

การเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง [*Glycine max* (L.) Merr.]  
ที่เก็บรักษาภายใต้สภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่ำและสูง : การเปลี่ยนแปลงในความงอก  
ความแข็งแรง เมมเบรนเพอร์มิอิลิตีและการเจริญของเชื้อรา

**Deterioration of Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] Seed  
Stored under Low and High Relative Humidity : Changes in Germination,  
Vigor, Membrane Permeability and Growth of Storage Fungi**

อารมย์ ศรีพิจิตร<sup>1</sup>      จริชาติ โคตรดงเค็ง<sup>1</sup>  
Arom Stripichitt<sup>1</sup>      Jarichart Kodedongkeng<sup>1</sup>

**ABSTRACT**

Understanding the cause of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) seed deterioration during storage will aid us in devising methods to detect, maintain, and improve stand establishment. This study was designed to investigate early deteriorate changes of stored soybean seeds. To explore the mechanism of ageing, high quality seeds of the cultivar SJ5 harvested at physiological maturity were stored at room temperature with 5 moisture contents (6, 8, 10, 12% and variable moisture). Seed quality (germination and vigor), leakage conductivity, water absorption, staining with Evans blue and triphenyl tetrazolium chloride (TTC) and fungal infection were measured every 300 days during storage. Germination and vigor remained high only in seeds containing 6% moisture content throughout storage, where as seeds with 8% showed small changes in the quality. Conductivity of seed leakage and water uptake increased for all seed moisture contents; however, this increment occurred early during storage prior to changes in seed quality of 6% seed moisture content. Staining seeds with Evans blue and TTC encouraged the changes in membrane integrity causing seed leakage which preceded measurable declines in seed quality. In addition, increase of fungi invasion did not associate with loss of seed quality. These results indicate that changes in membrane integrity appeared to be the first stage in seed deterioration.

**Keywords :** *Glycine max*, deterioration, storage

1 ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ถนนฉลองกรุง ลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520 โทร. 3268507

Department of Plant Production Technology, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology, Ladkrabang, Chalongsong Rd., Ladkrabang, Bangkok 10520. Telephone 3268507.

การเข้าใจถึงสาเหตุการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง [*Glycine max* (L.) Merr.] ในระหว่างการเก็บรักษาจะช่วยให้เราสามารถค้นหาวิธีในการตรวจสอบควบคุมการเสื่อมและปรับปรุงให้เมล็ดพันธุ์งอกและตั้งตัวเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระยะเริ่มแรกของการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในระหว่างการเก็บรักษาในการศึกษาการเสื่อมสภาพนี้ใช้เมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ซึ่งมีคุณภาพสูงโดยเก็บเกี่ยวเมื่อสุกแก่ทางสรีรวิทยาทำการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ซึ่งมีความชื้น 5 ระดับ (6, 8, 10, 12% และความชื้นที่ผันแปรไปตามสภาพอากาศ) ที่อุณหภูมิห้อง ทำการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ (ความงอกและความแข็งแรง) การนำไฟฟ้าของสารรั่วไหล การดูดน้ำ การย้อมสีด้วย Evans blue และ triphenyl tetrazolium chloride (TTC) และการเจริญของเชื้อราทุกระยะ 30 วัน ในระหว่างการเก็บรักษาพบว่าความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดที่มีความชื้น 6% ไม่ลดลงเลยตลอดการเก็บรักษาในขณะที่คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้น 8% ลดลงเล็กน้อย การนำไฟฟ้าของสารรั่วไหลจากเมล็ดและการดูดน้ำของเมล็ดเพิ่มขึ้นในทุกระดับความชื้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นดังกล่าวเกิดขึ้นในระยะแรกระหว่างการเก็บรักษาโดยเกิดก่อนที่จะมีการเปลี่ยนแปลงในคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้น 6% การย้อมสีเมล็ดด้วย Evans blue และ TTC เป็นเครื่องสนับสนุนถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของเมมเบรนซึ่งก่อให้เกิดการรั่วไหลของเมล็ดโดยเกิดขึ้นก่อนตรวจพบการลดลงในคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ นอกจากนี้การเจริญเพิ่มขึ้นของเชื้อราที่ไม่ได้มีความสัมพันธ์กับการสูญเสียในคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ผลเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของเมมเบรนอาจเป็นระยะเริ่มแรกของการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์

**คำหลัก :** เมล็ดถั่วเหลือง การเสื่อมสภาพ การเก็บรักษา

เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงกล่าวได้ว่าเป็นพื้นฐานสำคัญที่นำไปสู่ความสำเร็จในการเกษตรแผนใหม่ ซึ่งต้องการให้เมล็ดพันธุ์ทุกเมล็ดที่ปลูกลงเป็นต้นกล้าที่แข็งแรงอย่างรวดเร็วอย่างไรก็ตามการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองให้มีคุณภาพดีและยังคงมีความงอกและความแข็งแรงสูงในระหว่างการเก็บรักษาเป็นสิ่งที่ไม่ได้ยากโดยเฉพาะในเขตร้อนชื้น ทั้งนี้เนื่องจากการมีอุณหภูมิและความชื้นของอากาศสูงและการมีฝนตกบ่อย ๆ สลับกับอากาศร้อน สิ่งแวดล้อมเช่นนี้เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว ซึ่งอาจเกิดขึ้นได้ตั้งแต่ภายหลังการสุกแก่ก่อนเก็บเกี่ยว (preharvest postmaturity period) หรือในระหว่างการเก็บรักษา (Delouche, 1980; Delouche et al., 1973)

โดยปกติคุณภาพของเมล็ดพันธุ์จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นในระหว่างการพัฒนาของเมล็ดและเกิดขึ้นสูงสุดเมื่อเมล็ดมีการสุกแก่ทางสรีรวิทยา (physiological maturity, PM) หลังจากระยะ PM ไปแล้วความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์จะลดลง เนื่องจากเมล็ดเกิดการเสื่อมสภาพ ซึ่งจะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับสภาพของสิ่งแวดล้อมเป็นสำคัญ Delouche (1980) ได้สาธิตให้เห็นว่าสภาพอากาศที่มีฝนตกบ่อยๆ และมีอุณหภูมิสูง ในขณะที่เมล็ดพันธุ์สุกแก่แล้วแต่ยังไม่เก็บเกี่ยวทำให้ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของธนีนาฏ และคณะ (2521ก) นอกจากนี้ยังทำให้อายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์สั้นอีกด้วย (ธนีนาฏ และคณะ, 2521ข) ดังนั้นการใช้เมล็ดพันธุ์ที่สุกแก่ในระยะ PM จึงน่าที่จะมีความเหมาะสมอย่างยิ่งในการศึกษาการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากระยะนี้เป็นระยะที่การเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์จะเริ่มต้นขึ้น อัตราการเสื่อมสภาพเป็นไปตามสภาพสิ่งแวดล้อม การเปลี่ยนแปลงภายในของ

เมล็ดพันธุ์ที่เกิดขึ้นก่อนหรือพร้อมกับการสูญเสียความมีชีวิต อาจเป็นสาเหตุเบื้องต้นของการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์

