

การศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายเตตราโซเลียมในการประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

Study on Suitable Tetrazolium Concentrations to Evaluate Soybean Seed Viability

นิภาภรณ์ พรรณรา^{1/} สุมนา จำปา^{1/} กัณทิมา ทองศรี^{2/} ภัสสร วัฒนกุลภาคิน^{2/}

ศุภลักษณ์ สัตยสมิตสธิ^{2/} สนอง บัวเกต^{2/}

Nipapon Punnara^{1/} Sumana Jumpa^{1/} Kantima Thongsri^{2/} Papassorn Wattanakulpakin^{2/}

Supalak Sattayasamitsathit^{2/} Sanong Bougate^{2/}

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาเพื่อหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารละลายเตตราโซเลียมในการประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ดำเนินการที่ศูนย์วิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก ปี 2560 ในฤดูแล้งและปลายฤดูฝน วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ กรรมวิธีทดลองประกอบด้วย ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ใช้แช่เมล็ดพันธุ์ 5 ระดับ คือ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 เปรียบเทียบกับความเข้มข้นมาตรฐาน คือ 1.0% ผลการทดลอง พบว่า สารละลายเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.2% สามารถใช้ประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้ไม่ต่างจากที่ระดับความเข้มข้น 1.0% ในเมล็ดพันธุ์ทุกระดับความแข็งแรงซึ่งทำให้ต้นทุนค่าสารเคมีลดลงเหลือเพียง 35 บาท/ตัวอย่าง เมื่อเทียบกับที่ความเข้มข้น 1% ที่มีค่าสารเคมี 175 บาท/ตัวอย่าง
คำสำคัญ : เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง สารละลายเตตราโซเลียม

ABSTRACT

To determine suitable concentration of tetrazolium solution for viability of soybean seed evaluation, a study was conducted at Phitsanulok Seed Research and Development Center in dry and late rainy season 2017. Completely randomized design with 4 replicates was used as an experimental design. Treatments consisted of 5 concentrations of TZ solutions i.e. 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 was compared with standard concentration 1.0%. Results showed that TZ solution at 0.2% concentration was the most suitable treatment viability of soybean seed evaluation. The 0.2% concentration solution provide no significant difference in the seed viability test compared to the 1.0% concentration but lower cost of chemical used. Chemical cost of TZ solution was reduce to 35 baht/sample was compared with 1.0% concentration for 175 baht/sample.

Keywords: soybean seed, tetrazolium solution

^{1/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290 โทรศัพท์ 053 - 498578

Chiangmai Seed Research and Development Center, Sansai district, Chiangmai province 50290 Tel. 053-498578

^{2/} ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 65130 โทรศัพท์ 055 - 311368

Phitsanulok Seed Research and Development Center, Wangthong district, Phitsanulok province 65130 Tel. 055-311368

