.00 %, respectively. At 200 mM of H_2O_2 showed the longest of seedling length for 5.82 centimeters and the highest wet weight was approximately 1.04 g. Seeds metabolism analysis from amounts of reducing sugar was also significantly increased especially 300 mM of H_2O_2 about 1272.51 μmole/g. For NO generated from SNP treatment on seed germination of ruzi grass, we found that 25 μM of SNP for 12 hrs treatment on grass seeds increased the percentage of seed germination up to 41.33 %. Moreover, 50 μM of SNP showed highly of the seedling length about 3.03 centimeters and 12.5 μM of SNP can induce the amount of reducing sugar highly approximately 533.54 μmole/g. However, wet weight of seedling plants showed no difference among treatments. It is noted that H_2O_2 can stimulate to enhance on seed germination, growth, and metabolisms of ruzi grass better than NO.

Keywords: ruzi grass; seed germination; growth; metabolism; reducing sugar

1. บทนำ

หญ้ารูซี่ (*Brachiaria ruzizeinsis*) เป็นพันธุ์หญ้าที่เกษตรกรนิยมปลูกเพื่อใช้ในการเลี้ยงสัตว์กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีความแห้งแล้ง เนื่องจากเป็นหญ้าที่สามารถทนต่อความแห้งแล้งได้ดี มีลำต้นและใบไม่หยาบแข็ง มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และยังสามารถใช้ปลูกเป็นพืชคลุมดิน เพื่อลดการชะล้างพังทลายของหน้าดินได้ [1] ในอดีตหญ้ารูซี่เป็นหญ้าพื้นเมืองของประเทศในแถบทวีปแอฟริกา [2] และนำเข้ามาปลูกครั้งแรกในประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2511 โดยองค์การส่งเสริมการเลี้ยงโคนมแห่งประเทศไทย ตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของหญ้ารูซี่เป็นพืชที่จัดอยู่ในตระกูล *Brachiaria* sp. [3] คือ เป็นพืชมีเหง้าและข้อปล้องสั้น มีลำต้นสูงเต็มที่ประมาณ 90 เซนติเมตร กาบใบจะมีลักษณะยาวกว่าป้องของลำต้น มีขนปกคลุมที่ใบ มีลิ้นใบแบบขนแข็ง และมีช่อดอกแบบราซีม [4] อย่างไรก็ตาม แม้ว่าจะนิยมใช้หญ้ารูซี่ในการเลี้ยงสัตว์และพัฒนาสายพันธุ์ใหม่ ๆ อยู่เสมอ แต่ก็ยังพบว่าเมล็ดพันธุ์ของหญ้ารูซี่ ยังมีปัญหาในด้านคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่มีอัตราการงอกต่ำ ซึ่งมีรายงานว่าหญ้าที่อยู่ในสกุล *Brachiaria* ซึ่งรวมทั้งหญ้ารูซี่ เป็นพืชที่มีเมล็ดมีระยะการพักตัวที่ยาวนาน มีการเจริญของเอมบริโอไม่สมบูรณ์ ส่งผลทำให้มีอัตราการงอกของเมล็ดต่ำ [5,6]

เนื่องจากการพักตัวและการงอกของเมล็ด (seed dormancy and germination) มีบทบาทที่สำคัญในการกำหนดผลผลิตของพืช โดยการงอกของเมล็ดพืชเป็นจุดเริ่มต้นของการเจริญเติบโตของพืช ซึ่ง

เป็นกระบวนการที่มีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานและสรีรวิทยาที่เกิดขึ้นอย่างซับซ้อน [7,8] โดยเริ่มจากเมล็ดได้รับปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม โดยเฉพาะน้ำ เมื่อเมล็ดได้รับน้ำหรือความชื้นที่เพียงพอส่งผลให้เมล็ดเกิดการพองตัวและกระบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ ที่สำคัญจะเกิดขึ้นภายในเมล็ด ทำให้เกิดการย่อยอาหารที่สะสมในเมล็ดมาใช้ในการพัฒนาการของต้นอ่อน การงอกของเมล็ดจะสิ้นสุดลงเมื่อรากแรก (radicle) โผล่พ้นเปลือกที่หุ้มเมล็ดออกมา ขณะเดียวกันถ้าปัจจัยทางสภาพแวดล้อมไม่มีความเหมาะสมจะทำให้เมล็ดพืชเข้าสู่ระยะการพักตัว กระบวนการงอกและการพักตัวของเมล็ดถูกควบคุมโดยลักษณะทางพันธุกรรมและปัจจัยต่าง ๆ ที่เหมาะสม ปัจจุบันนักวิจัยได้ค้นหาหลากหลายวิธีในการกระตุ้นหรือเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ดพืชให้เร็วหรือสูงขึ้น เช่น การแช่เมล็ดพืชในกรดหรือด่าง [9] ฮอร์โมนพืช [10] สารไคโตซาน [11] สารสกัดจากพืช [12] และสารเคมีที่ว่องไวปฏิกิริยา (reactive species) [13]