ในปัจจุบันเชื่อกันว่า lipid peroxidation เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมสภาพเพราะจะทำให้เกิดสารที่ทำความเสียหายแก่ระบบต่าง ๆ เช่น สูญเสียการทำงานของเอนไซม์ โปรตีน เสื่อมสภาพการหายใจลดลงเมมเบรนเสียหาย ระวังการสังเคราะห์โปรตีน (Halmer and Bewley, 1984; Wilson and McDonald, 1986; McDonald, 1999) ในบรรดาการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเชื่อกันว่าความเสียหายที่เกิดกับเมมเบรนเป็นปรากฏการณ์แรกที่เกิดขึ้นในระหว่างการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ (Delouche and Baskin, 1973; Ferguson *et al.*, 1990 a; McDonald, 1999) ซึ่งจะนำไปสู่การสูญเสียความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ในที่สุด (Delouche and Baskin, 1973; Halmer and Bewley, 1984) ข้อสมมุติฐานนี้มีทั้งนักวิทยาศาสตร์ที่เห็นด้วย (Basavaragappa *et al.*, 1991; Shephard *et al.*, 1996) และขัดแย้ง (Priestley and Leopold, 1979; Aiazzi *et al.*, 1996)

ดังนั้นกลไกการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์จึงยังคงไม่ชัดเจนว่าอะไรคือสาเหตุที่ทำให้คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ลดลงมีวิธีการหลายอย่างที่อาจเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงในคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เช่น อัตราการดูดน้ำของเมล็ดความงอกในห้องปฏิบัติการ การเร่งอายุ กิจกรรมของเอนไซม์โดยการย้อมสีด้วย TTC (2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride) electrical conductivity ของสารที่รั่วไหลออกมาจากเมล็ด (seed leakage) การตรวจหาเชื้อรา อาจมีบางวิธีการเหล่านี้ที่สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงทาง สรีรวิทยาและชีวเคมีที่เกิดขึ้นในระยะแรกก่อนที่จะนำไปสู่การสูญเสียความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ การวิจัยเกี่ยวกับการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในประเทศไทยมีอยู่น้อย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง

การศึกษาเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความชื้นและระยะเวลาเก็บรักษาที่แตกต่างกัน การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงในความงอก ความแข็งแรง membrane permeability และการเจริญของเชื้อราของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ซึ่งรักษาภายใต้สภาพที่เอื้ออำนวยต่อการเกิดการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์

### อุปกรณ์และวิธีการ

ใช้เมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์สง.5 ซึ่งเป็นเมล็ดพันธุ์ขยายของศูนย์ขยายพันธุ์พืชที่ 20 กรมส่งเสริมการเกษตรปลูกเมื่อวันที่ 5 มิถุนายน 2542 ที่ ต. ลีนลีน อ. ทองผาภูมิ จ. กาญจนบุรี เก็บเกี่ยวเมื่อฝักถั่วเหลืองเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหมดทั้งฝัก (เมล็ดสุกแก่ที่ PM) สุ่มเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นโดยทันที ฝักฝักถั่วเหลืองที่เก็บเกี่ยวในห้องปฏิบัติการจนกระทั่งความชื้นเมล็ดลดลงเหลือประมาณ 11% (ทำโดยอบเมล็ดที่ 105° ซ. นาน 24 ชั่วโมง) นวดเมล็ดด้วยมือแล้วทำการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ membrane permeability และการย้อมสีเนื้อเยื่อเมล็ด

### การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

1. การตรวจสอบความงอก ใช้วิธีการตรวจสอบความงอกมาตรฐานที่กำหนดโดย ISTA (1985) เพาะเมล็ดบนกระดาษเพาะที่ขึ้นด้วยน้ำกลั่นประเมิณผลความงอกหลังเพาะ 7 วัน

2. การตรวจสอบความแข็งแรง วิธีการที่ใช้ได้แก่การทดสอบการเร่งอายุ นำเมล็ดไปอบที่ 40° ซ. ความชื้นสัมพัทธ์ 100% นาน 48 ชั่วโมง (Tao, 1979) แล้วทำการทดสอบความงอกมาตรฐาน

### การตรวจสอบ membrane permeability

1. การวัดการดูดน้ำ นำเมล็ดแช่ในบีกเกอร์

(250 มล.) ซึ่งมีน้ำกลั่นอยู่ 50 มล. อบที่อุณหภูมิ 20°ซ วัดอัตราการดูดน้ำของเมล็ดทุก ๆ ระยะ 1 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง และวัดครั้งสุดท้ายเมื่อแช่เมล็ดได้ 24 ชั่วโมง

2.การวัดค่า conductivity ของสารที่รั่วไหล ออกมาจากเมล็ด (conductivity of seed lakage) ใช้วิธีการของ AOSA (1983) แช่เมล็ดในบีกเกอร์ (250 มล.) ที่มีน้ำกลั่น 75 มล. อบที่ 20° ซ. วัดค่า conductivity ของสารที่รั่วไหลออกจากเมล็ดทุก ๆ ระยะ 1 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง และวัดครั้งสุดท้ายที่ 24 ชั่วโมง

3.การย้อมสีเนื้อเยื่อเมล็ดด้วย Evans blue ทำให้เยื่อหุ้มเมล็ดอ่อนนุ่มด้วยการให้เมล็ดจำนวน 10 เมล็ด ดูดน้ำอย่างช้า ๆ บนกระดาษเพาะนาน 16 ชั่วโมง ผ่าครึ่ง เมล็ดตามยาวแล้วแช่ในสารละลาย Evans blue 1% (w/v) นาน 2 ชั่วโมง (Schoettle and Leopold, 1984) ล้างเมล็ดด้วยน้ำประปา ใช้ใบมีดโกนตัดเนื้อเยื่อสีไปส่อง ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

4.การย้อมสีเนื้อเยื่อเมล็ดด้วยสารละลาย TTC ทำตามวิธีการของ AOSA (1970)

### การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์

แบ่งเมล็ดออกเป็น 5 กลุ่ม (กลุ่มละ 680 กรัม) เก็บรักษาไว้ใน desiccator ที่มีสารละลายเกลืออิมตัว เพื่อควบคุมเมล็ดให้มีความชื้นโดยประมาณ 4 ระดับ คือ 6, 8, 10 และ 12% โดยเก็บเมล็ดไว้ในหีบสารละลายเกลืออิมตัวของ sodium chloride (NaCl), sodium nitrite (NaNO<sub>2</sub>), magnesium chloride 6 hydrat (Mg Cl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O) และ magnesium nitrate 6 hydrat (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O) ตามลำดับส่วนกลุ่มสุดท้าย เก็บไว้ในถุงกระดาษสีน้ำตาล (เพื่อให้ความชื้นของเมล็ด ผันแปรไปตามสภาพอากาศ) ที่อุณหภูมิห้องสุ่มตัวอย่าง เมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบคุณภาพ membrane permeabil-

ity การย้อมสีเนื้อเยื่อเมล็ดและตรวจหาเชื้อราทุกระยะ 30 วันเป็นเวลา 150 วัน

### การตรวจหาเชื้อราในเมล็ดในระหว่างการเก็บรักษา

ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวภายนอกของเมล็ดโดยแช่ใน สารละลาย sodium hypochlorite 1% (v/v) นาน 3 นาที จึงล้างด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์แล้ว เพาะเมล็ดบน malt salt agar (Harrison and Perry, 1976) ที่อุณหภูมิ 25° ซ. ในที่มีดินาน 7-10 วัน ตรวจสอบ genus ของเชื้อรา ด้วยกล้องจุลทรรศน์

### การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทุกการทดลองทำ 4 ซ้ำ ๆ ละ 25 เมล็ดยกเว้นการ ย้อมสีด้วย Evans blue หาค่าความสัมพันธ์ระหว่าง ลักษณะต่าง ๆ ของเมล็ดโดย simple correlation coefficient

### ผลและวิจารณ์

จากการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองให้เสื่อมสภาพเองไปตามธรรมชาตินั้น เราพบว่าปัจจัยของความ ชื้นเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองและระยะเวลาในการเก็บรักษา ก่อให้เกิดความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญต่อการเสื่อมสภาพ ของเมล็ดพันธุ์ในลักษณะต่าง ๆ กัน

เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของความชื้นและระยะเวลาการ เก็บรักษาก็จะทำให้ความงอก (Figure 1) และความแข็งแรง (Figure 2) ลดลง ในบรรดาระดับความชื้นทั้งหมดพบว่า มีเพียงเมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้น 6% เท่านั้นความงอกไม่ลด ลงตลอดอายุการเก็บรักษา (Table 1 และ Figure 1) นอกจากนี้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ก็ยังไม่ลดลงอีก ด้วย (Figure 2) ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ที่ 8% มีความงอก และความแข็งแรงลดลงเล็กน้อย สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่าการ เสื่อมสภาพ ได้เกิดขึ้นแล้วในขณะที่ดูเหมือนว่าเมล็ดพันธุ์ ที่ความชื้น 6% ไม่มีการเสื่อมสภาพเกิดขึ้นเพราะไม่

พบว่ามีการลดลงของความงอกและความแข็งแรง  
อย่างไรก็ตามในทุกระดับความชื้นของเมล็ดพันธุ์พบว่า  
มีการเพิ่มขึ้นของ membrane permeability ไม่ว่าจะเป็นการ  
การรั่วไหลและการดูดน้ำของเมล็ดตลอดอายุการเก็บรักษา  
(Table 1) แต่ทำไมการเพิ่มขึ้นของ membrane per-  
meability จึงไม่มีผลต่อการสูญเสียความงอกและความ  
แข็งแรงของเมล็ดที่ความชื้น 6% แต่เพียงระดับเดียวเท่านั้น  
(Figure 1 และ 2) คำอธิบายที่น่าจะเป็นไปได้ อาจเกิด  
จากเราเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ซึ่งสูงแก่ที่ PM ระยะเวลาเป็น  
ระยะที่เมล็ดที่มีระดับการเสื่อมสภาพเกิดขึ้นน้อยที่สุด  
(Dombos, 1995) ในการทดลองนี้เราพบว่าเมล็ดพันธุ์  
ถั่วเหลืองที่ PM มีความงอก 94% และความแข็งแรง  
97% จึงเป็นการยืนยันได้ว่าเมล็ดพันธุ์ที่ PM ที่ใช้ในการ  
ศึกษานี้มีการเสื่อมสภาพเกิดขึ้นน้อยมาก นอกจากนี้การ  
ลดความชื้นเมล็ดให้เหลือเพียง 6% ในระหว่างการเก็บ  
รักษายังเป็นการทำให้อายุของเมล็ดยาวนานขึ้น หรือเสื่อม  
ช้าลง (Harrington, 1973) ดังนั้นเมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้น  
ต่ำกว่าจะมีอัตราการเสื่อมสภาพเกิดขึ้นช้ากว่าเมล็ดพันธุ์  
ที่มีความชื้นสูงกว่า

ถึงแม้ว่าเมล็ดที่ความชื้น 6% จะไม่แสดงอาการ  
เสื่อมสภาพออกมาให้เห็นในด้านความงอกและความ  
แข็งแรง แต่จากการติดตามการรั่วไหลของเมล็ดเป็นระยะๆ  
ภายใน 24 ชั่วโมงของระยะ 30 วันแรกของการเก็บรักษา  
(Figure 3) พบว่าการรั่วไหลได้เพิ่มขึ้นให้เห็นอย่างชัดเจน  
เมื่อแช่เมล็ดไปได้เพียงชั่วโมงเดียวเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบกับ  
การรั่วไหลของเมล็ดก่อนเก็บรักษา ความแตกต่าง  
นี้จะเห็นได้อย่างชัดเจนมากในเมล็ดที่มีความชื้น 12%  
และเมล็ดพันธุ์ที่เก็บในถุงกระดาษหรือในสภาพเปิด  
นอกจากนี้ผลจากการดูดน้ำของเมล็ดที่เพิ่มขึ้นอย่าง  
รวดเร็วในระยะแรกเมื่อเปรียบเทียบกับ การดูดน้ำของ  
เมล็ดก่อนเก็บรักษา (Figure 4) เป็นการสนับสนุน  
ว่าเนื้อเยื่อของเมล็ดมีความเสียหายของเมมเบรนเกิดขึ้น  
(Sreeramulu, 1983) ส่วนเมล็ดที่มีความชื้น

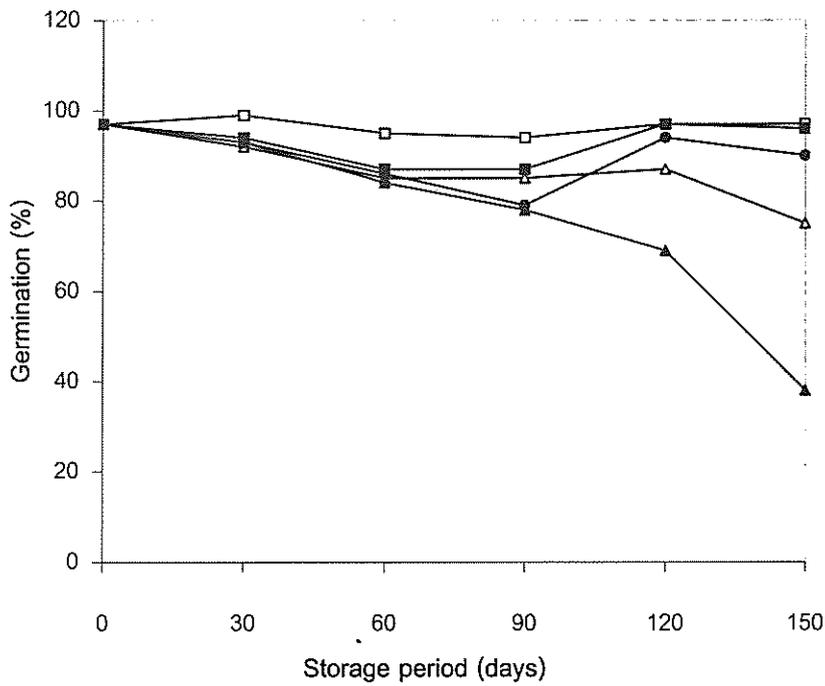
สูงกว่าคือ 12% และ variable moisture การดูดน้ำจะ  
เกิดขึ้นเร็วกว่าโดยทันทีภายใน 2-3 ชั่วโมงแรกและเป็น  
ไปในลักษณะนี้โดยตลอด 24 ชั่วโมง (Figure 4)  
ลักษณะเช่นนี้เป็นไปในลักษณะเดียวกันกับการรั่วไหล  
ที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (Figure 3) ดังนั้นน้ำจึงสามารถ  
เข้าไปภายในเมล็ดได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดการผสมกัน  
ของสารต่าง ๆ ที่รั่วไหลออกจาก เมมเบรนของ vacuole  
nucleus และ mitochondria (Abdul-Baki, 1980)  
การผสมกันเช่นนี้อาจทำให้เมล็ดพันธุ์สูญเสียความงอก  
และความแข็งแรง ผลจากการย้อมสีเนื้อเยื่อเมล็ดที่มี  
ความชื้น 6% ด้วย TTC (Table 2) พบว่ามีการเสื่อมสภาพ  
เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาโดยเฉพาะการเพิ่มขึ้น  
ของสัดส่วนเมล็ดในกลุ่มที่ติดสีแดงเข้ม (T3) ซึ่งเกิด  
เนื่องจากสารละลาย TTC ซึมเข้าไปในเนื้อเยื่อได้ลึกจึง  
ทำให้มองเห็นเป็นสีแดงเข้มกว่าเนื้อเยื่อปกติ ซึ่งติดสีแดง  
สดใส (Byrd, 1970 อ้างโดย Powell and Matthews,  
1977) ดังนั้นสิ่งนี้เป็นการยืนยันถึงความเสียหายของ  
เมมเบรน ทำให้เซลล์ไม่สามารถควบคุมการดูดซึม TTC  
ได้ นอกจากนี้การรั่วไหลของเมล็ดที่ 6% ยังปรากฏออก  
มาให้เห็นโดยทันทีเมื่อแช่น้ำไปได้เพียงชั่วโมงเดียว  
(Figure 3) ทั้ง ๆ ที่พืชจะเก็บรักษาไปได้เพียง 30 วัน  
เท่านั้น โดยที่ไม่พบการสูญเสียความงอกและความ  
แข็งแรงในระยะการเก็บรักษาเดียวกันอีกด้วย (Figure 1  
และ 2) สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่าการเสื่อมสภาพของเมม  
เบรนน่าจะเป็นปรากฏการณ์แรกสุดในกระบวนการเสื่อมสภาพ  
ของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับนักวิทยาศาสตร์หลาย  
ท่าน (Delouche and Baskin, 1973; Powell and  
Matthews, 1977; Basavarajappa *et al.*, 1991)