คำนำ

การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้านความมีชีวิตด้วยวิธีเตตระโซเลียม (Tetrazolium test) เป็นวิธีที่รวดเร็ว สะดวกและประหยัดเวลา โดยใช้เวลาเพียง 1 วัน ก็สามารถทราบถึงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ได้ ซึ่ง ISTA (1995) แนะนำให้ใช้กับถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น 1.0% ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการย้อม 3-4 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามการตรวจสอบด้วยวิธีเตตระโซเลียม สารเคมี (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride, TZ) มีราคาแพงและมีอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงานเนื่องจากสารเตตระโซเลียมเป็นสารก่อมะเร็ง ดังนั้น หากสามารถปรับลดความเข้มข้นของสารละลายเตตระโซเลียมได้โดยที่ผลการประเมินความมีชีวิตไม่ต่างจากความเข้มข้นที่ 1.0% จะสามารถลดต้นทุนของการทดสอบวิธีนี้ และยังลดอันตรายให้กับผู้ปฏิบัติงานได้อีกด้วย ซึ่ง วสุ (2547) พบว่า การใช้ความเข้มข้นของสารละลายเตตระโซเลียมที่ 0.1% ย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จะทำให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองออกได้เป็นปกติจึงได้นำไปใช้พัฒนาการจัดทำรูปแบบมาตรฐานการติดสี (standard patterns) ของเตตระโซเลียมในถั่วเหลืองที่เป็นรูปธรรมและแม่นยำยิ่งขึ้น โดยถ่ายภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตระโซเลียม 0.1 % แล้วนำเมล็ดดังกล่าวไปทดสอบความงอกเพื่อยืนยันผลความมีชีวิตและความแข็งแรง การพัฒนาวิธีการตรวจสอบเตตระโซเลียมวิธีนี้ เรียกว่าเทคนิคการงอกของเมล็ดย้อม (germination of TZ stained seed technique) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อประยุกต์ใช้ TZ ที่ระดับความเข้มข้น 0.1% ประเมินความมีชีวิตถั่วเหลืองในห้องปฏิบัติการ พบว่า การติดสีเมล็ดค่อนข้างจาง ทำให้ประเมินความมีชีวิตยาก เมื่อนำมาหาความสัมพันธ์กับความงอกมาตรฐานจึงเกิดความคลาดเคลื่อนค่อนข้างสูง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของ TZ ที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้โดยไม่แตกต่างจากที่ระดับความเข้มข้น 1% เพื่อลดต้นทุนการใช้สารเคมีและปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 สารเคมี 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride อุปกรณ์สำหรับเพาะความงอกในห้องปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 กรรมวิธี 4 ซ้ำ ได้แก่ ความเข้มข้นของสารละลายเตตระโซเลียม 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0% ดำเนินการทดลองดังนี้

1. คัดเลือกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในงานผลิตเมล็ดพันธุ์ชั้นพันธุ์ขยายของศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก จำนวน 30 ตัวอย่าง ปี 2560 ในฤดูแล้งและปลายฤดูฝน ดังนี้

1.1 เมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูง (ความงอกหลังจากการเร่งอายุ $\geq 70\%$) จำนวน 10 ตัวอย่าง

1.2 เมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงปานกลาง (ความงอกหลังจากการเร่งอายุ 55 - 69%) จำนวน 10 ตัวอย่าง

1.3 เมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงต่ำ (ความงอกหลังจากการเร่งอายุ $< 55\%$) จำนวน 10 ตัวอย่าง

2. แบ่งเมล็ดพันธุ์แต่ละตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

- ส่วนที่ 1 ตรวจสอบความงอกมาตรฐาน โดยการเพาะความงอกด้วยทราย จำนวน 100 เมล็ด/ซ้ำ จำนวน 4 ซ้ำ ระยะเวลา 8 วัน แล้วประเมินความงอกมาตรฐาน (ISTA, 2015) และตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยวิธีเร่งอายุที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง

- ส่วนที่ 2 ตรวจทดสอบเตตราโซเลียม (Tetrazolium test) โดยนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ปมโดยหุ้มด้วยกระดาษเพาะเปียกชื้น ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาแช่ในสารละลายเตตราโซเลียมตามกรรมวิธีที่กำหนด เก็บในที่มืด อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดที่ผ่านการแช่สารละลายเตตราโซเลียมมาล้างและแช่เมล็ดด้วยน้ำสะอาดเพื่อหยุดปฏิกิริยาของสารละลายเตตราโซเลียม นำมาศึกษารูปแบบการติดสีและประเมินความมีชีวิตจากรูปแบบการติดสี

3. วิเคราะห์ค่าทางสถิติ (ANOVA) และความสัมพันธ์ระหว่างความงอกมาตรฐานกับความมีชีวิตที่ประเมินจากการติดสี

การบันทึกข้อมูล

1. ความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์
2. ความงอกภายหลังจากการเร่งอายุ
3. จำนวนเมล็ดพันธุ์ที่มีชีวิตภายหลังจากการย้อมสี
4. รูปแบบการติดสีสารละลายเตตราโซเลียม

ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินงาน

ปี 2560 (ตุลาคม 2559 - กันยายน 2561) ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก

ผลการทดลองและวิจารณ์

ดำเนินการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ทั้ง 3 ระดับความแข็งแรง ที่ผลิตในช่วงฤดูแล้งและปลายฤดูฝน ปี 2560 นำมาประเมินความมีชีวิตด้วยการย้อมสารละลายเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.2 - 0.8% เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน คือ 1% เพื่อหาระดับความเข้มข้นที่สามารถประเมินความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้โดยไม่แตกต่างจากความเข้มข้นมาตรฐาน ผลการทดลองของเมล็ดพันธุ์ในฤดูแล้ง พบว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ระดับความแข็งแรงสูง (ความงอกหลังการเร่งอายุ $\geq 70\%$) จำนวน 10 ตัวอย่าง ภายหลังการทดสอบความมีชีวิตด้วยเตตราโซเลียม พบว่า ความมีชีวิตที่ประเมินได้ในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (Table 1)

ส่วนเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง (ความงอกหลังการเร่งอายุ 55 - 69%) (Table 2) มีจำนวน 7 ตัวอย่าง ที่ความมีชีวิตในทุกระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และมีจำนวน 3 ตัวอย่างที่ค่าความมีชีวิตแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละระดับความเข้มข้น แต่อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างทางสถิติของทั้ง 3 ตัวอย่างดังกล่าวระหว่างความเข้มข้นที่ 0.2 และ 1.0%

สำหรับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ (ความงอกหลังการเร่งอายุ $< 55\%$) (Table 3) พบว่า การทดสอบความมีชีวิตด้วยวิธีเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.2 ถึง 1.0% ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติถึง 9 ตัวอย่าง มีเพียง 1 ตัวอย่าง ที่พบความแตกต่างทางสถิติภายหลังการทดสอบด้วยเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ อย่างไรก็ตามที่ระดับความเข้มข้น 0.2 และ 1.0% ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นเดียวกับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง ซึ่งค่าความงอกมาตรฐานและค่าความมีชีวิตจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมมีค่าใกล้เคียงกัน

Table 1 Viability, evaluated by different Tetrazolium (TZ) concentrations, of high vigour soybean seed (accelerated aging test $\geq 70\%$) from 10 seed lots harvesting at dry season 2017

Tetrazolium Concentrations	Viability (%) ^{1/}									
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8	No.9	No.10
0.2%	93	89	95	85	98	94	95	96	98	90
0.4%	93	91	95	88	99	93	94	97	99	90
0.6%	91	91	94	87	99	95	94	95	97	89
0.8%	91	88	93	89	98	94	94	98	97	90
1.0%	91	91	94	89	98	96	93	97	97	89
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	1.2	2.1	3.1	2.8	1.5	2.8	3.0	2.0	1.7	2.0
Standard germination test (%)	91	92	90	90	95	99	95	89	95	83
Germination after accelerated aging (%)	76	72	73	70	78	78	78	83	84	80

^{1/}Mean in the same column, followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 2 Viability, evaluated by different Tetrazolium concentrations, of medium vigour soybean seed (accelerated aging test 55 - 69%) from 10 seed lots harvesting at dry season 2017

Tetrazolium Concentrations	Viability (%) ^{1/}									
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8	No.9	No.10
0.2%	89	82a	89ab	88	95a	80	86	83	87	87
0.4%	89	81ab	85b	87	89b	81	83	82	82	87
0.6%	88	77b	86b	89	95a	83	85	84	85	86
0.8%	88	83a	89ab	88	94a	81	85	85	82	87
1.0%	88	81ab	91a	85	93ab	78	84	85	83	87
F-test	ns	**	*	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	2.1	2.7	2.6	2.3	2.6	2.8	3.9	3.3	3.0	2.2
Standard germination test (%)	89	83	93	77	85	80	83	85	78	84
Germination after accelerated aging (%)	68	60	64	59	56	59	62	57	60	63