สารประกอบที่ว่องไวปฏิกิริยา (reactive species compound) เป็นกลุ่มของสารประกอบที่ไม่มีความเสถียรและมีอิเล็กตรอนที่โดดเดี่ยว ซึ่งสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นได้อย่างรวดเร็ว และประกอบไปด้วยกลุ่มของโมเลกุลออกซิเจน (reactive oxygen species) เช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) ซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide, O_2^-) และกลุ่มของโมเลกุลไนโตรเจน (reactive nitrogen species) เช่น ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) เปอร์รอกซีไนไตรท์ (peroxynitrite, $ONOO^-$) [14] ในปัจจุบันมีรายงานว่าสารประกอบดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการเป็นโมเลกุลสื่อสัญญาณ (signaling molecule) ที่สำคัญในกระบวนทางชีววิทยาของสิ่งมีชีวิต ขณะที่ในพืชพบว่าเกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อภาวะความเครียด (stress response) ระบบต้านทานต่อการบุกรุกของเชื้อโรค (plant defense system) การตายของเซลล์ (cell death) [15] และกระบวนการเจริญเติบโตของพืช (plant growth and development) เช่น การงอกของเมล็ดและละอองเรณู การยืดยาวของรากและใบ (root elongation and leaf expansion) [16] ที่ผ่านมามีหลายรายงานวิจัยที่มีการศึกษาการใช้สารประกอบที่ว่องไวปฏิกิริยาในการกระตุ้นการงอกของเมล็ดพืชหลายชนิด เช่น พืชตระกูลถั่ว อะราบิดอพซีส ข้าว ข้าวสาลี ข้าวบาเล่ย์ [17-21]

ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินบทบาทของสารประกอบที่ว่องไวปฏิกิริยา ที่ประกอบด้วยสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และสารไนตริกออกไซด์ที่ผลิตจากสารโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ ในการกระตุ้นการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตและกระบวนการเมตาบอลิซึมของหญ้ารูซี่

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การคัดเลือกเมล็ดพันธุ์และการแช่เมล็ดในสารละลาย

คัดเลือกและนับจำนวนเมล็ดพันธุ์หญ้ารูซี่ที่มีความสมบูรณ์จำนวน 50 เมล็ดต่อชุดการทดลอง เป็นจำนวน 3 ซ้ำ หลังจากนั้นนำไปแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ (millimolar, mM) เป็นระยะเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำเมล็ดใส่ในจานเพาะเชื้อที่มีกระดาษเพาะเมล็ดที่เปียกจำนวน 2 ชั้น ที่เรียกว่าวิธี top of paper (TP) จำนวน 50 เมล็ดต่ออัน เก็บไว้ในที่มืด จากนั้นนับและบันทึกผลจำนวนเมล็ดที่งอกเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง ส่วนการแช่เมล็ดหญ้ารูซี่ในสารละลายไนตริกออกไซด์ที่ผลิตจากสารโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ (sodium

nitroprusside, SNP) ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ (micromolar, μM) มีสภาวะในการทดลองเหมือนกับการแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ โดยในการทดลองใช้น้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม

2.2 การหาเปอร์เซ็นต์การงอกและการเติบโตของหญ้ารูซี่

หลังจากนับจำนวนเมล็ดที่งอกในช่วงเวลาที่กล่าวข้างต้นแล้ว นำข้อมูลการงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การงอกจากสูตร (จำนวนเมล็ดที่งอก x 100) ÷ จำนวนเมล็ดทั้งหมดที่เพาะ เมื่อเพาะต้นอ่อนหญ้ารูซี่เป็นระยะเวลา 5 วัน สุ่มต้นอ่อนหญ้ารูซี่จำนวน 12 ต้นต่อการทดลอง มาวัดความยาวและชั่งน้ำหนักสดของต้นอ่อนหญ้ารูซี่ นำข้อมูลทุกชุดมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

2.3 การวิเคราะห์กระบวนการเมตาบอลิซึมของหญ้ารูซี่

นำเมล็ดของหญ้ารูซี่ที่ผ่านการแช่สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และสารไนตริกออกไซด์ที่ผลิตจากสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ ที่มีระยะเวลาการงอกในชั่วโมงที่ 0 และ 72 ชั่วโมง ไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างไปบดด้วยเครื่องปั่น และชั่งตัวอย่างละ 0.03 กรัม ลงในหลอดเซนติฟิวส์ และเติมสารบัฟเฟอร์ทริส (Tris-buffer) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าบนเครื่องเขย่าแนวระนาบเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4000 รอบต่อนาที ดูดสารละลายส่วนใส ไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีดีเอ็นเอส (DNS method) โดยดัดแปลงตามวิธีการของ ศศิธร (2551) [22] โดยการใช้น้ำตาลมอลโทสเป็นสารละลายมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ จากกราฟของสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลมอลโทส

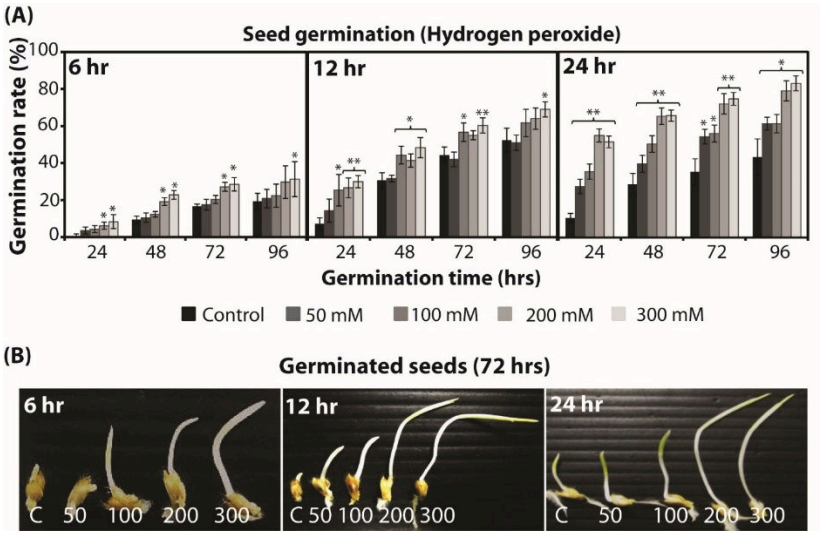
2.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทุกชุดข้อมูลของการทดลองทำซ้ำอย่างน้อยจำนวน 3 ซ้ำต่อการทดลอง และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติทำโดยนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การงอก ค่าความยาวเฉลี่ยและน้ำหนักสดของต้นอ่อน และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ มาวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติโดยการเปรียบเทียบแบบรายคู่ระหว่างชุดทดลองกับชุดควบคุม ด้วยวิธี Student's *t* test (*$p \leq 0.05$, **$p \leq 0.01$) ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel 2013

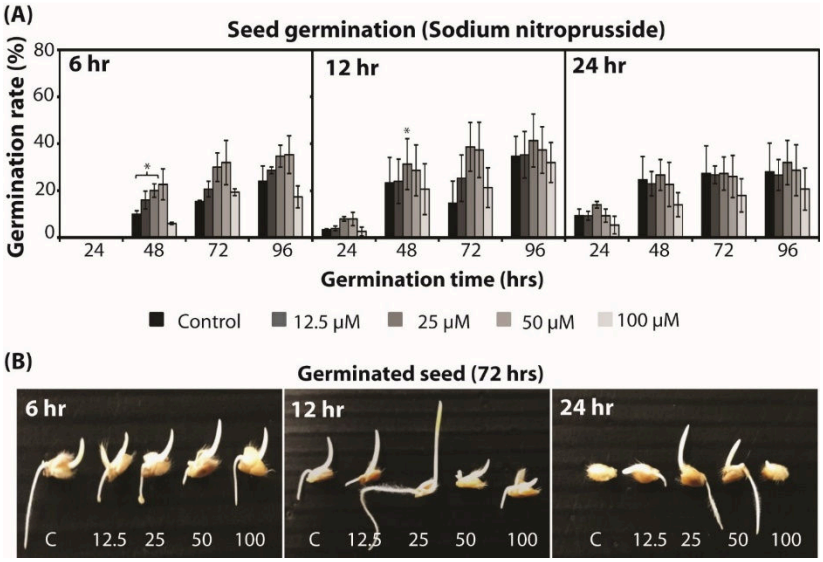
3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์-ออกไซด์และไนตริกออกไซด์ที่ผลิตได้จากสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ต่ออัตราการงอกของหญ้ารูซี่

การแช่เมล็ดหญ้ารูซี่ในสารละลายไฮโดร-เจนเพอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าเมล็ดของหญ้ารูซี่ให้เปอร์เซ็นต์การงอกที่เพิ่มสูงขึ้นในทุกความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ การแช่เมล็ดหญ้ารูซี่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของสารละลายที่ 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ ในชั่วโมงการงอกที่ 96 ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเท่ากับ 79.00 และ 83.00 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดความคุม ขณะเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบการแช่เมล็ดหญ้ารูซี่ในทั้ง 3 ช่วงเวลาของการแช่เมล็ดในสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์นั้น พบว่าเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่มีค่าสูงที่สุดที่การแช่เมล็ด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 1A) นอกจากนี้ยังพบว่าลักษณะการงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่ที่ผ่านการแช่สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ทั้ง 3 ช่วงเวลา นั้น สามารถแทงปลายยอดทะลุออกมานอกเปลือกหุ้มเมล็ดได้เร็วกว่าเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นโดยเฉพาะการแช่เมล็ด เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (รูปที่ 1B)



รูปที่ 1 เปอร์เซ็นต์การงอกและลักษณะการงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่ หลังการแช่สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง โดยมีน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม (A) เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่ และ (B) ลักษณะการงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่ วิเคราะห์ค่าทางสถิติ โดยวิธี Student's *t* test (*$p \leq 0.05$, **$p \leq 0.01$)