เมื่อเมล็ดมีความชื้นเพิ่มขึ้น ความงอกและความ  
แข็งแรงก็จะลดลง ในขณะเดียวกันเมล็ดก็มีการรั่วไหล  
เพิ่มขึ้นด้วย (Figure 3) สิ่งนี้แสดงให้เห็นว่าการเก็บรักษา  
เมล็ดพันธุ์ที่มีความชื้นสูงกว่า 6% ความเสียหายที่เกิด  
กับเมมเบรนของเซลล์จะรุนแรงกว่า เซลล์ก็จะติดสีน้ำเงิน

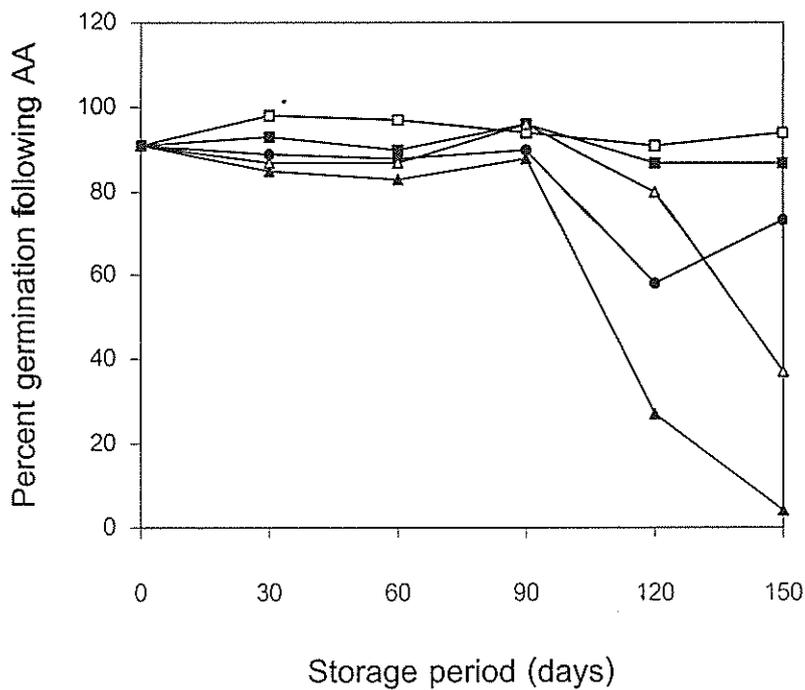
Table 1 Effect of various seed moisture contents on germination, leakage conductivity and water absorption during storage of soybean seeds

Storage Period (days)	Seed moisture contents%				
	6%	8%	10%	12%	V <sup>1</sup>
0	97±3.3	97±3.3	97±3.3	97±3.3	97±3.3
30	99±1.7	94±2.0	92±4.8	93±4.3	93±5.9
60	95±3.3	87±3.3	85±5.1	84±4.8	86±4.4
90	94±4.4	87±3.3	85±3.3	87±3.4	79±7.6
120	97±3.3	97±3.3	87±7.1	69±3.3	94±4.5
150	97±3.3	96±2.8	75±7.8	38±4.5	90±4.4
	Leakage conductivity ( $\mu$ S cm <sup>-1</sup> g <sup>-1</sup> seed)				
0	35±1.9	35±1.9	35±1.9	35±1.9	35±1.9
30	35±2.7	38±1.7	39±1.6	41±2.9	36±2.9
60	39±4.1	44±3.9	46±3.7	47±6.1	41±1.2
90	41±2.4	40±1.8	42±3.2	49±1.5	40±2.9
120	42±2.8	43±2.3	51±2.2	61±4.2	50±5.2
150	40±1.2	42±1.4	54±3.3	91±8.3	57±2.7
	Water absorption (mg seed <sup>-1</sup> )				
0	138±8.9	138±8.9	138±8.9	138±8.9	138±8.9
30	146±2.9	139±1.8	166±8.2	176±5.9	172±7.5
60	146±5.0	142±4.3	149±2.5	167±4.4	158±8.0
90	142±4.6	143±4.8	163±6.4	174±8.8	157±2.6
120	155±9.5	139±2.8	169±4.2	160±2.0	136±7.1
150	145±10.3	183±8.9	213±7.0	238±7.5	202±4.0

V<sup>1</sup> = variable moisture



**Figure 1** Changes in germination capacity during storage of soybean seeds at various moisture contents. □ ,6% ■ ,8% △ ,10% ▲ ,12% ● , variable moisture



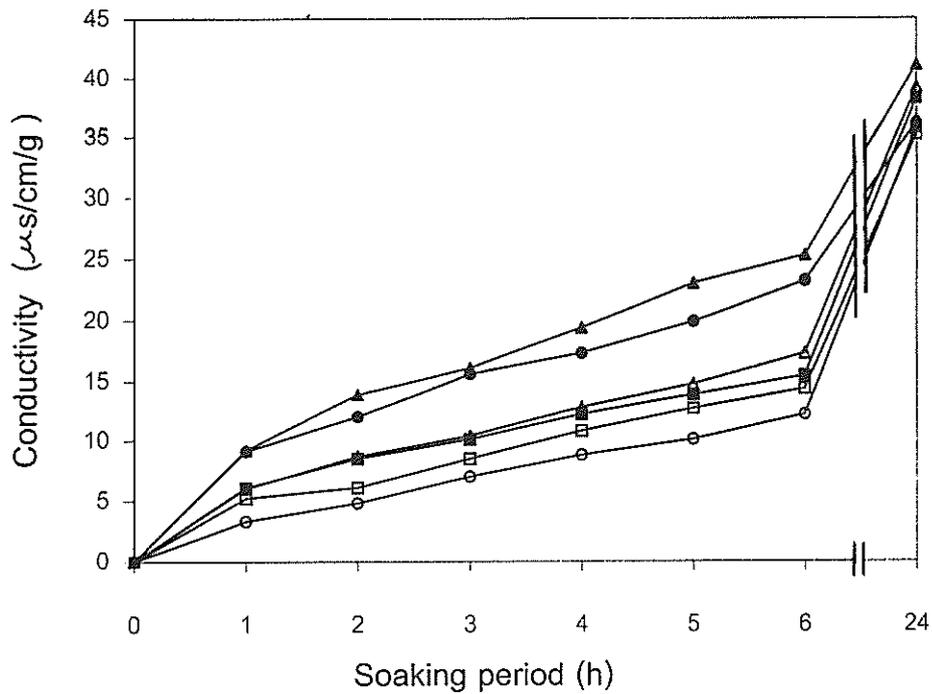
**Figure 2** Changes in vigor (percent germination following accelerated ageing) during storage of soybean seeds at various moisture contents. □ ,6% ■ ,8% △ ,10% ▲ ,12% ● , variable moisture

