

การไพร้มเมล็ดด้วย *Bacillus subtilis* ต่อความงอกและการเจริญเติบโต ของต้นกล้าผักกาดหอม

Seed Priming with *Bacillus subtilis* on Germination and Seedlings Growth of Lettuce (*Lactuca sativa*)

จักรพงษ์ กางโสภา* เพชรรัตน์ จีเพชร และ สุรีมาศ จันทะอินทร์

Jakkrapong Kangsopa*, Phetcarat Jeephet and Sureemard Chantain

Received: 16 April 2020, Revised: 14 July 2020, Accepted: 16 September 2020

บทคัดย่อ

การเพาะปลูกผักกาดหอมในระบบอุตสาหกรรม ต้องการต้นกล้าที่สม่ำเสมอ สมบูรณ์แข็งแรง ตลอดจนสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ในวันเวลาที่กำหนด จึงทำให้การผลิตพืชในระบบอุตสาหกรรมต้องการเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่มีทั้งคุณภาพความงอก และความแข็งแรงสำหรับใช้เพื่อการเพาะปลูก แต่เมล็ดผักกาดหอมมักประสบปัญหาของความงอกและความแข็งแรงต่ำ ทำให้การอนุบาลต้นกล้าที่ได้มีความงอกไม่สม่ำเสมอ จึงง่ายต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลง ทำให้เพิ่มต้นทุนการผลิตและไม่สามารถกำหนดวันเวลาได้ชัดเจน จากปัญหาดังกล่าวทำให้การเตรียมการงอกให้กับเมล็ดพันธุ์โดยวิธีการไพร้มมีร่วมกับจุลินทรีย์ชีวภาพเป็นทางเลือกหนึ่งของการยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ โดยมีผลการทดลองดังนี้ การไพร้มเมล็ดทุกวิธีการทำให้เมล็ดมีความงอกและความเร็วในการงอกดีมากกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้มและแตกต่างกันในทางสถิติ ยกเว้นการไพร้มด้วยน้ำที่ 12 ชั่วโมงมีความงอกไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม และการไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.4 % นาน 12 ชั่วโมง ทำให้ความยาวต้นสูงที่สุดและแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ แต่การไพร้มเมล็ดทุกวิธีการไม่ทำให้เมล็ดมีความยาวรากแตกต่างกันกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม ส่วนการไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.4 % นาน 12 ชั่วโมง ทำให้ผลรวมต้นกล้าดีมากกว่าวิธีการอื่นๆ แต่ไม่พบความแตกต่างกับการไพร้มเมล็ดด้วยน้ำนาน 6 ชั่วโมง และการไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.6% และ 0.8 % นาน 12 ชั่วโมง ดังนั้นการไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.4 % นาน 12 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความงอกและความเร็วในการงอกดี อีกทั้งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของลำต้น และมีผลรวมต้นกล้าดีมากกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม

คำสำคัญ: คุณภาพเมล็ดพันธุ์, การยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์, จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

Division of Agronomy, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand.

* ผู้นิพนธ์ประสานงานไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ (Corresponding author, e-mail): jakkrapong_ks@mju.ac.th

ABSTRACT

Growing industrial lettuce requires seedlings that grow consistently, have vigor, and can be harvested right on schedule. Therefore, in the industrial lettuce production, seedlings with both quality germination and vigor are necessary. Nevertheless, general lettuce seeds have low germination and vigor. This results in nursery grown seedlings that grow inconsistently and can be easily destroyed by diseases and insects. As a result, the production cost increases and the schedule for harvest cannot be controlled. From the aforementioned problems, seed priming with microorganisms is an alternative to enhance the improvement of lettuce seeds. The four repetitive sets of experiments were based on Completely Randomized Design (CRD). The experiment results are as follows. All methods of priming used with lettuce seeds resulted in seedlings with better germination percentage and speed of germination compared with non-primed ones. Moreover, the differences were statistically significant. However, the differences in germination of seeds primed with water for 12 hours were statistically insignificant in comparison with non-primed seeds. On the other hand, seeds primed with 0.4% of *B. subtilis* for 12 hours became seedlings with better total seedling length when compared with those primed by other seed priming methods. Contrastingly, all seed priming methods did not show the differences in the seedlings' shoot length as opposed to non-primed seeds. It was found that primed seeds with 0.4% *B. subtilis* % for 12 hours became seedlings with better total seedling length compared to primed seeds with other priming methods. Nevertheless, the differences in the total seedling length of those seeds compared with primed seeds with water for 6 hours and those with *B. subtilis* 0.6 % and 0.8 % for 12 hours were not found. In conclusion, seeds priming with *B. subtilis* 0.4% for 12 hours resulted in seedlings with better germination percentage and speed of germination. It also promoted the shoot growth and improved total seedling length in contrast with non-primed seeds.

Key words: seed quality, seed enhancement, microorganisms

บทนำ

ผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L.) เป็นหนึ่งในผักกินใบที่นิยมเพาะปลูกกันทั่วโลก (Kim *et al.*, 2017) โดยประเทศจีนมีการเพาะปลูกผักกาดหอมมากที่สุดในโลก รองลงมาคือ สหรัฐอเมริกา และประเทศยุโรปตะวันตก ตามลำดับ (Mou, 2008) ปัจจุบันประเทศไทยมีการปลูกผลิตผักในระบบ Hydroponic มากกว่า 250 แห่งทั่วประเทศ คิดเป็นพื้นที่ปลูกมากกว่า 1,000 ไร่ โดยวิธีการปลูกผักใน

ระบบ hydroponic มีการพัฒนาวิธีการให้สารละลายแก่รากพืชที่เรียกว่า ระบบ Nutrient Film Technique (NFT) ซึ่งเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมอย่างมากในปัจจุบัน ทำให้ประเทศไทยสามารถผลิตผักกาดหอม (Lettuce) สายพันธุ์ชนิดต่างๆ ได้เองหลากหลายสายพันธุ์ เช่น กรีนไอ้ค, เรดไอ้ค, บัตเตอร์เฮด, กรีนคอส และ เรดคอรอล เป็นต้น จากวิธีการปลูกผักกาดหอมแบบ hydroponic การเพาะกล้าผักกาดหอมชนิดต่างๆ เป็นขั้นตอนที่สำคัญมากในการผลิต เนื่องจากเมล็ด

