รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. ชื่อแผนงานวิจัย แผนงานวิจัยและพัฒนาด้านเมล็ดพันธุ์พืช

2. ชื่อโครงการวิจัย โครงการวิจัยและพัฒนาวิธีการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

3. ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย) : การศึกษาระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่สารละลายเตตราโซเลียมสำหรับประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง

ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study on Concentration and Duration of Immersion of Tetrazolium Solutions for the Evaluation of the Viability of Peanut Seed

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง	นางสาวสุมนา จำปา	สังกัด ศูนย์วิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่
ผู้ร่วมงาน	นางสาวนิภาภรณ์ พรรณรา	สังกัด ศูนย์วิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่
	นางสาวกัณฑิมา ทองศรี	สังกัด ศูนย์วิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก
	นางสาวศุภลักษ์ สัตยสมิทสถิต	สังกัด ศูนย์วิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก
	นางสาวภภัสสร วัฒนกุลภาคิน	สังกัด ศูนย์วิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก
	นายสนอง บัวเกตุ	สังกัด ศูนย์วิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก

5. บทคัดย่อ

วิธีเตตราโซเลียมเป็นวิธีที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ จุดมุ่งหมายของการศึกษานี้เพื่อหาความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่สารละลายที่เหมาะสมในการแช่สารละลายเตตราโซเลียมเพื่อประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง วางแผนการทดลองแบบ 4x3 factorial ใน completely randomize design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ มี 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 ระดับของความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียม 4 ระดับ คือ ความเข้มข้น 1 0.50 0.10 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์และปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาในการแช่สารละลายเตตราโซเลียม 3 ระยะเวลา คือ 4 5 และ 6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่าความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 1 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาในการแช่ 4-6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสให้ผลการประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานมากที่สุด และที่ระดับความเข้มข้น 0.5 0.1 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลาในการแช่สารละลาย 6 ชั่วโมง ให้ผลการประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานมากที่สุด ดังนั้นหากใช้ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 1 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 4 ชั่วโมง หรือความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 6 ชั่วโมง สามารถประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงได้

คำสำคัญ : วิธีเตตราโซเลียม ถั่วลิสง

Abstract

Tetrazolium test is a quick and effective in assessing the viability of the seeds. The aim of this study was to determine the concentration and duration of the infusion solution suitable for infusion solution, tetrazolium test to assess the viability of seeds, peanuts. The experimental design was 4x3 factorial in completely randomize design (CRD) with 4 replications with two factors, factor 1 levels of concentration solution, tetrazolium solution 4 levels of concentration 1 0.50 0.10 and 0.05 percent and a factor of 2 duration of Immersion. tetrazolium solution immersion 3 period is 4 5 and 6 hours at 35 ° C. The concentrations of tetrazolium solution 1 percent in the immersion period of 4-6 hours at 35 ° C to assess the viability of the seed germination of peanut close to the very highest standards. And at concentrations of 0.5, 0.1 and 0.05 percent in the period to 6 hours of immersion solutions by evaluating the viability of peanut seed germination close to the very highest standards. Thus, if the concentration of tetrazolium solution immersion for 4 hours, 1 percent or 0.5 percent, immersion for 6 hours to assess the viability of peanut seeds.

Key word : Tetrazolium test peanut seed

6. คำนำ

ถั่วลิสงเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจ จัดอยู่ในกลุ่มพืชผลิตไม่เพียงพอกับความต้องการใช้ภายในประเทศ เพราะถั่วลิสงเป็นพืชอาหารที่บริโภคง่าย เป็นส่วนประกอบอาหารคาวหวานต่าง ๆ และเป็นผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป บางส่วนนำไปสกัดน้ำมัน และกากใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ สำหรับความต้องการใช้ถั่วลิสงภายใน ประเทศมีสูงถึงปีละ 100,000 ตัน เป็นผลทำให้ผลผลิตไม่เพียงพอกับความต้องการใช้ จึงต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศ แต่เนื่องจากสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรกำหนดให้ถั่วลิสงเป็นพืชที่รักษาระดับพื้นที่เพาะปลูก ดังนั้นแนวทางที่จะรักษาระดับพื้นที่เพาะปลูก ก็คือ การเพิ่มผลผลิตต่อพื้นที่ ลดต้นทุนการผลิต หรือเพิ่มผลตอบแทนแก่เกษตรกร การเพิ่มผลผลิตถั่วลิสงมีปัจจัยหลายประการ เช่น พันธุ์ การเตรียมพื้นที่ปลูก การดูแลรักษา ตลอดจนถึงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากคุณภาพเมล็ดพันธุ์เป็นสิ่งที่บ่งถึงจำนวนต้นต่อพื้นที่ปลูก เมล็ดพันธุ์เป็นต้นทุนหลักของการผลิตถั่วลิสงของเกษตรกร เมล็ดพันธุ์ดีจึงสามารถลดต้นทุนการผลิตลงได้ เกษตรกรจึงมีความต้องการเมล็ดพันธุ์ดีเพิ่มมากขึ้น

เทคนิคการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีเตตราโซเลียม (Tetrazolium test) เป็นวิธีการที่สามารถตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว บางครั้งหรือบางกรณีอาจมีความจำเป็นต้องการทราบผลอย่างรีบด่วน หรือในกรณีเฉพาะคือเมล็ดมีการพักตัว อาจนำเมล็ดพักตัวเหล่านั้นมาตรวจสอบความมีชีวิต โดยใช้เวลาเพียง 1 วัน ก็สามารถทราบถึงคุณภาพเมล็ดพันธุ์ได้ ซึ่งสมาคมผู้ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ (Association of Official Seed Analyze, AOSA) ได้จัดทำมาตรฐานการตรวจสอบขึ้นในปี ค.ศ. 1970 แนะนำวิธีการประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงโดยวิธี Tetrazolium test โดยใช้สารละลายเตตราโซเลียมความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 3-4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามสารเตตราโซเลียมมีราคาแพง เป็นสารที่มีพิษ (poisonous) เป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogenic) และเป็นอันตรายหากสูดดมหรือกลืน หากสัมผัสดูดซึมได้ทางผิวหนัง ตา และ ระบบการหายใจ ดังนั้นหากสามารถเลือกใช้ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมโดยผลการประเมินความมีชีวิตไม่ต่างจากความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จะ

สามารถลดต้นทุนของการทดสอบวิธีนี้และยังลดอันตรายกับผู้ปฏิบัติงานอีกด้วย ซึ่ง Bittencourt and Vieira (1997) พบว่าใช้สารละลายเตตราโซเลียมความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง 40 องศาเซลเซียส สามารถประเมินเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตได้ เมื่อนำมาทดสอบในห้องปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ของศูนย์วิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลกพบว่า การติดสีของเมล็ดพันธุ์จางมาก ทำให้การประเมินความมีชีวิตค่อนข้างยาก ซึ่งจะทำให้ได้ค่าความมีชีวิตไม่สัมพันธ์กับความงอกมาตรฐาน จึงทำการศึกษาเพื่อหาระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่สารละลายที่เหมาะสมเพื่อประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงต่อไป

7.วิธีดำเนินการ

- อุปกรณ์

1. อุปกรณ์สุ่มเก็บตัวอย่าง ได้แก่ หลาวสุ่มตัวอย่าง, ถุงพลาสติก, ปากกาเคมี
2. วัสดุอุปกรณ์ ได้แก่ กระดาษเพาะ, ปากคีบ (forceps)
3. สารเคมี ได้แก่ สารละลายเตราโซเลียม
4. กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope พร้อมอุปกรณ์กล้องถ่ายภาพ
5. เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 84-7

- วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 4x3 factorial in CRD มี 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด ประกอบด้วย

- ปัจจัยที่ 1 คือ ระดับของความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียม 4 ระดับ คือ

1. ความเข้มข้น 1.00 %
2. ความเข้มข้น 0.50 %
3. ความเข้มข้น 0.10 %
4. ความเข้มข้น 0.05 %

- ปัจจัยที่ 2 คือ ระยะเวลาในการแช่สารละลายเตตราโซเลียม 3 ระยะ คือ

1. เวลา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส
2. เวลา 5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส
3. เวลา 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เตรียมเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 84-7 ตรวจสอบความงอกมาตรฐาน โดยการเพาะความงอกด้วยทราย จำนวน 100 เมล็ด/ซ้ำ ระยะเวลา 10 วัน แล้วประเมินความงอกมาตรฐาน

