

ผลของการเพرمิงด้วยกรดซาลิกต่อความมอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองภายใต้
สภาพเครียดจากอุณหภูมิ

Effect of Salicylic Acid Priming on Germination and Vigor of Soybean Seed under
Temperature Stress

ภาสสร วัฒนกุลภาคิน^{1*} สุนทรีพร ศรีสมบูรณ์¹ ฉันทนา คงนคร¹ พนิดา แก้วกันหา² และ วิทย์สินี ทองเขียว²

Papassorn Wattanakulpakin^{1*}, Soontreeporn Srisomboon¹, Chantana Khongnakorn¹,

Panida Kaewkanha² and Witsini Thongkeaw²

บทคัดย่อ: สภาพอากาศที่แปรปรวนในปัจจุบันเป็นปัญหาสำคัญต่อผลผลิตและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง กรดซาลิก (salicylic acid; SA) เป็นสารประกอบในกลุ่มฟีโนไลค์ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและชักนำให้พืชทนต่อสภาพเครียดทั้งที่เกิดจากสิ่งมีชีวิตและไม่มีชีวิตได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเพرمิงด้วย SA ต่อความมอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ภายใต้สภาพเครียดจากอุณหภูมิ ผลการทดลองพบว่าการเพرمิงด้วยสารละลาย SA 200 และ 300 ppm มีแนวโน้มทำให้เมล็ดพันธุ์มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้นเมื่อทดสอบที่อุณหภูมิสับ 20-30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการมอก โดยพิจารณาจากระยะเวลาเฉลี่ยในการออกที่สั้นลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม อย่างไรก็ตาม ความมอกมาตรฐานไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกราวิธี และเมื่อทดสอบความมอกและความแข็งแรงที่อุณหภูมิต่ำและอุณหภูมิสูง พบว่าการเพرمิงด้วยสารละลาย SA 300 ppm ช่วยให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีความมอกสูงขึ้นที่อุณหภูมิต่ำ โดยที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีความมอกมาตรฐานสูงที่สุด (70%) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (62%) อย่างไรก็ตามการเพرمิงด้วย SA ไม่สามารถชักนำให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองทนต่อสภาพอุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียสได้

คำสำคัญ: เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ภาวะเครียดจากอุณหภูมิ กรดซาลิก ความมอก ความแข็งแรง

ABSTRACT: Currently, climate changes are the major concern on seed yield and quality of soybean. Salicylic acid (SA) is belonged to phenolic compounds which is linked to free radicals defensive mechanism and also induce biotic and abiotic stress in plant. This research was to study

¹ ศูนย์วิจัยพัฒนามาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก ตำบลวังทอง อำเภอวังทอง จังหวัดพิษณุโลก 65130

¹ Phitsanulok Seed Research and Development Center, Wangthong, Phitsanulok, 65130

² สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

² Department of Biology, Faculty of Science, Naresuan University, Maung, Phitsanulok, 65000

the effect of SA priming on germination and vigor of soybean 'Chiang Mai 60' seed under unfavorable temperature. The results showed that priming with 200 and 300 ppm SA tended to increase seed vigor under the favorable temperature at 20 - 30°C. This was indicated by the decrease in mean of germination time when compared to untreated control seed. However, there were not significantly differences in standard germination among primed and unprimed seeds. The germination and vigor, moreover, were also examined under the low and high temperature. The experiment found that priming with 300 ppm SA promoted germination and vigor of soybean seed at low temperature that showed the highest standard germination (70%) at 10°C, and it was significantly different compared to untreated control seed (62%). Nevertheless, seed priming by SA could not induce high temperature tolerance up to 40°C.