^{1/}Mean in the same column, followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 3 Viability, evaluated by different Tetrazolium concentrations, of low vigour soybean seed (accelerated aging test < 55%) from 10 seed lots harvesting at dry season 2017

Tetrazolium Concentrations	Viability (%) ^{1/}									
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8	No.9	No.10
O.2%	81	73a	73	74	85	79	77	83	84	82
O.4%	80	70ab	76	71	81	80	77	82	85	83
O.6%	82	68ab	77	73	83	80	76	84	79	81
0.8%	77	64b	76	75	85	81	76	84	84	82
1.0%	76	70ab	75	69	81	79	78	83	83	81
F-test	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	3.5	4.0	3.9	3.9	3.3	3.2	1.4	3.7	4.1	3.4
Standard germination test (%)	86	75	77	79	87	79	76	79	85	76
Germination after accelerated aging (%)	44	31	42	41	46	40	41	47	33	43

^{1/}Mean in the same column, followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

สำหรับการทดสอบเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เก็บเกี่ยวในปลายฤดูฝน ปี 2560 ให้ผลไปในทิศทางเดียวกันกับฤดูแล้ง โดยเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง ไม่พบค่าความแตกต่างทางสถิติของควมมีชีวิตภายหลังการทดสอบด้วยเตตราโซเลียมทุกระดับความเข้มข้น (Table 4) ส่วนเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง (Table 5) มีจำนวน 9 ตัวอย่าง ที่ควมมีชีวิตไม่มีความแตกต่างทางสถิติในทุกระดับความเข้มข้น และมีเพียง 1 ตัวอย่าง ที่พบค่าความแตกต่างทางสถิติ อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้น 0.2 และ 1.0% ไม่มีความแตกต่างกัน (Table 5) สำหรับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ (Table 6) มีจำนวน 6 ตัวอย่าง ที่ควมมีชีวิตทุกระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จากผลการทดลองแม้ว่าพบเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จำนวน 4 ตัวอย่าง ที่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละระดับความเข้มข้น แต่ที่ระดับความเข้มข้น 0.2 และ 1.0% ไม่ทำให้การประเมินควมมีชีวิตแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง อีกทั้งพบว่า ความงอกมาตรฐานและค่าควมมีชีวิตจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมมีค่าใกล้เคียงกัน การที่ควมมีชีวิตที่ประเมินโดยการย้อมสีด้วยเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ที่แข็งแรงระดับปานกลางและระดับต่ำมีค่าแตกต่างกันในแต่ละระดับความเข้มข้น เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูงซึ่งไม่พบความแตกต่างของควมมีชีวิตในทุกระดับความเข้มข้น อาจเนื่องมาจากตำแหน่งในการติดสีไม่ชัดเจน ติดสีหมองคล้ำ ติดสีไม่สม่ำเสมอขึ้นอยู่กับคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เพราะเมล็ดที่จะประเมินเป็นเมล็ดที่มีชีวิตจะดูการติดสีที่รากเป็นอันดับแรก ต่อมาดูการติดสีที่ใบเลี้ยง (Figure 1) นอกเหนือจากนี้ จะประเมินเป็นเมล็ดพันธุ์ที่ไม่มีชีวิต (Figure 2)

Table 4 Viability, evaluated by different Tetrazolium concentrations, of high vigour soybean seed (accelerated aging test $\geq 70\%$) from 10 seed lots harvesting at late rainy season 2017

Tetrazolium Concentrations	Viability (%) ^{1/}									
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8	No.9	No.10
O.2%	95	90	91	91	92	98	96	92	93	93
O.4%	94	90	88	90	92	98	96	95	93	92
O.6%	94	88	91	89	92	96	93	94	93	93
0.8%	91	89	87	91	92	98	93	92	94	92
1.0%	88	86	89	89	95	96	93	91	93	89
F-test	ns	Ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	3.5	4.7	3.5	3.3	3.2	1.6	2.5	2.1	2.6	2.6
Standard germination test (%)	92	92	88	90	94	96	90	90	90	93
Germination after accelerated aging (%)	89	73	76	74	73	91	74	75	85	79