การตรวจสอบความงอกมาตรฐาน (standard germination test) สุ่มเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง จำนวน 4 ซ้ำๆละ 100 เมล็ดมาเพาะในทราย (sand method) นำกล่องทรายใส่ไว้ในห้องเพาะ ที่อุณหภูมิคงที่ 25± 2 องศาเซลเซียส ตรวจประเมินความงอกต้นอ่อน 10 วันหลังเพาะ ตามวิธีการของ ISTA (2015)

2. เตรียมเมล็ดพันธุ์สำหรับการตรวจสอบเตตราโซเลียม (Tetrazolium test) นำเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงมาบ่มโดยหุ้มด้วยกระดาษเพาะเปียกชื้น ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาแช่ในสารละลายเตตราโซเลียมตามกรรมวิธีที่กำหนด เก็บในที่มืด จากนั้นนำเมล็ดที่ผ่านการแช่สารละลายเตตรา

โซเลียมมาล้างและแช่เมล็ดด้วยน้ำสะอาดเพื่อหยุดปฏิกิริยาของสารละลายเตตราโซเลียม ศึกษารูปแบบการติดสีและประเมินความงอกจากรูปแบบการติดสี

3. เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 6 เดือน ทุกเดือน สุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์ และนำเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงแช่สารละลายเตตราโซเลียมตามกรรมวิธีที่กำหนด ศึกษารูปแบบการติดสีและประเมินความงอกจากรูปแบบการติดสี

การบันทึกข้อมูล

1. ความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์
2. ความงอกของเมล็ดพันธุ์ประเมินจากการติดสีของเมล็ดพันธุ์
3. รูปแบบการติดสีสารละลายเตตราโซเลียม

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลา - ตุลาคม 2558 – กันยายน 2561

สถานที่ดำเนินการ - ห้องปฏิบัติการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ศูนย์วิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. เตรียมเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 84-7 จากการปลูกฤดูแล้งเดือนธันวาคม 2558 และปลายฤดูฝนเดือนมิถุนายน 2559 ตรวจสอบความงอกมาตรฐาน โดยการเพาะเมล็ดในทราย จำนวน 100 เมล็ด/ซ้ำ (4 ซ้ำ) ตรวจนับความงอกที่อายุ 10 วันหลังเพาะ แล้วประเมินความงอกมาตรฐาน (ISTA, 2015)

2. การตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ ด้วยวิธีเตตราโซเลียม (Tetrazolium test)

โดยนำเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงมาบ่มโดยหุ้มด้วยกระดาษเพาะเปียกชื้นในกล่องพลาสติก (ขนาดกว้าง x ยาว x สูง 10x12x6 เซนติเมตร) แล้วเก็บในตู้เพาะความงอก ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาแช่ในสารละลายเตตราโซเลียมตามกรรมวิธีที่กำหนด เก็บรักษาในที่มืด แล้วนำเมล็ดที่ผ่านการแช่สารละลายเตตราโซเลียมมาล้างและแช่เมล็ดด้วยน้ำสะอาดเพื่อหยุดปฏิกิริยาของสารละลายเตตราโซเลียม ประเมินรูปแบบการติดสีและประเมินความงอกจากรูปแบบการติดสี

วิธีการประเมินการติดสีของสารละลายเตตราโซเลียม จัดรูปแบบการติดสีของเมล็ดพันธุ์ได้ 8 รูปแบบ

รูปแบบที่ 1 ราก ต้นอ่อนและใบเลี้ยงติดสีเป็นสีแดง (ภาพที่ 1 A) เป็นเมล็ดที่มีชีวิตจะมีการติดสีที่สมบูรณ์ทั้งเมล็ด หรือใบเลี้ยงติดสีมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

รูปแบบที่ 2 ไม่มีการติดสีบริเวณต้นอ่อน (ภาพที่ 1 B1)

รูปแบบที่ 3 ไม่ติดสีบริเวณต้นอ่อนและใบเลี้ยง ภาพที่ 1 B2)

รูปแบบที่ 4 ไม่ติดสีบริเวณราก (ภาพที่ 1 B3)

รูปแบบที่ 5 ไม่ติดสีบริเวณรากและใบเลี้ยง (ภาพที่ 1 B4)

รูปแบบที่ 6 ไม่ติดสีบริเวณรากและต้นอ่อน(ภาพที่ 1 B5)