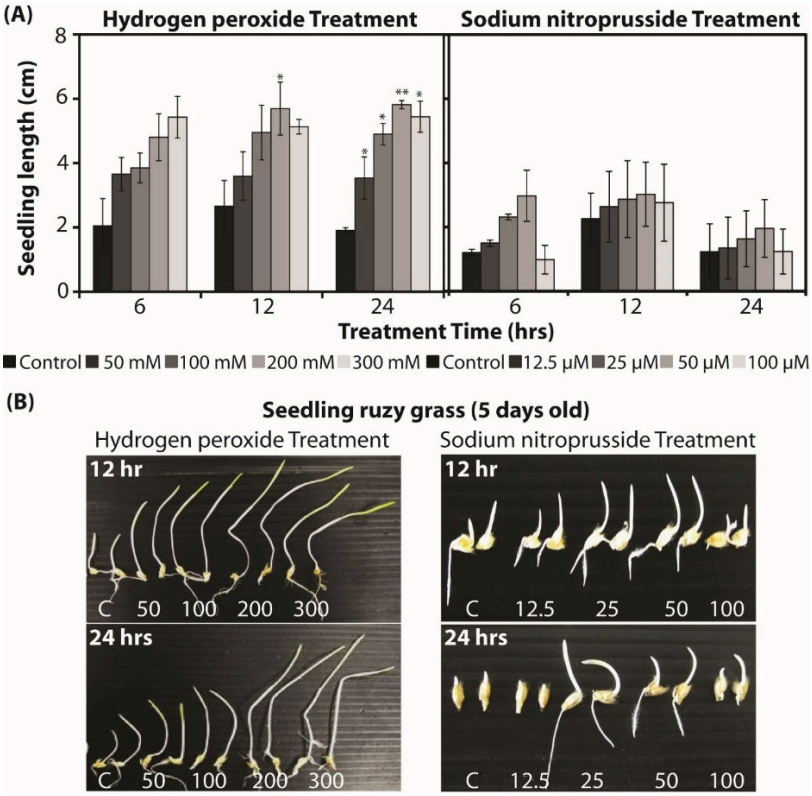
รูปที่ 2 เปอร์เซ็นต์การงอกและลักษณะการงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่ หลังการแช่สารไนตริกออกไซด์ที่ผลิตจากสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ในระยะเวลาการแช่เมล็ดที่ 6, 12 และ 24 ชั่วโมง โดยมีน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม (A) เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่ และ (B) ลักษณะการงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่ และวิเคราะห์ค่าทางสถิติ โดยวิธี Student's *t* test (*$p \leq 0.05$, **$p \leq 0.01$)

การศึกษาแช่เมล็ดหญ้ารูซี่ในสารไนตริกออกไซด์ที่ผลิตจากสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าทุกความเข้มข้นของสารละลายไนตริกออกไซด์มีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์การงอกที่เพิ่มสูงขึ้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อย่างไรก็ตาม เมื่อความเข้มข้นของสารละลายไนตริกออกไซด์เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้เมล็ดของหญ้ารูซี่มีเปอร์เซ็นต์การงอกที่ลดลง ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ ที่ความเข้มข้น 12.5, 25 และ 50 ไมโครโมลาร์ ที่แช่เมล็ดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูงที่สุดเท่ากับ 35.33, 41.33 และ 37.33 % ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบผลของสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ของการแช่เมล็ดใน 3 ช่วงเวลา พบว่าการแช่เมล็ดหญ้ารูซี่ในสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ เป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง ให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่การแช่เมล็ดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้เปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากชุดควบคุม (รูปที่ 2A) นอกจากนี้ลักษณะการงอกของหญ้ารูซี่ ที่ผ่านการแช่เมล็ดเป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง สามารถแทงปลายยอดออกมาได้ยาวกว่าเมล็ดในชุดควบคุม ขณะเดียวกันเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ที่เพิ่มสูงขึ้นถึง 100 ไมโครโมลาร์ ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่ที่ช้าลง (รูปที่ 2B)

3.2 ผลของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และไนตริกออกไซด์ที่ผลิตได้จากสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ต่อการเติบโตและกระบวนการเมตาบอลิซึมของหญ้ารูซี่