Key words: Soybean seed, temperature stress, salicylic acid, germination, vigor

1. บทนำ

ถั่วเหลืองเป็นพืชอาหารที่สำคัญของประเทศไทยและมีความต้องการใช้ตลอดทั้งปี แต่ปัจจุบันผลผลิตถั่วเหลืองไม่เพียงพอต่อการบริโภคภายในประเทศ ซึ่งมีสาเหตุมาจากการขาดแคลนเมล็ดพันธุ์ดี เนื่องจากถั่วเหลืองเป็นพืชที่อ่อนไหวต่อสภาพแวดล้อม เช่น ความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างวันสูง ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูง อุณหภูมิสูง การขาดน้ำ สภาวะแล้งจัด อีกทั้งในปัจจุบันได้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาวะอากาศโลกที่แปรปรวนส่งผลให้เกิดภาวะร้อนจัด หนาวจัด หรือที่เรียกว่า extreme weather อากาศร้อนมากขึ้นและถ้วน แล้งยาวนานขึ้น ปัจจัยเหล่านี้ล้วนส่งผลต่อผลผลิตและคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองลดลง และการพัฒนาของเมล็ดพันธุ์ข้าลงที่อุณหภูมิระหว่าง 30 - 40 องศาเซลเซียส ทำให้การติดดอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองลดลง (Thuzar et al., 2010) จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 32 องศาเซลเซียส ทำให้การติดดอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองลดลง และการพัฒนาของเมล็ดพันธุ์ข้าลงที่อุณหภูมิระหว่าง 30 - 40 องศาเซลเซียส (Thomas et al., 2003) Gibson and Mullen (1996) พบว่า ในสภาวะอุณหภูมิสูง 35 องศาเซลเซียส ต่อเนื่องเป็นเวลา 10 วัน ทำให้ผลผลิตถั่วเหลืองลดลงถึง 27% นอกจากนี้ สภาวะอากาศที่แปรปรวน ส่งผลให้เกิดรอยร้าวหรือการบิ่แตก เชื้อราเข้าทำลาย เมล็ดเน่าเสีย ส่งผลให้ความออกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วลง (นิลุบล และ ละองดาว, 2547)

ภายใต้สภาวะเครียดจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม กรดซาลิไซลิก (Salicylic acid; SA) เป็นสารประกอบในกลุ่มฟีโนลิก (Shi et al., 2005) จัดอยู่ในกลุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช (Raskin, 1992) ทำหน้าที่ในการสังสัญญาณให้พืชเกิดการตอบสนองหรือปรับตัวภายใต้สภาวะเครียดที่เกิดจากสิ่งมีชีวิต และไม่มีชีวิตเพื่อให้มีความต้านทานมากขึ้น โดยส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของพืช ซึ่ง SA ส่งผลต่อการเจริญและขยายตัวของเซลล์ การงอกและการเจริญของต้นกล้า รวมทั้งกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องต่อการสังเคราะห์ฟลาโวนอยด์และการสังเคราะห์แสง (Lee et al., 1995; Vlot et al., 2009;

Khalil et al., 2018) และ antioxidant enzymes ที่เกี่ยวข้องต่อการต้านอนุมูลอิสระ (Farooq et al., 2008) จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า SA กระตุนให้ข้าวสาลี (Manzer et al., 2018) และถั่วเหลือง (Farhangi-Abriz and Ghassemi-Golezani, 2018) ทนต่อสภาพดินเดิมได้ และช่วยให้พืชทนต่อสภาพภารชาตด้านน้ำได้ใน common bean (Agostini et al., 2013) และข้าว (Shatpathy et al., 2018) SA ที่ความเข้มข้น 0.6 mM ส่งเสริมการเจริญของยอดและราก รวมทั้งพับการสะสมของเพคติน เซลลูโลส ลิกนิน และฟอสฟอไรปิดเพิ่มขึ้น ในส่วนยอดและรากของต้นอ่อนถั่วเหลืองในสภาพขาดน้ำ (Al-Hakimi, 2006) นอกจากนี้พบว่า SA ช่วยให้ข้าวโพดทนต่อสภาพอุณหภูมิต่ำได้ซึ่งมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น (Janda et al., 1999) ในสภาพอุณหภูมิสูงพับการสะสมของโพลีนและน้ำตาลละลายได้สูงขึ้นในข้าวสาลีที่ไพรเม่ด้วย SA ซึ่งสัมพันธ์กับการทนต่อสภาพอุณหภูมิที่สูงขึ้น (Maboob et al., 2018) การเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศที่รุนแรงขึ้นและยากต่อการคาดการณ์ในปัจจุบันและมีแนวโน้มที่จะรุนแรงขึ้นในอนาคต จึงจำเป็นต้องศึกษาวิธีการผลิตเมล็ดพันธุ์ที่สามารถช่วยให้พืชทนต่อสภาพแวดล้อมที่แปรปรวนได้กว้างขึ้น ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการดูดซึมน้ำโดยการไพรเม่ด้วยกรดซาลิไซลิก (Salicylic acid, SA) ที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 ppm เปรียบเทียบกับการไพรเม่ด้วยน้ำกลั่น (Hydropriming) และซูกัดควบคุม (Untreated seed) โดยมีวิธีการดังนี้ นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมาห่อด้วยกระดาษชีทที่อิ่มน้ำกลั่นและ SA ที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 ppm และนำไปปั่นในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ความชื้นเมล็ดพันธุ์ภายหลังการบ่มมีค่าระหว่าง 21.53 - 22.06% จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ทุกกรรมวิธีมาลดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ความชื้นลดลงใกล้เคียงกับค่าเริ่มต้นอยู่ในช่วง 10 - 11% นำเมล็ดพันธุ์ทุกกรรมวิธีมาทดสอบความออกและความแข็งแรงภายใต้อุณหภูมิต่ำ (Cold stress) ที่ 10 และ 15 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูง (Heat stress) ที่ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับอุณหภูมิสลบ 20 - 30 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 กรรมวิธี 4 ชั้า ชั้าละ 100 เมล็ด วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ทำการศึกษาวิจัย ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิชณุโลก ตำบลลังหอง อำเภอวังทอง จังหวัดพิชณุโลก

2. วิธีการศึกษา

สูตรเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่ระดับความแข็งแรงปานกลาง (ความคงภัยหลังการเร่ง อายุอยู่ในช่วง 60-65%) จากนั้นนำมาทำไพรเม่ด้วยกรดซาลิไซลิก (Salicylic acid, SA) ที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 ppm เปรียบเทียบกับการไพรเม่ด้วยน้ำกลั่น (Hydropriming) และซูกัดควบคุม (Untreated seed) โดยมีวิธีการดังนี้ นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมาห่อด้วยกระดาษชีทที่อิ่มน้ำกลั่นและ SA ที่ความเข้มข้น 100, 200 และ 300 ppm และนำไปปั่นในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ความชื้นเมล็ดพันธุ์ภายหลังการบ่มมีค่าระหว่าง 21.53 - 22.06% จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ทุกกรรมวิธีมาลดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ความชื้นลดลงใกล้เคียงกับค่าเริ่มต้นอยู่ในช่วง 10 - 11% นำเมล็ดพันธุ์ทุกกรรมวิธีมาทดสอบความออกและความแข็งแรงภายใต้อุณหภูมิต่ำ (Cold stress) ที่ 10 และ 15 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูง (Heat stress) ที่ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับอุณหภูมิสลบ 20 - 30 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 5 กรรมวิธี 4 ชั้า ชั้าละ 100 เมล็ด วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ ทำการศึกษาวิจัย ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิชณุโลก ตำบลลังหอง อำเภอวังทอง จังหวัดพิชณุโลก

วิธีบันทึกผลการทดลอง

1) ความชื้น (Moisture test)

นำเมล็ดพันธุ์ถัวเหลืองมาบดหยาบด้วยเครื่องบด (Lab Mill 3310, Perten) อบที่อุณหภูมิ 103°C เป็นเวลา 17 ชม. ด้วยตู้อบลมร้อน (ISTA, 2019)

2) ความงอกมาตรฐาน (Standard Germination)

นำเมล็ดพันธุ์ถัวเหลือง เพาะในทรายที่อบผ่าเชือที่อุณหภูมิ 200°C เป็นเวลา 6 ชม. จำนวน 4 ชั้าๆ ละ 100 เมล็ด บ่มไว้ในห้องเพาะความงอก อุณหภูมิสับ $20-30^{\circ}\text{C}$ และประเมินความงอกภายในหลังเพาะ 8 วัน (ISTA, 2019)

3) ระยะเวลาเฉลี่ยในการงอก (Mean Germination Time)

ทดสอบเช่นเดียวกับความงอกมาตรฐาน (ข้อ 2) แต่นับต้นกล้าปักติดตั้งแต่วันแรกที่สังเกตพบจนถึงวันสุดท้ายที่เมล็ดพันธุ์งอกเป็นต้นกล้าปักติด หน่วยเป็นวัน (Ellis and Roberts, 1980) คำนวณตามสูตร

$$\text{Mean Germination Time (day)} = \sum(G_i \times T_i) / \sum G_i$$

เมื่อ G_i คือ จำนวนต้นกล้าปักติดในแต่ละวันหลังเพาะ, T_i คือ จำนวนวันหลังเพาะ

4) ดัชนีอัตราความงอก (Germination Rate Index)

ทดสอบเช่นเดียวกับความงอกมาตรฐาน (ข้อ 2) แต่นับต้นกล้าปักติดตั้งแต่วันแรกที่สังเกตพบจนถึงวันสุดท้ายที่เมล็ดพันธุ์งอกเป็นต้นกล้าปักติด หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (Esechi, 1994) คำนวณตามสูตร

$$\text{Germination Rate Index (\%/day)} = \sum((G_i / T_i) + \dots + (G_n / T_n))$$

เมื่อ G_i คือ จำนวนต้นกล้าปักติดในแต่ละวันหลังเพาะ, T_i คือ จำนวนวันหลังเพาะ

G_n คือ จำนวนต้นกล้าปักติดในวันสุดท้ายของการนับ, T_n คือ จำนวนวันสุดท้ายของการนับ

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

เมล็ดพันธุ์ถัวเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่ผ่านการทำไพรเมิ่งด้วยน้ำกลัน (hydropriming) และกรดซาลิไซลิก (salicylic acid, SA) ที่ความเข้มข้น 100 200 และ 300 ppm บ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วลดความชื้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้มีความชื้นใกล้เคียงกับค่าเริ่มต้น พบร่วมกับเมล็ดพันธุ์มีความชื้นเท่ากับ 10.8, 11.1, 11.3 และ 11.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (data not shown) จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ถัวเหลืองทุกกรรมวิธีทดสอบความสามารถในออกซิเจนให้อุณหภูมิสูงที่ 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำที่ 10 และ 15 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับการทดสอบในสภาพที่เหมาะสมสมคืออุณหภูมิสับ $20-30$ องศาเซลเซียส พบร่วมกับความงอกของเมล็ดพันธุ์ที่อุณหภูมิสูงที่ 30-33 องศาเซลเซียส ในทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีความงอกอยู่ระหว่าง 75-83% (Table 1)

และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ไปทดสอบความออกฤทธิ์อุณหภูมิสูง 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส ความสามารถในการงอกของเมล็ดพันธุ์ลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและไม่สามารถออกได้เมื่ออุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียส (เมล็ดด้วย 100%) นอกจากนี้การเพرمิ่งทุกกรรมวิธีทำให้เมล็ดพันธุ์ถัวเหลืองมีความสามารถในการออกลดลงมากกว่าชุดควบคุมและลดลงมากยิ่งขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ชุดควบคุมมีความสามารถออก 53% ในขณะที่การเพرمิ่งด้วย SA ทุกรอบดับความเข้มข้นมีความสามารถออกอยู่ระหว่าง 31 - 33% และ hydropriming มีความสามารถออกต่ำที่สุดเท่ากับ 16% (Table 1) ในทำงานของเดียวกันด้วยนีอัตราความสามารถออกและระยะเวลาเฉลี่ยในการออกให้ผลไปในทำงานของเดียวกับความสามารถออก กล่าวคือเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นด้วยนีอัตราความสามารถออกลดลงและระยะเวลาเฉลี่ยในการออกน้ำหนัก (Table 2 และ 3) ในสภาวะที่เหมาะสมต่อการออก (20 - 30 องศาเซลเซียส) เมล็ดพันธุ์นีอัตราความสามารถออกระหว่าง 16.01-19.63% ต่อวัน โดยการเพرمิ่งด้วย SA 200 ppm มีค่าสูงที่สุดแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมและที่ SA ระดับความเข้มข้นนี้ๆ (Table 2) สำหรับระยะเวลาเฉลี่ยในการออกมีค่าอยู่ในช่วง 4.30-4.83 วัน ซึ่งการเพرمิ่งด้วย SA 200 และ 300 ppm ทำให้เมล็ดพันธุ์ออกได้เร็วที่สุดคือ 4.30 วัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 4.50 วัน (Table 3) อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิ 30 และ 35 องศาเซลเซียส ด้วยนีอัตราความสามารถออกและระยะเวลาเฉลี่ยในการออกทุกกรรมวิธีไม่มีค่าแตกต่างกันทางสถิติ แสดงว่าการเพرمิ่งด้วย SA ทุกรอบดับความเข้มข้นและ hydropriming ไม่สามารถกระตุ้นให้เมล็ดพันธุ์มีความสามารถต้านทานต่ออุณหภูมิที่สูงขึ้นได้ (Table 1 2 และ 3) จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นอัตราการดูดนำของเมล็ดพันธุ์จะเร็วกว่าที่อุณหภูมิต่ำ (Horowitz and Taylorson, 1983) การดูดนำยังรวดเร็วทำให้อัตราการหายใจสูงขึ้น ก่อให้เกิดการสะสมของอนุมูลอิสระ สงผลกระทบต่อความสามารถเสียหายเซลล์เมมเบรน ดีอีนเอ โปรตีน และเร่งการเกิด lipid peroxidation (Breusegem et al. 2001; Richter and Schweizer, 1997) ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้เมล็ดพันธุ์มีความสามารถออกลดลงเมื่อทดสอบที่อุณหภูมิสูงขึ้น นอกจากนี้เมล็ดพันธุ์ที่เพرمิ่งด้วย SA และน้ำกลัน มีความสามารถออกต่ำกว่าเมล็ดพันธุ์ชุดควบคุมเมื่ออุณหภูมิสูง อาจเนื่องจากเมล็ดพันธุ์ที่ทำเพرمิ่งเป็นเมล็ดที่ได้รับการเตรียมพร้อมความสามารถออกทดสอบในสภาวะอุณหภูมิสูง อาจส่งผลต่อการเร่งกระบวนการทางชีวเคมีภายในเมล็ดพันธุ์เริ่มเกิดขึ้นแล้ว ในขณะที่เมล็ดพันธุ์ชุดควบคุมยังไม่ได้รับการเตรียมพร้อม เมื่อเมล็ดพันธุ์ที่เพرمิ่งได้รับความชื้นที่อุณหภูมิสูง อาจส่งผลต่อการเร่งกระบวนการทางชีวเคมีที่สูงขึ้นและเกิดการสะสมอนุมูลอิสระภายในเซลล์มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ชุดควบคุม และแม้ว่าการเพرمิ่งจะสามารถกระตุ้นให้เกิดกิจกรรมเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระได้แต่อาจไม่เพียงพอต่อการขัดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ที่เกิดขึ้น จึงส่งผลให้เซลล์เมมเบรน ดีอีนเอ หรือ โปรตีน เกิดความสามารถเสียหาย ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความสามารถออกลดลงหรือไม่สามารถออกได้ (Çavusoglu and Kabar, 2010) อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ยังไม่ได้ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเมล็ดพันธุ์ภายหลังการเพرمิ่งในสภาวะเครียด จึงอาจต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อนำมาอธิบายผลการทดลองให้ชัดเจนยิ่งขึ้น

สำหรับที่อุณหภูมิต่ำพบว่าความสามารถในการอกของเมล็ดพันธุ์ลดลงตามอุณหภูมิที่ต่ำลง โดยที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส การเพرمิงด้วย SA 200 และ 300 ppm ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความสามารถออกเท่ากับ 86% เท่ากัน และ hydropriming มีค่าเท่ากับ 84% ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุม (87%) อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส การเพرمิงด้วย SA 300 ppm มีเปอร์เซ็นต์ความสามารถออกสูงที่สุดเท่ากับ 70% และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (62%) (Table 1) การที่ SA สามารถกระตุ้นให้เมล็ดพันธุ์ถัวเหลืองหนนต่ออุณหภูมิต่ำได้ดีขึ้นอาจเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางด้านชีวเคมี ดังรายงานของ Farooq *et al.* (2008) พบว่าการเพرمิงด้วย SA กระตุ้นให้กิจกรรมของ antioxidant enzymes ได้แก่ catalase superoxide dismutase และ ascorbate peroxidase สูงขึ้นส่งผลให้ข้าวโพดสามารถหนนต่ออุณหภูมิต่ำได้ดีขึ้น นอกจากนี้พบว่าในสภาวะที่อุณหภูมิต่ำ SA กระตุ้นให้ไดอิโตรเจนสูงเป็นเงินไข่มุกที่เกี่ยวข้องในกระบวนการขยายใจมีกิจกรรมสูงขึ้นส่งผลให้ต้นกล้าทันตะวันมีความสามารถต้านทานต่ออุณหภูมิต่ำได้ดีขึ้น (Gornik *et al.*, 2014) นอกจากนี้อุณหภูมิที่ต่ำลงทำให้ดัชนีอัตราความงอกลดลงและระยะเวลาเฉลี่ยในการอกมากขึ้น แม้ว่าความสามารถของเมล็ดพันธุ์ถัวเหลืองที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีค่าไม่ต่างจากอุณหภูมิสูง 20-30 องศาเซลเซียส แต่ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลงมากกว่าโดยพิจารณาจากดัชนีอัตราความงอกที่ลดลงอยู่ระหว่าง 9.58-10.60% ต่อวัน (Table 2) และเมล็ดพันธุ์ใช้เวลาในการอกนานขึ้นเท่ากับ 8.28-8.33 วัน (Table 3) ในขณะที่อุณหภูมิที่เหมาะสมสมเมล็ดพันธุ์มีดัชนีอัตราความงอกและระยะเวลาเฉลี่ยในการอกอยู่ในช่วง 16.01-19.63% ต่อวัน และ 4.30-4.83 วัน ตามลำดับ (Table 2 และ 3) สำหรับที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ดัชนีอัตราความงอกลดลงมีค่าเท่ากับ 6.55-7.74% ต่อวัน และมีระยะเวลาเฉลี่ยในการอกนานขึ้น มีค่าระหว่าง 8.82 - 9.29 วัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกกรรมวิธี (Table 2 และ 3)

จากการทดลอง การเพرمิงด้วย SA ความเข้มข้น 300 ppm ทำให้เมล็ดพันธุ์ถัวเหลือง สามารถอกในสภาวะอุณหภูมิต่ำได้ดีขึ้นโดยมีความสามารถที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ยังไม่ได้ศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงทางด้านชีวเคมีของเมล็ดพันธุ์ถัวเหลืองภายหลังการเพرمิงด้วย SA ภายใต้สภาวะเครียด ซึ่งควรทำการศึกษาต่อเพื่อยืนยันผลการทดลองและอาจเพิ่มความสามารถเข้มข้นของ SA รวมถึงปรับปรุงวิธีการเพرمิงอาจช่วยให้ผลการทดลองมีความชัดเจนยิ่งขึ้น เพื่อที่จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถัวเหลืองต่อไป

Table 1 Standard germination of primed soybean seed cv. Chiangmai 60 with or without salicylic acid (SA) under temperature stress

Priming	Standard Germination (%) ^{1/}					
	Temperature (°C)					
Treatments	40	35	30	20 - 30	15	10
Untreated seed	0	53a	53	83	87a	62b
Hydropriming	0	16c	42	75	84ab	60b
100 ppm SA	0	33b	50	76	79b	62b
200 ppm SA	0	31b	46	83	86a	64ab
300 ppm SA	0	32b	43	80	86a	70a
F-Test	ns	**	ns	ns	*	*
C.V. (%)	0.00	12.87	15.16	7.15	4.09	8.16

^{1/} Mean in the same column followed by the same letters are not significantly different at p<0.05 by DMRT

Table 2 Germination rate Index of primed soybean seed cv. Chiangmai 60 with or without salicylic acid (SA) under temperature stress

Priming	Germination Rate Index (%/day) ^{1/}					
	Temperature (°C)					
Treatments	40	35	30	20 - 30	15	10
Untreated seed	0	6.66a	6.66	18.75ab	10.60a	6.92
Hydropriming	0	1.94c	5.22	16.01b	10.16ab	6.55
100 ppm SA	0	4.06b	6.19	17.64ab	9.58b	7.07
200 ppm SA	0	3.81b	5.78	19.63a	10.44a	7.15
300 ppm SA	0	3.94b	5.38	18.97a	10.44a	7.74
F-Test	ns	**	ns	**	*	ns
C.V. (%)	0.00	12.87	15.16	6.92	3.91	8.24

^{1/} Mean in the same column followed by the same letters are not significantly different at p<0.05 by DMRT

Table 3 Mean germination time of primed soybean seed cv. Chiangmai 60 with or without salicylic acid (SA) under temperature stress

Priming Treatments	Mean Germination Time (days) ^{1/}					
	Temperature (°C)					
	40	35	30	20 - 0030	15	10
Untreated seed	0	8.00	8.00	4.50b	8.28	9.05
Hydropriming	0	8.00	8.00	4.83a	8.33	9.29
100 ppm SA	0	8.00	8.00	4.37bc	8.29	8.82
200 ppm SA	0	8.00	8.00	4.30c	8.29	9.03
300 ppm SA	0	8.00	8.00	4.30c	8.29	9.20
F-Test	ns	ns	ns	**	ns	ns
C.V. (%)	0.00	0.00	0.00	2.34	1.10	2.79

^{1/} Mean in the same column followed by the same letters are not significantly different at p<0.05 by DMRT

4. สรุป

การเพرمิ่งเมล็ดพันธุ์ถัวเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ด้วย SA ที่ความเข้มข้น 100 200 และ 300 ppm เปรียบเทียบกับ hydropriming และชุดควบคุม พบร่วมกันว่าการเพرمิ่งด้วยสารละลายน้ำ SA 300 ppm ทำให้เมล็ดพันธุ์ถัวเหลืองสามารถทนต่ออุณหภูมิต่ำที่ 10 องศาเซลเซียส โดยมีเปอร์เซ็นต์ความออกซูดมากกว่าชุดควบคุมและกรวยมิริอื่นๆ อย่างไรก็ตามการเพرمิ่งด้วย SA ที่ระดับความเข้มข้น 100-300 ppm และ hydropriming ไม่สามารถทำให้เมล็ดพันธุ์ถัวเหลืองทนต่ออุณหภูมิสูงตั้งแต่ 30 องศาเซลเซียส ได้

5. เอกสารอ้างอิง

นิลุบล ทวีกุล และ ละอองดาว แสงหล้า. 2547. วิทยากรก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวถัวเหลือง.

สถาบันวิจัยพืชไตรัตน์ กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

Agostini, E.A.T, N.B. Machado-Neto and C.C. Custódio. 2013. Induction of water deficit tolerance by cold shock and salicylic acid during germination in the common bean. Maringá. 35: 209-219.

Al-Hakimi., A.M.A. 2006. Counteraction of drought stress on soybean plants by seed soaking in salicylic acid. Int. J. of Bot. 2: 421-426.

Breusegem, F.V., E. Vranova, J.F. Dat and D. Inze. 2001. The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Sci. 161: 405-414.

- Çavuşoglu, K. and K. Kabar. 2010. Effects of hydrogen peroxide on the germination and early seedling growth of barley under NaCl and high temperature stresses. EurAsia J. BioSci. 4: 70-79.
- Ellis, R.H. and E.H. Roberts. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. Ann. Bot. 45:13-30.
- Esechi, H. 1994. Interaction of salinity and temperature on hthe germination of sorghum. J. Agro. And Crop. Sci. 172: 194-199.
- Farhangi-Abriz, S. and K. Ghassemi-Golezani. 2018. How can salicylic acid and jasmonic acid mitigate salt toxicity in soybean plants?. Ecotoxicol. Environ. Saf. 147: 1010-1016.
- Farooq, M., T. Aziz, S.M.A. Basra, M.A. Cheema, H. Rehman. 2008. Chilling tolerance in hybrid maize induced by seed priming with salicylic acid. J. Agro. and Crop. Sci. 194: 161-168.
- Gibson, L.R. and R.E. Mullen.1996. Soybean seed quality reductions by high day and night temperature. Crop Sci. 36: 1615-1619.
- Gornik K., A. Badowiec, S. Weidner. 2014. The effect of seed conditioning, short-term heat shock and salicylic, jasmonic acid or brassinolide on sunflower (*Helianthus annuus* L.) chilling resistance and polysome formation. Acta Physiol. Plant. 36: 2547–2554.
- Horowitz, M. and R.B. Taylorson. 1983. Effect of high temperatures on imbibition, germination, and thermal death of velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) seeds. Canadian J. of Bot. 61: 2269-2276.
- ISTA. 2019. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association. Bassesdorf, Switzerland.
- Janda, T.,G. Szalai, I. Tari and E. Paldi. 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. Planta. 208: 175-180.
- Khalil, N., M. Fekry, M. Bishr, S. El-Zalabani and O. Salama. 2018. Foliar spraying of salicylic acid induced accumulation of phenolics, increased radical scavenging activity and modified the composition of the essential oil of water stressed *Thymus vulgaris* L. Plant Physiol. and Biochem. 123: 65-74.
- Lee, H., J. Leon and I. Raskin. 1995. Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 92: 4076-4079.

- Mahboob, W., M.A. Khan, M.U. Shirazi, Summiya Faisal, Asma and Saba Mumtaz. 2018. Seed priming induced high temperature tolerance in wheat by regulating germination metabolism and physio-biochemical properties. *Int. J. Agric. Biol.* 20: 2140-2148.
- Manzer, H.S., A.A. Saud, Y.A. Mutahhar and M.A. Hayssam. 2018. Response of salicylic acid on seed germination and physio-biochemical changes of wheat under salt stress. *Acta Sci. Agricul.* 2: 36-42.
- Raskin, I. 1992. Role of salicylic acid in plants. *Ann. Rev. Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 43: 439-463.
- Richter, C. and M. Schweizer. 1997. Oxidative stress in mitochondria, pp.169-200. In J.G. Scandalios, ed. *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses.* Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- Shatpathy, P., K. Manoranjan, S. K. Dwibedi and A. Dash. 2018. Seed priming with salicylic acid improves germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa L.*) under PEG-6000 induced water stress. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 7: 907-924.
- Shi, Q., Z. Bao, Z. Zhu, Q. Ying, Q. Qian. 2005. Effects of different treatments of salicylic acid on heat tolerance, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in seedlings of *Cucumis sativa L.* *Russ. J. Plant Physiol.* 52: 793-800.
- Thomas, J.M.G., K.J. Boote, L.H. Allen, Jr. M.Gallo- Meagher and J.M.Davis. 2003. Elevated temperature and carbon dioxide effects on soybean seed germination and transcript abundance. *Crop Sci.*, 43: 1548-1557.
- Thuzar, M.A., B. Puteh, N.A.P. Abdullah, M.B. Mohd. Lassim and J. Kamaruzaman. 2010. The effects of temperature stress on the quality and yield of soya bean (*Glycine max L. Merrill.*) *J. Agricul. Sci.* 2: 172-179.
- Vlot, A.C., D.A. Dempsey and D.F. Klessig. 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 47: 177-206.