รูปแบบที่ 7 ไม่ติดสีทั้งราก ต้นอ่อนและใบเลี้ยง (ภาพที่ 1 B6)

รูปแบบที่ 2 – 7 จัดเป็นเมล็ดพันธุ์ไม่มีชีวิต

รูปแบบที่ 8 ไม่ติดสีเลยทั้งเมล็ด (ภาพที่ 1 C) ซึ่งจัดเป็นเมล็ดตาย

เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 84-7 ฤดูแล้ง (เดือนธันวาคม 2558) นำไปลดความชื้นเหลือ 9% นำมาตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน และย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับคือ 1, 0.5, 0.1 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาในการแช่ 4, 5 และ 6 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง พบว่า มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ใช้การแช่สารละลายที่ระยะเวลาต่างๆ โดยการย้อมสีที่ระดับความเข้มข้น 1% ในระยะเวลาแช่ไม่แตกต่างกันทางสถิติทั้ง 3 ระยะ ในระยะเวลาในการแช่ 4 ชั่วโมงมีเปอร์เซ็นต์ความงอก 81% และการแช่ที่ 5 และ 6 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 80% และ 81% ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 0.5% ที่ระยะเวลาในการแช่ 5 ชั่วโมงและ 6 ชั่วโมงมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 78-81%) ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 และ 0.5% ที่ระยะเวลาในการแช่ 6 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตสูงที่สุดที่ 78 และ 72 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และเมื่อเทียบกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน พบว่าการแช่สารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้น 1% ที่ระยะเวลา 4 และ 5 ชั่วโมงมีค่าใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน 87% ภายหลังทำการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง หลังการเก็บรักษาเดือนที่ 1 พบว่า เปอร์เซ็นต์การย้อมสีที่ระดับความเข้มข้น 0.5% ในระยะเวลาในการแช่ 5 ชั่วโมงมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 80% ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับที่ระยะเวลาในการแช่สารละลาย 6 ชั่วโมง มีค่าใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานมากที่สุด (80 เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บรักษาเดือนที่ 2 การย้อมสีที่ระดับความเข้มข้น 0.5% ในระยะเวลาในการแช่ 5 ชั่วโมงมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 70% ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับที่ระยะเวลาในการแช่สารละลาย 6 ชั่วโมงมีค่าใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานมากที่สุด (71 เปอร์เซ็นต์) หลังการเก็บรักษาเดือนที่ 3 การย้อมสีที่ระดับความเข้มข้น 0.5% และ 1% ในระยะเวลาในการแช่ 5 และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 50% ค่าใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานมากที่สุด (58 เปอร์เซ็นต์) และที่ระยะเวลาในการแช่สารละลายความเข้มข้น 0.5% ทั้ง 3 ระยะเวลาในการแช่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และหลังการเก็บรักษาเดือนที่ 4 พบว่าการย้อมสีที่ระดับความเข้มข้น 1% และ0.5% ในระยะเวลาในการแช่ 5 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 43% เมื่อเปรียบเทียบกับความงอกมาตรฐาน พบว่าใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน 46 เปอร์เซ็นต์ หลังการเก็บรักษาเดือนที่ 5 พบว่า การย้อมสีที่ระดับความเข้มข้น 1% และ 0.5% ในระยะเวลาการแช่ 6 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 23% และ มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 21% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับความงอกมาตรฐาน พบว่าใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน 25 เปอร์เซ็นต์ และ หลังการเก็บรักษาเดือนที่ 6 พบว่า การย้อมสีที่ระดับความเข้มข้น 1% และ 0.5% ในระยะเวลาการแช่ 6 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 6% เมื่อเปรียบเทียบกับความงอกมาตรฐาน พบว่าใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน 7 เปอร์เซ็นต์

เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 84-7 ปลายฤดูฝน (เดือนมิถุนายน 2559) ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชพิษณุโลก และเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่อายุ 98-125 วันนำไปลดความชื้นเหลือ 9% นำไปตรวจสอบความงอกมาตรฐานได้เปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน และย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับคือ 1, 0.5, 0.1 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาในการแช่ 4, 5 และ 6 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง พบว่า มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ใช้การแช่สารละลายที่ระยะเวลาต่างๆ โดยการย้อมสีที่ระดับความเข้มข้น 1% ในระยะเวลาแช่แตกต่างกันทางสถิติทั้ง 3 ระยะ ในระยะเวลาในการแช่ 6 ชั่วโมงมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 94% และที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 0.5% ที่ระยะเวลาในการแช่ 6 ชั่วโมงมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ 93% เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1% ระยะเวลาในการแช่ 4 ชั่วโมง และ 0.5% ที่ระยะเวลาในการแช่ 5 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต 94 และ 97