การศึกษาการเติบโตและเมตาบอลิซึมของหญ้ารูซี่ หลังจากแช่สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 50, 100ม 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง โดยการสุ่มวัดต้นอ่อนหญ้ารูซี่ ที่มีอายุประมาณ 5 วัน ผลการทดลองพบว่าความยาวของต้นอ่อนของหญ้ารูซี่เพิ่มสูงขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ทั้งระยะการแช่เมล็ดทั้ง 3 ช่วงเวลา โดยเฉพาะที่การแช่เมล็ดเป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ที่ให้ความยาวเฉลี่ยของต้นอ่อนหญ้ารูซี่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิโมลาร์ มีค่าเท่ากับ 5.82 เซนติเมตร ในส่วนของความยาวเฉลี่ยของต้นอ่อนของหญ้ารูซี่ที่เมล็ดผ่านการแช่ในสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ พบว่าให้ความยาวของต้นอ่อนเฉลี่ยเพิ่มสูงขึ้นเพียงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง 3 ช่วงเวลา ของการแช่เมล็ดหญ้ารูซี่นั้น การแช่เมล็ดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ให้ค่าเฉลี่ยความสูงของต้นอ่อนสูงมากที่สุด ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครโมลาร์ มีค่าเท่ากับ 3.03 เซนติเมตร และเมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์เพิ่มสูงขึ้นที่ความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ให้ผลต่อความยาวของต้นอ่อนหญ้ารูซี่ที่ลดลง (รูปที่ 3A) ลักษณะความยาวของต้นอ่อนของหญ้ารูซี่ที่เมล็ดผ่านการแช่สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ จะให้ความยาวของต้นอ่อนที่เพิ่มสูงขึ้นตามความเข้มข้นของสารละลายที่เพิ่มสูงขึ้นด้วย ซึ่งมีความแตกต่างจากลักษณะความยาวของต้นอ่อนของหญ้ารูซี่ที่เมล็ดผ่านการแช่ในสารโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ที่ความเข้มข้น 12.5, 25 และ 50 ไมโครโมลาร์ ให้ความยาวที่เพิ่มสูงขึ้น แต่เมื่อความเข้มข้นของสารโซเดียมไนโตรพรัสไซด์เพิ่มสูงขึ้นที่ระดับ 100 ไมโครโมลาร์ ส่งผลให้ความยาวของต้นอ่อนหญ้ารูซี่ลดลง (รูปที่ 3B)

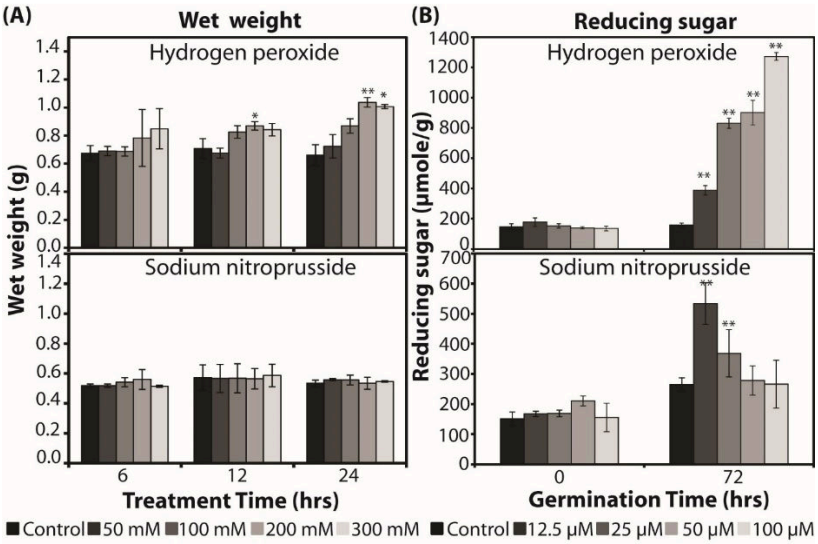
การวิเคราะห์หาน้ำหนักสดของต้นอ่อนหญ้ารูซี่ ที่เมล็ดผ่านการแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้น 200 และ 300 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งให้น้ำหนักสดเพิ่มสูงขึ้น



รูปที่ 3 ความยาวต้นอ่อนหญ้ารูซี่ ที่มีอายุ 5 วัน หลังการแช่เมล็ดในสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ที่ความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ และสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 6, 12 และ 24 ชั่วโมง โดยมีน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม (A) ความยาวของต้นอ่อนหญ้ารูซี่ และ (B) ลักษณะของต้นอ่อนหญ้ารูซี่ที่มีอายุ 5 วัน และวิเคราะห์ค่าทางสถิติ ด้วยวิธี Student's *t* test (*$p \leq 0.05$, **$p \leq 0.01$)

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.04 และ 1.01 กรัม ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม น้ำหนักสดของต้นอ่อนหญ้ารูซี่ ที่เมล็ดผ่านการแช่สารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์นั้น พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม (รูปที่ 4A) การตรวจสอบกระบวนการเมตาบอลิซึม โดยการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเมล็ดหญ้ารูซี่ ที่ผ่านการแช่เมล็ดในสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเมล็ดอยู่ในช่วงระหว่างการงอกในชั่วโมงที่ 72 ด้วยวิธีดีเอ็น-เอส จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ผลการทดลองพบว่าทุกความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ให้ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยเฉพาะความเข้มข้นที่ 300 มิลลิโมลาร์ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1272.51 ไมโคร-โมลต่อกรัม ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเมล็ดหญ้ารูซี่ที่กำลังงอก ที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมไนโตร-พรัสไซด์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าสารละลายโซเดียม-ไนโตรพรัสไซด์ที่ความเข้มข้น 12.5 ไมโครโมลาร์ มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดเท่ากับ 533.54 ไมโครโมล-ต่อกรัม และรองลงมา คือ ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ ที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลง ตาม

ลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเมล็ดหญ้ารูซี่ในชั่วโมงการงอกที่ 72 ที่เมล็ดผ่านการแช่ระหว่างสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ พบว่าเมล็ดหญ้ารูซี่ที่ผ่านการแช่สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้นเป็นจำนวนสองเท่าของสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ (รูปที่ 4B)



รูปที่ 4 น้ำหนักสดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเมล็ดหญ้ารูซี่ ที่ผ่านการแช่สารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 50, 100, 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ และสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ ที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 100 ไมโครโมลาร์ (A) น้ำหนักสดของต้นอ่อนหญ้ารูซี่ที่มีอายุ 5 วัน (B) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของเมล็ดหญ้ารูซี่ ที่อยู่ในช่วงระยะเวลาการงอกของเมล็ดที่ 0 และ 72 ชั่วโมง และวิเคราะห์ด้วยวิธีดีเอ็นเอสและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 540 นาโนเมตร และวิเคราะห์ค่าทางสถิติ โดยวิธี Student's *t* test (*$p \leq 0.05$, **$p \leq 0.01$)

3.3 วิจารณ์ผลการทดลอง

การงอกของเมล็ดพืชเป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของพืชที่เกิดขึ้นโดยมีปัจจัยหลายอย่างที่เกี่ยวข้องกันอย่างซับซ้อน งานวิจัยที่ผ่านมารายงานว่าสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เป็นสารที่เกี่ยวข้องกับการสื่อสัญญาณระหว่างโมเลกุล โดยสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดพืชได้หลายชนิด เช่น ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวบาร์เลย์ [23,19] ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่เหมาะสมในพืชแต่ละชนิดนั้นมีความแตกต่างกัน โดยผลการทดลองพบว่าสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมที่สามารถกระตุ้นอัตราการงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่ได้ดีที่สุด ในขณะที่พืชบางชนิด เช่น ข้าวโพด พบว่าที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ 100 มิลลิโมลาร์ เป็นความเข้มข้นที่สามารถกระตุ้นการงอกในข้าวโพดมากที่สุด [19] นอกจากนี้เมล็ดหญ้ารูซี่ที่ได้รับสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์นั้น ยังช่วยส่งเสริมกระบวนการงอกของเมล็ดให้เกิดขึ้นได้เร็วกว่าเมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่น ซึ่งสอดคล้องกับหลายงานทดลอง

เช่น การแช่เมล็ดข้าวบาร์เลย์และถั่วเขียวในสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ สามารถกระตุ้นอัตราการงอกและลักษณะที่ดีของเมล็ดได้เพิ่มสูงขึ้น ขณะเดียวกันยังมีบทบาทช่วยกระตุ้นการทนต่อสภาวะความเครียดได้ดีอีกด้วย [20,24,25] ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เป็นปัจจัยที่สำคัญในการเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้กับเมล็ด และส่งผลให้เมล็ดพืชสามารถงอกได้เร็วขึ้น [25] ในส่วนของสารไนตริกออกไซด์เป็นสารที่ได้รับการรายงานว่าเกี่ยวข้องกับการควบคุมกระบวนการงอกและการพักตัวของเมล็ดพืช โดยสามารถทำลายระยะการพักตัวของเมล็ดและกระตุ้นการงอกของเมล็ดได้เร็วขึ้น (early seed germination) [26,16] นอกจากนี้ Liu และคณะ (2007) พบว่าสารไนตริกออกไซด์ที่ผลิตได้จากสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์นั้น สามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดข้าวได้เร็วขึ้น โดยผ่านการควบคุมของโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเข้าออกของน้ำ (water channels proteins) [17] และยังส่งผลต่อการทนต่อสภาวะความเครียดของเมล็ดพืชได้ดีอีกด้วย [16]

การเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิซึมของเมล็ดหญ้ารูซี่ในช่วงระหว่างการงอก จากการแช่เมล็ดในสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และสารไนตริกออกไซด์ที่ผลิตจากสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ พบว่าความเข้มข้นสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น สามารถกระตุ้นการยืดยาวของต้นอ่อน น้ำหนักสด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของหญ้ารูซี่เพิ่มสูงขึ้นด้วย ซึ่งสอดคล้องกับอัตราการงอกและความเร็วของการงอกของเมล็ดที่เร็วกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้มีรายงานว่าสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์นั้นสามารถกระตุ้นการยืดยาวในส่วนรากของถั่วเขียว และสารไนตริกออกไซด์ยังกระตุ้นการยืดยาวของรากพืชชนิด *Lupinus luteus* ได้ดี [27,28] Barba-Espin และคณะ (2012) กล่าวว่าโมเลกุลของออกซิเจนจากสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ มีผลโดยตรงต่อกระบวนการงอกของเมล็ดพืช ซึ่งเมล็ดในช่วงระหว่างการงอกมีอัตราการหายใจเกิดขึ้นสูง ต้องการโมเลกุลของออกซิเจนไปใช้ในกระบวนการสลายสารอาหารเพื่อให้ได้พลังงานซึ่งจะนำไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึมต่าง ๆ ภายในเซลล์ [21] รวมถึงช่วยในการทำลายการพักตัวของเมล็ด โดยเมล็ดที่อยู่ในช่วงระหว่างการงอกนั้นอาหารสะสมส่วนใหญ่ที่อยู่ในรูปของแป้งจะถูกย่อยสลายเป็นน้ำตาลที่มีโมเลกุลขนาดเล็กกว่าโดยเฉพาะกลุ่มของเอนไซม์อะไมเลส เพื่อนำไปสู่การกระตุ้นกระบวนการเจริญเติบโตของพืชในช่วงกระบวนการงอก [29] นอกจากนี้ สมบุญ (2548) กล่าวว่า การเจริญเติบโตของพืช คือ การที่พืชมีการเพิ่มความสูง เพิ่มขนาด ไปตามขั้นตอนของพืชนั้น ๆ ซึ่งคัพภะที่สามารถรับอาหารจากเอ็นโดสเปิร์มได้ดี จะมีการเจริญเติบโตได้ดีเช่นเดียวกัน [30] ดังนั้นเมล็ดหญ้ารูซี่ที่ได้รับสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้น 200 และ 300 มิลลิโมลาร์ และสารไนตริกออกไซด์ที่ผลิตจากสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ ที่มีความเข้มข้นอยู่ระหว่าง 12.5 ไปจนถึง 50 ไมโครโมลาร์ นอกจากจะเป็นสภาวะของความเข้มข้นที่มีความเหมาะสมต่อการกระตุ้นการงอกของเมล็ดแล้ว ยังมีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาเป็นต้นอ่อนของหญ้ารูซี่ เนื่องจากเอนไซม์สามารถเกิดการย่อยสลายสารอาหารที่สะสมภายในเมล็ดเพื่อนำไปใช้ในการงอกได้ดี

4. สรุป

ผลการประเมินเปรียบเทียบของสารประกอบที่ว่องไวปฏิกิริยาระหว่างกลุ่มโมเลกุลของออกซิเจนและกลุ่มไนโตรเจนต่อการกระตุ้นการงอก การเติบโต และเมตาบอลิซึมของหญ้ารูซี่ โดยการแช่เมล็ดหญ้ารูซี่ในสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และไนตริกออกไซด์ที่ผลิตได้จากสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ ทำให้

เปอร์เซ็นต์การงอก การเจริญเติบโต และกระบวนการเมตาบอลซึมของเมล็ดในช่วงการงอกของหญ้ารูซี่เพิ่มสูงขึ้น ขณะที่เมื่อระยะเวลาการแช่เมล็ดและความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์เพิ่มสูงขึ้น ยังส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด การเจริญเติบโต และเมตาบอลิซึมเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย ในส่วนอิทธิพลของสารไนตริกออกไซด์ที่ผลิตจากสารละลายโซเดียมไนโตรพรัสไซด์นั้น พบว่าระยะเวลาในการแช่เมล็ดและความเข้มข้นสารไนตริกออกไซด์มีความเหมาะสมในช่วงหนึ่ง แต่เมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลทำให้อัตราการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโต และเมตาบอลิซึมของหญ้ารูซี่ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าสารละลายไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์สามารถกระตุ้นอัตราการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโต และเมตาบอลิซึมในช่วงระหว่างการงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่ได้ดีกว่าสารไนตริกออกไซด์

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนบางส่วนจากทุนวิจัยรายได้ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ ประจำปี 2558 และทีมผู้วิจัยขอขอบคุณ ศูนย์เมล็ดพันธุ์พืชอาหารสัตว์แพร่ ที่ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์หญ้ารูซี่เพื่อใช้ในการทดลองครั้งนี้

6. รายการอ้างอิง

[1] Maia, G.A., De Pinho Costa, K.A., Da Costa Severiano, E., Epifanio, P.S., Neto, J.F., Ribeiro, M.G., Fernandes, P.B., Silva, J.F.G. and Gonçalves, W.G., 2014, Yield and chemical composition of *Brachiaria* forage grasses in the off season after corn harvest, AJPS. 5: 933-941.

[2] Pessoa-Filho, M., Azevedo, A.L.S., Sobrinho, F.S., Gouvea, E.G., Martins, A.M. and Ferreira, M.E., 2015, Genetic diversity and structure of ruzi grass germplasm collected in Africa and Brazil, Crop Sci. 55: 2736-2745.

[3] Pongtongkam, P., Peyachoknagul, S., Manawiboon, D., Arananant, J., Thongpan, A. and Tudsri S., 2006, Production of salt tolerant ruzi grass (*Brachiaria ruziziensis*) by tissue culture, Kasetsart J. Nat. Sci. 40: 449-455.

[4] สายัณห์ ทัดศรี, 2547, พืชอาหารสัตว์เขตร้อน, กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 534 น.

[5] Usberti, R., and Martins, L., 2007. Sulphuric acid scarification effects on *Brachiaria brizantha, B. humidicola* and *Panicum maximum* seed dormancy release, Rev. bras. Sementes 29: 143-147.

[6] Bouathong, C., Hare, M., Losirikul, M., and Wongpichet, K, 2011, Effect of nitrogen rates on plant growth, seed yield and seed quality of three lines of *Brachiaria* hybrid grass, Khon Kaen Agric. J. 39: 295-306.

[7] Bewley, J.D., 1997, Seed germination and dormancy, The Plant Cell. 9: 1055-1066.

[8] Nonokagi, H., 2006, Seed germination: The biochemical and molecular mechanisms, Breed Sci. 56: 93-105.

[9] ดวงเดือน คุณยศยิ่ง, สตีเฟน เอลเลียต และประสิทธิ์ วังภคพัฒนวงศ์, 2553, การกระตุ้นการงอกของเมล็ดไม้ต้นหายากบางชนิดเพื่อการฟื้นฟู

ป่าในภาคเหนือของประเทศไทย, ว.วิจัย มข. 15(10): 951-964.

[10] พิจิตรา แก้วสอน, สุรศักดิ์ เกษมสิริสวัสดิ์, ปริยานุช จุลกะ และจำนอง โสมกุล, 2556, การกระตุ้นความงอกของเมล็ดพันธุ์มะตาด (*Dillenia indica* L.) ด้วยน้ำ GA และ KNO_3, ว. วิทย์. กษ. 44(2): 85-88.

[11] สุลักษณ์ แจ่มจำรัส, สนธิชัย จันทร์เปรม, รงรอง หอมหวน, มณฑา วงศ์มณีโรจน์ และรัตนา เอการัม, 2555, การใช้สารไคโตซานร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวหอมมะลิ 105, การประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 9, นครปฐม.

[12] ชยพร แอคะรัจน์, 2548, ผลของน้ำยาสูบต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์มะเขือเทศ, รายงานผลการวิจัย, คณะวิชาพืชศาสตร์ วิทยาเขตกาฬสินธุ์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน , กาฬสินธุ์.

[13] Shaban, M., 2014, Effect of reactive oxygen species on germination and lipid peroxidation in sunflower seeds, IJABBR. 2: 2086-2090.

[14] Grave, D.B., 2012, The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology, J. Phys. D. Appl. Phys. 45: 263001.

[15] Wojtyla, L., Lechowska, K., Kubalat, S. and Garnczarska, M., 2016, Hydrogen peroxide action during germination, Front Plant Sci. 7: 1-16.

[16] Sirova, J., Sedlarova, M., Piterkova, J., Luhova, L. and Petrivalsky, M., 2011, The role of nitric oxide in the germination of plant seeds and pollen, Plant Sci. 181: 560-572.

[17] Liu, H.Y., Yu, X., Cui, D.Y., Sun, M.H., Sun, W.N., Tang, Z.C., Kwak, S.S. and Su, W.A., 2007, The role of water channel proteins and nitric oxide signaling in rice seed germination, Cell Res. 17: 638-649.

[18] Liu Y., Ye N., Liu R., Chen M. and Zhang J., 2010, H_2O_2 mediates the regulation of ABA catabolism and GA biosynthesis in *Arabidopsis* seed dormancy and germination, J. Exp. Bot. 61: 2979-2990.

[19] Gondim, F.A., Gomes-Filho, E., Lacerda, C.F., Prisco, J.T., Azevedo Neto, A.D. and Marques, E.C., 2010, Pretreatment with H_2O_2 in maize seeds: Effects on germination and seedling acclimation to salt stress, Braz. J. Plant Physiol. 22(2): 103-112.

[20] Barba-Espin, G., Diaz-Vivancos, P., Clemente-Moreno, M.J., Albacete, A., Faize, L., Faize, M, Perez-Alfocea, F. and Hernandez J.A., 2010, Interaction between hydrogen peroxide and plant hormones during germination and the early growth of pea seedlings, Plant Cell Environ. 33: 981-994.

[21] Barba-Espin, G., Hernandez, J.A. and Diaz-Vivancos, P., 2012, Role of H_2O_2 in pea seed germination, Plant Signal Behav. 7: 193-195.

[22] ศศิธร แท่นทอง, 2551, ชาข้าวงอก (Germinated rice tea), รายงานการวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์, เพชรบูรณ์.

[23] Ishibashi, Y., Yamamoto, K., Tawaratsumida, T., Yuasa, T. and Iwaya-Inoue, M., 2008, Hydrogen peroxide scavenging regulates germination ability during wheat (*Triticum aestivum* L.) seed maturation, Plant Signal Behav. 3: 183-188.

[24] Çavusoglu, K. and Kabar, K., 2010, Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses, Eur. Asia J. BioScience 4: 70-79.

[25] Liu, G., Porterfield, D.M., Li, Y. and Klassen, W., 2012, Increased oxygen bioavailability improved vigor and germination of aged vegetable seeds, Hort. Sci. 47: 1714-1721.

[26] Arc, E., Gallang, M., Godin, B., Cueff, G. and Rajjou, L., 2013, Nitric oxide implication in the control of seed dormancy and germination, Front Plant Sci. 4: 346.

[27] Li, S.W., Xue, L., Xu, S., Feng, H. and An, L., 2009, Hydrogen peroxide acts as a signal molecule in the adventitious root formation of mung bean seedling, Environ. Exp. Bot. 65: 63-71.

[28] Kopyra, M. and Gwozdz, E.A., 2003, Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus,* Plant Physiol. Biochem. 41: 1011-1017.

[29] นงนุช วงศ์สินชวน, 2555, การเพาะข้าวกล้องงอก, ว.รูสมิแล 33(2): 57-62.

[30] สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2548, ชีววิทยาพืช, ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน, 297 น.