ผักกาดหอมเป็นเมล็ดพวก Asteraceae เป็นเมล็ดพันธุ์ขนาดเล็ก แบน เบา มีอาหารสะสมในเมล็ดน้อย มีราคาแพง จึงมีความจำเป็นอย่างมากที่จะต้องอนุบาลต้นกล้าให้มีทรงกอสม่ำเสมอ ต้นกล้าไม่เบียดกันจนทำให้เกิดโรคง่ายและติดต่อกันในระยะกล้า (Kangsopa and Siri, 2015) ซึ่งในการผลิตผักแบบ Hydroponic ที่เป็นระบบอุตสาหกรรม และต้องการต้นกล้าที่สม่ำเสมอ สมบูรณ์แข็งแรง ตลอดจนสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ในวันเวลาที่กำหนด จึงทำให้การผลิตพืชในระบบอุตสาหกรรมต้องการเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่มีทั้งคุณภาพความงอก และความแข็งแรงสำหรับใช้เพื่อการเพาะปลูก

จากปัญหาดังกล่าวทำให้ขั้นตอนการเตรียมการงอกให้กับเมล็ดพันธุ์โดยวิธีการไพรม์มิ่ง (Seed priming) เป็นความจำเป็นต่อระบบการเพาะปลูกพืช โดยการไพรม์เมล็ดพันธุ์เป็นวิธีการให้ความชื้นให้กับเมล็ดพันธุ์ โดยจะให้เมล็ดค่อยๆ ดูดซับน้ำ ในสถานะที่มีการควบคุมอุณหภูมิ และระยะเวลาในการให้ความชื้น การไพรม์เมล็ดพันธุ์ช่วยเพิ่มกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ และกระบวนการทางชีววิทยาต่างๆ ภายในเมล็ดให้ดียิ่งขึ้น ส่งผลทำให้เมล็ดพันธุ์งอกได้เร็วและสม่ำเสมอมากขึ้น ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตดีขึ้น ส่งผลให้ต้นพืชเจริญเติบโตและให้ผลผลิตที่มากขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชหรือธาตุอาหารพืชบางชนิดในขั้นตอนการแช่เมล็ดเพื่อให้ดูดซับน้ำ เพื่อเสริมประสิทธิภาพในการไพรม์เมล็ดพันธุ์ให้ดียิ่งขึ้นได้ (Taylor *et al.*, 1998; McDonald, 2000; Siri, 2015)

โดยเฉพาะการไพรม์เมล็ดพันธุ์ร่วมกับจุลินทรีย์ชีวภาพ ทั้งนี้เนื่องจากจุลินทรีย์ที่มีวงชีวิตอยู่ร่วมกันกับพืช มีความสำคัญและเกี่ยวข้องกับ การเจริญเติบโตของพืช ซึ่งสามารถสร้างสารอาหารที่ต้นพืชต้องการเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะในสกุล *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Pseudomonas* และ *Bacillus* เป็นต้น

(Kangsopa *et al.*, 2018) จุลินทรีย์เหล่านี้มีกลไกที่สำคัญคือ สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตของพืช โดยสนับสนุนให้พืชหาอาหาร และการดูดซึมจากดินผ่านกลไกต่าง ๆ มากขึ้น อีกทั้งส่งเสริมกระบวนการละลายของฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำ (Kundu and Gaur, 1980) การสังเคราะห์สารประกอบธาตุเหล็ก (Glick *et al.*, 2007) การผลิตกรดอินทรีย์กรดอะมิโน (IAA) ซึ่งช่วยเพิ่มการเจริญของรากและลำต้น (Oteino *et al.*, 2015) และลดการเกิดโรคในพืช โดยการผลิตไคตินเอส β -1, 3-glucanase และ pectinase เพื่อลดการสร้างผนังเซลล์ของเชื้อรา (Bloemberg and Lugtenberg, 2001; Turan *et al.*, 2005) จากความสำคัญดังกล่าวทำให้การยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีทางชีวภาพที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม มีต้นทุนต่ำ และมีประสิทธิภาพสูง

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาอัตราส่วนของ *B. subtilis* และระยะเวลาการไพรม์ที่เหมาะสมต่อการไพรม์ร่วมกับเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม และติดตามการเปลี่ยนแปลงของความงอก และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหอม เพื่อเป็นอีกหนึ่งทางเลือกเพื่อยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการเพาะปลูกผักกาดหอมในระบบการปลูกพืชไร้ดินและในระบบแปลงเพาะปลูกให้มีผลผลิตและคุณภาพเพิ่มสูงขึ้น

วิธีดำเนินการวิจัย

งานทดลองนี้ใช้เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม ลูกผสมพันธุ์ กรีน โอ๊ค ดำเนินการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ดำเนินการทดลองระหว่างเดือน มกราคม - เมษายน 2563 ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินการทดลอง ดังต่อไปนี้

1. การไพร้มเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมร่วมกับ *Bacillus subtilis*

การไพร้มเมล็ดพันธุ์ทำโดยแช่เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมในสารละลาย *Bacillus subtilis* MBI 600 (Integral®, BASF) (ความเข้มข้นของจำนวนเชื้อ 2.2×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร) ที่ถูกเตรียมร่วมกับน้ำกลั่น โดยมีกรรมวิธีการทดลองดังแสดงในตารางที่ 1

จากนั้นนำไปไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 °C เมื่อครบกำหนดเวลานำเมล็ดพันธุ์ออกมาล้างด้วยน้ำกลั่น โดยล้างผ่านน้ำไหลเป็นเวลา 2 นาที หลังจากนั้นซับน้ำที่ผิวเมล็ดและนำไปลดความชื้นในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดที่ผ่านการไพร้มมาตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 1 แสดงสูตรสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมร่วมกับ *Bacillus subtilis* ในอัตราและระยะเวลาที่แตกต่างกัน

สารออกฤทธิ์	สูตรการไพร้มเมล็ดพันธุ์														
	6 ชั่วโมง								12 ชั่วโมง						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T1	T11	T12	T13	T14	T15
	0														
<i>B. subtilis</i>	-	-	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	-	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
น้ำ	-	100	99.9	99.8	99.6	99.4	99.2	99.0	100	99.9	99.8	99.6	99.4	99.2	99.0