เปอร์เซ็นต์ตามลำดับใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน (94 เปอร์เซ็นต์) มากที่สุด เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 เดือนพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1% ระยะเวลาในการแช่ 5 ชั่วโมง และ 0.5% ที่ระยะเวลาในการแช่ 5 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตที่ 97 และ 89 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน (94 เปอร์เซ็นต์) มากที่สุด เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือนพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1% ระยะเวลาในการแช่ 4 ชั่วโมง และ 0.5% ที่ระยะเวลาในการแช่ 6 ชั่วโมง เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตที่ 83 และ 79 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน (80 เปอร์เซ็นต์) มากที่สุด ภายหลังเก็บรักษา 4 เดือน พบว่า มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ใช้การแช่สารละลายที่ระยะเวลาต่างๆ โดยการย้อมสีที่ระดับความเข้มข้น 1 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในระยะเวลาแช่ไม่แตกต่างกันทางสถิติทั้ง 3 ระยะ โดยที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์แช่นาน 4 ชั่วโมงมีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตสูงที่สุด 68 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเทียบกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน พบว่าการแช่สารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการแช่ 4 ชั่วโมง และระดับความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมงมีค่าใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน 78 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 5 เดือน พบว่า ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ 4 ชั่วโมง และความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ 5 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานมากที่สุด (61 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) ภายหลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ 4 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ 6 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานมากที่สุด (39 40 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) (ตารางที่ 2)

จากการประเมินการติดสีของสารละลายเตตราโซเลียม สามารถจัดรูปแบบการติดสีของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงได้ 8 รูปแบบรูปแบบที่ 1 ราก ต้นอ่อนและใบเลี้ยงติดสีเป็นสีแดง (ภาพที่ 2 A) เป็นเมล็ดที่มีชีวิตจะมีการติดสีที่สมบูรณ์ทั้งเมล็ด หรือใบเลี้ยงติดสีมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์

รูปแบบที่ 2 ไม่มีการติดสีบริเวณต้นอ่อน (ภาพที่ 2 B1)

รูปแบบที่ 3 ไม่ติดสีบริเวณต้นอ่อนและใบเลี้ยง ภาพที่ 2 B2)

รูปแบบที่ 4 ไม่ติดสีบริเวณราก (ภาพที่ 2 B3)

รูปแบบที่ 5 ไม่ติดสีบริเวณรากและใบเลี้ยง (ภาพที่ 2 B4)

รูปแบบที่ 6 ไม่ติดสีบริเวณรากและต้นอ่อน(ภาพที่ 2 B5)

รูปแบบที่ 7 ไม่ติดสีทั้งราก ต้นอ่อนและใบเลี้ยง (ภาพที่ 2 B6)

รูปแบบที่ 2 – 7 จัดเป็นเมล็ดพันธุ์ไม่มีชีวิต

รูปแบบที่ 8 ไม่ติดสีเลยทั้งเมล็ด (ภาพที่ 2 C) ซึ่งจัดเป็นเมล็ดตาย

จากการวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ใช้ในการแช่สารละลายที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่า ถ้าความเข้มข้นของสารลดต่ำลง จะต้องใช้ระยะเวลาในการแช่สารละลายเตตราโซเลียมยาวนานขึ้น กล่าวคือ ที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาในการแช่สารละลาย 4-6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน ในขณะที่ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 0.5 0.1 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ต้องแช่สารละลายนานถึง 6 ชั่วโมงจะให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตที่มีแนวโน้มใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐาน (ตารางที่ 1 และตารางที่ 2) การทดลองของ Bittencourt (1997) พบว่า การลดความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมเป็น 0.05 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ผลการติดสีมีประสิทธิภาพมากที่สุดเมื่อเทียบกับความงอกมาตรฐาน นั่นคือความเข้มข้นที่ลดลงจะทำให้ความสามารถในการติดสีสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการแช่นานขึ้น หากต้องการจะลดระดับความเข้มข้นของสารลงความเข้มข้นที่สามารถประเมิน