จากการย้อมด้วย Evans blue จึงทำให้คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ลดลงส่วนเซลล์ปกติจะไม่ติดสีเพราะเมมเบรนไม่ได้รับ ความเสียหายที่ ย้อมจึงเข้าไปไม่ได้ (Figure 5) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ching (1972) และ Powell and Matthews (1977) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลง ในความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดมีความสัมพันธ์ สูงกับการรั่วไหล (Table 3) ดังนั้นการสูญเสียในคุณภาพ เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จึงน่าที่จะมีสาเหตุสำคัญมากจากการ เสื่อมสภาพของเมมเบรนซึ่งจะนำไปสู่การสูญเสียความงอก และความแข็งแรงในที่สุด

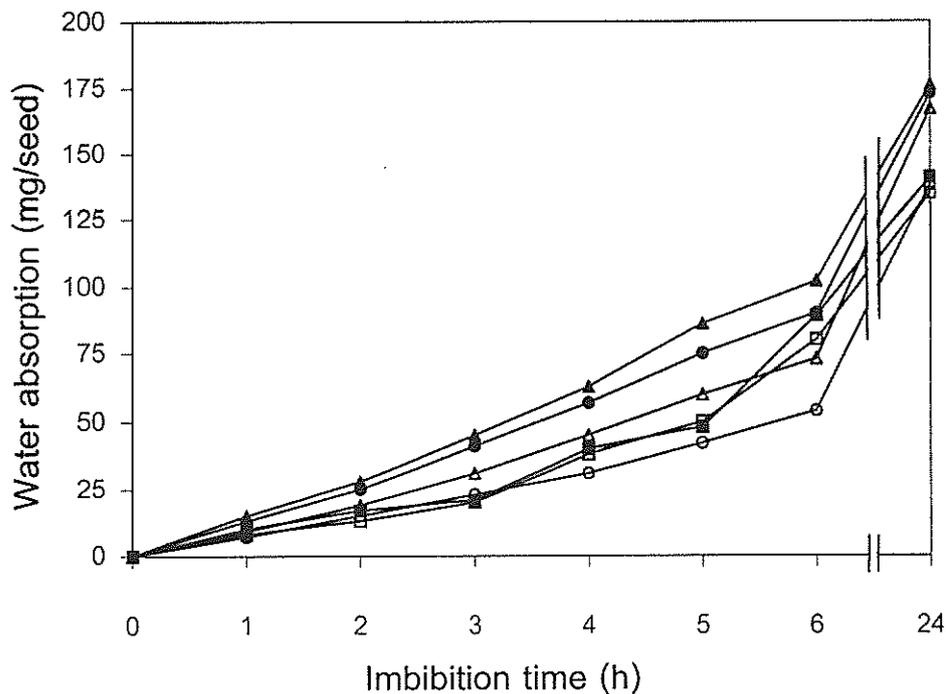
McDonald (1999) ได้เสนอว่า lipidperoxidation เป็นสาเหตุเบื้องต้นในการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ โดยอาจก่อให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์ในลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ mitochondria เสียหาย กลไกการสังเคราะห์ เอนไซม์เสื่อม เมมเบรนและ nuclear membrane เสียหาย การที่ระบบเมมเบรนของเซลล์ได้รับความเสียหาย โดยง่ายก็เพราะเมมเบรนนั้นประกอบด้วยสัดส่วนของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวสูง จึงทำให้เกิดความเสียหายจาก peroxidation ได้ง่าย (Harrington, 1973; Ferguson et al., 1990 b) การเปลี่ยนแปลงของไขมันดังกล่าวทำให้โครงสร้างของเมมเบรนไม่สามารถกลับคืนในลักษณะ เดิมจึงทำให้เกิดการรั่วไหลของสารอินทรีย์ต่าง ๆ ออกจากเมล็ด (Parrish and Leopold, 1978; Sreeramulu, 1983) นอกจากนี้ Ferguson et al., (1990 a) ยังพบว่า เมมเบรนของ mitochondria ในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเสื่อม ก่อนที่จะมีการสูญเสียความแข็งแรงในระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้นการที่เมล็ดพันธุ์สูญเสียความแข็งแรงจึงอาจเกิด จากการเสื่อมของ mitochondria ได้เพิ่มขึ้นจนถึงระดับวิกฤติก่อนแล้วจึงทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง การเสื่อมของเมมเบรนนี้ยังสัมพันธ์กับการรั่วไหลของ ตันอ่อน (embryo) ของเมล็ดอีกด้วย ดังนั้นเมื่อเมล็ดเกิดการรั่วไหลอาจทำให้ความสามารถในการผลิตพลังงานของ

mitochondria ลดลงการ มีพลังงานไม่เพียงพอย่อมมีผล ทำให้เมล็ดพันธุ์สูญเสียความงอกและความแข็งแรงไปด้วย นอกเหนือไปจากความเสียหายที่เกิดกับเซลล์ในลักษณะ ต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วโดย Mc Donald (1999)

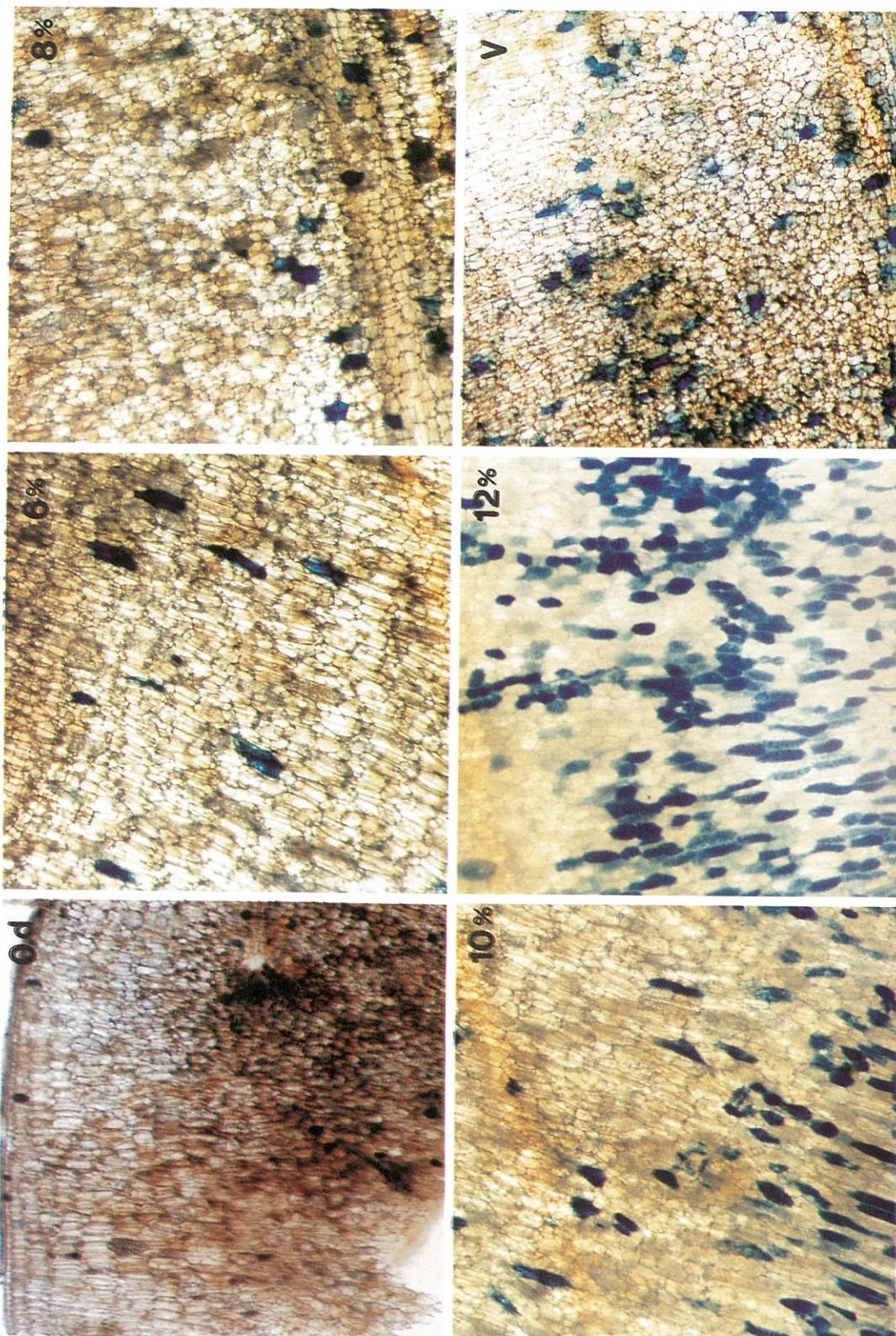
สภาพอากาศในเขตร้อนชื้นนอกจากจะทำให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว เนื่องจากการเปลี่ยนแปลง ภายใต้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา อีกด้วย (Christensen, 1972) นักวิทยาศาสตร์หลายท่าน พบว่าการเจริญของเชื้อรามีความสัมพันธ์กับการสูญเสีย ความงอกในเมล็ดพันธุ์หลายชนิด เช่น ถั่วลิสง (*Pisum sativum* L.) (Fields and King, 1962) ข้าวโพด (Moreno-Martinez et al., 1994) ถั่วเหลือง (Kabeere and Taligoola, 1983) และข้าวเปลือก (Mallick and Nandi, 1979) ผลจากการศึกษาของเราพบว่าการเจริญ ของเชื้อราจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของความชื้นเมล็ด และระยะเวลาการเก็บรักษา (Figure 6) เมล็ดที่มีความชื้น 6 และ 8% ไม่ได้แสดงการเพิ่มขึ้นของเชื้อราอย่างมีนัย สำคัญตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาส่วนเมล็ดที่มีความชื้น 10% มีการเพิ่มขึ้นของเชื้อราอย่างรวดเร็วหลังจากเก็บ รักษาไปได้ 30 วัน และไม่เพิ่มขึ้นอีกภายหลังเก็บรักษา ไปได้ 90 วัน ในขณะที่เมล็ดที่มีความชื้น 12% และ variable moisture เชื้อราเจริญอย่างรวดเร็วกว่าเมื่อเก็บ รักษาไปได้เพียง 30 วัน และยังคงดำเนินไปเช่นนี้ตลอด อายุการเก็บรักษา Christensen (1978) รายงานว่าเชื้อรามี ความสามารถที่จะเจริญเติบโตได้ในสถานที่ที่มีความชื้น สัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 68-90% ด้วยเหตุนี้เราจึงพบว่าเมล็ดที่ มีความชื้น 10% เชื้อราก็ยังคงเจริญเติบโตได้ถึงแม้จะไม่ มากเท่าเมล็ดที่มีความชื้นสูงกว่าก็เพราะความชื้นสัมพัทธ์ ของเมล็ดอยู่ที่ประมาณ 70% ดังนั้นการเก็บรักษาเมล็ด พันธุ์ที่มีความชื้นต่ำกว่า 10% จึงเป็นสภาพที่ไม่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ถึงแม้จะพบเชื้อราอยู่บ้าง ก็น่าที่จะเกิดจากการปนเปื้อน (contamination)



**Figure 3** Changes in leakage conductivity from soybean seeds stored for 30 days at various moisture contents by comparing with soybean seeds before storage (○) □ ,6% ■ ,8% △ ,10% ▲ ,12% ● , variable moisture



**Figure 4** Changes in water absorption by soybean seeds stored for 30 days at various moisture contents by comparing with soybean seeds before storage(○). □ ,6% ■ ,8% △ ,10% ▲ ,12% ● , variable moisture



**Figure 5** Effect of different moisture contents (od= before storage, 6%, 8%, 10%, 12% and V = variable moisture) on membrane damage as shown by Evans Blue staining of the cells of soybean seeds stored for 60 days.

Table 2 Effect of different storage periods on TTC staining patterns of soybean seed containing 6 % moisture content.

Storage period (days)	TTC staining patterns								
	Viable seeds(%)				Non-viable seeds(%)				
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
0	61	18	8	5	4	ND	4	ND	ND
30	62	2	31	4	1	ND	ND	ND	ND
60	87	ND	8	3	1	ND	1	ND	ND
90	73	ND	18	4	4	ND	1	ND	ND
120	79	1	8	3	5	3	1	ND	ND
150	69	1	23	4	3	ND	ND	ND	ND

Viable seeds	T1	Seed completely stained, stain is uniform
	T2	Seed completely stained with minor light stained area.
	T3	Seed completely stained with dark red or intense staining(less than 50%) irregularly distributed on cotyledons except the embryonic axis.
	T4	Minor unstained area (less than 30%) irregularly distributed on the cotyledons except at the juncture of cotyledons and the axis.
Non-Viable seeds	T5	Seed with unstained areas: (1) more than 50% or extreme tip of radicle; (2) on region where plumule located;(3) on or near point of attachment of cotyledons and axis.
	T6	Seed stained with dark red :(1) on axis;(2) in more than 50% of the upper cotyledonary tissue including axis; (3) at the point of attachment of cotyledons and axis over plumule position.
	T7	Seed completely stained with dark red.
	T8	Seed unstained almost 100%
	T9	Seed completely unstained.

ND = not detected

Table 3 Correlation coefficients of some seed parameters.

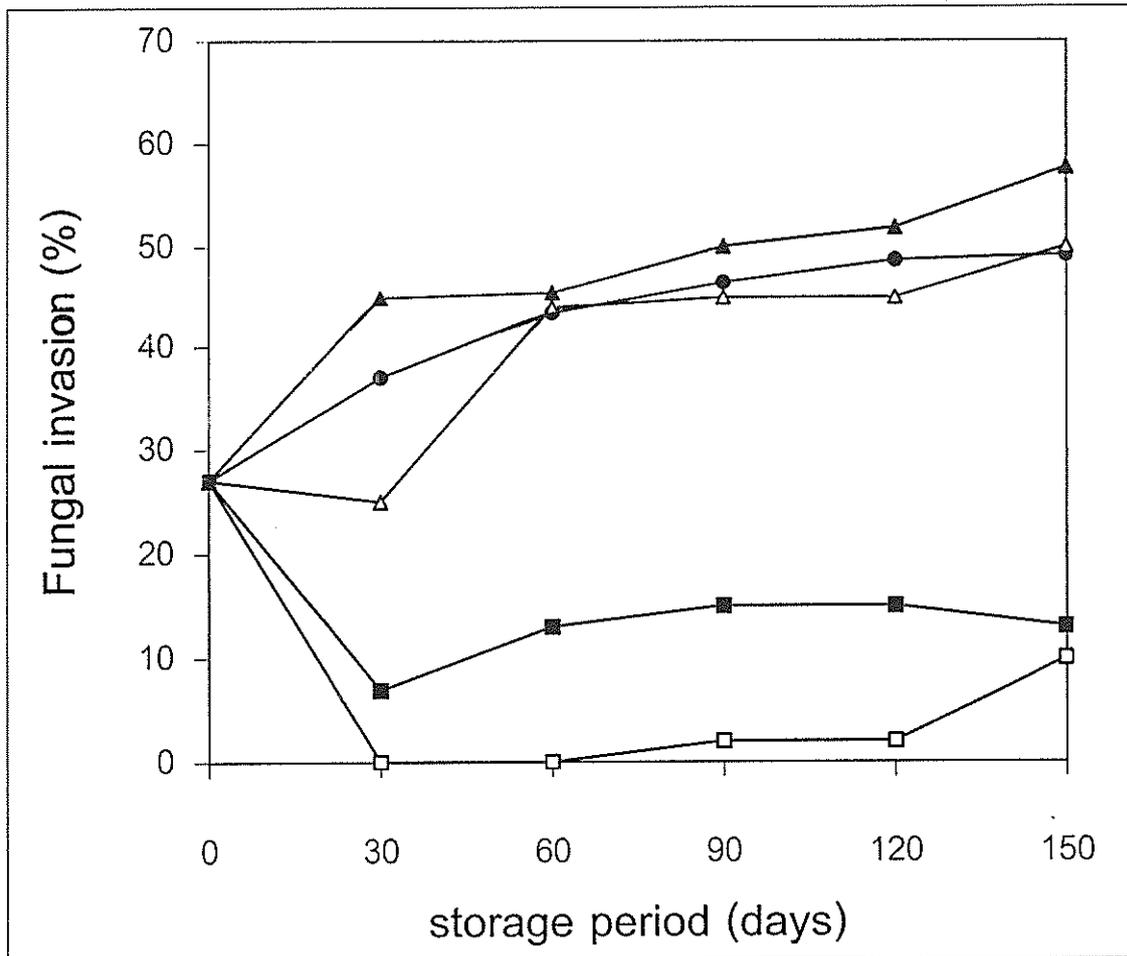
Attribute	2	3	4	5
1. Germination	0.791	-0.806	-0.641	-0.636
2. Vigor(AA test)		-0.831	-0.644	-0.735
3. Leakage conductivity			0.635	0.533
4. Water absorption				0.476
5. Fungi invasion				

All values are statistically significant at P = 0.01

ในระหว่างการเพาะเชื้อเสียมากกว่า ถึงแม้ว่าจะมีการรายงานโดยนักวิจัยหลายท่านถึงความสัมพันธ์ระหว่างการสูญเสียความงอกกับการเจริญของเชื้อราในระหว่างการเก็บรักษาดังกล่าวมาแล้วก็ตาม กรณีเช่นนี้ไม่เกิดกับเมล็ดที่มีความชื้น 6 และ 8% เพราะเราไม่พบว่ามีการเจริญของเชื้อราเพิ่มขึ้นในขณะที่ความงอก (Figure 1) และความแข็งแรง (Figure 2) ของเมล็ดเริ่มลดลงนอกจากนี้ในขณะที่การเจริญของเชื้อราเป็นไปอย่างรวดเร็วในระยะ 30 ถึง 90 วันในเมล็ดที่มีความชื้น 10%, 12% และ variable moisture ความแข็งแรงของเมล็ดดังกล่าวกลับเริ่มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในระหว่าง 90 ถึง 150 วัน (Figure 2) Harrison and Perry (1976) พบว่าความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare* L.) ซึ่งเก็บรักษาไว้โดยมีความชื้น 14% ถึง 24% ได้ลดลงก่อนที่จะมีการเพิ่มขึ้นของเชื้อราอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นการลดลงของความงอกและความแข็งแรงในการศึกษาครั้งนี้จึงไม่ได้เกิดขึ้นโดยเบื้องต้นจากเชื้อรา การมีความสัมพันธ์ต่ำของความงอกและความแข็งแรงกับการเจริญของเชื้อรา (Table 3) เป็นการสนับสนุนข้อสังเกตนี้

#### สรุปผลการทดลอง

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์จากความชื้นต่ำ (6 และ 8%) ไปจนถึงความชื้นสูง (10%, 12% และ variable moisture) จากการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ดังกล่าวมาตรวจสอบด้วยวิธีการต่าง ๆ เป็นระยะ ๆ ทำให้เราสามารถติดตามการเปลี่ยนแปลงของ membrane permeability ที่เกิดขึ้นในระยะแรกของการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ได้เป็นอย่างดี ดังนั้นจากการเปลี่ยนแปลงของ membrane permeability ทำให้การรั่วไหลของเมล็ดเกิดขึ้นโดยทันทีในระยะแรกของการเก็บรักษาและยังเกิดขึ้นก่อนที่จะมีการลดลงของความงอกและความแข็งแรง นักวิจัยหลายท่านได้แสดงให้เห็นว่าการรั่วไหลของเมล็ดจะเกิดขึ้นเมื่อความงอกของเมล็ดลดลง (Ching, 1972; Sreeramulu, 1983; Kalpana and Madhava Rao, 1995) ความแตกต่างนี้เกิดจากการใช้เมล็ดพันธุ์ต่างชนิดกันและระยะการสุกแก่ที่ต่างกัน ในการศึกษาครั้งนี้เราใช้ระยะสุกแก่ที่ PM ซึ่งเป็นระยะที่มีการเสื่อมสภาพเกิดขึ้นน้อยมากจึงทำให้เราสามารถตรวจสอบการรั่วไหลของเมล็ดได้ก่อนที่จะมีการสูญเสียคุณภาพ นอกจากนี้การเกิดขึ้นของเชื้อรา



**Figure 6** Effect of different moisture contents on the invasion of storage fungi to soybean seeds during storage □ , 6%; ■ ,8%; △ ,10%; ▲ ,12%; ● , variable moisture

ก็ไม่ได้สัมพันธ์ไปกับการเปลี่ยนแปลงของความงอกและความแข็งแรง การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าความเสียหายของเมมเบรนซึ่งทำให้เกิดการรั่วไหลของเมล็ดอาจเป็นสาเหตุสำคัญเบื้องต้นของการเสื่อมสภาพของเมล็ดพันธุ์ และอาจเกิดขึ้นก่อนที่จะมีการตรวจพบว่าการเปลี่ยนแปลงในความงอกและความแข็งแรง นอกจากนี้การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อไว้ปลูกในฤดูต่อไปควรเก็บเกี่ยวเมื่อเมล็ดสุกแก่ที่ PM และลดความชื้นให้ต่ำกว่า 10% ในระหว่างการเก็บรักษาก็จะทำให้เมล็ดพันธุ์ที่ปลูกออกเป็นต้นกล้าได้ดีในสภาพไร่ (Egli and Tekrony,

1995) ควรมีการวิจัยต่อไปโดยเปรียบเทียบกับการทำให้เมล็ดเสื่อมสภาพโดยการเร่งอายุเพื่อพิจารณาผลต่อการเปลี่ยนแปลงในการเสื่อมสภาพว่าจะมีการแตกต่างกันหรือไม่

#### คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้สำเร็จได้เนื่องจากได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมูลนิธิโทเรเพื่อการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ประเทศไทย

## เอกสารอ้างอิง

- ธนิเนนฑู สมบัติศิริ เจริญรัฐ น้อยสุวรรณ โกมล เจริญศรี และสนิท กิตติกรณ์. 2521 ก.การศึกษาคูณภาพและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผลิตในฤดูฝน. หน้า 215. ใน : รายงานผลการค้นคว้าวิจัยปี 2521 กองพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ
- ธนิเนนฑู สมบัติศิริ รัชนี คงตาต่า โกมล เจริญศรี และสนิท กิตติกรณ์. 2521ข. ศึกษาการเสื่อมและอายุการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เปียกฝน. หน้า 213. ใน: รายงานผลการค้นคว้าวิจัยปี 2521. กองพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ
- Abdul-Baki, A.A. 1980. Biochemical aspects of seed vigor. *Hortscience* 15: 765-770.
- Aiazzi, M.T.; J.A. Arguello, A. Perez; J. Di Rienzo and C.A. Guzman. 1996. Deterioration In *Atriplex cordobensis* (Gandoger et Stuckert) seeds : natural and accelerated ageing. *Seed Sci. and Technol.* 25: 147-155.
- AOSA 1970 Tetrazolium testing handbook for agricultural seeds. Contribution No. 29 to the handbook on Seed Testing. The Assoc. Off. Seed Analysts.
- AOSA. 1983. Seed vigor testing handbook. Contribution No. 32. The Assoc. Off Seed Analysis.
- Basavarajappa, B.S.; H.S. Shetty and H.S. Prakash. 1991. Membrane deterioration and other biochemical changes, associated with accelerated ageing of maize seeds. *Seed Sci. and Technol.* 19: 279-286.
- Ching, T.M. 1972. Aging stresses on physiological and biochemical activities of crimson clover (*Trifolium incarnatum* L. var. Dixie) seeds. *Crop Sci.* 12: 415-418.
- Christensen, C.M. 1972. Microflora and seed deterioration- Pages 59-93. In : E.H. Roberts (ed.). *Viability of Seeds*. Chapman and Hall Ltd., Great Britain.
- Christensen, C.M. 1978. Moisture and seed decay. Pages 199-219. In : T.T. Kozlowski (ed.). *Water Deficits and Plant Growth*, Vol. V. Academic Press, Inc., New York.
- Delouche, J.C. 1980. Environmental effects on seed development and seed quality. *Hort Science* 15: 775-780.
- Delouche, J.C. and C.C. Baskin. 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots. *Seed Sci. and Technol.* 1: 427-452.
- Delouche, J.C.; R.K. Matthes; G.M. Dougherty and A.H. Boyd. 1973. Storage of seed in sub-tropical and tropical regions. *Seed Sci. and Technol.* 1: 427-452.
- Dornbos, D.L., Jr. 1995. Production environment and seed quality. Pages 119-152. In : A.S. Basra (ed.). *Seed Quality : Basic Mechanisms and Agricultural Implications*. Food Products Press, an Imprint of The Haworth Press, Inc., New York.
- Egli, D.B. and D.M. Tekrony. 1995. Soybean seed germination, vigor and field

- emergence. *Seed Sci. and Technol.* 23: 595-607.
- Ferguson, J.M.; D.M. Tekrony and D.B. Egli. 1990 a. Changes during early soybean seed and axes deterioration: I. Seed quality and mitochondrial respiration. *Crop Sci.* 30: 175-179.
- Ferguson, J.M.; D.M. Tekrony and D.B. Egli. 1990b. Changes during early soybean seed and axes deterioration : II. Lipids. *Crop Sci.* 30: 179-182.
- Field, R.W. and T.K. King. 1962. Influence of storage fungi on deterioration of pea seed. *Phytopathology* 52: 336-339.
- Halmer, P. and J.D. Bewley. 1984. A physiological perspective on seed vigor testing. *Seed Sci. and Technol.* 12: 561-575.
- Harrington, J.F. 1973. Biochemical basis of seed longevity. *Seed Sci. and Technol.* 1: 453-461.
- Harrison, J.G. and D.A. Perry. 1976. Studies on the mechanisms of barley seed deterioration. *Ann. Appl. Biol.* 84: 57-62.
- ISTA. 1985. International rules for seed testing. *Seed Sci. and Technol.* 13: 299-355.
- Kabeere, F. and H.K. Taligoola. 1983. Microflora and deterioration of soybean seeds in Uganda. *Seed Sci. and Technol.* 11: 381-392
- Kalpanna, R. and K.V. Madhava Rao. 1995. On the ageing mechanism in pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) *Seeds. Sci. and Technol.* 23: 1-9.
- Mallick, A.K. and B. Nandi. 1979. Role of moisture content in deterioration of rough rice in storage. *Seed Sci. and Technol.* 7: 423-429.
- McDonald, M.B. 1999. Seed deterioration : physiology, repair and assessment. *Seed Sci. and Technol.* 27: 177-237.
- Moreno-Martinez, E.; M.E. Vazquez- Badillo; R. Navarrete and J. Ramirez-Gonzalez. 1994. Effect of fungi and chemical treatment on viability of maize and barley seeds with different characteristics. *Seed Sci. and Technol.* 22: 541-549.
- Priestley, D.A and A.C. Leopold. 1979. Absence of lipid oxidation during accelerated aging of soybean seeds. *Plant Physiol.* 63: 726-729.
- Parrish, D.J. and A.C. Leopold. 1978. On the mechanism of aging in soybean seeds. *Plant Physiol.* 61: 365-368.
- Powell, A.A. and S. Matthews. 1977. Deteriorative changes in pea seeds (*Pisum sativum* L.) stored in humid or dry conditions. *J. Exp. Bot.* 25: 225-234.
- Schoettle, A.W. and A.C. Leopold. 1984. Solute leakage from artificially aged soybean seeds after imbibition. *Crop Sci.* 24: 835-838.
- Shephard, H.L; R.E.L. Naylor and T. Stuchbury. 1996. The influence of seed maturity at harvest and drying method on the embryo  $\alpha$  - amylase activity and seed vigour in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.)

- Moench). *Seed Sci. and Technol.* 24: 245-259.
- Sreeramulu, N. 1983. Leakage during imbibition by seeds of bambarra groundnut (*Voandzeia subterranea*. (L.) Thouars) at different stages of loss of viability. *Trop. Agric.* 60 (4): 265-268.
- Tao, K.J. 1979. An evaluation of alternative methods of accelerated aging seed vigor tests for soybeans. *J. Seed Technol.* 3(2) : 30-40.
- Wilson, D.O. and M.B. McDonald. 1986. The lipid peroxidation model of seed aging. *Seed Sci. and Technol.* 14: 269-300.