B. subtilis และ น้ำ มีหน่วยเป็น มิลลิลิตร

2. การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

2.1 การตรวจสอบความงอกในสภาพห้องปฏิบัติการ

สุ่มเมล็ดพันธุ์ทุกวิธีการจำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด มาทดสอบความงอกโดยวิธี Top of paper (TP) จากนั้นนำไปไว้ในตู้เพาะความงอกอุณหภูมิสถับ (8 ชั่วโมง 30 °C และ 16 ชั่วโมง 20 °C)

แล้วตรวจนับความงอกหลังการเพาะครั้งแรกที่ 4 วัน (First count) และ 7 วันหลังเพาะ (Final count) โดยนำมาประเมินผลการตรวจสอบความงอกตามวิธีของ ISTA (International Seed Testing Association) (2018)

$$\text{ความงอกของเมล็ดพันธุ์ในสภาพห้องปฏิบัติการ (\%)} = \frac{\text{จำนวนของเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติ} \times 100}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}}$$

ส่วนการตรวจสอบลักษณะเมล็ดตาย ทำโดยประเมินผลจากลักษณะเมล็ดที่ไม่งอก เมล็ดอยู่ในสภาพไม่สด เน่า และ หรืออาจจะมีเชื้อราขึ้นบนเมล็ด ประเมินทั้งหมด 4 ซ้ำ แล้วจึงนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เมล็ดตาย ส่วนการตรวจสอบลักษณะเมล็ดสด ทำโดยประเมินลักษณะของเมล็ดที่มีชีวิตสามารถดูดน้ำได้แต่ไม่งอก เมล็ดอยู่ในสภาพสด และสมบูรณ์ ทำทั้งหมดจำนวน 4 ซ้ำ แล้วจึงนำมาประเมินเปอร์เซ็นต์เมล็ดแข็ง และการตรวจสอบ

ลักษณะต้นกล้าผิดปกติ ทำโดยการประเมินต้นกล้าที่ไม่สามารถเจริญเป็นต้นกล้าที่ปกติได้ หรือต้นกล้าที่มีรากและลำต้นไม่สมบูรณ์ ทำทั้งหมดจำนวน 4 ซ้ำ แล้วนำมาประเมินหาเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าผิดปกติ

2.2 การตรวจสอบความเร็วในการงอกในสภาพห้องปฏิบัติการ

สุ่มเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านกระบวนการไพร้มและไม่ไพร้มจำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด นับจำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติ

ประเมินนับทุกวัน ตั้งแต่เริ่มนับครั้งแรก (First count) จนถึงวันสุดท้าย (Final count) แล้วนำผลการนับมา

คำนวณหาความเร็วในการงอกดังสูตร

$$\text{ความเร็วในการงอก (ต้น/วัน)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนต้นกล้าปกติที่งอกในแต่ละวัน)}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}}$$

2.3 การตรวจสอบการงอกรากในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มประเมินการงอกรากจากการเพาะทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ ในวันที่ 1 และ 3 วันหลังเพาะ ในแต่ละกรรมวิธีทำ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด

โดยจะเริ่มตรวจนับเมื่อเมล็ดมีการงอกของรากที่มีความยาว 2 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การงอกรากดังสูตร

$$\text{การงอกราก (\%)} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอกราก} \times 100}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}}$$

2.4 การตรวจสอบความเร็วในการงอกรากในสภาพห้องปฏิบัติการ ดำเนินการตรวจนับรากที่มีความยาว 2 มิลลิเมตร ในทุกวันตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่

3 หลังการเพาะ ทำทั้งหมด 4 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด ในทุกกรรมวิธีการ จากนั้นนำมาคำนวณหาความเร็วในการงอกรากของต้นกล้าผักกาดหอม ดังนี้

$$\text{ความเร็วในการงอกราก (ราก/วัน)} = \frac{\text{ผลรวมของ (จำนวนรากที่งอกในแต่ละวัน)}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}}$$

2.5 การตรวจสอบความยาวต้นและความยาวราก สุ่มต้นกล้าปกติที่อายุ 7 วันหลังเพาะจากการเพาะทดสอบความงอก ทำ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น ทำการตรวจวัดความยาวต้น โดยวัดตั้งแต่ส่วนรอยต่อของต้นกับรากไปจนถึงปลายสุดใบจริง (Foliage leaf) ส่วนความยาวราก วัดจากบริเวณปลายรากจนถึงบริเวณข้อต่อระหว่างส่วนรากและลำต้นของต้นกล้า (Baki and Anderson, 1973) และการประเมินความยาวต้นกล้าทั้งหมด ตรวจวัดตั้งแต่ปลายรากไปจนถึงปลายสุดใบจริง โดยใช้ไม้บรรทัดมีหน่วยเป็นมิลลิเมตร

เพื่อวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้วิธี Arcsine transformation และเมื่อข้อมูล มีค่าเป็น 0 มีการแปลงค่าโดยวิธี Square root $\sqrt{x+0.5}$ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) และเปรียบเทียบคุณภาพและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหอมโดยวิธี Orthogonal Contrast Comparison วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SAS (Version 9.1)

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. การประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมหลังผ่านการไพร่มเมล็ดด้วย *Bacillus subtilis*

1.1 คุณภาพเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมหลังผ่านการไพร่มเมล็ดด้วย *Bacillus subtilis*

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูล ทำการวิเคราะห์ข้อมูลคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพเมล็ดพันธุ์ตามลักษณะต่างๆ ใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) แปลงข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด

เมื่อพิจารณาการไพร้มเมล็ดด้วย *Bacillus subtilis* ในเวลาและอัตราที่แตกต่างกันแล้วนำไปตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า การไพร้มเมล็ดทุกวิธีการไม่ทำให้การงอกรากและความเร็วในการงอกรากของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมมีความแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม ส่วนการตรวจสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมพบว่า การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.1% เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีความงอกมากกว่าและแตกต่างในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม แต่เมื่อพิจารณาความเร็วในการงอกพบว่า การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.1% และ 0.8% เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และการไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความเร็วในการงอกดีมากกว่าและแตกต่างในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม แต่ไม่พบความแตกต่างกัน ในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ (ตารางที่ 2) อีกทั้งจากการเปรียบเทียบแบบกลุ่มระหว่างเมล็ดไม่ไพร้มและการไพร้มเมล็ดทุกวิธีการพบว่า ไม่ทำให้การงอกรากและความเร็วในการงอกรากของต้นกล้าผักกาดหอมมีความแตกต่างกัน แต่ยังคงพบความแตกต่างกันของความงอก โดยการไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.1% เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีความงอกมากกว่าและแตกต่างในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม (ตารางที่ 3)

ซึ่งเมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงช่วงแรกของกระบวนการงอกของเมล็ดพันธุ์จะพบว่า การไพร้มเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ทุกช่วงเวลาและทุกอัตรายังไม่ส่งผลส่งเสริมทำให้เมล็ดสามารถงอกรากได้เร็วเพิ่มขึ้นในช่วง 3 วันหลังเพาะ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม ทั้งนี้ *Bacillus* spp. ต้องใช้เวลาประมาณ 24 ชั่วโมงในการสร้างไบโอฟิล์มสำหรับเป็นแหล่งรวมสารออกฤทธิ์ เช่น กรดมาลิก (Rudrappa *et al.*,

2008; Chen *et al.*, 2012) ซึ่งเป็นกรดที่ช่วยเพิ่มความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อถูกนำไปใช้ในวัฏจักรคัลวินเพื่อเป็นแหล่งพลังงานสร้างสารอินทรีย์พวก ATP และ NADPH จึงยังคงไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนในช่วงระยะเวลาแรกของการงอกราก แต่จะพบการเปลี่ยนแปลงหลังผ่านการเพาะไปแล้ว 4-7 วัน โดยจะพบว่า การไพร้มเมล็ดทุกวิธีการมีผลส่งเสริมทำให้เมล็ดมีความงอกและความเร็วในการงอกเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม ทั้งนี้การไพร้มเมล็ดพันธุ์เป็นการเพิ่มความชื้นให้กับเมล็ดพันธุ์ โดยวิธีการแช่เมล็ดในน้ำหรือสารละลายที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในสภาพอุณหภูมิที่เหมาะสมในช่วงระยะเวลาที่นานเพียงพอที่จะทำให้เมล็ดมีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางชีวเคมีและสรีรวิทยาต่างๆ (Bewley and Black, 1982) อย่างไรก็ตาม ในกระบวนการไพร้มเมล็ดพันธุ์เป็นวิธีการทำให้เมล็ดพันธุ์จะมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยามีพลังงานในเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้นจากกระบวนการหายใจ นอกจากนี้ยังทำให้ผนังของเยื่อหุ้มเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลงในการจัดเรียงตัวอย่างมีระเบียบ และเกิดการซ่อมแซมเซลล์และอวัยวะย่อยต่างๆ ที่เสื่อมสภาพ (McDonald, 1999; Siri *et al.*, 2013; Krainart *et al.*, 2015) จึงมีผลทำให้เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่ถูกไพร้มมีการเปลี่ยนแปลงของความงอกและความเร็วในการงอกดีเพิ่มขึ้น

นอกจากนี้ จากกรรมวิธีการไพร้มเมล็ดด้วย *B. Subtilis* ในระยะเวลาและอัตราที่แตกต่างกันยังมีผลส่งเสริมการเปลี่ยนแปลงของความงอกและความแข็งแรงของผักกาดหอมอย่างชัดเจน โดย *Bacillus subtilis* เป็นจุลินทรีย์ชีวภาพที่สามารถสังเคราะห์สารออกฤทธิ์กลุ่มของ phytohormones เช่น indoleacetic acid, abscisic acid, gibberellins และ cytokinins ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่เป็นปัจจัยสำคัญต่อกระบวนการงอกและการเจริญเติบโตของพืช (Spaepen and

Vanderleyden, 2011; Glick, 2012; Rakshit *et al.*, 2015; Singh, 2016) ซึ่ง Mahmood *et al.* (2016) รายงานว่าการไพร้มเมสส์ร่วมกับจุลินทรีย์ชีวภาพเป็นหนึ่งในวิธีการที่ดีสำหรับการเตรียมความพร้อมให้กับเมล็ด โดยสามารถช่วยให้เมล็ดสามารถงอกได้ดี งอกสม่ำเสมอ และต้นกล้ามีความสมบูรณ์แข็งแรงเพิ่มขึ้น ดังนั้น วิธีการไพร้มเมล็ดพันธุ์ร่วมกับจุลินทรีย์จึงเป็นวิธีการทำให้เมล็ดมีการเพิ่มขึ้นของประชากรจุลินทรีย์ที่ผิวของเมล็ดผ่านการแช่ในน้ำหรือสารละลาย โดย Callan *et al.* (1990) รายงานว่า ในระหว่างการไพร้มเมล็ดพันธุ์พบจำนวนประชากรของ

แบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก 10 เป็น 10,000 เท่าจากเดิม จากวิธีการดังกล่าว จึงทำให้จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อการงอกของเมล็ดติดไปกับเมล็ดพันธุ์ โดยเฉพาะการไพร้มเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมด้วย *B. subtilis* ที่มีคุณสมบัติสามารถผลิต 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase เพื่อควบคุมระดับเอทิลีน โดยจะเกิดการเผาผลาญ ACC แล้วเปลี่ยนไปเป็น α -ketobutyric และแอมโมเนียที่มีผลต่อการส่งเสริมการงอกของเมล็ด (Arshad *et al.*, 2007; Glick *et al.*, 2007) จึงทำให้เมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมมีการงอกและความเร็วในการงอกดีเพิ่มขึ้นจากเดิม

ตารางที่ 2 การงอกราก ความเร็วในการงอกราก ความงอก และความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมหลังผ่านการไพร้มเมล็ดร่วมกับ *Bacillus subtilis* ในระยะเวลาและอัตราที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	สภาพห้องปฏิบัติการ			
	การงอกราก (%)	ความเร็วในการงอกราก (ราก/วัน)	ความงอก (%)	ความเร็วในการงอก (ต้น/วัน)
เมล็ดไม่ไพร้ม	95 ¹	45.46	89 d ²	10.89 c
ไพร้มเมล็ด + น้ำ + 6 ชม.	98	48.71	97 a-c	12.10 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.1 % + 6 ชม.	100	49.75	100 a	12.44 a
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.2 % + 6 ชม.	98	48.63	98 a-c	12.19 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.4 % + 6 ชม.	97	47.71	95 b-d	11.88 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.6 % + 6 ชม.	99	48.92	99 ab	12.32 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.8 % + 6 ชม.	99	49.21	99 ab	12.38 a
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 1.0 % + 6 ชม.	98	48.75	98 a-c	12.19 ab
ไพร้มเมล็ด + น้ำ + 12 ชม.	97	48.00	94 cd	11.75 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.1 % + 12 ชม.	97	48.13	97 a-c	12.13 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.2 % + 12 ชม.	100	49.38	97 a-c	12.32 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.4 % + 12 ชม.	76	37.17	98 a-c	12.29 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.6 % + 12 ชม.	99	48.29	98 a-c	12.19 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.8 % + 12 ชม.	98	48.38	97 a-c	12.07 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 1.0 % + 12 ชม.	100	49.17	99 ab	12.38 a

ตารางที่ 2 (ต่อ)

กรรมวิธี	สภาพห้องปฏิบัติการ			
	การจกราก (%)	ความเร็วในการจกราก (ราก/วัน)	ความงอก (%)	ความเร็วในการงอก (ต้น/วัน)
ค่าเฉลี่ย	96	47.71	97	12.10
<i>F</i> -test	ns	ns	**	**
CV.(%)	11.94	11.88	7.16	2.80

ns, **: ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และมีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ $p \leq 0.01$ ตามลำดับ

¹ แปลงข้อมูลการจกราก และความงอกก่อนนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิธี arcsin

² อักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ $p \leq 0.05$

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบแบบกลุ่มโดยวิธี orthogonal contrast ของการจกราก, ความเร็วในการจกราก, ความงอก และความเร็วในการงอก ของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมหลังผ่านการไพร้มเมล็ดร่วมกับ *Bacillus subtilis* ในระยะเวลาและอัตราที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี ¹	การจกราก (%)	ความเร็วในการจกราก (ราก/วัน)	ความงอก (%)	ความเร็วในการงอก (ต้น/วัน)
	1 vs 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15	ns	ns	**
3 vs 10	ns	ns	**	**
4 vs 11	ns	ns	**	**
5 vs 12	ns	ns	**	**
6 vs 13	ns	ns	**	**
7 vs 14	ns	ns	**	**
8 vs 15	ns	ns	**	**
CV.(%)	11.91	11.88	2.76	2.80

ns, **: ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และมีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ $p \leq 0.01$ ตามลำดับ

¹ T1 = เมล็ดไม่ไพร้ม, T2 = การไพร้มเมล็ดด้วย H₂O ที่ 6 ชั่วโมง, T3 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.1% ที่ 6 ชั่วโมง, T4 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.2% ที่ 6 ชั่วโมง, T5 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.4% ที่ 6 ชั่วโมง, T6 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.6% ที่ 6 ชั่วโมง, T7 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.8% ที่ 6 ชั่วโมง, T8 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0% ที่ 6 ชั่วโมง, T9 = การไพร้มเมล็ดด้วย H₂O ที่ 12 ชั่วโมง, T10 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.1% 12 ชั่วโมง, T11 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.2% 12 ชั่วโมง, T12 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.4% 12 ชั่วโมง, T13 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.6% 12 ชั่วโมง, T14 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.8% 12 ชั่วโมง, T15 = การไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0% 12 ชั่วโมง

1.2 ลักษณะของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมหลังผ่านการไพร้มเมล็ดด้วย *Bacillus subtilis*

หลังการไพร้มเมล็ดด้วย *Bacillus subtilis* ในเวลาและอัตราที่แตกต่างกันแล้วนำไปตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า การไพร้มเมล็ดทุกวิธีการไม่ทำให้จำนวนเมล็ดตายและเมล็ดสดไม่งอกมีความแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม จากนั้นตรวจสอบต้นกล้าผิปกติพบว่า การไพร้มเมล็ดทุกวิธีการมีต้นกล้าผิปกติน้อยกว่าและแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม ยกเว้นการไพร้มเมล็ดด้วยน้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ยังคงทำให้มีต้นกล้าผิปกติมากกว่าการไพร้มเมล็ดทุกวิธีการ (ตารางที่ 4) จากผลของการทดลองที่ได้ศึกษาการไพร้มเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมร่วมกับ *B. subtilis* ในระยะเวลาและอัตราที่แตกต่างกันแสดงให้เห็นว่า การไพร้มเมล็ดทุกวิธีการไม่ทำให้จำนวนของเมล็ดตายและเมล็ดสดไม่งอกมีความแตกต่างกันกับเมล็ดที่ไม่ได้ไพร้ม อีกทั้งการไพร้มเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ทุกช่วงเวลาและทุกอัตราทำให้เมล็ดมีลักษณะของต้นกล้าผิปกติน้อย เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้ม ทั้งนี้การไพร้มเมล็ดพันธุ์เป็นวิธีการให้ความชื้นแก่เมล็ด หรือแช่เมล็ดในน้ำในอุณหภูมิที่เหมาะสม และระยเวลานานเพียงพอที่จะทำให้เมล็ดมีการเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางชีวเคมี และเกิดกระบวนการทาง

สรีรวิทยาต่างๆ (Bewley and Black, 1982) จากวิธีการดังกล่าวทำให้เมล็ดดูดอุมน้ำและมีความเกี่ยวข้องกับค่าศักย์ของน้ำ (Water potential) โดยทั่วไปตามค่าศักย์ของน้ำในการแช่เมล็ดในน้ำปริมาณมาก น้ำจะเคลื่อนที่เข้าสู่เมล็ดได้อย่างรวดเร็ว ซึ่ง Siri (2009) รายงานว่า เมื่อแช่เมล็ดพันธุ์ในสารละลายเกลือที่มีความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้น เมล็ดพันธุ์จะมีอัตราการดูดน้ำช้าและน้อยลง เนื่องจากค่าศักย์ของน้ำได้เปลี่ยนไปมีค่าต่ำกว่าค่าปกติ จากการที่เมล็ดพันธุ์มีอัตราการดูดอุมน้ำช้าลง ทำให้ระยะเวลาดูดอุมน้ำระยะที่ 2 ยาวนานขึ้น ซึ่งระยะดังกล่าวมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและเซลล์ภายในเมล็ด จึงทำให้เมล็ดผักกาดหอมที่ผ่านการไพร้มในสารละลาย *B. subtilis* มีอัตราการดูดอุมน้ำช้าลงเช่นเดียวกัน ทำให้เมล็ดมีช่วงเวลาสำหรับการซ่อมแซมเมมเบรนที่เสื่อมคุณภาพมากขึ้น (Parera and Cantiffe, 1994) อีกทั้งเพิ่มกิจกรรมของ Isocitrate lyase และ Malate synthase กิจกรรมของเอนไซม์ใน Glyoxysome และ Anti-oxidation เพิ่มมากขึ้น ช่วยกระตุ้นการสังเคราะห์ DNA และ RNA รวมถึงช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ภายในเมล็ดมีประสิทธิภาพดีขึ้น (Siri, 2015) จึงทำให้เมล็ดที่ผ่านการไพร้มมีมีลักษณะของเมล็ดตาย เมล็ดสด และต้นกล้าผิปกติเพียงเล็กน้อย และมีแนวโน้มการเกิดลักษณะเหล่านี้้น้อยมากกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพร้มมีเมล็ด

ตารางที่ 4 เมล็ดตาย เมล็ดสดไม่งอก และต้นกล้าผิปกติของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมหลังผ่านการไพร้มเมล็ดร่วมกับ *Bacillus subtilis* ในระยะเวลาและอัตราที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	สภาพห้องปฏิบัติการ		
	เมล็ดตาย (%)	เมล็ดสด (%)	ต้นกล้าผิปกติ (%)
เมล็ดไม่ไพร้ม	3 ¹	1	7 a ²
ไพร้มเมล็ด + น้ำ + 6 ชม.	1	1	1 c
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.1% + 6 ชม.	0	0	0 c
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.2% + 6 ชม.	1	0	1 c

ตารางที่ 4 (ต่อ)

กรรมวิธี	สภาพห้องปฏิบัติการ		
	เมล็ดตาย (%)	เมล็ดสด (%)	ต้นกล้าผิดปกติ (%)
ไพรม์เมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.4% + 6 ชม.	2	0	3 bc
ไพรม์เมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.6% + 6 ชม.	0	0	1 c
ไพรม์เมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.8% + 6 ชม.	0	0	1 c
ไพรม์เมล็ด + <i>B. subtilis</i> 1.0% + 6 ชม.	1	0	1 c
ไพรม์เมล็ด + น้ำ + 12 ชม.	1	1	4 ab
ไพรม์เมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.1% + 12 ชม.	0	1	2 c
ไพรม์เมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.2% + 12 ชม.	2	0	1 c
ไพรม์เมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.4% + 12 ชม.	1	0	1 c
ไพรม์เมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.6% + 12 ชม.	1	0	1 c
ไพรม์เมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.8% + 12 ชม.	1	0	2 c
ไพรม์เมล็ด + <i>B. subtilis</i> 1.0% + 12 ชม.	0	0	1 c
ค่าเฉลี่ย	1	0	2
<i>F</i> -test	ns	ns	**
CV.(%)	49.31	36.68	40.27

ns, **: ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ และมีความแตกต่างกันในทางสถิติที่ $p \leq 0.01$ ตามลำดับ

¹ แปลงข้อมูลของเมล็ดตาย เมล็ดสด และต้นกล้าผิดปกติก่อนวิเคราะห์ข้อมูลด้วย square root $\sqrt{x+0.5}$

² อักษรต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ $p \leq 0.05$

2. การเปลี่ยนแปลงความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าผักกาดหอมหลังผ่านการไพรม์เมล็ดด้วย

Bacillus subtilis

หลังการพิจารณาการไพรม์เมล็ดด้วย *Bacillus subtilis* ในเวลาและอัตราที่แตกต่างกันแล้วนำไปตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า การไพรม์เมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.6% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความยาวต้นสูงที่สุดและมีความแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ ส่วนการตรวจสอบความยาวรากพบว่า การไพรม์เมล็ดทุกวิธีการไม่ทำให้ความยาวรากมีการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกัน แต่เมื่อพิจารณาผลรวมต้นกล้าพบว่า การไพรม์เมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.6% เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

ทำให้มีผลรวมของต้นกล้าผักกาดหอมดีมากกว่าและแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ แต่ไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดที่ผ่านการไพรม์ด้วยน้ำ 6 ชั่วโมง การไพรม์เมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.6% 12 ชั่วโมง และการไพรม์เมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.8% 12 ชั่วโมง (ตารางที่ 5)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การไพรม์เมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.4% นาน 12 ชั่วโมง มีแนวโน้มทำให้การเปลี่ยนแปลงของความยาวต้น และผลรวมของต้นกล้าสูงมากกว่าวิธีการอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจาก *Bacillus subtilis* สามารถสังเคราะห์ Phytohormone ในกลุ่ม Auxin, IAA, Gibberellins, Cytokinins และ Spermidines ที่มีบทบาทต่อการส่งเสริมการ

เจริญเติบโตของลำต้นและรากของต้นกล้า (Arkhipova *et al.*, 2005; Glick, 2012; Xie *et al.*, 2014; Radhakrishnan and Lee, 2016) โดยเฉพาะ Indole-3-acetic acid (IAA) (Zaidi *et al.*, 2006) ซึ่งมีบทบาทช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของลำต้นของต้นกล้าให้ยืดขยายเซลล์เพิ่มมากขึ้นจากเดิม (Honma and Shimomura, 1978; Glick, 2014) นอกจากนี้ IAA ยังทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญที่ปลายรากพืชทำให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสเพิ่มขึ้น และเพิ่มความสามารถในการลำเลียงธาตุอาหาร (Yang *et al.*, 2009) รวมถึงการทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยการตรึงไนโตรเจนในชั้นบรรยากาศเพื่อช่วยในการยืดขยายเซลล์มากขึ้น (Kuan *et al.*, 2016) ยกตัวอย่างการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียในสายพันธุ์ *Bacillus* OSU-

142 ซึ่งสามารถเพิ่มผลผลิตของข้าวสาลีฤดูน้ำปีและผักขมได้เพิ่มมากขึ้น (Cakmakci *et al.*, 2007) และพบรายงานการเพิ่มขึ้นของความยาวต้น และความยาวรากของต้นกล้าผักกาดหอม หลังการพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *P. putida* CC-R2-4 และ *B. subtilis* CC-pg104 (Rekha *et al.*, 2007) นอกจากนี้ เมื่อเมล็ดมะเขือเทศได้รับการคลุกด้วย *Bacillus subtilis* (EPC016) พบว่าการเจริญเติบโตของต้นกล้าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการคลุก (Ramyabharathi *et al.*, 2013) ดังนั้น จากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่าการไพร้มเมล็ดด้วย *B. subtilis* เป็นวิธีการยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่ดีมากกว่าเมล็ดเปล่า

ตารางที่ 5 ความยาวลำต้น ความยาวราก และความยาวต้นกล้าของเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมหลังผ่านการไพร้มเมล็ดร่วมกับ *Bacillus subtilis* ในระยะเวลาและอัตราที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	สภาพห้องปฏิบัติการ		
	ความยาวต้น (มิลลิเมตร)	ความยาวราก (มิลลิเมตร)	ผลรวมต้นกล้า (มิลลิเมตร)
เมล็ดไม่ไพร้ม	15.61 b ¹	36.94	52.52 b
ไพร้มเมล็ด + น้ำ + 6 ชม.	17.44 b	37.10	54.56 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.1% + 6 ชม.	15.83 b	33.86	49.64 b
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.2% + 6 ชม.	15.86 b	32.94	48.75 b
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.4% + 6 ชม.	15.96 b	34.76	50.66 b
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.6% + 6 ชม.	17.24 b	32.11	49.31 b
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.8% + 6 ชม.	16.10 b	36.92	52.90 b
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 1.0% + 6 ชม.	15.42 b	35.05	50.45 b
ไพร้มเมล็ด + น้ำ + 12 ชม.	16.57 b	34.09	50.56 b
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.1% + 12 ชม.	15.22 b	33.84	49.01 b
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.2% + 12 ชม.	16.86 b	36.24	53.08 b
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.4% + 12 ชม.	24.85 a	39.26	63.90 a
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.6% + 12 ชม.	16.34 b	39.11	55.47 ab
ไพร้มเมล็ด + <i>B. subtilis</i> 0.8% + 12 ชม.	15.66 b	39.06	54.67 ab

ตารางที่ 5 (ต่อ)

กรรมวิธี	สภาพห้องปฏิบัติการ		
	ความยาวต้น (มิลลิเมตร)	ความยาวราก (มิลลิเมตร)	ผลรวมต้นกล้า (มิลลิเมตร)
ไพรม์เมล็ด + <i>B. subtilis</i> 1.0 % + 12 ชม.	16.02 b	36.30	52.39 b
ค่าเฉลี่ย	16.71	35.85	52.54
<i>F</i> -test	*	ns	*
CV.(%)	27.66	11.94	11.70

ns, *: ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และมีความแตกต่างทางสถิติ $p \leq 0.05$ ตามลำดับ

¹ อักษรต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ $p \leq 0.05$

สรุป

การไพรม์เมล็ดทุกวิธีการทำให้เมล็ดมีความงอกและความเร็วในการงอกดีมากกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพรม์และแตกต่างกันในทางสถิติ ยกเว้นการไพรม์ด้วยน้ำที่ 12 ชั่วโมง มีความงอกไม่แตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพรม์ และการไพรม์เมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.4 % นาน 12 ชั่วโมง ทำให้ความยาวต้นสูงที่สุดและแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ ส่วนการไพรม์เมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.4 % นาน 12 ชั่วโมง ทำให้ผลรวมต้นกล้าดีมากกว่าวิธีการอื่นๆ แต่ไม่พบความแตกต่างกับการไพรม์เมล็ดด้วยน้ำนาน 6 ชั่วโมง และการไพรม์เมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.6 % และ 0.8 % นาน 12 ชั่วโมง ดังนั้นข้อสรุปคือ การไพรม์เมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.4 % นาน 12 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความงอกและความเร็วในการงอกดี อีกทั้งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของลำต้น และมีผลรวมต้นกล้าดีมากกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการไพรม์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนนักวิจัยบุคลากรประเภทสายวิชาการ (มจ.2-63-012) ประจำปีงบประมาณ 2563 คณะผลิตกรรมการเกษตร

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้งบประมาณสนับสนุนการวิจัย และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้ให้การสนับสนุนสถานที่ดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Arkhipova, T.N., Veselov, S.U., Melentiev, A.I., Martynenko, E.V., and Kudoyarova, G.R. 2005. Ability of bacterium *Bacillus subtilis* to produce cytokinins and to influence the growth and endogenous hormone content of lettuce plants. **Plant and Soil** 272: 201-209.
- Arshad, M., Saleem, M. and Hussain, S. 2007. Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. **Trends in Biotechnology** 25(8): 356-362.
- Baki, A. and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. **Crop Science** 13: 630-633.
- Bewley, J.D. and Black, M. 1982. **Physiology and Biochemistry of Seed in Relation to Germination**. Vol. II. Dormancy and

- Environmental Control, Springer-Verlay, New York.
- Bloemberg, G.V. and Lugtenberg, B.J.J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Current Opinion in Plant Biology** 4(4): 343-350.
- Cakmakci, R., Erat, M., Erdogan, U. and Donmez, M.F. 2007. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science** 170: 288-295.
- Callan, N.W., Mathre, D. and Miller, J.B. 1990. Bio-priming seed treatment for biological control of *Pythium ultimum* preemergence damping-off in sh-2 sweet corn. **Plant Disease Journal** 74: 368-372.
- Chen, Y., Cao, S.G., Chai, Y.R., Clardy, J., Kolter, R., Guo, J.H. and Losick, R. 2012. A *Bacillus subtilis* sensor kinase involved in triggering biofilm formation on the roots of tomato plants. **Molecular Microbiology** 85(3): 418-430.
- Glick, B.R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica** 2012: 1-15.
- Glick, B.R. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. **Microbiological Research** 169: 30-39.
- Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J. and Duan, J. 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. **European Journal of Plant Pathology** 119(3): 329-339.
- Honma, M. and Shimomura, T. 1978. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. **Agricultural and Biological Chemistry** 43: 1825-1831.
- ISTA (International Seed Testing Association). 2018. **International Rules for Seed Testing, Edition 2019**. International Seed Testing Association, Bassersdorf.
- Kangsopa, J. and Siri, B. 2015. Using potential carboxymethyl cellulose and hydroxypropyl methylcellulose as binder for seed pelleting of lettuce (*Lactuca sativa* L.) seeds. **Khon Kaen Agriculture Journal** 43(Suppl. 1): 268-273. (in Thai)
- Kangsopa, J., Hynes, R.K. and Siri, B. 2018. Effects of seed treatment with plant growth promoting bacteria on germination and growth of lettuce. **Journal of Agriculture** 34(3): 385-397. (in Thai)
- Kim, M.J., Moona, Y., Toub, J.C., Mouc, B. and Waterlanda, N.L. 2017. Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Journal of Food Composition and Analysis** 49: 19-34.
- Krainart, C., Siri, B. and Vichitphan, K. 2015. Effects of accelerated aging and subsequent priming on seed quality and biochemical change of hybrid cucumber (*Cucumis sativa* Linn.) seeds. **Journal of Agricultural Technology** 11(1): 165-179.

- Kuan, K.B., Othman, R., Rahim, K.A. and Shamsuddin, Z.H. 2016. Plant growth-promoting rhizobacteria inoculation to enhance vegetative growth, nitrogen fixation and nitrogen remobilization of maize under greenhouse conditions. **PLoS ONE** 11: 1-19. e0152478.
- Kundu, B.S. and Gaur, A.C. 1980. Establishment of nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria in rhizosphere and their effect on yield and nutrient uptake of wheat crop. **Plant and Soil** 57(2-3): 223-230.
- Mahmood, A., Turgay, O.C., Farooq, M. and Hayat, R. 2016. Seed biopriming with plant growth promoting rhizobacteria: a review. **FEMS Microbiology Ecology** 92(8): 1-14. fiw112.
- Mcdonald, M.B. 1999. Seed deterioration: Physiology, repair and assessment. **Seed Science and Technology** 27: 177-237.
- Mcdonald, M.B. 2000. Seed priming, pp. 287-326. In Black, M. and Bewley, J.D., eds. **Seed Technology and its Biology Basis**. Sheffield Academic Press, Sheffield.
- Mou, B. 2008. Lettuce, pp. 75-116. In Prohens, J. and Nuez, F., eds. **Handbook of Plant Breeding, Vol. I: Vegetables I: Asteraceae, -Brassicaceae, Chenopodiaceae, and Cucurbitaceae**. Springer, New York.
- Oteino, N., Lally, R.D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K.J. and Dowling, D.N. 2015. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. **Frontier in Microbiology** 6: 745.
- Parera, C.A. and Cantiffe, D.J. 1994. Presowing seed priming. **Horticultural Reviews** 16: 109-141.
- Radhakrishnan, R. and Lee, I.J. 2016. Gibberellins producing *Bacillus methylotrophicus* KE2 supports plant growth and enhances nutritional metabolites and food values of lettuce. **Plant Physiology and Biochemistry** 109: 181-189.
- Rakshit, A., Sunita, K., Pal, S., Singh, A. and Singh, H.B. 2015. Bio-priming mediated nutrient use efficiency of crop species, pp. 181-191. In Rakshit, A., Singh, H.B. and Sen, A., eds. **Nutrient Use Efficiency: From Basics to Advances**. Springer, New Delhi.
- Ramyabharathi, S., Meena, B. and Raguchander, T. 2013. Induction of defense enzymes and proteins in tomato plants by *Bacillus subtilis* EPCO16 against *Fusarium oxysporum* f. sp. Lycopersici. **Madras Agricultural Journal** 100: 126-130.
- Rekha, P.D., Lai, W., Arun, A.B. and Young, C.C. 2007. Effect of free and encapsulated *Pseudomonas putida* CC-FR2-4 and *Bacillus subtilis* CC-pg104 on plant growth under gnotobiotic conditions. **Bioresource Technology** 98: 447-451.
- Rudrappa, T., Czymbek, K.J., Pare, P.W. and Bais, H.P. 2008. Root-secreted malic acid recruits beneficial soil bacteria. **Plant Physiology** 148(3): 1547-1556.

- Singh, V., Upadhyay, R.S., Sarma, B.K. and Singh, H.B. 2016. Seed bio-priming with *Trichoderma asperellum* effectively modulate plant growth promotion in pea. **International Journal of Agriculture Environment & Biotechnology** 9: 361-365.
- Siri, B. 2009. **Seed Technology**. Teaching documents. Department of Plant science and Agricultural Resource, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University. (in Thai)
- Siri, B. 2015. **Seed Conditioning and Seed Enhancements**. Department of Plant science and Agricultural Resource, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen. (in Thai)
- Siri, B., Vichitphan, K., Kaewnareee, P., Vichitphan, S. and Klanrit, P. 2013. Improvement of quality, membrane integrity and antioxidant systems in sweet pepper (*Capsicum annuum* Linn.) seeds affected by osmopriming. **Australian Journal of Crop Science** 7(13): 2068-2073.
- Spaepen, S. and Vanderleyden, J. 2011. Auxin and plant-microbe interactions. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology** 3(4): 1-13. a001438.
- Taylor, A.G., Allen, P.S., Bennett, M.A., Bradford, K.J., Burris, J.S. and Misra, M.K. 1998. Seed enhancements. **Seed Science Research** 8: 245-256.
- Turan, M., Ataoglu, N. and Sahin, F. 2005. Evaluation the capacity of phosphate solubilizing bacteria and fungi on different forms of phosphorus in liquid culture. **Journal of Sustainable Agriculture** 28(3): 99-108.
- Xie, S., Wu, H.J., Zang, H., Wu, L., Zhu, Q. and Gao, X. 2014. Plant growth promotion by spermidine-producing *Bacillus subtilis* OKB105. **Molecular Plant-Microbe Interactions** 27: 655-663.
- Yang, O., Li, C., Li, H., Li, Y. and Yu, N. 2009. Degradation of synthetic reactive azo dyes and treatment of textile wastewater by a fungi consortium reactor. **Biochemical Engineering Journal** 43: 225-230.
- Zaidi, S., Usmani, S., Singh, B.R. and Musarrat, J. 2006. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ 101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. **Chemosphere** 64: 991-997.