ความมีชีวิตได้คือที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 0.5 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาในการแช่ 6 ชั่วโมง ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 0.1 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาในการแช่สารละลาย 6 ชั่วโมงทำให้ประเมินการติดสีได้ยากเนื่องจากความเข้มของการติดสีจางมาก เมื่อแช่เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงในสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างกันแต่ระยะเวลาในการแช่เท่ากันจะให้รูปแบบการติดสีที่เหมือนกันแต่จะมีความเข้มของการติดสีต่างกัน (ภาพที่ 2)

การทดสอบเตตราโซเลียมที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลาในการแช่สารละลาย 4 ชั่วโมงเนื้อเยื่อมีการติดสีชัดเจน การประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ทำได้ไม่ยากนัก ซึ่งความแม่นยำในการตรวจสอบนั้นพัฒนาขึ้นได้โดยการฝึกเปรียบเทียบผลการตรวจสอบเตตราโซเลียมกับการตรวจสอบความงอก และสอดคล้องกับคำแนะนำของสมาคมผู้ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ (Association of Official Seed Analyze, AOSA) จัดทำขึ้นในปี ค.ศ. 1970

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ :

การทดสอบเตตราโซเลียมที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ระยะเวลาในการแช่สารละลาย 4 ชั่วโมง เนื้อเยื่อมีการติดสีชัดเจน ให้ผลการประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ได้ใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกมากที่สุด ซึ่งความแม่นยำในการตรวจสอบนั้นพัฒนาขึ้นได้โดยการฝึกเปรียบเทียบผลการตรวจสอบเตตราโซเลียมกับการตรวจสอบความงอก สอดคล้องกับคำแนะนำของสมาคมผู้ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ (Association of Official Seed Analyze, AOSA) จัดทำขึ้นในปี ค.ศ. 1970 ดังนั้นหากใช้สารละลายเตตราโซเลียมความเข้มข้นต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลาในการแช่สารละลายอาจไม่เพียงพอต่อการติดสีของเนื้อเยื่อของเมล็ดทำให้ยากที่จะแยกความแตกต่างระหว่างเนื้อเยื่อที่มีชีวิตและเนื้อเยื่อที่ไม่มีชีวิต ดังนั้น การประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงโดยการลดระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์จะต้องใช้ระยะเวลาในการแช่สารละลายนานขึ้น จะสามารถลดต้นทุนและอันตรายที่เกิดจากการใช้สารเตตราโซเลียมได้

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ทราบระดับความเข้มข้นและระยะเวลาของสารละลายเตตราโซเลียมที่เหมาะสมสำหรับการแช่เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเพื่อการประเมินความมีชีวิตอย่างรวดเร็ว

11. เอกสารอ้างอิง

จุฑามาศ ร่มแก้ว. 2539. อิทธิพลของคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ และอัตราปลูกที่มีต่อความ งอกในไร่ การเจริญเติบโต ผลผลิต และความสามารถในการเก็บรักษาของถั่วลิสงเมล็ดโต. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วสุ อมฤตสุทธิ์. 2547. การพัฒนาวิธีการประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยวิธีเตตราโซเลียม. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 157 หน้า.

ศิริพร พงศ์ศุภสมิทธิ์ ศิริพร พงศ์ศุภสมิทธิ์ สมจิตต์ กิจรุ่งเรือง และ ชลิต พงศ์ศุภสมิทธิ์. 2553. การทำลายการพักตัวของเมล็ดถั่วลิสงพันธุ์ใหม่ 3 พันธุ์. รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้. 36 หน้า.

สมจินตนา ทุมแสน ทักษิณา ศันสยะวิชัย ศรีสุดา ทิพยรักษ์ อิสระ พุทธสิมมา เพียงเพ็ญ ศรวัต และ เทวา เมลา นนท์. 2554. ถั่วลิสงพันธุ์ ขอนแก่น 84-7. แก่นเกษตร 39 ฉบับพิเศษ 3 : 66-77 (2554).