^{1/}Mean in the same column, followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 5 Viability, evaluated by different Tetrazolium concentrations, of medium vigour soybean seed (accelerated aging test 55 - 69%) from 10 seed lots harvesting at late rainy season 2017

Tetrazolium Concentrations	Viability (%) ^{1/}									
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8	No.9	No.10
O.2%	88	85ab	85	91	84	92	93	90	88	93
O.4%	90	89a	82	88	81	90	91	88	88	93
O.6%	89	83b	84	91	81	90	94	88	84	89
0.8%	87	82b	88	93	83	87	93	87	86	91
1.0%	88	84b	85	91	85	87	94	87	87	92
F-test	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	3.4	3.2	4.1	2.8	3.3	3.4	2.6	4.0	3.3	3.3
Standard germination test (%)	91	90	91	91	80	87	88	86	84	84
Germination after accelerated aging (%)	56	58	58	60	67	66	62	58	68	63

^{1/}Mean in the same column, followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

Table 6 Viability, evaluated by different Tetrazolium concentrations, of low vigour soybean seed (accelerated aging test < 55%) from 10 seed lots harvesting at late rainy season 2017

Tetrazolium Concentrations	Viability (%) ^{1/}									
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	No.7	No.8	No.9	No.10
O.2%	92	88	90a	80b	83	86	84	85ab	77	83ab
O.4%	89	87	88ab	78b	82	85	85	87a	76	80b
O.6%	88	85	87ab	83a	81	88	84	82b	77	81b
0.8%	90	87	90ab	80b	82	85	84	88a	77	83ab
1.0%	90	85	87b	80b	80	84	88	83b	75	88a
F-test	ns	ns	**	*	ns	ns	ns	*	ns	*
CV (%)	1.9	1.8	1.5	2.2	2.3	3.2	3.0	3.0	3.9	4.3
Standard germination test (%)	93	88	85	86	83	84	89	86	81	83
Germination after accelerated aging (%)	43	51	50	38	38	37	49	51	32	43

^{1/}Mean in the same column, followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

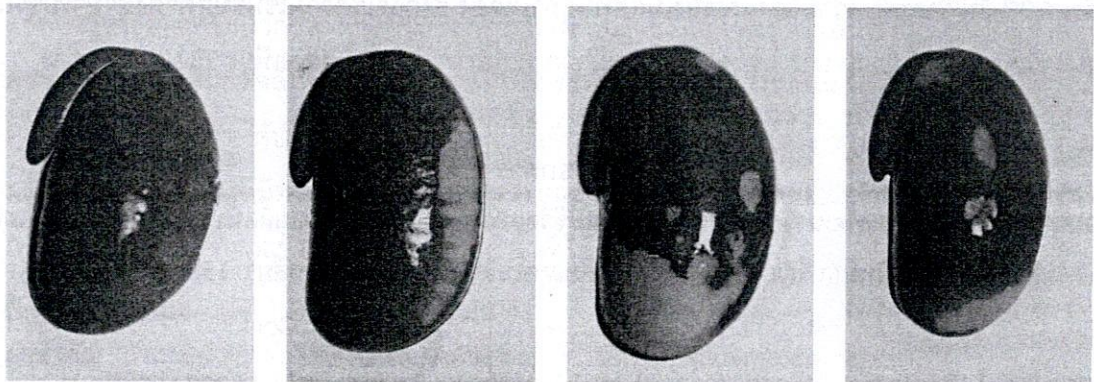


Figure 1 The pattern of soybean seed viability dyed with 1% 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride for 4 h at 30°C

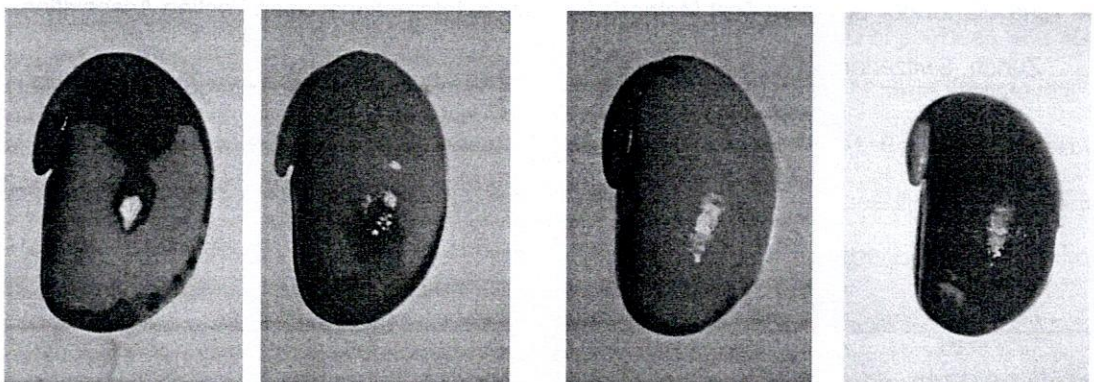


Figure 2 The pattern of soybean seed non-viability dyed with 1% 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride for 4 h at 30°C

อย่างไรก็ตามการประเมินความมีชีวิตจากการติดสีด้วยวิธีเตตราโซเลียมของถั่วเหลือง สมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA) แนะนำที่ความเข้มข้น 1.0% เช่นเดียวกันกับ Delouche *et al.* (1962) แนะนำการย้อมสีเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 1% แช่นาน 2-4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส หรือ แช่นาน 5-7 ชั่วโมง สำหรับอุณหภูมิห้อง ส่วน AOSA (1983) แนะนำว่า ในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ควรใช้สารละลายความเข้มข้น 1% แช่นาน 3-4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ในการเร่งปฏิกิริยาของสารละลายเตตราโซเลียมสามารถใช้เครื่อง Vitascope ที่อาศัยหลักการเร่งการทำปฏิกิริยาของสารละลายในสภาพสุญญากาศ (vacuum) และมีอุณหภูมิสูง สามารถลดระยะเวลาในการย้อมลงได้เหลือประมาณ 10-50 นาที โดยในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสามารถลดระยะเวลาลงเหลือประมาณ 15-20 นาที แต่จากผลการทดลองนี้ พบว่า สารละลายเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.2 สามารถประเมินความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองทุกระดับความแข็งแรงได้โดยไม่แตกต่างจากความเข้มข้น 1.0% จึงทำให้สามารถลดค่าใช้จ่ายค่าสารเคมีลงได้จาก 175 บาท/ตัวอย่าง เหลือ 35 บาท/ตัวอย่าง

สรุปผลการทดลอง

สารละลาย TZ (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride) ที่ความเข้มข้น 0.2% มีความเหมาะสมในการประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง โดยสามารถประเมินความมีชีวิตได้ไม่แตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้น 1.0% ในทุกระดับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ซึ่งการใช้ความเข้มข้นที่ต่ำลงสามารถช่วยลดต้นทุนค่าวิเคราะห์ได้ถึง 140 บาท โดยลดค่าสารเคมีจาก 175 บาท/ตัวอย่าง เหลือเพียง 35 บาท/ตัวอย่าง

เอกสารอ้างอิง

- วสุ อมฤตสุทธิ. 2547. การพัฒนาวิธีการประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยวิธีเตตราโซเลียม. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา. 157 หน้า.
- AOSA. 1983. Seed vigor testing handbook. Proc. Assoc. Off. Seed Anal. Cont. No.32. Delouche, J.C., Still, T.W., Raspet, M. and Lienhard, M. 1962. The tetrazolium test for seed viability. Agricultural Experiment Station, Mississippi State University. 64 p.
- ISTA. 1995. Handbook of Vigour Test Methods 3rd Edition. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland. 117 p.