อุดม พฤกษานุศักดิ์. 2530. อิทธิพลของความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วลิสง. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเกษตรศาสตร์ มหาวิยาลัยเกษตรศาสตร์. 91 หน้า

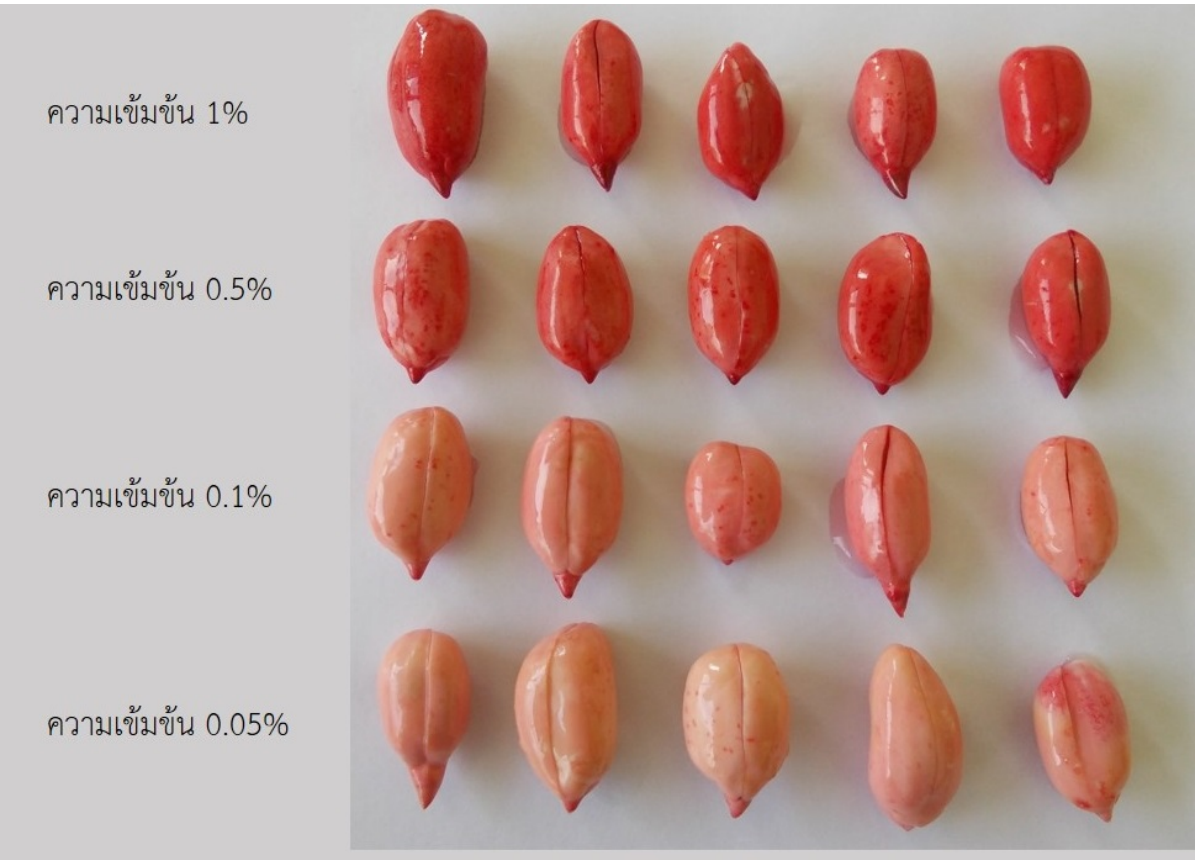
Bittencourt, S. R. M. Vieira, R. D. Rodrigues, T. J. D. 1997. Criteria for peanut seed pre conditioning for the tetrazolium test. Seed science and technology. 25: 337-342

Bittencourt, S. R. M. and Vieira, R. D. 1997. Use of reduced concentrations of tetrazolium solutions for the evaluation of the viability of peanut seed lots. Seed science and technology. 25 : 75-82.

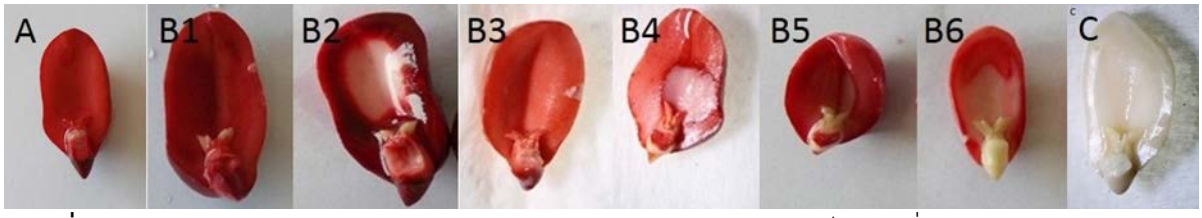
ISTA. 2015. International rules for seed testing. International Seed Testing Association, Bassesdorf, Switzerland.

Santos, J. F. Sanches, M. F. G. Barbosa, R. M. Leao, E. F. Vieira, R. D..2012. Optimising tetrazolium test procedures to evaluate the physiological potential of peanut seeds. Seed Science and Technology. 40: 215-228

12. ภาคผนวก



ภาพที่ 1 ระดับความเข้มของเมล็ดพันธุ์จากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ



ภาพที่ 2 รูปแบบการติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง

(A) เมล็ดมีชีวิต

(B1-B6) เมล็ดพันธุ์ไม่มีชีวิต

(C) เมล็ดตาย

ตารางที่ 1 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงฤดูแล้ง ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 4 ระดับ ที่ระยะเวลาการแช่ต่างๆ ก่อนการเก็บรักษาและภายหลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน

ระยะเวลาในการแช่สารละลาย (factor 2) (ชั่วโมง)	ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม (factor 1) (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)						
		0	1	2	3	4	5	6
4 hr.	1%	81a	83a	72a	47a	25c	17b	4b
5 hr.		80a	78ab	68a	40b	43a	18b	5ab
6 hr.		78a	72b	73a	50a	35b	23a	6ab
4 hr.	0.50%	59b	72b	60b	45ab	28b	16b	3b
5 hr.		81a	80a	63b	39b	43a	16b	4b
6 hr.		78a	84a	69a	49a	37a	21a	6a
4 hr.	0.10%	55c	62b	58b	45b	25a	6b	2b
5 hr.		71b	75a	61b	22c	28a	9ab	3ab
6 hr.		78a	56b	68a	51a	26a	10a	4a
4 hr.	0.05%	52b	60b	54a	39a	18b	4b	2b
5 hr.		57b	72a	47b	45a	22b	9a	3ab
6 hr.		72a	49c	59a	44a	30a	8a	4a
ANOV (F-test)	factor 1	**	**	**	**	**	**	**
ANOV (F-test)	factor 2	**	**	**	**	**	**	**
ANOV (F-test)	1x2	**	**	*	**	**	*	*
CV (%)	-	5.3	7.1	6.2	9.4	16.8	16.6	19.9
Germination (%)	-	87	80	71	58	46	25	7

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงปลายฤดูฝน ที่ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 4 ระดับ ที่ระยะเวลาการแช่ต่างๆ ก่อนการเก็บรักษาและภายหลังการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน

ระยะเวลาในการแช่สารละลาย (factor 2) (ชั่วโมง)	ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม (factor 1) (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)						
		0	1	2	3	4	5	6
4 hr.	1%	81 c	94 b	86 b	83 a	68 a	61 a	39 a
5 hr.		91 b	99 a	97 a	85 a	67 a	63 a	35 b
6 hr.		94 a	100 a	100 a	84 a	62 a	63 a	38 a
4 hr.	0.50%	89 b	88 b	82 c	69 b	64 a	50 b	31 b
5 hr.		84 c	97 a	89 b	82 a	62 a	60 a	38 a
6 hr.		93 a	99 a	98 a	79 a	64 a	63 a	40 a
4 hr.	0.10%	85 a	77 c	79 b	61 b	52 b	25 c	31 b
5 hr.		79 c	87 b	87 a	69 a	63 a	36 b	34ab
6 hr.		80 b	91 a	89 a	73 a	65 a	69 a	36 a
4 hr.	0.05%	62 c	75 b	73 b	65 a	45 b	26 c	28 c
5 hr.		66 b	84 a	81 a	67 a	59 a	34 b	32 b
6 hr.		74 a	82 a	79 a	67 a	59 a	47 a	37 a
ANOV (F-test)	factor 1	**	**	**	**	**	**	**
ANOV (F-test)	factor 2	**	**	**	**	**	**	**
ANOV (F-test)	1x2	**	*	*	*	**	**	**
CV (%)	-	5.1	2.8	2.8	5.4	9	6.7	5.8
Germination (%)	-	99	94	94	80	78	61	40

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT