การพัฒนาวิธีการประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยวิธีเตตราโซเลียม

นายวสุ อมฤตสุทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ปีการศึกษา 2547

ISBN 974-533-374-3

DEVELOPMENT OF EVALUATION OF SEED VIABILITY AND VIGOR IN SOYBEAN BY TETRAZOLIUM TEST

Mr. Wasu Amaritsut

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in Crop Production Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2004

ISBN 974-533-374-3

การพัฒนาวิธีการประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยวิธีเตตราโซเลียม

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาดุษฎีบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

(รศ. ดร.จุฑารัตน์ อรรถจารุสิทธิ์)
ประธานกรรมการ

(ผศ. ดร.ธีวัชชัย ทีฆชุณหเถียร)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

(รศ. ดร.จวงจันทร์ ดวงพัตรา)
กรรมการ

(อ. ดร.โสภณ วงศ์แก้ว)
กรรมการ

(อ. ดร.ปิยะดา ทิพยผ่อง)
กรรมการ

(รศ. น.ท. ดร.สราวุฒิ สุจิตจร)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

(ผศ. ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

วสุ อมฤตสุทธิ์ : การพัฒนาวิธีการประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยวิธีเตตราโซเลียม (DEVELOPMENT OF EVALUATION OF SEED VIABILITY AND VIGOR IN SOYBEAN BY TETRAZOLIUM TEST) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ. ดร.ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร, 138 หน้า. ISBN 974-533-374-3

การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายเตตราโซเลียมที่ใช้ย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองต่อการงอก การเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และเชียงใหม่ 60 ที่มีระดับความงอกสูง กลาง และต่ำ พบว่า ความเข้มข้น 0.05 % เป็นระดับที่ปลอดภัยที่สูง โดยไม่พบความเป็นพิษในทุกกรณี คือเปอร์เซ็นต์ความงอก ความยาวยอดและราก และน้ำหนักแห้งต้นอ่อน ความเข้มข้น 0.075 % ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอก ความยาวของยอด และน้ำหนักแห้ง แต่ทำให้รากสั้นลง ความเข้มข้นที่ 0.1 % ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอก แต่มีผลต่อความยาวยอดและราก และน้ำหนักแห้งของต้นอ่อนเพียงเล็กน้อย ความเข้มข้น 0.25 % ทำให้ความงอกลดลงเหลือเพียง 20 % และที่ความเข้มข้น 0.5 % เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสูญเสียความงอกทั้งหมด เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์ไปย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมไปปลูกใน แปลงปลูก พบว่า ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ 0.1 % หรือต่ำกว่า ไม่มีผลต่อความสูง น้ำหนักแห้ง และผลผลิตของถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์ และไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ และพันธุ์ถั่วเหลือง แต่พบว่าระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ และพันธุ์ของถั่วเหลืองมีผลต่อความสูง น้ำหนักแห้ง และผลผลิตของถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์ จากผลการทดลองนี้ทำให้สรุปได้ว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ 0.1 % ย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จะทำให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองงอกได้เป็นปกติ จึงได้นำไปใช้พัฒนาการจัดทำรูปแบบมาตรฐานการติดสี (standard patterns) ของเตตราโซเลียมในถั่วเหลืองที่เป็นรูปธรรมและแม่นยำยิ่งขึ้น โดยถ่ายภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม 0.1 % แล้วนำเมล็ดดังกล่าวไปทดสอบความงอกเพื่อยืนยันผลความมีชีวิตและความแข็งแรง การพัฒนาวิธีการตรวจสอบเตตราโซเลียมวิธีนี้เรียกว่าเทคนิคการงอกของเมล็ดย้อม (germination of TZ stained seed technique)

วิธีการนี้ทำให้สามารถพัฒนารูปแบบการติดสีมาตรฐานสำหรับประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีความแม่นยำสูง โดยเปรียบเทียบค่าการตรวจสอบโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองหลากหลายพันธุ์ จำนวน 50 ชุดตัวอย่าง กับการตรวจสอบความงอกมาตรฐานและความแข็งแรงมีค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (r) กับการตรวจสอบความงอก ความแข็งแรงโดยวิธีเร่งอายุ และความงอกในแปลงปลูกเท่ากับ 0.9952,

0.9852 และ 0.9947 ตามลำดับ นอกจากนี้การวิเคราะห์ t-test พบว่าไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างผลการตรวจสอบที่ได้จากวิธีเตตราโซเลียมกับวิธีการตรวจสอบดังกล่าวทั้ง 3 วิธี

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ปีการศึกษา 2547 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

WASU AMARITSUT : DEVELOPMENT OF EVALUATION OF SEED VIABILITY AND VIGOR IN SOYBEAN BY TETRAZOLIUM TEST. THESIS ADVISOR : ASST. PROF.TAWATCHAI TEEKACHUNHATEAIN, Ph.D. 138 PP. ISBN 974-533-374-3

STAINING PATTERN/TETRAZOLIUM /SEED TESTING /SEED VIGOR/SEED VIABILITY/SOYBEAN

Toxicity of tetrazolium solution (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride, TZ) was studied on germination, growth and yield of soybean var. SJ.5 and Chiangmai 60 which had high, medium and low viability. TZ concentration of 0.05 % was the safest for soybean seed which had no effect in germination percentage, shoot and root length and seedling dry weight. TZ concentration of 0.075 % did not influence germination, shoot length and seedling dry weight but reduced root length. However, Concentration of 0.1 % had slight effect on shoot and root length and seedling dry weight but did not influence germination percentage. High toxicity was found with the TZ concentrations of 0.25 and 0.5 % which reduced germination of soybean seeds to 20 and 0 % respectively. Furthermore, it was found that the seeds which were stained with 0.1 %TZ or less had no effects on plant height, plant dry weight and yield of both soybean varieties and no interaction with the level of viability and soybean varieties. However, the level of viability and soybean varieties had influence on plant height, plant dry weight and yield of both soybean varieties. According to this finding, the germination of TZ stained seed technique was used to develop more accurate and concreat standard patterns of TZ for viability and vigor evaluation of soybean seeds. These TZ standard patterns were used to evaluate viability and vigor of 50 soybean

seed lots of various varieties. Statistical methods, the t-test and the correlation, were used to confirm the accuracy of TZ results. It was found that the viability estimated by TZ test and the standard germination was found to be non significant statistically. High correlations were also found between the TZ test results and the standard germination test (r = 0.9952) accelerated aging test (r = 0.9852) and field emergence test (r = 0.9947) results in estimating seed viability and vigor. The t-test results also showed no different statistical among the TZ results and those 3 tests.

School of Crop Production Technology

Academic Year 2004

Student's Signature_____

Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ ช่วยเหลือ อย่างดียิ่ง ทั้งในด้านวิชาการ และ ด้านการดำเนินงานวิจัย ทั้งนี้ขอกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล เหล่าสุวรรณ รศ.ดร.จุฑารัตน์ อรรถจารุสิทธิ์ ดร.โสภณ วงศ์แก้ว และ ดร.ปิยะดา ทิพยผ่อง อาจารย์สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และ รองศาสตราจารย์ ดร.จวงจันทร์ ดวงพัตรา อาจารย์ประจำภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ รองศาสตราจารย์ ดร.กิตติ วงส์พิเชษฐ อาจารย์ประจำภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ผู้ให้คำปรึกษาและตรวจแก้ไขให้วิทยานิพนธ์สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท(คุณสุวิมล ถนอมทรัพย์), ศูนย์วิจัยพืชไร่อุบลราชธานี, ศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่, ศูนย์ขยายเมล็ดพันธุ์พืชที่ 12 จ.อุดรธานี (คุณจำปา พาดฤทธิ์), ศูนย์ขยายพันธุ์พืชที่ 17 จ.ขอนแก่น, สถาบันอินทรีย์จันทรสถิตย์ ซึ่งให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในการวิจัย

ขอขอบคุณคุณไพเราะ ทองนุช, คุณพัฒนพงษ์ อินทรคำ, คุณขนิษฐา พระสุพรรณ ผู้ช่วยเหลือในการประสานงานการศึกษาและการวิจัย

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาและมหาวิทยาลัยอุบลราชธานีที่สนับสนุนทุนการศึกษา

ท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดาและภรรยา ผู้ให้กำลังใจในการศึกษาและการทำงานตลอดมา

นายวสุ อมฤตสุทธิ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)……...……ง
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)……...……จ
กิตติกรรมประกาศ……ช
สารบัญ……..……...ฌ
สารบัญตาราง…...……..……ฎ
สารบัญภาพ……..……...ฑ
บทที่
1. บทนำ……...……1
ความสำคัญของปัญหา…...……..1
วัตถุประสงค์การวิจัย……...2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ……..……3
2. ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง……4
ประวัติการตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีเตตราโซเลียม……4
หลักการตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีเตตราโซเลียม……4
ประโยชน์และข้อจำกัดของวิธีการเตตราโซเลียม……5
คุณสมบัติทางเคมีของสารเตตราโซเลียม……6
ปัจจัยการตรวจสอบ……7
ขั้นตอนการทดสอบความมีชีวิตเมล็ดด้วยวิธีเตตราโซเลียม……7
การประเมินความมีชีวิตเมล็ดด้วยวิธีเตตราโซเลียม……9
การพัฒนารูปแบบมาตรฐานในการประเมินผลการติดสีเตตราโซเลียม……...9
วิธีการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ด้วยสารละลายเตตราโซเลียมในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง…….10
3. วิธีดำเนินการวิจัย……..……12
ระยะเวลาในการทำการศึกษา.....12
สถานที่ทำการศึกษา……..……12
วัสดุและอุปกรณ์.....13
การตรวจคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง……..……..13

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

การทดลองที่ 1. การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายเตตราโซเลียมต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง……..……14
การทดลองที่ 2. การศึกษาอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง พันธุ์ สจ. 5 และ ชม. 60……...……16
การทดลองที่ 3. การใช้เทคนิคการงอกเมล็ดย้อมพัฒนารูปแบบการติดสีเพื่อประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง……...……17
4. ผลการศึกษา……...23
ผลการทดลองที่ 1. .....……...23
ผลการทดลองที่ 2...……...30
ผลการทดลองที่ 3……...……...43
5. การอภิปรายผล.....113
6. บทสรุป……...…..……..117
รายการอ้างอิง…….……....120
ภาคผนวก…….……..125
ประวัติผู้เขียน……...…….……..…….....138

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

1.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่มีความมีชีวิตแตกต่างกัน 3 ระดับ ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ……...…….……24

1.2 ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ..……25

1.3 ความยาวยอดของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่มีความมีชีวิตแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ…….....25

1.4 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์และพันธุ์ถั่วเหลืองของความยาวยอดเฉลี่ยที่งอกจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ……..…….26

1.5 ความยาวรากของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่มีความมีชีวิตแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ …….....……..……..27

1.6 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์และพันธุ์ถั่วเหลืองของความยาวรากเฉลี่ยที่งอกจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ……..…….27

1.7 น้ำหนักแห้งต้นอ่อนของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และเชียงใหม่ 60 ที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่มีความมีชีวิตแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ……..……28

1.8 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์และพันธุ์ถั่วเหลืองของน้ำหนักแห้งต้นอ่อนเฉลี่ยที่เจริญจากของเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ……29

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

2.1 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของ เมล็ดพันธุ์ที่มีต่อความสูงของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ……..…….31

2.2 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อความสูงของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60……..……32

2.3 อิทธิพลระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมที่มีต่อความสูงของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่อายุต่างๆ กัน...……...…….33

2.4 ความสัมพันธ์ของระดับความมีชีวิตที่มีต่อความสูงที่อายุต่างๆ กันของถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์ที่เจริญจากเมล็ดที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม…..……33

2.5 ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และความสูงที่อายุต่างๆ กันของต้นถั่วเหลืองที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม……..34

2.6 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ที่อายุต่างๆ กัน……...……...……...…..…35

2.7 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60……...36

2.8 ความสัมพันธ์ของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมที่มีต่อน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่อายุต่างๆ กัน...……..37

2.9 ความสัมพันธ์ของระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ ที่มีต่อน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์ที่เจริญจากเมล็ดที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม ……37

2.10 ความสัมพันธ์ของพันธุ์ ถั่วเหลืองที่มีต่อน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของถั่วเหลืองที่อายุต่างๆ กันที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม ……....38

2.11 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์สจ.5..……....39

2.12 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60.....……..…….40

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

2.13 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมที่มีต่อองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60……..……..……..……41

2.14 ความสัมพันธ์ของระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลืองที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม.....41

2.15 ความสัมพันธ์ของพันธุ์ ถั่วเหลืองที่มีต่อองค์ประกอบของผลผลิตของถั่วเหลืองที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมระดับความเข้มข้นต่างๆ……..…....……..42

3.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานและความมีชีวิตที่ตรวจสอบโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 50 ชุดตัวอย่าง .....….……..107

3.2 เปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลงปลูกและความแข็งแรงที่ตรวจสอบโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 50 ชุดตัวอย่าง.....109

3.3 เปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ตรวจสอบโดยวิธีการเร่งอายุและวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 50 ชุดตัวอย่าง.....111

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ปฏิกิริยาทางเคมีของการเปลี่ยนแปลงของสารละลาย 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride เป็น 2,3,5-triphenyl tetrazolium formazan โดย dehydrogenase enzyme……..…….....5	
2	ตำแหน่งของเนื้อเยื่อเมล็ดพันธุ์ที่ศึกษาการติดสีของเตตราโซเลียม……21	
3.1	การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของใบเลี้ยงและต้นอ่อนถั่วเหลืองที่งอกจากเมล็ดเดียวกันและความสัมพันธ์กับคุณภาพ …..……45	
3.2	การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในบริเวณตำแหน่งที่ 1 ปลายราก (radicle) และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน .....……..47	
3.3	การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในบริเวณตำแหน่งที่ 2 ส่วนกลางของลำต้นอ่อน (hypocotyl) และลำต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....48	
3.4	การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองบริเวณตำแหน่งที่ 3 ส่วนบนของลำต้นอ่อน (hypocotyl) และส่วนบนของใบเลี้ยง (cotyledon) และ ต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน ....……..49	
3.5	การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองบริเวณตำแหน่งที่ 4.1 ใบเลี้ยงด้าน hilum ส่วนบน และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน ……..……...51	
3.6	การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองบริเวณตำแหน่งที่ 4.2 ใบเลี้ยงด้าน hylum ส่วนที่อยู่ติดกับ hylum และ ต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....……52	
3.7	การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองบริเวณตำแหน่งที่ 5 ส่วนกลางใบเลี้ยงและต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน ……...……...….53	

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

3.8 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองบริเวณตำแหน่งที่ 6 ใบเลี้ยงด้าน sub-hylar และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน ……54

3.9 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองบริเวณตำแหน่งที่ 7 ส่วนปลายใบเลี้ยง…….....55

3.10 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เกิดการเสื่อมสภาพในบริเวณ embryonic axis ร่วมกับส่วนบนของใบเลี้ยงด้าน hilum …….....57

3.11 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เกิดการเสื่อมสภาพในบริเวณใบเลี้ยงโดยรวม…….....58

3.12 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดเขียวในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง……60

3.13 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดบวมในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง…...……..…61

3.14 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดปริในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ……...62

3.15 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดย่นในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ……...63

3.16 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดลีบย่นในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง……...64

3.17 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดม่วงในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง……..……...65

3.18 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดแตกร้าว (mechanical damage) ในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง……..……...66

3.19 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดที่ถูกโรคทำลายในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง……...67

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

3.20 การติดสีที่แสดงอาการเสื่อมคุณภาพใน embryonic axis ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม.....69

3.21 การติดสีที่แสดงอาการเสื่อมคุณภาพในยอดอ่อน (plumule) ของต้นอ่อนที่งอกจาก เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม 70

3.22 การติดสีที่แสดงอาการเสื่อมคุณภาพในส่วนยอดของต้นอ่อนหดม้วนที่งอกจาก เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม.....71

3.23 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 1 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……74

3.24 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 2 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……75

3.25 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 3 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……76

3.26 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 4 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……77

3.27 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 5 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……78

3.28 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 6 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……79

3.29 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 1 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……80

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

3.30 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 2 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....81
3.31 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 3 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....82
3.32 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 4 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....83
3.33 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 5 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....84
3.34 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 6 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....85
3.35 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 7 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....86
3.36 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 8 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....87
3.37 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 1 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....88

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

3.38 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 2 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……89

3.39 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 3 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……90

3.40 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 4 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……91

3.41 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 5 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……92

3.42 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 6 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……93

3.43 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 7 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……94

3.44 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 1 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……95

3.45 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 2 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……96

3.46 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 3 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน……97

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

3.47 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 4 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....98

3.48 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 5 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....99

3.49 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 6 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....100

3.50 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 7 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....101

3.51 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 8 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....102

3.52 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 9 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน.....103

3.53 ความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานกับความมีชีวิตโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จำนวน 50 ชุดตัวอย่าง 105

3.54 ความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลงปลูกกับความแข็งแรงโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จำนวน 50 ชุดตัวอย่าง.....106

3.55 ความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ตรวจสอบโดยวิธีการเร่งอายุกับวิธีตรวจสอบเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจำนวน 50 ชุดตัวอย่าง.....106

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญของปัญหา

ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ ซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมภายในประเทศหลายชนิด โดยมีความต้องการภายในประเทศเพิ่มขึ้นทุกปี ในปี 2544/45 มีความต้องการใช้เมล็ดถั่วเหลืองภายในประเทศไม่ต่ำกว่า 1,830,950 ตัน หรือ เพิ่มขึ้นร้อยละ 12.93 หากไม่สามารถพัฒนาการผลิตถั่วเหลืองเพิ่มขึ้น หรือไม่สามารถรักษาระดับปริมาณผลผลิตให้คงอยู่ในระดับปัจจุบัน ประเทศไทยจะต้องสูญเสียเงินตราในการนำเข้าถั่วเหลืองไม่ต่ำกว่า 18,000 ล้านบาทต่อปี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2547) ทั้งนี้มีปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มผลผลิตถั่วเหลือง เช่น พันธุ์ การเตรียมพื้นที่ปลูก การดูแลรักษา ตลอดจนถึงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากคุณภาพเมล็ดพันธุ์เป็นสิ่งที่บ่งถึงจำนวนต้นต่อพื้นที่ปลูก เมล็ดพันธุ์เป็นต้นทุนหลักของการผลิตถั่วเหลืองของเกษตรกร เมล็ดพันธุ์ดีจึงสามารถลดต้นทุนการผลิตลงได้ เกษตรกรจึงมีความต้องการเมล็ดพันธุ์ดีเพิ่มมากขึ้น

การเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็วของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเป็นหนึ่งในปัญหาสำคัญของการผลิตถั่วเหลือง ทำให้ไม่สามารถเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ข้ามฤดูกาลได้ จึงมีความจำเป็นที่ต้องเร่งรีบในการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อนำส่งไปจำหน่ายทันทีที่เก็บเกี่ยวเสร็จ เพื่อใช้ปลูกทันทีในฤดูถัดไป การตรวจสอบความงอกเป็นวิธีการหนึ่งที่บ่งบอกความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ สามารถช่วยให้ทราบถึงปริมาณเมล็ดพันธุ์ที่ควรใช้ต่อพื้นที่ แต่ต้องใช้เวลาไม่ต่ำกว่า 3 วันจึงทราบผลการทดสอบ นอกจากนี้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์เป็นอีกดัชนีของคุณภาพเมล็ดพันธุ์ โดยความแข็งแรงจะบ่งบอกถึงความสามารถในการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์และความสามารถงอกในสภาพที่แปรปรวน ดังนั้นจึงจำเป็นที่ต้องมีวิธีการตรวจสอบความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่รวดเร็วและแม่นยำเพื่อให้สามารถวางแผนการใช้เมล็ดพันธุ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เทคนิคการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีเตตราโซเลียม (tetrazolium test-TZ test) เป็นวิธีการที่สามารถตรวจสอบความมีชีวิตและความแข็งแรง ของเมล็ดพันธุ์ได้อย่างรวดเร็ว แต่สารเคมีที่ใช้ในการตรวจสอบมีราคาแพง และ ผู้ตรวจสอบต้องมีความรู้ความชำนาญในการตรวจสอบ จึงจะสามารถแปรผลได้อย่างถูกต้อง

วิธีเตตราโซเลียม (TZ test) เป็นวิธีการการตรวจสอบทางชีวเคมีโดยการตรวจหากิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrugenase enzyme) ซึ่งจะมีอยู่ในเซลของเมล็ดพันธุ์ที่มีชีวิตเท่านั้น

โดยปฏิกิริยาของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสจะมีการปลดปล่อยไฮโดรเจนอิออนออกมา ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride ที่เป็นสารละลายใสไม่มีสีและแพร่กระจายได้ (diffusible) เปลี่ยนรูปเป็น 2,3,5-triphenyl tetrazolium formazan ซึ่งมีสีแดงและไม่แพร่กระจาย (non-diffusible) มีผลให้เซลที่มีชีวิตติดสีแดงของสารละลายดังกล่าว (Grabe, 1970) จากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นทำให้สามารถนำมาประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดได้รวดเร็วกว่าวิธีการตรวจสอบวิธีอื่น

นักวิจัยหลายท่านพยายามพัฒนารูปแบบการตรวจสอบมาตรฐานโดยเปรียบเทียบระหว่างผลการตรวจสอบวิธีเตตราโซเลียมกับการตรวจสอบความงอกมาตรฐาน แต่ประสบการณ์และการฝึกฝนยังคงมีบทบาทสำคัญต่อความแม่นยำในการตรวจสอบเนื่องจากรูปแบบมาตรฐานไม่สามารถอธิบายรูปแบบการติดสีของเมล็ดพันธุ์ที่เกิดขึ้นได้อย่างชัดเจนและเป็นรูปธรรม จึงทำให้การใช้ประโยชน์จากวิธีการตรวจสอบเตตราโซเลียมไม่กว้างขวางเท่าที่ควร

จากการจำแนกรูปแบบการติดสีของสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ Suvarnin (1984) พบว่าวิธีการเตตราโซเลียมเป็นวิธีการที่สามารถนำมาใช้ตรวจสอบความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้ดี แต่การตรวจสอบความแข็งแรงให้ผลแม่นยำน้อยกว่าการตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ส่วนธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร, วสุ อมฤตสุทธิ์, เชิดชาย วังคำ, วราภรณ์ จักกรณ์ และเบญจวรรณ โชติมนทิน (2544) พบว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.1% ยังสามารถงอกเป็นต้นอ่อนได้ ดังนั้น การใช้กล้องสเตอริโอถ่ายภาพการติดสีของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองแต่ละเมล็ดและต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดพันธุ์ดังกล่าว แล้วนำภาพทั้ง 2 ระยะมาเปรียบเทียบกัน จะช่วยให้สามารถพัฒนารูปแบบการประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยวิธีเตตราโซเลียมให้มีความแม่นยำและเป็นรูปธรรมมากขึ้นได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อตรวจสอบอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง รวมถึงการพัฒนาของต้นอ่อนและการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง
2. เพื่อพัฒนารูปแบบการติดสีของสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิคการงอกของเมล็ดย้อม (germination of TZ stained seed technique) เพื่อประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงความเป็นไปได้ของการใช้สารละลายเตตราโซเลียมในระดับความเข้มข้นต่ำในการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง
2. ทราบถึงความเป็นพิษของสารละลายเตตราโซเลียมที่ใช้ย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง รวมทั้งการพัฒนาของต้นอ่อนและการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง
3. ได้รูปแบบการติดสีและการประเมินผลการตรวจสอบความมีชีวิตและความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยวิธีเตตราโซเลียม ที่เป็นรูปธรรมและแม่นยำในการตรวจสอบ
4. จากเทคนิคการงอกของเมล็ดที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม รูปแบบการติดสี และการประเมินผลคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ได้จากการวิจัยนี้ สามารถนำไปผลิตสื่อเพื่อช่วยฝึกฝนทักษะในการประเมินผลการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยวิธีเตตราโซเลียมได้

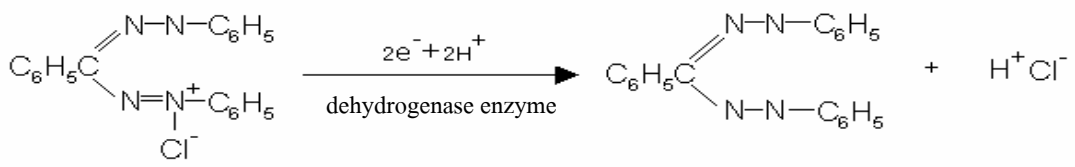
บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. ประวัติการตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีเตตราโซเลียม

เตตราโซเลียมเป็นวิธีการประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่ใช้อย่างกว้างขวาง พัฒนาขึ้นครั้งแรกในประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมัน ประมาณปี ค.ศ.1940 โดย Professor Georg Lakon (1928) ผู้ซึ่งพยายามหาวิธีการแยกระหว่างเมล็ดที่มีชีวิตและเมล็ดตาย โดยใช้ เกลือ selenium แต่พบว่า เกลือ tetrazolium ให้ผลที่ดีกว่า นอกจากนี้เกลือ selenium มีความเป็นพิษและมีผลเป็นอันตรายต่อผู้ใช้ (Delouche, Still, Raspet and Lienhard, 1962; Copeland and Miller, 1995) นักวิจัยเริ่มศึกษาวิธีการ Lakon's techniques หรือการศึกษาตรวจสอบเมล็ดด้วยวิธีเตตราโซเลียม ในเมล็ดพืชชนิดต่างๆหลังสงครามในสหรัฐอเมริกาในปี ค.ศ. 1945 อ้างโดย Suvarnin (1984) ทั้งนี้สมาคมผู้ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (International Seed Testing Association, ISTA) ได้แต่งตั้งคณะกรรมการเตตราโซเลียมขึ้นในปี ค.ศ. 1950 และในปี ค.ศ. 1983 Professor R.P. Moore ได้นำเสนอคู่มือการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีเตตราโซเลียมต่อที่ประชุม The ISTA Congress ที่เมือง Ottawa ประเทศแคนนาดา ต่อมาในปี ค.ศ.1985 ได้จัดทำมาตรฐานการตรวจสอบขึ้นและเผยแพร่ส่วนมาตรฐานของสมาคมผู้ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ (Association of Official Seed Analyze, AOSA) จัดทำขึ้นในปี ค.ศ. 1970 (Copeland and Miller,1995; Sarah and Brenda, 2002)

2. หลักการตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีเตตราโซเลียม

วิธี Tetrazolium Test เป็นการตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์โดยตรวจหาการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenase) ซึ่งมีอยู่ในเซลเมล็ดที่มีชีวิต ซึ่งเป็นดัชนีในการวัดการเกิดกระบวนการหายใจ (respiration) และความมีชีวิต (viability) ของเมล็ดพันธุ์ โดยเอนไซม์ dehydrogenase จะทำปฏิกิริยากับ substrates และปลดปล่อยไฮโดรเจนไอออน (H^+) ออกมา ซึ่งไฮโดรเจนไอออนจะไปทำปฏิกิริยากับสาร 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride ซึ่งเป็นสารไม่มีสี ให้กลายเป็นสาร 2,3,5- triphenyl tetrazolium formazan ซึ่งมีสีแดง (ภาพที่ 1) ทั้งนี้การแปรผลความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์สามารถพิจารณาได้จากการติดสีของส่วนประกอบต่างๆของเมล็ดและความเข้มของการติดสี (Copeland and Miller, 1995)



2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride (ไม่มีสีและมีคุณสมบัติแพร่กระจาย)

2,3,5-triphenyl tetrazolium formazan (มีสีแดงและมีคุณสมบัติไม่แพร่กระจาย)

ภาพที่ 1. ปฏิกิริยาทางเคมีของการเปลี่ยนแปลงของสารละลาย 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride เป็น 2,3,5-triphenyl tetrazolium formazan โดย dehydrogenase enzyme

ตามปกติเนื้อเยื่อเมล็ดที่มีชีวิตจะมีแรงต้านการแพร่ของสารละลายเตตราโซเลียม แต่ในเนื้อเยื่อที่เสื่อมคุณภาพจะเกิดกระบวนการหายใจเร็วขึ้นกว่าปกติ จึงเกิดอัตราการปลดปล่อยไฮโดรเจนไอออนที่เร็วขึ้น และเนื้อเยื่อจะสูญเสียแรงต้านการแพร่ของสารละลายเตตราโซเลียม สารละลายจึงเปลี่ยนรูปเป็นฟอมาซานอย่างรวดเร็ว ทำให้เนื้อเยื่อบริเวณดังกล่าวติดสีแดงชั้น (Sarah and Brenda, 2002)

จากการย้อมเมล็ดถั่วเหลืองที่ได้รับการกระแทกของเครื่องนวดด้วยวิธีเตตราโซเลียม พบว่าบริเวณที่เสียหายมีรอยช้ำสีแดงเข้มกระจายบนผิวด้านนอกของ cotyledon โดยเนื้อเยื่อในบริเวณดังกล่าวจะตายไป หลังจากการเก็บรักษา (นงลักษณ์ ประกอบบุญ, 2524)

3. ประโยชน์และข้อจำกัดของวิธีการเตตราโซเลียม

เตตราโซเลียมเป็นวิธีการตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์โดยวิธีทางชีวเคมี ที่สามารถทราบผลการตรวจสอบอย่างรวดเร็ว (Sarah and Brenda, 2002; Hampton, 1995) เตตราโซเลียมเป็นเครื่องมือสำคัญในการบ่งบอกถึงลักษณะทางสรีระวิทยาของเมล็ด และยังสามารถแสดงถึงสาเหตุของการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดซึ่งเกิดจากสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมในช่วงก่อนเก็บเกี่ยว (weathering damage), มวนดูดทำลาย (stink bug damage) และ การบอบช้ำและ เสียหายจากเครื่องจักร (mechanical damage) (Dacosta and Marcos, 1994a)

วิธีเตตราโซเลียมไม่สามารถบ่งบอกถึงการเข้าทำลายเมล็ดของเชื้อรา และปริมาณการพักตัวของเมล็ดพันธุ์ กรณีเมล็ดแข็ง (hard seed) เมล็ดจะไม่สามารถดูดน้ำและสารละลายได้ ดังนั้นเพื่อความถูกต้องในการประเมินความมีชีวิต ต้องรวมจำนวนเมล็ดแข็งไว้ในส่วนของเมล็ดที่มีชีวิต (Delouche et al., 1962; Sarah and Brenda, 2002) นอกจากนี้เมล็ดที่ผ่านการรมยาหรือคลุกด้วยสารเคมี อาจไม่งอกเมื่อนำไปตรวจความงอกแต่ในการตรวจสอบเตตราโซเลียมมักพบว่าไม่มีผลต่อการติดสี (จวงจันทร์ ดวงพัตรา, 2529)

Don et al. (1990) ได้นำเมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เล่ย์ที่ถูกฉีดพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืช glyphosate มาทดสอบความงอก พบว่า ต้นอ่อนที่ได้มีลักษณะผิดปกติ รากกุด หรือ บิดงอ แต่เมื่อนำเมล็ดชุดดังกล่าวไปย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมกลับ พบว่า เมล็ดย้อมติดสีแดงเหมือนเมล็ดที่มีชีวิต ฉนั้นการตรวจสอบเตตตราโซเลียมในเมล็ดพืชที่มีการฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืชอาจทำให้การประเมินผลผิดพลาดได้ นอกจากนี้ต้องระมัดระวังการพิจารณาประเมินลักษณะ การช้ำ การแตกร้าว รอยที่เกิดจากเจาะของแมลง ซึ่งในการตรวจสอบต้องพิจารณาตำแหน่งเหล่านี้บนเมล็ดเนื่องจากมีผลต่อการติดสีทำให้การวิเคราะห์ผิดพลาด (Copeland and Miller, 1995)

นอกจากการใช้เตตราโซเลียมในการตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดแล้ว ยังพบว่ามีการใช้สารเตตราโซเลียมเพื่อการตรวจสอบความมีชีวิตในเนื้อเยื่อพืชและเนื้อเยื่อของผลไม้ (SAPS, 2002) ความมีชีวิตของอับละอองเกสร (Hecker, 1963; Norton, 1966) นอกจากนี้ยังมีการนำคุณสมบัติของการตรวจสอบเตตราโซเลียมมาใช้เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกพันธุ์ถั่วเหลืองที่ต้านทานต่อการบอบช้ำเนื่องจากเครื่องนวด (Carbonel, Krzyzanowski and Mesquita, 1998)

4. คุณสมบัติทางเคมีของสารเตตราโซเลียม

สารเตตราโซเลียม ($C_{19}H_{15}N_4Cl$) มีชื่อทางเคมีว่า 2,3,5 –triphenyl tetrazolium chloride เป็นสารเคมีผงสีขาว มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) 334.81 และมีจุดเดือด (melting point) อยู่ที่ 243 องศาเซลเซียส ไวต่อแสง ไม่เข้ากับ strong oxidizing agent สามารถละลายในน้ำ ควรเก็บให้ปลอดภัยจากความชื้น อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาประมาณ 2-8 องศาเซลเซียส (Zigma, 2002) สารละลายควรเก็บในที่มืดหรือในขวดสีชา เพื่อป้องกันการเสื่อมคุณภาพของสารละลายโดยแสง ทั้งนี้สารละลายสามารถเก็บได้หลายเดือนที่อุณหภูมิห้อง (Grabe, 1970; จวงจันทร์ ดวงพัตรา, 2529)

สารละลายเตตราโซเลียม เป็นสารที่มีพิษ (poisonous) เป็นสารก่อมะเร็ง (carcinogenic) และเป็นสารก่อทารกวิรูป (teratogenic) แม้ว่าเตตราโซเลียมเป็นวิธีการตรวจสอบที่ดี แต่มีผลเป็นพิษต่อเมล็ด (Hill, 1994; 2001) เป็นอันตรายหากสูดดม กลืน ผ่านการสัมผัสดูดซึม (absorb) ทางผิวหนัง ตา ระบบการหายใจ ค่าLD_{50} เท่ากับ 5.6 mg kg-1 (PTCL, 2002) ดังนั้นหลังการย้อมและล้างเมล็ดด้วยน้ำแล้ว ควรหลีกเลี่ยงการจับเมล็ดด้วยมือเปล่า หลังจากเสร็จการประเมินควรล้างมือด้วยสบู่และน้ำ (Enescu, 1997) ธวัชชัย และคณะ (2544) รายงานว่าสารละลายเตตราโซเลียมมีอันตรายส่งผลยับยั้งการเจริญของ primary root ของถั่วเหลืองแต่รากยังคงสามารถงอกได้หากย้อมด้วยสารละลายเจือจาง (0.1%)

5. ปัจจัยการตรวจสอบ

การตรวจสอบเตราโซเลียมนั้นขึ้นกับปัจจัยหลายประการซึ่งส่งผลต่อการติดสีของเมล็ด ดังเช่น ระยะเวลาในการบ่มเมล็ดและระยะเวลาการย้อม อุณหภูมิในการบ่มและการย้อม ความเข้มข้นและความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของสารละลาย ซึ่งส่งผลต่อความเข้มหรือจางของการติดสี

ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของสารละลาย 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride ควรมีค่า (pH) อยู่ระหว่าง 6.5-7 ซึ่งเป็นช่วงที่สารเตตราโซเลียมสามารถละลายได้ดี หากสารละลายไม่ได้อยู่ในช่วงดังกล่าว สามารถละลายได้โดยใช้สารละลาย phosphate buffer (Grabe, 1970; Hill, 1994; Enescu, 1997)

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการย้อมควรอยู่ระหว่าง 20-40 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปนิยมใช้อุณหภูมิที่อยู่ระหว่าง 35-40 องศาเซลเซียส การใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นสูงปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นรวดเร็วกว่าการใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำ หรือหากมีความกดดันของอากาศสูงปฏิกิริยาสามารถเกิดได้รวดเร็ว (Copeland and Miller,1995)

6. ขั้นตอนการทดสอบความมีชีวิตเมล็ดด้วยวิธีเตตราโซเลียม

ในการตรวจสอบวิธีเตเตราโซเลียมต้องให้เมล็ดได้ดูดซับน้ำเสียก่อน การบ่มเมล็ดเป็นการเพิ่มความสม่ำเสมอและคุณภาพในการย้อม หากแช่เมล็ดโดยตรงในสารละลาย หรือ น้ำ จะทำให้เมล็ดดูดน้ำอย่างรวดเร็ว เยื่อหุ้มเมล็ดฉีกขาด ใบเลี้ยง และ hypocotyl ปริแยกจากกันได้ (Delouche et al.,1962; Grabe, 1970)

ในพวก dried fruits (*Acer* spp., *Fraximus* spp., *Tilia* spp.) และ stony fruits (*Prunus* spp.) ต้องลอก pericarp ออก หรือทำให้ส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดเกิดรอยแผลเพื่อช่วยในการดูดซับน้ำ เมล็ดที่แห้งมากๆ หรือเมล็ดเก่า ไม่ควรแช่เมล็ดในสารละลายโดยตรงเนื่องจากจะทำให้เมล็ดเสื่อมคุณภาพ ควรค่อยๆให้เมล็ดได้รับความชื้นโดยม้วนเมล็ดไว้ในกระดาษเพาะที่ชื้น (Enescu, 1997)

การบ่มเมล็ดควรบ่มในกระดาษชื้น ระยะเวลาไม่ต่ำกว่า 6 ชั่วโมง แต่เหมาะสมที่สุด คือ 16 ชั่วโมง (Delouche et al., 1962) ทั้งนี้ Bittencourt, Vieira and Rodrigques (1997) ได้ทดลองบ่มเมล็ดถั่วลิสงระยะเวลา 8 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 25, 30 หรือ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลาบ่ม 12 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 20 หรือ 25 องศาเซลเซียส และระยะเวลาบ่ม 16 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เพื่อให้เมล็ดมีความชื้นมากกว่า 30 % พบว่าการบ่มเป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เหมาะสมที่สุด เนื่องจากสะดวกในการปฏิบัติโดยสามารถบ่มเมล็ดพันธุ์ในช่วงเย็นและสามารถนำมาย้อมสารละลายในเช้าวันรุ่งขึ้น นอกจากนี้ Da costa et al. (1994; 1997; 1998) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการลดระยะเวลาในการบ่มเมล็ด โดยเพิ่มอุณหภูมิการบ่ม เปรียบเทียบกับระดับการ

เปลี่ยนแปลงของความชื้นในเมล็ด พบว่า การบ่มเมล็ดถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 41องศาเซลเซียส 6 ชั่วโมง ทำให้เมล็ดมีความชื้น ประมาณ 30 % ซึ่งสามารถลดเวลาการเตรียมเมล็ดลงได้ 10 ชั่วโมง

การย้อมเตตราโซเลียมทำได้โดยนำเมล็ดที่ได้ไปแช่ในสารละลายเกลือเตตราโซเลียมและนำไปไว้ในตู้มืดที่อุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อให้สารสามารถแพร่ถึงคัพภะ (embryo) ซึ่งระยะเวลาในการย้อมขึ้นกับชนิดของเมล็ด การใช้เวลาย้อมสั้นหรือ นานเกินไปจะส่งผลต่อความเข้มของการติดสีของเมล็ด (Copeland and Miller, 1995)

ในการย้อมสารละลายเตตราโซเลียมต้องให้สารละลายได้สัมผัสกับคัพภะ บางชนิดต้องตัดหรือทำให้เมล็ดเกิดแผลเพื่อทำให้สารละลายสามารถแพร่ไปยังส่วนต่างๆของเมล็ดได้ง่าย (Copeland and Miller, 1995) สารละลายความเข้มข้น 1 % เหมาะสำหรับเมล็ดพืชตระกูลถั่วและเมล็ดพืชตระกูลหญ้าที่ไม่ต้องตัดเมล็ด ส่วนความเข้มข้น 0.1 % เหมาะสำหรับเมล็ดหญ้าและเมล็ดธัญพืชที่มีการตัดเมล็ด (Grabe, 1970; Sarah and Brenda, 2002)

Delouche et al. (1962) แนะนำการย้อมสีเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 1 % แช่นาน 2-4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส หรือ แช่นาน 5-7 ชั่วโมงสำหรับอุณหภูมิห้อง ส่วน AOSA (1993) แนะนำว่าในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ควรใช้สารละลายความเข้มข้น 1 % แช่นาน 3-4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ซึ่ง Illipronti Jr. (1997) ใช้การบ่มที่ 16 ชั่วโมงที่ 25 องศาเซลเซียส และย้อมที่ความเข้มข้น 0.1 % นาน 2-4 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ซึ่งช่วยให้ประหยัดการใช้สารเคมี ทั้งนี้ Moore (1985) กล่าวว่า การเพิ่มอุณหภูมิทุก 5 องศาเซลเซียส สามารถลดระยะเวลาการย้อมลงได้ครึ่งหนึ่ง นอกจากนี้ในการเร่งปฏิกิริยาของสารละลายเตตราโซเลียมสามารถใช้เครื่อง Vitascope ที่อาศัยหลักการเร่งการทำปฏิกิริยาของสารละลายในสภาพสูญญากาศ (vacuum) และมีอุณหภูมิสูง สามารถลดระยะเวลาในการย้อมลงได้เหลือประมาณ 10 –50 นาที โดยในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสามารถลดระยะเวลาลงเหลือประมาณ 15-20 นาที (Delouche et al., 1962) Knierim and Leist (1988) ได้ทดลองเร่งการย้อมสารละลายเตตราโซเลียมในเมล็ด Abies โดยดึงอากาศออก ทำให้เกิดความดัน 18,662 Pa เป็นเวลา 10 นาที สามารถลดระยะเวลาการย้อมได้หลายชั่วโมง Savonen (1997) ได้ใช้วิธีเดียวกันที่ความดัน 23.6 kPa เป็นเวลา10 นาทีลดระยะเวลาการย้อมเมล็ดสนลงได้ 42 ชั่วโมง

ในเมล็ดหญ้าบางชนิด เช่น blue grass และ timothy ซึ่งเมล็ดมีขนาดเล็กมากไม่สามารถผ่าเมล็ดดูคัพภะได้จำเป็นต้องแช่เมล็ดด้วยสารละลาย lactophenol (lactic acid 20 ส่วน phenol 20 ส่วน glycerin 40 ส่วน และน้ำ 20 ส่วน) ซึ่งเป็นสารที่ทำให้ lemma และ palea ที่หุ้มเมล็ดใสสามารถมองทะลุเห็นคัพภะได้ชัดเจน (Grabe, 1970)

7. การประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธีเตตราโซเลียม

การประเมินความมีชีวิตของเมล็ดนั้น พิจารณาจากความเข้มของการติดสี และ ตำแหน่งที่ติดสี เนื้อเยื่อที่สมบูรณ์ไม่มีตำหนิของเมล็ดที่แข็งแรงจะดูดซับสารเตตราโซเลียมได้ช้าและมีแนวโน้มการติดสีจางกว่าเมล็ดที่มีความบอบช้ำ เมล็ดที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลานาน เมล็ดที่ผ่านน้ำค้างแข็ง (frost) หรือเมล็ดที่ได้รับความกระทบกระเทือนจากปัจจัยต่างๆ ผู้ประเมินต้องมีความชำนาญสูงจึงจะสามารถจำแนกเมล็ดซึ่งสามารถเจริญเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์และเมล็ดที่ไม่มีชีวิตออกจากกันได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (Copeland and Miller, 1995) ผู้ประเมินต้องฝึกฝน ทักษะและประสบการณ์อย่างเพียงพอเนื่องจากการติดสีไม่มีรูปแบบที่เป็นเกณฑ์ตายตัวแต่เป็นภาพรวมของส่วนที่ติดสี และไม่ติดสี ซึ่งมีความแตกต่างในแต่ละรูปแบบเมล็ดที่เกิดขึ้น (Delouche et al., 1962)

ปกติผลการตรวจสอบความงอกมาตรฐานจะมีค่าต่ำกว่าการตรวจสอบเตตราโซเลียม เนื่องจากปัจจัยของสิ่งแวดล้อมขณะงอกส่งผลให้เมล็ดแสดงออกไม่เต็มประสิทธิภาพเมื่อตรวจสอบด้วยวิธีเตตราโซเลียม (Enescu, 1997) ความแตกต่างดังกล่าว มีค่าประมาณ 3-5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งความแตกต่างมีค่าน้อยในเมล็ดที่มีคุณภาพสูง เมล็ดที่มีขนาดใหญ่ และ เมล็ดที่มีคุณภาพสม่ำเสมอ (Sarah and Brenda, 2002)

ความแม่นยำในการตรวจสอบนั้นสามารถพัฒนาขึ้นได้โดยการฝึกเปรียบเทียบผลของการตรวจสอบ เตตราโซเลียมกับการตรวจสอบความงอกมาตรฐาน (จวงจันทร์ ดวงพัตรา, 2529) หลักในการประเมินคือแยกกลุ่มของเมล็ดออกเป็นกลุ่มเมล็ดดี เมล็ดเสีย และกลุ่มที่ไม่แน่ใจ ทำการประเมินเมล็ดที่มีลักษณะดีและเสียซึ่งเป็นเมล็ดกลุ่มใหญ่ออกไปก่อน จึงค่อยพิจารณาเมล็ดที่ไม่แน่ใจอย่างละเอียด

หลังการย้อมต้องล้างเมล็ดและระหว่างการประเมินผลต้องแช่เมล็ดอยู่ในน้ำตลอดเวลาเพื่อป้องกันการเปลี่ยนสีของเมล็ด หากไม่ประเมินผลทันทีควรเก็บเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิ 10- 15 องศาเซลเซียส ปกติเมล็ดที่ผ่านการย้อมสีหากแช่อยู่ในน้ำและเก็บในตู้เย็นสามารถเก็บได้นานโดยสีไม่เปลี่ยนแปลง (จวงจันทร์ ดวงพัตรา, 2529)

8. การพัฒนารูปแบบมาตรฐานในการประเมินผลการติดสีเตตราโซเลียม

มีผู้พยายามพัฒนารูปแบบมาตรฐานเพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการประเมินความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ให้มีค่าใกล้เคียงกับค่าความงอกอย่างต่อเนื่อง เช่น ในข้าวสาลีและฝ้าย (Porter, Durrell, and Romm, 1947) ข้าวสาลี ข้าวบาเล่ย์ ข้าวโอ๊ต และถั่ว (Cottrell, 1948) ฝ้าย (Lambou,1953) ไม้ยืนต้น (Gopal and Thapliyal, 1969; Gupta and Raturi, 1975) ทั้งนี้ส่วนใหญ่เป็นวิธีเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจสอบเตตราโซเลียมกับการตรวจสอบความงอกมาตรฐาน

Agraval and Kaur (1975) ได้พัฒนารูปแบบการตรวจสอบเตตราโซเลียมของเมล็ดธัญพืช ragi (*Eleusine coracana* L.) โดยใช้วิธีเปรียบเทียบผลการตรวจสอบความงอกมาตรฐาน จำนวน 31 ชุดตัวอย่าง กับ ค่าความมีชีวิตที่ประเมินจากการติดสีของสารละลายเตตราโซเลียม 9 รูปแบบ ซึ่งสอดคล้องกับ Deswel and Chand (1997) ที่ได้พัฒนารูปแบบการตรวจสอบเตตราโซเลียมของเมล็ด rice bean (*Vigna umbelata* Thumb.) จากเมล็ด 25 สายพันธุ์ โดยเปรียบเทียบการประเมินความงอกมาตรฐานกับผลการประเมินรูปแบบของการติดสีเตตราโซเลียม 20 รูปแบบ ทั้งนี้ Pasha and Das (1981) ได้ใช้วิธีการเช่นเดียวกันในการพัฒนารูปแบบการตรวจสอบความมีชีวิตถั่วเหลือง 5 สายพันธุ์โดยเปรียบเทียบผลการตรวจสอบความงอกมาตรฐาน กับรูปแบบการติดสีของสารละลายเตราโซเลียม 10 รูปแบบ

Kuo, Yan and Leist (1996) ได้พัฒนารูปแบบมาตรฐานการตรวจสอบ ในเมล็ดพันธุ์ไม้ดอก *Salvia splendens* โดยเปรียบเทียบจากค่า root mean square (rms) ซึ่งได้จากการคำนวณผลต่างของผลการตรวจสอบความงอกและผลที่ได้จากการตรวจสอบด้วยวิธีการเตตราโซเลียมของรูปแบบการตรวจสอบ 6 รูปแบบ โดยรูปแบบที่ให้ค่า rms ต่ำที่สุดถือเป็นรูปแบบที่สามารถประเมินผลค่าความมีชีวิตได้ใกล้เคียงค่าความงอกของเมล็ดมากที่สุด นอกจากนี้ Pant, Purohit and Lal (1999) ได้นำวิธีเปรียบเทียบค่า rms ดังกล่าวมาใช้เปรียบเทียบ รูปแบบการติดสีในเมล็ด *Dendrocalamus strictus* 7 รูปแบบ

Howarth and Stanwood (1993) ได้พัฒนาชุดเครื่องมือที่เรียก Color Image Processing เพื่อช่วยในการวิเคราะห์และประเมินผลการตรวจสอบการติดสีสารละลายเตตราโซเลียม โดยการคำนวนพื้นที่ติดสีต่อพื้นที่เมล็ด

9. วิธีการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยสารละลายเตตราโซเลียมในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

Prabowo (1973) รายงานว่าการตรวจสอบด้วยวิธีเตตราโซเลียมสามารถแยกระหว่างเมล็ดถั่วเหลืองที่เสียหายกับเมล็ดปกติได้เป็นอย่างดี ซึ่งผลการตรวจสอบด้วยเตตราโซเลียมสามารถใช้เป็นสิ่งทำนายความงอกในสภาพไร่ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้เป็นอย่างดี ซึ่งสอดคล้องกับ Kulik และ Yaklich (1982) แต่ตรงข้ามกับ Mason (1982) ซึ่งได้ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ได้รับความเสียหายแตกร้าวด้วยวิธีการเตตราโซเลียมและวิธีการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดต่างๆ เปรียบเทียบกับการตรวจสอบความงอกในสภาพไร่ พบว่าผลของวิธีเตตราโซเลียมไม่สามารถใช้วัดเทียบเคียงกับการตรวจสอบความงอกในสภาพไร่ได้โดยเฉพาะในช่วงความงอก 0 ถึง 20 เปอร์เซ็นต์

วิธีการเตตราโซเลียมนอกจากเป็นการตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์แล้วยังสามารถนำมาตรวจสอบความแข็งแรงโดยจำแนกเมล็ดที่มีชีวิตหลังผ่านการย้อมสีออกเป็น 3 กลุ่มตามระดับความแข็งแรง คือ เมล็ดที่มีความแข็งแรงสูง ปานกลาง และ ต่ำ โดยการตรวจสอบความแข็งแรงนี้นิยมใช้ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ ถั่วเหลือง ฝ้าย ข้าวโพด ถั่วลิสง ถั่วอื่นๆ ข้าวสาลี และเมล็ดพันธุ์ไม้สน เนื่องจากสามารถตรวจสอบได้รวดเร็ว และไม่ต้องใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์พิเศษที่เฉพาะเจาะจง (จวงจันทร์, 2529)

Suvarnin (1984) ได้จำแนกและแบ่งรูปแบบการติดสีของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเป็น 3 ระดับความแข็งแรง คือ ระดับความแข็งแรงสูง (6 รูปแบบ) ระดับความแข็งแรงปานกลาง (9 รูปแบบ) ระดับความแข็งแรงต่ำ (9 รูปแบบ) ตามระดับความเข้มของการติดสี ตำแหน่งบนเมล็ดที่ไม่ติดสี และตำแหน่งที่มีการเสื่อมคุณภาพของเมล็ด โดยพบว่า การตรวจสอบความแข็งแรงที่ได้จากผลรวมของการประเมินเมล็ดที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมซึ่งมีความแข็งแรงสูงและปานกลาง แม้ให้ค่าต่ำกว่าการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดด้วยวิธีการเร่งอายุ แต่ความสัมพันธ์เป็นไปในทิศทางเดียวกัน และ สรุปว่าวิธีเตตราโซเลียมให้ผลแม่นยำในการตรวจสอบความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองแต่มีความแม่นยำน้อยกว่าเมื่อใช้ตรวจสอบความแข็งแรง

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยประกอบด้วยการทดลอง 3 การทดลองได้แก่

การทดลองที่ 1. การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายเตตราโซเลียมต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

การทดลองที่ 2. การศึกษาอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลือง

การทดลองที่ 3. การใช้เทคนิคการงอกของเมล็ดย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมพัฒนารูปแบบการติดสีเพื่อประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

ระยะเวลาในการทำการศึกษา ตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2545 ถึง เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2547

สถานที่ทำการศึกษา

1. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ตั้งอยู่ที่ ณ ตำบลสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา
   1.1 ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 เป็นการดำเนินการด้านการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในปี พ.ศ. 2545-2546
   1.2 ฟาร์มมหาวิทยาลัย เป็นการดำเนินการด้านการทดลองในแปลงปลูกทั้งหมด
2. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ตั้งอยู่ที่ ตำบลศรีไค อำเภอวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี
   2.1 ห้องปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์ อาคารเทคโนโลยีการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ เป็นการดำเนินการบันทึกภาพเมล็ดพันธุ์
   2.2 ห้องปฏิบัติการวิทยาการเมล็ดพันธุ์ อาคารเทคโนโลยีการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ เป็นการดำเนินการด้านการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ในปี พ.ศ. 2547

วัสดุและอุปกรณ์

วัสดุและอุปกรณ์ที่สำคัญและมีคุณสมบัติจำเพาะที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้มีดังนี้

1. สารเคมี 2,3-5 triphenyl tetrazolium chloride ยี่ห้อ Zigma
2. กล้องสเตอริโอไมโครสโครป (stereomicroscope) Meiji รุ่น RZ-B (MA749) ติดกล้องถ่ายภาพดิจิตอลยี่ห้อ Olympus รุ่น Camedia C-5050 zoom
3. กระดาษเพาะ รุ่น paper K-1 ของบริษัท เคี่ยนหงวนวิสาหกิจ จำกัด
4. เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 7 พันธุ์ ได้แก่ เชียงใหม่ 60, เชียงใหม่ 2, เชียงใหม่ 3,สจ.4, สจ.5, จพ.1, มข.35 และ สท.2 จำนวน 70 ชุดตัวอย่าง ที่มีประวัติแตกต่างกัน

การตรวจคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง วิธีการต่างๆ 6 วิธีโดยมีรายละเอียดดังนี้

1. การตรวจสอบความงอกมาตรฐาน (standard germination test) สุ่มเมล็ดพันธุ์ในแต่ละสิ่งทดลอง (treatment) จำนวน 4 ซ้ำๆละ 50 เมล็ดมาเพาะในกระดาษเพาะแบบวิธีม้วนกระดาษ (between paper method) เก็บม้วนกระดาษในกล่องพลาสติก นำกล่องพลาสติกใส่ไว้ในตู้เพาะ (germinator) ที่อุณหภูมิคงที่ 25 องศาเซลเซียส ตรวจประเมินความงอกต้นอ่อนครั้งแรกและครั้งที่สองเมื่ออายุได้ 5 และ 7 วันหลังเพาะ ตามวิธีการของ ISTA (1996)

2. การตรวจสอบความงอกในแปลงปลูก (field emergence test) สุ่มเมล็ดพันธุ์ในแต่ละสิ่งทดลอง จำนวน 4 ซ้ำๆละ 50 เมล็ด นำไปปลูกในแปลงปลูก ที่เตรียมดินให้มีสภาพคล้ายแปลงปลูกจริง คอยดูแลให้น้ำแปลงปลูกให้ดินมีความชื้นเพียงพอต่อการงอก ตรวจประเมินต้นอ่อนที่มีลักษณะสมบูรณ์เมื่ออายุได้ 7 วันหลังเพาะ

3. การตรวจสอบความแข็งแรงด้วยวิธีการวัดอัตราการเจริญเติบโตของต้นอ่อน (seedling growth rate test) สุ่มเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในแต่ละสิ่งทดลองจำนวน 4 ซ้ำๆละ 10 เมล็ด นำไปเพาะความงอกในม้วนกระดาษชื้น เก็บม้วนกระดาษในกล่องพลาสติก นำไปตั้งเอียง 45 องศา ในตู้เพาะที่มืด มีอุณหภูมิคงที่ 25 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 7 วัน นำต้นอ่อนปกติ (normal seedling) มาตัดใบเลี้ยง (cotyledon) นำต้นอ่อนที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 96 ชั่วโมง ชั่งหาน้ำหนักแห้งเป็นกรัมต่อต้นมีทศนิยม 3 ตำแหน่ง ตามวิธีของ AOSA (1983)

4. การตรวจสอบความยาวของยอดและความยาวราก (shoot and root length) สุ่มเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในแต่ละสิ่งทดลองจำนวน 4 ซ้ำๆละ 10 เมล็ด นำไปเพาะความงอกในม้วนกระดาษชื้น เก็บม้วนกระดาษในกล่องพลาสติก นำไปตั้งเอียง 45 องศา ในตู้เพาะที่มืด มีอุณหภูมิคงที่ 25 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 7 วันหลังเพาะ นำต้นอ่อนที่ได้ไปวัดความยาวของลำต้นและความยาวราก

เป็นเซนติเมตร ความยาวของลำต้นอ่อนวัดจากตำแหน่งเหนือจุดที่เกิดรากแขนง(secondary root) อันบนสุดจนถึงปลายใบจริง และความยาวรากวัดจากจุดที่เกิดรากแขนง(secondary root) อันบนสุดจนถึงปลายรากแก้ว (primary root) ตามวิธีของ AOSA (1983)

5. การตรวจสอบความแข็งแรงด้วยวิธีเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (accelerated aging test) สุ่มเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในแต่ละสิ่งทดลองจำนวน 4 ซ้ำๆละ 50 เมล็ดนำไปเร่งอายุในสถาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง ตามวิธีการของ ISTA (1996) หลังเร่งอายุนำมาทดสอบความงอกมาตรฐานตามวิธีการในข้อที่ 1

6. การตรวจสอบเตตราโซเลียม (tetrazolium test) นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมาบ่มโดยหุ้มด้วยกระดาษเพาะเปียกชื้น ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดมาแช่ในสารละลายเตตราโซเลียม ตามระดับความเข้มข้นที่ได้กำหนดในแต่ละการทดลอง เก็บในที่มืดอุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมงครึ่ง จากนั้นนำเมล็ดที่ผ่านการย้อมมาล้างและแช่เมล็ดด้วยน้ำสะอาดเพื่อหยุดปฏิกิริยาของสารละลายเตตราโซเลียม จากนั้นนำไปตรวจประเมินคุณภาพ หรือ นำไปศึกษาตามวิธีการดำเนินการวิจัยที่แตกต่างในแต่ละการทดลอง

ในการทดลองที่เกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม มีสิ่งทดลองควบคุม (control) 2 ชุด ได้แก่

(1.) สิ่งทดลองควบคุม 1 (control 1) ได้แก่ การนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองไปตรวจสอบคุณภาพทันทีโดยไม่มีการบ่มหรือย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมแต่อย่างใด

(2.) สิ่งทดลองควบคุม 2 (control 2) ได้แก่ สารละลายเตตราโซเลียมความเข้มข้น 0.0 % หมายถึง การนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองไปบ่มในม้วนกระดาษเพาะชื้นที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง เช่นเดียวกับสิ่งทดลองอื่นๆ แล้วนำไปแช่ในน้ำกลั่น (สารละลายเตตราโซเลียมความเข้มข้น 0.0 %) เป็นเวลา 1 ชั่วโมงครึ่งที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส

การทดลองที่ 1. การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายเตตราโซเลียมต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

การทดลองที่ 1 มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบถึงระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ใช้ย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ปลอดภัยต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ตลอดจนการพัฒนาของต้นอ่อนของถั่วเหลือง เพื่อหาระดับความเข้มข้นที่ไม่เป็นอันตรายต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง และมีการติดสีในระดับที่เหมาะสมนำมาใช้ประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนารูปแบบการติดสีเตตราโซเลียมในการประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยเทคนิคการงอกของเมล็ดย้อม (germination of tetrazolium stained seed technique) ได้

วางแผนการทดลองแบบ split-split plot design มี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย

- main plot คือ พันธุ์ถั่วเหลือง จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ซึ่งเป็นตัวแทนของพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีพันธุกรรมความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (genetic vigor)ในระดับปกติ และ พันธุ์ถั่วเหลืองที่มีพันธุกรรมของความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ต่ำตามลำดับ

- sub plot คือ ระดับของความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 3 ระดับ ตามเกณฑ์ของ TeKrony และ Egli (1977) ดังนี้

- ระดับความมีชีวิตสูง มีความงอกสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์
- ระดับความมีชีวิตปานกลาง มีความงอกอยู่ระหว่าง 80-60 เปอร์เซ็นต์
- ระดับความมีชีวิตต่ำ มีความงอกต่ำกว่า 60 เปอร์เซ็นต์

- sub-sub plot คือ ระดับของความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมที่ใช้ย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจำนวน 8 ระดับ ได้แก่ เมล็ดแห้งที่ไม่ผ่านการบ่มและย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม (สิ่งทดลองควบคุม 1) และ เมล็ดที่บ่ม และ ย้อมเมล็ดพันธุ์ด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.000 (สิ่งทดลองควบคุม 2), 0.050, 0.075, 0.100, 0.250, 0.500 และ 1.000 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ระยะเวลาการย้อม 1 ชั่วโมง 30 นาที ที่อุณหภูมิ 43 องศาสเซลเซียส นำเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมแล้วไปตรวจสอบความงอกมาตรฐานและความแข็งแรงโดยวิธีวัดความยาวยอดและราก (shoot and root length) และวิธีวัดการเจริญเติบโตของต้นอ่อน (seedling growth rate test) ตามวิธีการที่ระบุไว้ในการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในข้อ 1, 3 และ 4

การทดลองที่ 1 ทั้งหมดดำเนินการทดลองที่ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ระยะเวลาดำเนินการเดือนมกราคม พ.ศ. 2545 ถึงเดือนกุมภาพันธุ์ พ.ศ. 2546 นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และหาค่าความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี the Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

การทดลองที่ 2. การศึกษาอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลือง

การทดลองที่ 2 เป็นการศึกษาต่อเนื่องจากการทดลองที่ 1 เพื่อศึกษาผลกระทบของสารละลายเตตราโซเลียมที่ใช้ย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในระดับความเข้มข้นต่ำ (0.1 เปอร์เซ็นต์ หรือต่ำกว่า) ซึ่งไม่มีผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์จะมีผลต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองหรือไม่ วางแผนการทดลองแบบ split-split plot มี 3 ซ้ำ โดยมี main plot คือ พันธุ์ถั่วเหลือง จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 sub plot คือ ระดับของความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 3 ระดับคือระดับสูง กลาง และต่ำ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ส่วน sub-sub plot คือ ระดับของความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมที่ใช้ย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 4 ระดับ ได้แก่ เมล็ดแห้งที่ไม่ผ่านการบ่มและย้อมด้วยเตตราโซเลียม(สิ่งทดลองควบคุม 1) และเมล็ดที่บ่ม และ ย้อมเมล็ดพันธุ์ด้วยเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.00 (สิ่งควบคุม 2), 0.05 และ 0.10 เปอร์เซ็นต์ นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ย้อมสีด้วยสารละลายเตตราโซเลียมแล้วไปปลูกในแปลงทดลองที่มีการเตรียมดินโดยการไถดะ 1 ครั้งและไถแปร 2 ครั้งพร้อมใส่ปุ๋ยรองพื้นสูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ ใช้ระยะปลูก 1x1 เมตร ซ้ำละ 25 หลุม ในพื้นที่ 25 ตารางเมตร รวมพื้นที่ปลูกทั้งหมด 1,800 ตารางเมตร หยอดเมล็ดหลุมละ 3 เมล็ด เมื่อต้นอ่อนมีอายุได้ 7 วัน ถอนแยกต้นที่ไม่สมบูรณ์ให้เหลือเฉพาะต้นที่สมบูรณ์ให้เหลือหลุมละ 1 ต้น การปลูกที่ระยะ1x1 เมตรและถอนให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุมเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญเติบโตเนื่องจากการแข่งขันระหว่างต้น ให้น้ำโดยระบบสปริงเกอร์ทุก 3 วัน ในระยะ 30 วันแรก หลังจากนั้นให้ทุก 7 วัน ใช้แรงงานคนในการกำจัดวัชพืชเมื่อถั่วเหลืองอายุ 30, 60 และ 90 วัน

เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตองค์ประกอบของผลผลิต และ ผลผลิตของถั่วเหลืองในแต่ละสิ่งทดลองดังนี้

1. ความสูง วัดความสูงของต้นถั่วเหลืองที่อายุ 15, 30, 60 และ 90 วันหลังปลูก การวัดความสูงของต้นถั่วเหลืองจะวัดเป็นเซนติเมตร ตั้งแต่ผิวดินถึงข้อสุดท้ายของปลายลำต้น สุ่มวัดซ้ำละ 5 ต้น

2. น้ำหนักแห้ง เมื่อต้นถั่วเหลืองอายุได้ 15, 30, 60 และ 90 วันหลังปลูก สุ่มต้นถั่วเหลืองซ้ำละ 5 ต้น นำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 96 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง

3. องค์ประกอบของผลผลิต สุ่มต้นถั่วเหลืองที่อายุ 120 วัน ซ้ำละ 5 ต้น นำไปวัดองค์ประกอบของผลผลิตได้แก่

3.1 จำนวนกิ่งต่อต้น ตรวจนับจำนวนกิ่งของต้นถั่วเหลืองทั้งหมด (เฉพาะกิ่งแขนง) และนำไปหาค่าเฉลี่ย

3.2 จำนวนฝักต่อต้น ตรวจนับจำนวนฝักของต้นถั่วเหลืองทั้งหมดและนำไปหาค่าเฉลี่ย

3.3 จำนวนเมล็ดต่อฝัก ตรวจนับจำนวนเมล็ดของแต่ฝักทั้งหมดและนำไปหาค่าเฉลี่ย

4. ผลผลิตต่อต้น เก็บเกี่ยวผลผลิตของเมล็ดถั่วเหลืองโดยสุ่มต้นถั่วเหลืองที่อายุ 120 วัน ซ้ำละ 5 ต้น กระเทาะเมล็ดจากฝักทั้งหมดนำไปชั่งน้ำหนักหาค่าเฉลี่ย จากนั้นสุ่มเมล็ดไปหาความชื้นโดยวิธี hot-air oven method (ISTA, 1996) นำค่าเฉลี่ยน้ำหนักและความชื้นที่ได้แต่ละซ้ำมาปรับเป็นค่าน้ำหนักของผลผลิตที่ระดับความชื้น 8 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 ดำเนินการทางห้องปฏิบัติการ ณ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ส่วนการทดลองในแปลงทดลองดำเนินการ ณ ฟาร์มมหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ระยะเวลาดำเนินการเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2546 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2546 นำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)และหาค่าความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยแต่ละสิ่งทดลองโดยวิธี the Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

การทดลองที่ 3. การใช้เทคนิคการงอกของเมล็ดย้อมพัฒนารูปแบบการติดสีเพื่อประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนารูปแบบการติดสีเพื่อประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยใช้เทคนิคการงอกของเมล็ดหลังย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมเข้มข้น 0.1 % ทั้งนี้จากผลการทดลองในการทดลองที่ 1 และ 2 พบว่าความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.1 % ไม่มีพิษต่อความงอก หากย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองแล้วเมล็ดพันธุ์ยังคงมีชีวิตอยู่ สามารถงอกได้เป็นปกติ จึงย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ 0.1 % จากนั้นสำรวจรูปแบบการติดสีที่ใบเลี้ยงและแกนต้นอ่อนแต่ละเมล็ดโดยละเอียด ถ่ายภาพไว้ด้วยกล้อง stereomicroscope นำเมล็ดนั้นๆไปเพาะให้งอก เปรียบเทียบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโครงสร้างต้นอ่อนที่งอกปกติและผิดปกติกับรูปแบบการติดสีจากภาพถ่าย จะสามารถพัฒนารูปแบบการติดสีมาตรฐานเพื่อใช้ประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้อย่างแม่นยำและเป็นรูปธรรม เรียกวิธีการนี้ว่า "เทคนิคการงอกของเมล็ดย้อม (germination of tetrazolium stained seed technique)"

การทดลองนี้ใช้ระยะเวลาการทดลองประมาณ 8 เดือนตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2546 ถึงมิถุนายน 2547 โดยดำเนินการ ณ ห้องปฏิบัติการวิทยาการเมล็ดพันธุ์และห้องปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์ อาคารเทคโนโลยีการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ขั้นตอนการพัฒนารูปแบบการติดสีมาตรฐานเตตราโซเลียมในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีดังนี้

1. ตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นเพื่อหาข้อมูลของชุดตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษา
2. ศึกษาลักษณะการเสื่อมคุณภาพที่เฉพาะเจาะจง
3. ใช้เทคนิคการงอกเมล็ดย้อมพิจารณารูปแบบการติดสี มาตรฐานสำหรับแต่ละลักษณะของการเสื่อมคุณภาพเพื่อประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์
4. การสอบกลับ (verification) รูปแบบการติดสีมาตรฐานที่ได้

3.1 การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์เบื้องต้นเพื่อหาข้อมูลของชุดตัวอย่าง ในระยะเวลา 18 เดือน มีการปลูกถั่วเหลือง 3 ฤดู เพื่อจัดหาตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง โดยมีเมล็ดพันธ์ถั่วเหลืองจำนวน 7 พันธุ์ รวม 70 ชุดตัวอย่างเพื่อนำเมล็ดพันธุ์แต่ละตัวอย่างไปตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เพื่อประเมินคุณภาพเบื้องต้นด้วยวิธีการ ตรวจสอบความงอกมาตรฐาน ความงอกในแปลงปลูก ความงอกหลังผ่านการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ และตรวจสอบความมีชีวิตและความแข็งแรงด้วยวิธีเตตราโซเลียม จดบันทึกและสังเกตลักษณะผิดปกติที่เกิดขึ้นในเมล็ดแต่ละชุดตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นข้อมูลประวัติพื้นฐานของเมล็ดแต่ละชุดตัวอย่างในการวิจัยต่อไป

3.2 พิจารณาเลือกศึกษาลักษณะการเสื่อมคุณภาพที่เฉพาะเจาะจง จากการตรวจสอบคุณภาพชุดตัวอย่างในข้อ 3.1 พบชุดตัวอย่างที่มีลักษณะการเสื่อมคุณภาพที่เฉพาะเจาะจง (unique case) ที่นำมาใช้ในการพัฒนารูปแบบการติดสีและลักษณะการเสื่อมคุณภาพที่เฉพาะเจาะจง 5 แบบใหญ่ๆ ตามรายละเอียดที่จะกล่าวถึงในข้อ 10

3.3 การใช้เทคนิคการงอกของเมล็ดย้อมพัฒนารูปแบบการติดสีเตตราโซเลียม กระบวนการพัฒนารูปแบบการติดสีเตตราโซเลียมประกอบด้วย

1. การเลือกชุดตัวอย่างเมล็ดพันธุ์และเมล็ดพันธุ์ที่มีลักษณะการเสื่อมคุณภาพ ด้วยวิธีข้างต้นจากถั่วเหลือง 7 พันธุ์ 70 ตัวอย่าง

2. ย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่เข้มข้น 0.1 % แล้วประเมินคุณภาพความมีชีวิตและความแข็งแรงเบื้องต้นเก็บข้อมูลไว้

3. ถ่ายภาพเมล็ดที่ย้อมแล้วด้วยกล้อง stereomicroscope (ตามวิธีในข้อ 8)

4. นำเมล็ดที่ผ่านการย้อมไปเพาะความงอกด้วยวิธีม้วนกระดาษที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงออกเป็น 3 ระดับ คือ สูง-กลาง-ต่ำ โดยพิจารณาจากความสมบูรณ์ของต้นอ่อนที่อายุ 3 วันหลังเพาะ ซึ่งเป็นอายุที่ให้ขนาดต้นอ่อนที่เหมาะสมสำหรับการถ่ายภาพ แต่หากใช้เวลา 5 วันที่เป็น first count ของถั่วเหลือง ต้นกล้าจะยาวมากยากต่อการถ่ายภาพ โดยมีเงื่อนไขว่าการประเมินต้นอ่อนที่อายุ 3 วันจะได้ผลการประเมินเทียบเท่ากับที่ 5 วัน

5. ถ่ายภาพต้นอ่อนที่ได้ในข้อ 4 ด้วยกล้อง stereomicroscope เพื่อใช้เปรียบเทียบกับภาพเมล็ดที่ย้อมแล้วในข้อ 3 (ตามวิธีในข้อ 8)

6. นำภาพที่ได้จากข้อ 3 และข้อ 5 มาจัดกลุ่มของความแข็งแรงและความมีชีวิตโดยอาศัยขนาดความสมบูรณ์ของต้นกล้าและผลการตรวจสอบความงอกมาตรฐานและความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุและความงอกในแปลงปลูก ดำเนินการตรวจสอบวิธีเตตราโซเลียมซ้ำๆ หลายๆ ครั้ง จนเกิดทักษะและได้หลักการและดัชนีรูปแบบในการจำแนกคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เป็นเมล็ดที่มีความแข็งแรงสูง กลาง ต่ำ และ ไม่มีชีวิต ของเมล็ดที่มีการเสื่อมคุณภาพในแต่ละประเภทที่เฉพาะเจาะจงที่ระบุไว้ในข้อ 10

7. การปรับทักษะการประเมินคุณภาพที่ได้ในข้อ 6 ให้แม่นยำขึ้น เมื่อได้ทักษะการประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์แล้ว ปรับเพิ่มทักษะโดยนำชุดตัวอย่างที่ตรวจสอบความงอกมาตรฐานและความแข็งแรงล่วงหน้าแล้ว มาย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.1 % ประเมินความมีชีวิต และความแข็งแรง แล้วนำไปเพาะรวมกันในกระดาษเพาะโดยเรียงเมล็ดพันธุ์บนกระดาษเพาะแยกตามระดับความแข็งแรง หลังจากเพาะ 3 วันเปิดกระดาษเพาะเพื่อสำรวจลักษณะของต้นกล้าแต่ละต้น โดยสังเกตลักษณะการเสื่อมคุณภาพที่ปรากฏกับต้นอ่อนให้สอดคล้องกับการติดสีของเมล็ดก่อนเพาะ แล้วย้ายต้นอ่อนให้ไปอยู่ในกลุ่มที่ถูกต้องและเหมาะสม เพื่อใช้ปรับปรุงทักษะต่อไป ทำซ้ำในเมล็ดพันธุ์จำนวน 40 ชุดตัวอย่างจนได้ทักษะที่แม่นยำได้รูปแบบมาตรฐานการติดสีเตตราโซเลียมที่ถูกต้อง

8. การบันทึกภาพเมล็ดพันธุ์และต้นอ่อนของถั่วเหลืองที่ย้อมด้วยเตตราโซเลียม นำเมล็ดพันธุ์และต้นอ่อนถั่วเหลือง ที่ผ่านการตรวจสอบเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.1 % และมาบันทึกภาพโดยใช้กล้องดิจิตอลซึ่งติดกับกล้องstereomicroscope แบ่งภาพเป็นหมวดดังนี้

หมวดภาพชุด S	ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้วยังไม่ลอกเปลือกหุ้มเมล็ดออก
หมวดภาพชุด A	ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดหลังจากลอกเยื่อหุ้มเมล็ดออก
หมวดภาพชุด B	ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนอายุ 3 วัน ที่เจริญมาจากเมล็ดในภาพ A
หมวดภาพชุด C	ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B
หมวดภาพชุด D	ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของของใบเลี้ยงด้านในและแกนต้นอ่อนที่ถูกตัดตามยาวของต้นกล้าในภาพ B

9. จำแนกระดับความแข็งแรงของเมล็ด ประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยจำแนกออกเป็น 3 ระดับ คือ ความแข็งแรงสูง กลาง และต่ำ ส่วนเมล็ดที่ตายและงอกเป็นต้นอ่อนผิดปกติจำแนกไว้ในกลุ่มเมล็ดไม่งอก (ungerminable)

โดยพิจารณาจากลักษณะความสมบูรณ์ของต้นอ่อนควบคู่ไปกับมาตรฐานความแข็งแรงในการตรวจสอบด้วยวิธีเตตราโซเลียมที่กำหนดโดย A0SA (1970) คือ

(1.) ระดับความแข็งแรงสูง (high vigor) เมล็ดพันธุ์มีการติดสีสมบูรณ์หรือ มีพื้นที่ไม่ติดสีเล็กน้อยที่บริเวณส่วนปลายของใบเลี้ยงในตำแหน่งตรงข้ามกับส่วนราก การติดสีต้องสม่ำเสมอ มีความสดใส (bright) เนื้อเยื่อสดและแน่น ปลายรากต้องติดสี เนื้อเยื่อเจริญ (meristematic tissue) อาจมีสีเข้มกว่าการติดสีบริเวณใบเลี้ยง

(2.) ระดับความแข็งแรงปานกลาง (medium vigor) ใบเลี้ยงมีพื้นที่ไม่ติดสีเล็กน้อยหรือมีพื้นที่ติดสีเข้มช้ำกระจายหลายตำแหน่ง เนื้อเยื่อใบเลี้ยงแน่นโดยอาจติดสีเข้มกว่าการติดสีของเมล็ดระดับความแข็งแรงสูงเล็กน้อยและในส่วนของ embryonic axis ติดสีสม่ำเสมอ ไม่มีรอยช้ำ

(3.) ระดับความแข็งแรงต่ำ (low vigor) เมล็ดพันธุ์มีพื้นที่ไม่ติดสีกว้างแต่ไม่ใช่ตำแหน่งที่สำคัญ ปลายรากไม่ติดสีแต่ไม่ถึงส่วนของ vascular tissue (stele) ใบเลี้ยงและ embryonic axis ติดสีเข้ม เนื้อใบเลี้ยงอ่อนนุ่มไม่แน่นแข็ง

การจำแนกระดับความแข็งแรงของเมล็ดได้ผนวกแนวความคิดการจำแนกระดับความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองร่วมกับเกณฑ์ดังกล่าวข้างต้นดังนี้

(1.) embryonic axis ของเมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความแข็งแรงสูงและปานกลางต้องไม่มีสิ่งที่แสดงถึงการเสื่อมคุณภาพของเมล็ด

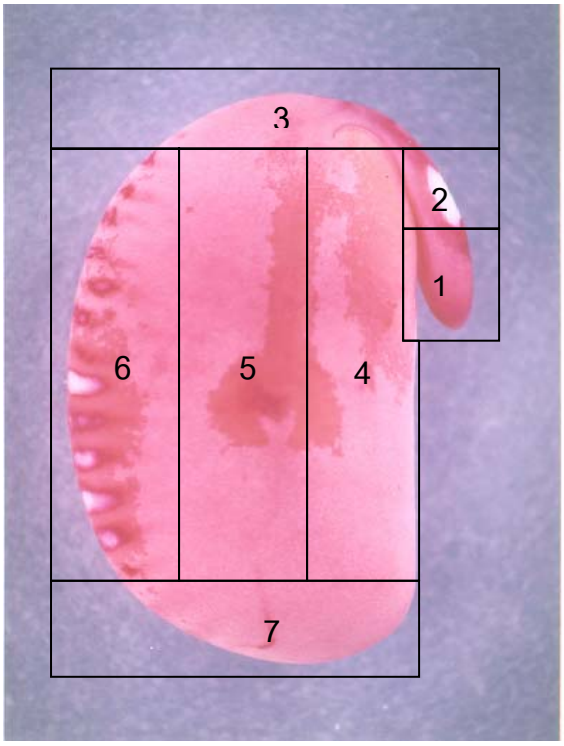
(2.) เปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่ตรวจสอบด้วยวิธีเตตราโซเลียมควรมีค่าเท่ากับผลบวกของเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงสูงและความแข็งแรงปานกลาง ทั้งนี้ควรมีค่าใกล้เคียงกับค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลงปลูก

(3.) เมล็ดที่มีความแข็งแรงต่ำเป็นเมล็ดที่ไม่สามารถงอกได้ในสภาพแปลงปลูกปกติ

10. ลักษณะการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เฉพาะเจาะจงได้แก่

(1.) ระดับความเข้มของการติดสีของใบเลี้ยง บันทึกความแตกต่างของระดับความเข้มของการติดสีของเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม โดยติดตามบันทึกภาพการพัฒนาของเมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความเข้มการติดสีที่แตกต่างกันและภาพการพัฒนาเป็นต้นอ่อน (ตามวิธีในข้อ 8) นำภาพเมล็ดที่ได้มาจำแนกกลุ่มการติดสี ซึ่งจะได้รูปแบบการพัฒนาต้นอ่อนของเมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความเข้มการติดสีสารละลายเตตราโซเลียมที่แตกต่างกัน

(2.) การเสื่อมคุณภาพแต่ละตำแหน่งของเมล็ด จำแนกรูปแบบการติดสีของเมล็ดและต้นอ่อนที่ได้จากการบันทึกภาพ (ตามวิธีในข้อ 8) โดยพิจารณาตามลักษณะการเสื่อมหรือลักษณะความผิดปกติของเมล็ดในแต่ละตำแหน่งบนโครงสร้างของเมล็ดพันธุ์ โดยการแบ่งเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองออกเป็น 7 ส่วน (ภาพที่ 2) ตามจุดวิกฤตที่มีผลต่อความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ด เพื่อให้ได้รูปแบบการพัฒนาต้นอ่อนที่มีอาการผิดปกติในแต่ละตำแหน่งบนเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง



ภาพที่ 2. ตำแหน่งของเนื้อเยื่อเมล็ดพันธุ์ที่ศึกษาการติดสีของเตตราโซเลียม

ตำแหน่งที่ 1 ปลายราก (radicle)

ตำแหน่งที่ 2 ส่วนกลางของลำต้นอ่อน (hypocotyl)

ตำแหน่งที่ 3 ส่วนบนของลำต้นอ่อน (hypocotyl) และโคนใบเลี้ยง

ตำแหน่งที่ 4 ใบเลี้ยงบริเวณด้าน hilum

ตำแหน่งที่ 5 ส่วนกลางเมล็ด

ตำแหน่งที่ 6 ใบเลี้ยงบริเวณด้าน sub-hilar

ตำแหน่งที่ 7 ส่วนปลายใบเลี้ยง

(3.) ลักษณะการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดมากกว่า 1 ตำแหน่ง จากการศึกษาคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีความผิดปกติในแต่ละส่วนของเมล็ด จะทำให้ทราบความผิดปกติในแต่ละตำแหน่ง แต่ความผิดปกติที่เกิดขึ้นบนเมล็ดมากกว่า 1 ตำแหน่ง การจำแนกเมล็ดที่มีลักษณะผิดปกติเกิดร่วมกันหลายตำแหน่ง จักทำให้ได้รูปแบบการพัฒนาต้นอ่อนที่มีอาการผิดปกติร่วมบนเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

(4.) ลักษณะการเสื่อมคุณภาพที่สังเกตได้ทางกายภาพ เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีลักษณะของการเสื่อมคุณภาพที่สังเกตได้ทางกายภาพอย่างชัดเจน ได้แก่ เมล็ดที่มีอาการเมล็ดเขียว เมล็ดบวม เมล็ดปริ เมล็ดย่น เมล็ดลีบ เมล็ดม่วง เมล็ดร้าว และ เมล็ดที่ถูกโรคแมลงทำลาย นำเมล็ดพันธุ์แต่ละชุดไปตรวจด้วยวิธีการเตตราโซเลียม บันทึกภาพลักษณะความผิดปกติที่เกิดขึ้น (ตามข้อ 8) และพัฒนารูปแบบการพัฒนาต้นอ่อนที่มีอาการผิดปกติจากลักษณะการเสื่อมของเมล็ดแบบต่างๆ

(5.) การเสื่อมคุณภาพในใบเลี้ยงและ embryonic axis ตรวจประเมินลักษณะอาการผิดปกติทางกายภาพที่เกิดขึ้นด้านในของใบเลี้ยง และ embryonic axis ที่ตัดตามยาวเพื่อให้เห็นเนื้อเยื่อภายใน จำแนกกลุ่มลักษณะอาการที่พบ จากนั้นนำไปพัฒนารูปแบบการพัฒนาต้นอ่อนที่มีอาการผิดปกติจากลักษณะอาการผิดปกติที่เกิดขึ้นด้านในของใบเลี้ยง

11. สอบกลับเกณฑ์ในการตรวจสอบเตตราโซเลียมที่พัฒนาขึ้น เมล็ดพันธุ์จำนวน 50 ชุดตัวอย่างซึ่งมีความหลากหลายของพันธุ์ถูกนำมาย้อมและประเมินผลความมีชีวิตและความแข็งแรง ตามเกณฑ์ในการตรวจสอบเตตราโซเลียมที่พัฒนาโดยใช้เทคนิคการงอกเมล็ดย้อม นอกจากนั้นเมล็ดพันธุ์นำมาตรวจประเมินความงอกมาตรฐานและการตรวจสอบความแข็งแรงตามวิธีการตรวจสอบความงอกในแปลงปลูก และการตรวจสอบความแข็งแรงโดยการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์

หาค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (correlation coefficient) และ ความแตกต่างด้วยวิธี t-test ระหว่างผลการตรวจสอบเตตราโซเลียมกับวิธีการตรวจสอบความงอกมาตรฐานและวิธีการตรวจสอบความแข็งแรง เพื่อยืนยันความแม่นยำของเกณฑ์ประเมินคุณภาพที่พัฒนาขึ้นหรือความถูกต้องของการติดสีที่พัฒนาขึ้น

บทที่ 4
ผลการศึกษา

ผลการทดลองที่ 1 การศึกษาความเป็นพิษของสารละลายเตตราโซเลียมต่อการงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

จากการทดสอบความงอกมาตรฐาน และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยวิธีวัดความยาวยอดและราก และความแข็งแรงโดยวิธีวัดการเจริญเติบโตของต้นกล้าของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และเชียงใหม่ 60 ที่มีระดับความมีชีวิต 3 ระดับ หรือย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.000-1.000 % มีผลการทดลองดังนี้

1.1 ความงอกมาตรฐาน ในการตรวจสอบความงอกมาตรฐานโดยวิธีม้วนกระดาษ พบว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.000, 0.050, 0.075, 0.100 % ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดแห้ง แต่เมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายความเข้มข้น 0.250, 0.500 และ 1.000 % มีความงอกต่ำกว่าเมล็ดแห้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบเปอร์เซ็นต์ความงอกเท่ากับ 0 ในเมล็ดที่ย้อมด้วยความเข้มข้น 0.500 และ 1.000 % (ตารางที่ 1.1) โดยพบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมกับระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์และพันธุ์ถั่วเหลือง ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 มีค่าสูงกว่าถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 แต่เมื่อพิจารณาแต่ละระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ไม่แตกต่างกับ เชียงใหม่ 60 (ตารางที่ 1.2)

1.2 ความแข็งแรงโดยวิธีวัดความยาวยอดและรากของต้นกล้า

1.2.1 ความยาวยอด เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่ย้อมด้วยสารละลายที่ความเข้มข้น 0.000, 0.050, 0.075 % มีความยาวยอดไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดแห้ง ส่วนเมล็ดย้อมด้วยความเข้มข้นสูงกว่า 0.100 % มีความยาวยอดต่ำกว่าเมล็ดแห้ง (ตารางที่ 1.3) โดยพบว่าค่าเฉลี่ยความยาวยอดถั่วเหลืองไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียม กับ ระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์และพันธุ์ถั่วเหลือง ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยความยาวยอดระหว่างถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และพันธุ์เชียงใหม่ 60 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวยอดมีความแตกต่างระหว่างระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ โดยความยาวยอด

ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความมีชีวิตปานกลาง และต่ำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีความยาวยอดน้อยกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีความมีชีวิตสูง(ตารางที่ 1.4)

ตารางที่ 1.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่มีความมีชีวิตแตกต่างกัน 3 ระดับ ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ TZ	ความงอกมาตรฐาน(%)						
	สจ.5			เชียงใหม่ 60			เฉลี่ย
	ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์			ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์			
	สูง	ปานกลาง	ต่ำ	สูง	ปานกลาง	ต่ำ	
เมล็ดแห้ง	83.33 a	73.33 a	56.00 ab	83.33 a	73.33 ab	55.33 a	70.78 ab
0.000 % TZ	85.33 a	75.33 a	58.00 a	84.00 a	75.33 a	56.67 a	72.44 a
0.050 % TZ	84.67 a	74.00 a	56.67 ab	84.00 a	73.33 ab	56.00 a	71.44 ab
0.075 % TZ	84.00 a	73.33 a	56.00 ab	82.67 a	73.33 ab	55.33 a	70.78 ab
0.100 % TZ	82.67 a	72.67 a	54.67 b	82.00 a	70.67 b	54.67 a	69.56 b
0.250 % TZ	26.00 b	20.67 b	16.00 c	24.67 b	19.33 c	14.00 b	20.11 c
0.500 % TZ	0.01 c	0.00 c	0.00 d	0.01 c	0.01 d	0.00 c	0.01 d
1.000 % TZ	0.01 c	0.01 c	0.01 d	0.00 c	0.01 d	0.01 c	0.01 d
เฉลี่ย	55.75	48.67	37.17	55.09	48.17	36.50	46.90
C.V. (%) = 3.89							

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 1.2 ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ของค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานของเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์	ความงอกมาตรฐาน(%)			
	สจ.5	เชียงใหม่ 60	เฉลี่ย	ความแตกต่างของพันธุ์
สูง	55.75 a	55.09 a	55.42 a	0.66 ns
ปานกลาง	48.67 b	48.17 b	48.42 b	0.50 ns
ต่ำ	37.17 c	36.50 c	36.84 c	0.67 ns
เฉลี่ย	47.20	46.59	46.89	0.61 *
LSD(5%)	- - - - - - - - - 1.05 - - - - - - - - -			0.61
C.V. (%) = 3.89				

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 1.3 ความยาวยอดของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่มีความมีชีวิตแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ TZ	ความยาวยอด (ซม.)						
	สจ.5			เชียงใหม่ 60			เฉลี่ย
	ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์			ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์			
	สูง	ปานกลาง	ต่ำ	สูง	ปานกลาง	ต่ำ	
เมล็ดแห้ง	15.93 a	15.60 a	15.33 a	15.93 a	15.53 a	15.40 a	15.62 b
0.000 % TZ	16.87 a	16.33 a	16.23 a	16.70 a	16.33 a	16.07 a	16.42 a
0.050 % TZ	16.33 a	16.00 a	15.80 a	16.27 a	16.00 a	15.73 a	16.02 ab
0.075 % TZ	16.00 a	15.53 a	15.47 a	15.93 a	15.53 a	15.47 a	15.66 b
0.100 % TZ	13.70 b	13.00 b	12.37 b	13.63 b	13.07 b	12.53 b	13.05 c
0.250 % TZ	8.63 c	8.20 c	8.07 c	8.40 c	8.07 c	7.83 c	8.20 d
0.500 % TZ	4.83 d	4.37 d	4.07 d	4.67 d	4.47 d	4.00 d	4.40 e
1.000 % TZ	4.40 d	4.03 d	3.80 d	4.27 d	3.83 d	3.80 d	4.02 e
เฉลี่ย	12.09	11.63	11.39	11.98	11.60	11.35	11.67
C.V. (%) = 5.01							

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 1.4 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์และพันธุ์ถั่วเหลืองของความยาวยอดเฉลี่ยที่งอกจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์	ความยาวยอด (ซม.)			
	สจ.5	เชียงใหม่ 60	เฉลี่ย	ความแตกต่างของพันธุ์
สูง	12.09 a	11.98 a	12.03 a	0.11 ns
ปานกลาง	11.63 b	11.60 b	11.62 b	0.03 ns
ต่ำ	11.39 b	11.35 b	11.37 b	0.04 ns
เฉลี่ย	11.70	11.64	11.67	0.06 ns
LSD (5%)	- - - - - - - - - 0.36 - - - - - - - - - -			0.25
C.V. (%) = 5.01				

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

1.2.2 ความยาวราก จากการตรวจสอบความยาวรากของต้นกล้าถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 พบว่าเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยด้วยน้ำกลั่น (0.000 %TZ) มีรากยาวที่สุด ตามด้วยเมล็ดแห้ง ส่วนเมล็ดที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมในระดับต่างๆ มีความยาวรากลดลั่นลงมาและมีความแตกต่างกันทางสถิติแยกเป็นกลุ่มได้ดังนี้

1. TZ 0.050 %
2. TZ 0.075 และ 0.100 %
3. TZ 0.250, 0.500 และ 1.000 %

โดยความยาวรากในกลุ่มเดียวกันไม่ต่างกันทางสถิติ เมล็ดแห้งและเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยด้วยน้ำกลั่น (0.000 %TZ) มีค่าความยาวรากสูงกว่าเมล็ดที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมทุกระดับความเข้มข้น โดยสามารถสังเกต พบอาการหดสั้นลงของ primary root ในกลุ่มของเมล็ดที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม (ตารางที่ 1.5) โดยพบว่าค่าเฉลี่ยความยาวรากถั่วเหลืองไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียม กับ ระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์และพันธุ์ถั่วเหลือง ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยความยาวรากระหว่างถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และพันธุ์เชียงใหม่ 60 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้พบว่าค่าเฉลี่ยความยาวรากมีความแตกต่างระหว่างระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ โดยความยาวรากเฉลี่ยจะมีค่าลดลงเมื่อความมีชีวิตมีค่าต่ำลง (ตารางที่ 1.6)

ตารางที่ 1.5 ความยาวรากของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่มีความมีชีวิตแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ TZ	ความยาวราก (ซม.)						
	สจ.5			เชียงใหม่ 60			เฉลี่ย
	ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์			ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์			
	สูง	ปานกลาง	ต่ำ	สูง	ปานกลาง	ต่ำ	
เมล็ดแห้ง	11.03 b	10.40 b	9.87 b	11.00 b	10.20 b	9.93 b	10.41 b
0.000 % TZ	11.90 a	11.53 a	11.70 a	12.00 a	11.73 a	11.10 a	11.66 a
0.050 % TZ	9.60 c	9.23 c	8.70 c	9.50 c	8.97 c	8.87 c	9.14 c
0.075 % TZ	5.10 d	5.13 d	5.03 d	5.57 d	5.20 d	5.10 d	5.19 d
0.100 % TZ	4.93 d	4.90 d	4.70 d	5.30 d	4.87 d	4.87 d	4.93 d
0.250 % TZ	1.07 e	1.03 e	0.83 e	1.03 e	0.83 e	0.73 e	0.92 e
0.500 % TZ	0.83 e	0.77 e	0.73 e	0.90 e	0.73 e	0.77 e	0.79 e
1.000 % TZ	0.83 e	0.77 e	0.77 e	0.77 e	0.73 e	0.73 e	0.77 e
เฉลี่ย	5.66	5.47	5.29	5.76	5.41	5.26	5.48
C.V. (%) = 7.74							

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 1.6 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์และพันธุ์ถั่วเหลืองของความยาวรากเฉลี่ยที่งอกจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์	ความยาวราก (ซม.)			
	สจ.5	เชียงใหม่ 60	เฉลี่ย	ความแตกต่างของพันธุ์
สูง	5.66 a	5.76 a	5.71 a	0.10 ns
ปานกลาง	5.47 ab	5.41 b	5.44 b	0.06 ns
ต่ำ	5.29 b	5.26 b	5.28 b	0.03 ns
เฉลี่ย	5.48	5.48	5.48	-0.00 ns
LSD (5%)	- - - - - - - - - 0.250 - - - - - - - - - -			0.177
C.V. (%) = 7.74				

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

1.3 ความแข็งแรงที่ตรวจวัดด้วยวิธีวัดการเจริญเติบโตของต้นกล้า

เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และเชียงใหม่ 60 ที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้น 0.000, 0.050, 0.075 % มีน้ำหนักแห้งของต้นกล้าไม่แตกต่างทางสถิติจากเมล็ดแห้ง แต่มีแนวโน้มว่าน้ำหนักแห้งของต้นกล้าจะลดลงตามระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่สูงขึ้น ส่วนเมล็ดพันธุ์ที่ผ่านการย้อมที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า 0.100 % มีน้ำหนักแห้งต้นกล้าต่ำกว่าเมล็ดแห้ง อย่างไรก็ตามเมล็ดพันธุ์ที่แช่น้ำกลั่น (0.000 %TZ) มีน้ำหนักแห้งสูงสุด (ตารางที่ 1.7) โดยที่ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียม กับ ระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์และพันธุ์ถั่วเหลือง ทั้งนี้ค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต้นกล้าระหว่างถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และพันธุ์เชียงใหม่ 60 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของต้นกล้ามีความแตกต่างระหว่างระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ โดยน้ำหนักแห้งเฉลี่ยจะมีค่าลดลงเมื่อความมีชีวิตมีค่าต่ำลง (ตารางที่ 1.8)

ตารางที่ 1.7 น้ำหนักแห้งต้นกล้าของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และเชียงใหม่ 60 ที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่มีความมีชีวิตแตกต่างกัน 3 ระดับ ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ TZ	น้ำหนักแห้งต้นกล้า (กรัม)						
	สจ.5			เชียงใหม่ 60			เฉลี่ย
	ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์			ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์			
	สูง	ปานกลาง	ต่ำ	สูง	ปานกลาง	ต่ำ	
เมล็ดแห้ง	0.0503 b	0.0450 b	0.0430 b	0.0503 b	0.0443 b	0.0433 b	0.0461 b
0.000 % TZ	0.0713 a	0.0687 a	0.0670 a	0.0717 a	0.0687 a	0.0667 a	0.0690 a
0.050 % TZ	0.0497 b	0.0450 b	0.0427 b	0.0483 bc	0.0443 b	0.0437 b	0.0456 b
0.075 % TZ	0.0483 bc	0.0427 b	0.0410 bc	0.0473 bc	0.0417 b	0.0413 bc	0.0437 bc
0.100 % TZ	0.0457 bc	0.0403 b	0.0387 bc	0.0450 bc	0.0407 b	0.0387 bc	0.0415 cd
0.250 % TZ	0.0433 c	0.0393 b	0.0353 c	0.0433 c	0.0397 b	0.0357 c	0.0394 d
0.500 % TZ	0.0280 d	0.0237 c	0.0220 d	0.0260 d	0.0217 c	0.0210 d	0.0237 e
1.000 % TZ	0.0203 e	0.0177 d	0.0143 e	0.0217 d	0.0187 c	0.0157 d	0.0181 f
เฉลี่ย	0.0446	0.0403	0.0380	0.0442	0.0400	0.0383	0.0409
C.V. (%) = 12.46							

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 1.8 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์และพันธุ์ถั่วเหลืองของน้ำหนักแห้งต้นกล้าเฉลี่ยที่เจริญจากของเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

ระดับความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์	น้ำหนักแห้งต้นกล้า (กรัม)			
	สจ.5	เชียงใหม่ 60	เฉลี่ย	ความแตกต่างของพันธุ์
สูง	0.0446 a	0.0442 a	0.0444 a	0.0004 ns
ปานกลาง	0.0403 b	0.0400 b	0.0401 b	0.0003 ns
ต่ำ	0.0380 c	0.0383 b	0.0381 c	-0.0003 ns
เฉลี่ย	0.0410	0.0408	0.0409	0.0002 ns
LSD (5%)	- - - - - - - - - 0.0019 - - - - - - - -			0.0014
C.V. (%) = 12.46				

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ผลการทดลองที่ 2 การศึกษาอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลือง

จากการทดลองเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และเชียงใหม่ 60 ที่ปลูกจากเมล็ดแห้งปกติและเมล็ดที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมความเข้มข้นต่างๆ กัน มีผลการทดลองดังนี้

2.1 ความสูงของต้นถั่วเหลือง

เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมความเข้มข้น 0.00, 0.05 และ 0.10 % มีความสูงของถั่วเหลืองที่อายุ 15, 30, 60 และ 90 วันหลังปลูกไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดแห้ง (ตารางที่ 2.1, 2.2 และ 2.3) ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความมีชีวิตและพันธุ์ของถั่วเหลือง แต่ระดับความมีชีวิตของเมล็ดมีผลต่อความสูงของถั่วเหลืองโดยต้นถั่วเหลืองที่เติบโตมาจากเมล็ดที่มีระดับความมีชีวิตสูงจะมีความสูงของลำต้นมากกว่าต้นที่มาจากเมล็ดที่มีระดับความมีชีวิตต่ำกว่า ทั้งนี้ความสูงของต้นถั่วเหลืองของเมล็ดพันธุ์แต่ละระดับความมีชีวิตไม่พบความแตกต่างทางสถิติหลังจากปลูก 90 วัน โดยพบว่าต้นถั่วเหลืองสามารถเจริญทันกัน (ตารางที่ 2.4) นอกจากนี้ค่าเฉลี่ยความสูงถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 เท่ากับ 11.2 และ 30.6 เซนติเมตร เมื่ออายุ 15 และ 30 วันตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าความสูงเฉลี่ยถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่มีความสูงอยู่ที่ 9.4 และ 20.3 เซนติเมตรตามลำดับ ส่วนที่อายุ 60 และ 90 วัน ค่าเฉลี่ยความสูงถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 เท่ากับ 48.2 และ 53.26 เซนติเมตรตามลำดับ และถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่มีความสูงอยู่ที่ 47.5 และ 53.5 เซนติเมตรตามลำดับ ซึ่งความสูงเฉลี่ยทั้ง 2 พันธุ์ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 2.5) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียม 0.10 และ 0.05 %ไม่มีผลต่อการเจริญด้านความสูงของต้นถั่วเหลือง ทั้งนี้ความสูงของต้นถั่วเหลืองที่แตกต่างเป็นผลเนื่องมาจากระดับความมีชีวิตของเมล็ดและพันธุ์ของถั่วเหลือง ซึ่งเมื่อต้นถั่วเหลืองเจริญเติบโตได้ระยะหนึ่งความสูงของต้นถั่วเหลืองจะไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 2.1 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อความสูงของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5

ระดับความมีชีวิต	ความเข้มข้นของ TZ	ความสูง (ซม.)			
		15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
สูง	เมล็ดแห้ง	12.2	31.8	49.2	52.1
	0.00% TZ	13.4	33.4	49.5	56.4
	0.05% TZ	12.5	33.4	51.7	53.9
	0.10% TZ	12.0	31.1	46.1	50.9
	เฉลี่ย	12.5	32.4	49.1	53.3
	F-test	ns	ns	ns	ns
ปานกลาง	เมล็ดแห้ง	11.5	32.2	49.4	56.9
	0.00% TZ	11.2	31.3	50.1	54.3
	0.05% TZ	10.0	32.3	50.9	56.2
	0.10% TZ	10.2	29.3	48.9	52.1
	เฉลี่ย	10.7	31.3	49.8	54.9
	F-test	ns	ns	ns	ns
ต่ำ	เมล็ดแห้ง	11.0	28.9	46.8	51.3
	0.00% TZ	10.4	29.3	47.3	54.7
	0.05% TZ	10.0	26.3	43.1	49.3
	0.10% TZ	10.0	27.2	44.9	51.0
	เฉลี่ย	10.4	27.9	45.5	51.6
	F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)		7.87	13.10	12.55	10.35

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.2 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อความสูงของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60

ระดับความมีชีวิต	ความเข้มข้นของ TZ	ความสูง (ซม.)			
		15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
สูง	เมล็ดแห้ง	11.0	24.3	50.2	55.3
	0.00% TZ	10.8	25.1	54.1	57.4
	0.05% TZ	10.8	21.1	52.4	58.1
	0.10% TZ	10.5	20.2	50.3	55.4
	เฉลี่ย	10.8	22.7	51.8	56.6
	F-test	ns	ns	ns	ns
ปานกลาง	เมล็ดแห้ง	8.9	19.1	44.3	53.1
	0.00% TZ	9.1	19.4	44.8	54.5
	0.05% TZ	9.0	18.3	45.7	51.6
	0.10% TZ	8.7	18.6	41.5	47.1
	เฉลี่ย	8.9	18.9	44.1	51.6
	F-test	ns	ns	ns	ns
ต่ำ	เมล็ดแห้ง	8.5	18.7	47.8	52.5
	0.00% TZ	8.7	20.3	48.1	56.4
	0.05% TZ	8.6	19.8	47.3	49.8
	0.10% TZ	8.7	18.5	43.1	50.4
	เฉลี่ย	8.6	19.3	46.6	52.3
	F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)		7.87	13.10	12.55	10.35

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.3 อิทธิพลระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมที่มีต่อความสูงของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่อายุต่างๆ กัน

ความเข้มข้นของ TZ	ความสูง (ซม.)							
	สจ.5				เชียงใหม่ 60			
	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
เมล็ดแห้ง	11.6 a	31.0 a	48.5 a	53.4 a	9.5 a	20.7 a	47.4 a	53.7 a
0.00% TZ	11.6 a	31.3 a	49.0 a	55.1 a	9.5 a	21.6 a	49.0 a	56.1 a
0.05% TZ	10.8 a	31.0 a	48.6 a	53.2 a	9.3 a	19.7 a	48.5 a	53.2 a
0.10% TZ	10.7 a	29.2 a	46.6 a	51.3 a	9.3 a	19.1 a	45.0 a	51.0 a
เฉลี่ย	11.2	30.6	48.2	53.3	9.4	20.3	47.5	53.5
C.V. (%)	7.87	13.10	12.55	10.35	7.87	13.10	12.55	10.35

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.4 ความสัมพันธ์ของระดับความมีชีวิตที่มีต่อความสูงที่อายุต่างๆ กันของถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์ที่เจริญจากเมล็ดที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม

ระดับความมีชีวิต	ความสูง (ซม.)			
	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
สูง	11.6 a	27.7 a	50.4 a	55.0 a
ปานกลาง	9.8 b	25.1 b	47.0 ab	53.2 a
ต่ำ	9.5 b	23.6 b	46.1 b	51.9 a
เฉลี่ย	10.3	25.5	47.8	53.4
C.V. (%)	7.87	13.10	12.55	10.35

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.5 ความสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์และความสูงที่อายุต่างๆ กันของต้นถั่วเหลืองที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม

พันธุ์	ความสูง (ซม.)			
	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
สจ.5	11.2 a	30.6 a	48.2 a	53.3 a
เชียงใหม่ 60	9.4 b	20.3 b	47.5 a	53.5 a
เฉลี่ย	10.3	25.5	47.8	53.4
C.V. (%)	7.87	13.10	12.55	10.35

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

2.2 น้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลือง

เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมระดับความเข้มข้น 0.00, 0.05 และ 0.10 % มีน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองที่อายุ 15, 30, 60 และ 90 วันหลังปลูกไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดแห้งปกติ (ตารางที่ 2.6, 2.7 และ 2.8) ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความมีชีวิตและพันธุ์ของถั่วเหลือง แต่ระดับความมีชีวิตของเมล็ดมีผลต่อน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองโดยต้นถั่วเหลืองที่มาจากเมล็ดที่มีระดับความมีชีวิตสูงจะมีน้ำหนักแห้งมากกว่าต้นที่มาจากเมล็ดที่มีระดับความมีชีวิตต่ำกว่า ทั้งนี้น้ำหนักแห้งต้นถั่วเหลืองหลังจากปลูก 90 วันของเมล็ดพันธุ์แต่ละระดับความมีชีวิตไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยต้นถั่วเหลืองสามารถเจริญทันกัน (ตารางที่ 2.9) นอกจากนี้พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 เท่ากับ 0.4, 6.1, 59.5 และ 208.4 กรัม เมื่ออายุ 15, 30, 60 และ 90 วันตามลำดับ ซึ่งพิจารณาโดยรวมสูงกว่าน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของต้นถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ยอยู่ที่ 0.3, 3.1, 61.2 และ 153.3 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2.10) จากผลการทดลองแสดงว่าความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่มีความเข้มข้น 0.1 %และต่ำกว่าไม่มีผลเสียต่อการสะสมน้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลือง เนื่องจากน้ำหนักแห้งของต้นถั่วเหลืองที่แตกต่างกันนั้นเป็นผลเนื่องมาจากระดับความมีชีวิตของเมล็ดและพันธุ์ของถั่วเหลือง

ตารางที่ 2.6 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ที่อายุต่างๆ กัน

ระดับความมีชีวิต	ความเข้มข้นของ TZ	น้ำหนักแห้งต่อต้น (กรัม)			
		15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
สูง	เมล็ดแห้ง	0.5	7.6	60.8 a	207.4
	0.00% TZ	0.4	8.0	57.1 a	211.9
	0.05% TZ	0.5	7.7	89.1 a	213.6
	0.10% TZ	0.4	6.1	78.0 a	205.9
	เฉลี่ย	0.5	7.4	71.3	209.7
	F-test	ns	ns	ns	ns
ปานกลาง	เมล็ดแห้ง	0.4	6.5	62.2	209.0
	0.00% TZ	0.4	6.8	61.2	226.5
	0.05% TZ	0.4	6.1	54.1	200.9
	0.10% TZ	0.4	6.4	59.0	221.4
	เฉลี่ย	0.4	6.5	59.1	214.5
	F-test	ns	ns	ns	ns
ต่ำ	เมล็ดแห้ง	0.3	4.1	44.7	203.8
	0.00% TZ	0.4	4.8	56.5	216.5
	0.05% TZ	0.4	4.2	42.8	193.3
	0.10% TZ	0.3	4.8	48.8	190.4
	เฉลี่ย	0.4	4.5	48.2	201
	F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)		22.79	36.12	37.36	24.28

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.7 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60

ระดับความมีชีวิต	ความเข้มข้นของ TZ	น้ำหนักแห้งต่อต้น (กรัม)			
		15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
สูง	เมล็ดแห้ง	0.4	4.4	77.5	147.5
	0.00% TZ	0.4	4.5	71.6	199.8
	0.05% TZ	0.4	4.3	88.0	158.7
	0.10% TZ	0.3	4.0	61.6	145.5
	เฉลี่ย	0.4	4.3	74.7	162.9
	F-test	ns	ns	ns	ns
ปานกลาง	เมล็ดแห้ง	0.3	3.1	64.6	156.1
	0.00% TZ	0.2	2.2	58.2	147.3
	0.05% TZ	0.2	2.2	59.1	151.2
	0.10% TZ	0.2	2.7	54.1	120.0
	เฉลี่ย	0.2	2.6	59.0	143.7
	F-test	ns	ns	ns	ns
ต่ำ	เมล็ดแห้ง	0.3	2.9	60.8	169.1
	0.00% TZ	0.3	1.9	55.3	183.9
	0.05% TZ	0.2	2.3	35.0	133.9
	0.10% TZ	0.3	2.2	48.7	126.4
	เฉลี่ย	0.3	2.3	50.0	153.3
	F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)		22.79	36.12	37.36	24.28

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.8 ความสัมพันธ์ของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมที่มีต่อน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่อายุต่างๆ กัน

ความเข้มข้นของ TZ	น้ำหนักแห้งต่อต้น (กรัม)							
	สจ.5				เชียงใหม่ 60			
	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
เมล็ดแห้ง	0.4 a	6.1 a	55.9 a	206.7 a	0.3 a	3.4 a	67.6 a	157.6 a
0.00% TZ	0.4 a	6.6 a	58.3 a	218.3 a	0.3 a	2.9 a	61.7 a	177.0 a
0.05% TZ	0.4 a	6.0 a	62.0 a	202.6 a	0.3 a	2.9 a	60.7 a	147.9 a
0.10% TZ	0.4 a	5.7 a	61.9 a	205.9 a	0.3 a	3.0 a	54.8 a	130.6 a
เฉลี่ย	0.4	6.1	59.5	208.4	0.3	3.0	61.2	153.3
C.V. (%)	22.79	36.12	37.36	24.28	22.79	36.12	37.36	24.28

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.9 ความสัมพันธ์ของระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ ที่มีต่อน้ำหนักแห้งของถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์ที่เจริญจากเมล็ดที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม

ระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์	น้ำหนักแห้งต่อต้น (กรัม)			
	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
สูง	0.4 a	5.8 a	73.0 a	186.3 a
ปานกลาง	0.3 b	4.5 b	59.1 b	179.1 a
ต่ำ	0.3 b	3.4 c	49.1 b	177.1 a
เฉลี่ย	0.3	4.6	60.4	180.8
C.V. (%)	22.79	36.12	37.36	24.28

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.10 ความสัมพันธ์ของพันธุ์ ถั่วเหลืองที่มีต่อน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของถั่วเหลืองที่อายุต่างๆ กันที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม

พันธุ์	น้ำหนักแห้งต่อต้น (กรัม)			
	15 วัน	30 วัน	60 วัน	90 วัน
สจ.5	0.4 a	6.1 a	59.5 a	208.4 a
เชียงใหม่ 60	0.3 b	3.1 b	61.2 a	153.3 b
เฉลี่ย	0.3	4.6	60.4	180.8
C.V. (%)	22.79	36.12	37.36	24.28

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

2.3 ผลผลิตของถั่วเหลือง

เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60 ที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมระดับความเข้มข้น 0.00, 0.05 และ 0.10 % มีผลผลิต จำนวนแขนงต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และ น้ำหนักเมล็ดต่อต้น ไม่แตกต่างทางสถิติกับเมล็ดแห้งปกติ (ตารางที่ 2.11, 2.12 และ 2.13) ทั้งนี้ระดับความมีชีวิตของเมล็ดถั่วเหลืองมีผลต่อจำนวนฝักต่อต้น แต่ไม่ส่งผลต่อจำนวนแขนงต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนักเมล็ดต่อต้น (ตารางที่ 2.14) ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ให้จำนวนแขนงต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และน้ำหนักเมล็ดต่อต้น มากกว่าพันธุ์เชียงใหม่ 60 แต่จำนวนเมล็ดต่อฝักไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 2.15) โดยสังเกตได้ว่าทุกสิ่งทดลองถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60 แตกแขนงน้อยกว่าพันธุ์ สจ.5 โดยพันธุ์เชียงใหม่ 60 มีแขนงจำนวน 5.8-8.9 แขนงต่อต้น ขณะที่พันธุ์ สจ.5 มีแขนงจำนวน 10.1-12.1 แขนงต่อต้น การที่มีแขนงจำนวนมากเนื่องจากในการทดลองนี้ใช้ระยะปลูก 1 X 1 เมตร เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ในขณะเดียวกันเมื่อปลูกห่างทำให้ต้นถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์มีจำนวนฝักต่อต้นมากผิดปกติ คือมีจำนวนฝักตั้งแต่ 162.7-381.7 ฝักต่อต้น แต่จำนวนเมล็ดต่อฝักไม่เพิ่มขึ้น คือ 2.1-2.4 เมล็ดต่อฝัก และมีน้ำหนักเมล็ดในพันธุ์ สจ.5 และ พันธุ์เชียงใหม่ 60 อยู่ในช่วง 62.7-102.0 กรัม และ 48.0-87.6 กรัม ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงว่าความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่มีความเข้มข้น 0.10 % หรือ ต่ำกว่า ไม่มีผลต่อการให้ผลผลิตของต้นถั่วเหลือง ผลผลิตของถั่วเหลืองที่แตกต่างกันเป็นผลเนื่องมาจากระดับความมีชีวิตของเมล็ดและพันธุ์ของถั่วเหลือง

ตารางที่ 2.11 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5

ระดับความมีชีวิต	ความเข้มข้นของ TZ	องค์ประกอบผลผลิต			
		กิ่งต่อต้น	ฝักต่อต้น	เมล็ดต่อฝัก	น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (กรัม)
สูง	เมล็ดแห้ง	12.1	307.4	2.2	72.0
	0.00% TZ	10.5	334.9	2.3	74.7
	0.05% TZ	10.1	381.9	2.2	102.0
	0.10% TZ	10.1	305.2	2.2	85.3
	เฉลี่ย	10.7	332.4	2.2	83.5
	F-test	ns	ns	ns	ns
ปานกลาง	เมล็ดแห้ง	10.2	283.7	2.4	79.3
	0.00% TZ	10.9	320.1	2.3	96.7
	0.05% TZ	11.4	304.5	2.2	83.3
	0.10% TZ	10.3	313.6	2.1	89.3
	เฉลี่ย	10.7	305.5	2.3	87.2
	F-test	ns	ns	ns	ns
ต่ำ	เมล็ดแห้ง	10.1	206.5	2.4	62.7
	0.00% TZ	10.7	255.4	2.4	79.3
	0.05% TZ	11.7	277.1	2.2	82.7
	0.10% TZ	10.1	265.8	2.2	65.3
	เฉลี่ย	10.7	251.2	2.3	72.5
	F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)		32.01	24.61	7.96	32.01

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.12 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมและระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60

ระดับความมีชีวิต	ความเข้มข้นของ TZ	องค์ประกอบผลผลิต			
		กิ่งต่อต้น	ฝักต่อต้น	เมล็ดต่อฝัก	น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (กรัม)
สูง	เมล็ดแห้ง	8.5	221.8	2.4	63.8
	0.00% TZ	8.9	266.0	2.4	87.6
	0.05% TZ	7.9	244.8	2.3	60.7
	0.10% TZ	8.3	256.6	2.4	67.1
	เฉลี่ย	8.4	247.3	2.4	69.8
	F-test	ns	ns	ns	ns
ปานกลาง	เมล็ดแห้ง	8.3	212.2	2.4	54.6
	0.00% TZ	8.0	223.2	2.4	57.9
	0.05% TZ	7.0	162.7	2.3	50.4
	0.10% TZ	8.3	164.9	2.4	49.2
	เฉลี่ย	7.9	190.8	2.4	53.0
	F-test	ns	ns	ns	ns
ต่ำ	เมล็ดแห้ง	7.9	188.2	2.3	61.6
	0.00% TZ	8.9	279.9	2.2	65.0
	0.05% TZ	7.9	214.6	2.3	52.3
	0.10% TZ	5.8	211.4	2.3	48.0
	เฉลี่ย	7.6	223.5	2.3	56.7
	F-test	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)		32.01	24.61	7.96	32.01

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.13 อิทธิพลของระดับความเข้มข้นสารละลายเตตราโซเลียมที่มีต่อองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ เชียงใหม่ 60

ความเข้มข้นของ TZ	องค์ประกอบผลผลิต							
	สจ.5				เชียงใหม่ 60			
	กิ่งต่อต้น	ฝักต่อต้น	เมล็ดต่อฝัก	น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (กรัม)	กิ่งต่อต้น	ฝักต่อต้น	เมล็ดต่อฝัก	น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (กรัม)
เมล็ดแห้ง	10.8 a	265.8 a	2.4 a	71.3 a	8.2 a	207.4 a	2.4 a	60.0 a
0.00% TZ	10.7 a	303.5 a	2.3 ab	83.6 a	8.6 a	256.4 a	2.3 a	70.2 a
0.05% TZ	11.1 a	321.2 a	2.2 ab	89.3 a	7.6 a	207.4 a	2.3 a	54.5 a
0.10% TZ	10.2 a	294.9 a	2.2 b	80.0 a	7.5 a	211.0 a	2.4 a	54.8 a
เฉลี่ย	10.7	296.3	2.3	81.1	8.0	220.5	2.3	59.8
C.V. (%)	32.01	24.61	7.96	32.01	32.01	24.61	7.96	32.01

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.14 ความสัมพันธ์ของระดับความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีต่อองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลืองที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม

ระดับความมีชีวิต	องค์ประกอบผลผลิต			
	กิ่งต่อต้น	ฝักต่อต้น	เมล็ดต่อฝัก	น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (กรัม)
สูง	9.6 a	289.8 a	2.3 a	76.6 a
ปานกลาง	9.3 a	248.1 b	2.5 a	70.1 a
ต่ำ	9.2 a	237.4 b	2.3 a	64.6 a
เฉลี่ย	9.3	258.4	2.3	70.5
C.V. (%)	32.01	24.61	7.96	32.01

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ตารางที่ 2.15 ความสัมพันธ์ของพันธุ์ ถั่วเหลืองที่มีต่อองค์ประกอบของผลผลิตของถั่วเหลืองที่เจริญจากเมล็ดพันธุ์ที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมระดับความเข้มข้นต่างๆ

พันธุ์	องค์ประกอบผลผลิต			
	กิ่งต่อต้น	ฝักต่อต้น	เมล็ดต่อฝัก	น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (กรัม)
สจ.5	10.7 a	296.3 a	2.3 a	81.1 a
เชียงใหม่ 60	8.0 b	220.5 b	2.3 a	59.8 b
เฉลี่ย	9.3	258.4	2.3	70.5
C.V. (%)	32.01	24.61	7.96	32.01

ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่ตามด้วยอักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % จากการทดสอบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT.

ผลการทดลองที่ 3. การใช้เทคนิคการงอกของเมล็ดย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมพัฒนารูปแบบการติดสีเพื่อประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

จากการศึกษาได้ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 7 พันธุ์ จำนวน 70 ชุดตัวอย่าง ที่มีประวัติแตกต่างกัน ซึ่งมีผลการศึกษาตามเกณฑ์ต่างๆในการพิจารณาดังนี้

1. สีและความเข้มของสีใบเลี้ยง จากการประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยใช้เมล็ดพันธุ์ชุดตัวอย่างเดิม ซ้ำหลายๆ ครั้งเรื่อยไปตามระยะการเก็บรักษาที่นานขึ้น พบว่าสีของเมล็ดหลังย้อมและใบเลี้ยงด้านนอกและด้านในเปลี่ยนไป โดยมีความสัมพันธ์กับความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดอย่างเห็นได้ชัด สีของใบเลี้ยงหลังย้อมมีตั้งแต่สีชมพูอ่อนสดใส ชมพูเข้ม ส้มแดง แดง แดงเข้ม แดงช้ำ จนถึงไม่ติดสีตามลำดับ ส่วนสีของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ มีตั้งแต่สีเขียว เขียวเข้ม เขียวเข้มขอบใบเลี้ยงมีสีแดง เหลืองส้ม ส้ม ชมพู ชมพูแดง ชมพูแดงช้ำ แดงส้มปนกับไม่ติดสี และ แดงช้ำปนซีด และสีใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ มีตั้งแต่สีเขียวอ่อน เขียวอ่อนขอบใบเลี้ยงสีแดง เขียวอ่อนขอบในเลี้ยงสีส้มแดง เขียวอ่อนแกมเหลือง เหลืองส้ม เหลืองส้มขอบใบสีชมพู ชมพู ชมพูส้มเข้ม ส้มแดง และ สีแดงซีดปนไม่ติดสี

เมื่อพิจารณาถึงสีและความเข้มของสีสามารถจัดรูปแบบการติดสีของใบเลี้ยงที่สัมพันธ์กับคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้เป็น 10 ระดับดังนี้

1.1 ระดับที่ 1 เมล็ดพันธุ์ในกลุ่มนี้มีสีเมล็ดหลังการย้อมเป็นสีชมพูอ่อนๆ สีสดใสไม่หมอง เมื่อนำไปเพาะส่วนผิวนอกของใบเลี้ยงมีสีเขียว ส่วนพื้นที่ด้านในใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน มีใบจริงสมบูรณ์ (ภาพที่ 3.1 A1, C1 และ D1) เมล็ดกลุ่มนี้จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความแข็งแรงสูง

1.2 ระดับที่ 2 เมล็ดพันธุ์หลังย้อมจะมีสีชมพูเข้มขึ้น เมื่อนำมาเพาะสีของใบเลี้ยงด้านนอกมีสีเขียวเข้มมากกว่าเมล็ดในระดับที่ 1 ด้านในของใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน บริเวณขอบใบเลี้ยงมีเนื้อเยื่อบางส่วนสีส้มแดง (ภาพที่ 3.1 A2, C2 และ D2) เมล็ดกลุ่มนี้จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความแข็งแรงสูง

1.3 ระดับที่ 3 เมล็ดพันธุ์หลังย้อมจะมีสีชมพูแดงเข้มขึ้น เมื่อนำมาเพาะใบเลี้ยงด้านนอกมีสีเขียวเข้ม และมีเนื้อเยื่อส่วนที่มีสีแดงเพิ่มมากขึ้น ด้านในของใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อนมีเนื้อเยื่อบางส่วนสีส้มแดง (ภาพที่ 3.1 A3, C3 และ D3) เมล็ดกลุ่มนี้จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความแข็งแรงสูง

1.4 ระดับที่ 4 เมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้เป็นเมล็ดที่หลังย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมมีสีส้มแดงเพิ่มมากขึ้น มีเนื้อแน่นไม่นุ่มและเมื่อนำเมล็ดไปเพาะผิวนอกของใบเลี้ยงมีสีเหลืองส้ม พื้นที่ด้านในมีสีเขียวอ่อนแกมเหลือง (ภาพที่ 3.1 A4, C4 และ D4) เมล็ดกลุ่มนี้อยู่จัดในกลุ่มที่มีความแข็งแรงปานกลาง

1.5 ระดับที่ 5 เมล็ดกลุ่มนี้เมื่อย้อมแล้วผิวเมล็ดเป็นสีส้มแดง มีเนื้อแน่นไม่นุ่ม เมื่อนำมาเพาะ ผิวนอกของใบเลี้ยงมีสีส้ม พื้นที่ด้านในใบเลี้ยงมีสีเหลืองส้ม (ภาพที่ 3.1 A5, C5 และ D5) เมล็ดกลุ่มนี้จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความแข็งแรงปานกลาง

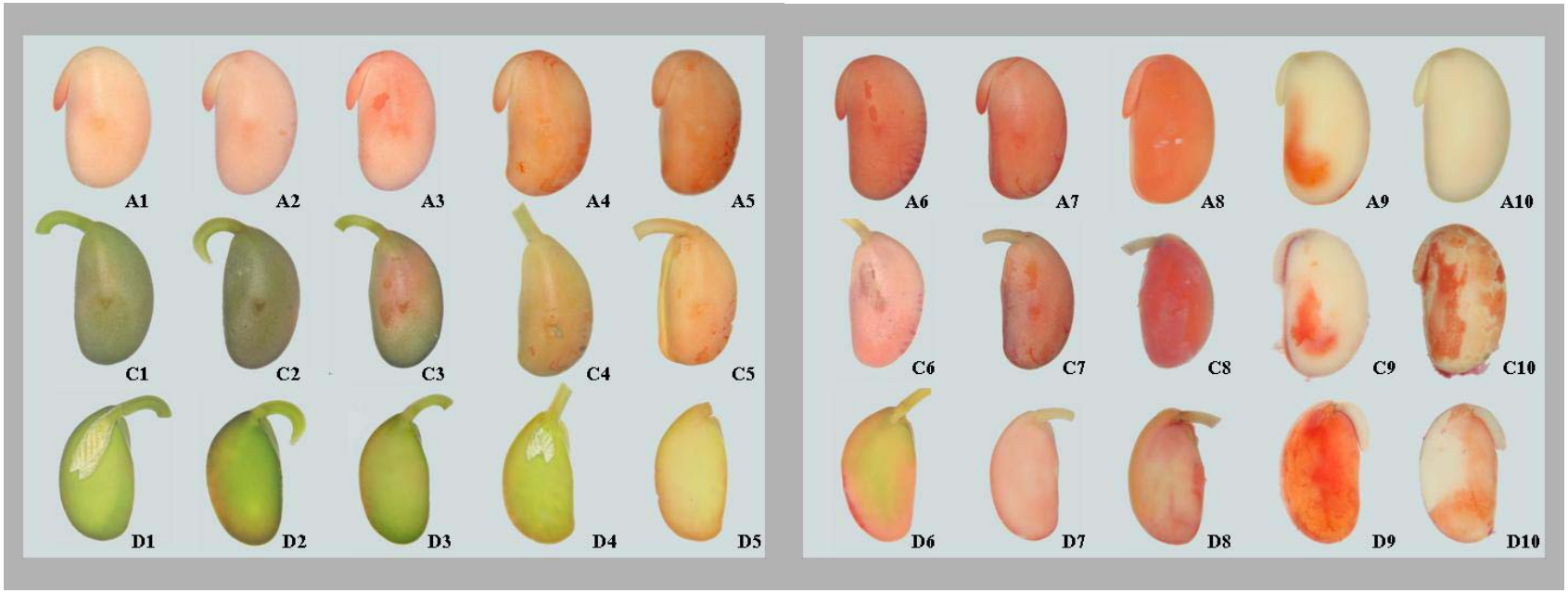
1.6 ระดับที่ 6 เมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้เป็นเมล็ดที่หลังย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมจะมีสีแดงเข้มขึ้นกว่ากลุ่มระดับที่ 5 เมื่อนำไปเพาะ ส่วนผิวนอกของใบเลี้ยงมีสีชมพู ด้านในของใบเลี้ยงมีสีเหลืองส้ม มีเนื้อเยื่อที่มีสีชมพูบริเวณขอบเมล็ดเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 3.1 A6, C6 และ D6) เมล็ดกลุ่มนี้จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความแข็งแรงต่ำ

1.7 ระดับที่ 7 เมล็ดกลุ่มนี้เป็นเมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพมากขึ้น หลังย้อมมีสีแดงเข้มเพิ่มมากขึ้น ผิวนอกของใบเลี้ยงหลังเพาะมีสีชมพูแดง โดยส่วนพื้นที่ด้านในมีสีชมพู (ภาพที่ 3.1 A7, C7 และ D7) เมล็ดกลุ่มนี้จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความแข็งแรงต่ำ

1.8 ระดับที่ 8 เมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้เมื่อได้รับปัจจัยการงอกครบถ้วนไม่สามารถงอกเป็นต้นอ่อนปกติได้ หลังย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม เมล็ดจะติดสีแดงช้ำ เมื่อนำไปเพาะผิวนอกของใบเลี้ยง มีสีชมพูแดงช้ำ ด้านในของใบเลี้ยงมีสีชมพูส้มเข้ม (ภาพที่ 3.1 A8, C8 และ D8) เมล็ดกลุ่มนี้จัดอยู่ในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต

1.9 ระดับที่ 9 เมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้จัดเป็นเมล็ดพันธุ์ที่เสื่อมคุณภาพ และ ไม่มีการงอกของต้นอ่อนจากเมล็ด(เมล็ดตาย หรือ dead seed) พบเนื้อเยื่อตายเพิ่มมากขึ้นทำให้หลังย้อมมีส่วนที่ไม่ติดสีเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงพบเมล็ดมีส่วนของสีแดงส้มและมีสีขาวหรือไม่ติดสี เมื่อนำไปเพาะผิวนอกของใบเลี้ยงหลังเพาะมีสีเช่นใกล้เคียงกับก่อนเพาะโดยมีเมือกสีแดงหุ้ม เมล็ดนิ่ม พื้นที่ด้านในมีสีส้มแดง (ภาพที่ 3.1 A9, C9 และ D9) เมล็ดกลุ่มนี้จัดอยู่ในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต

1.10 ระดับที่ 10 เมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้จัดเป็นเมล็ดที่หลังย้อมจะไม่พบส่วนที่ติดสีเลย แสดงว่าไม่มีเนื้อเยื่อที่มีชีวิตเหลืออยู่เลย เมื่อนำไปเพาะไม่มีการงอกใดๆ ใบเลี้ยงบางส่วนช้ำมีสีแดง เมล็ดนุ่ม เมล็ดเริ่มเน่าเละ ลักษณะภายในส่วนใหญ่เป็นเนื้อตายไม่ติดสี (ภาพที่ 3.1 A10, C10 และ D10) จัดเมล็ดกลุ่มนี้ไว้ในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต



ภาพที่ 3.1 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของใบเลี้ยงและต้นอ่อนถั่วเหลืองที่งอกจากเมล็ดเดียวกันและความสัมพันธ์กับคุณภาพ

(A) เมล็ดหลังย้อม

(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

2. การเสื่อมคุณภาพในตำแหน่งต่างๆ ของเมล็ด จากการแบ่งพื้นที่เมล็ดออกเป็น 7 ตำแหน่ง แล้วศึกษาลักษณะของการเสื่อมคุณภาพของเนื้อเยื่อในแต่ละตำแหน่งและรูปแบบการติดสี อธิบายผลการทดลองได้ดังนี้

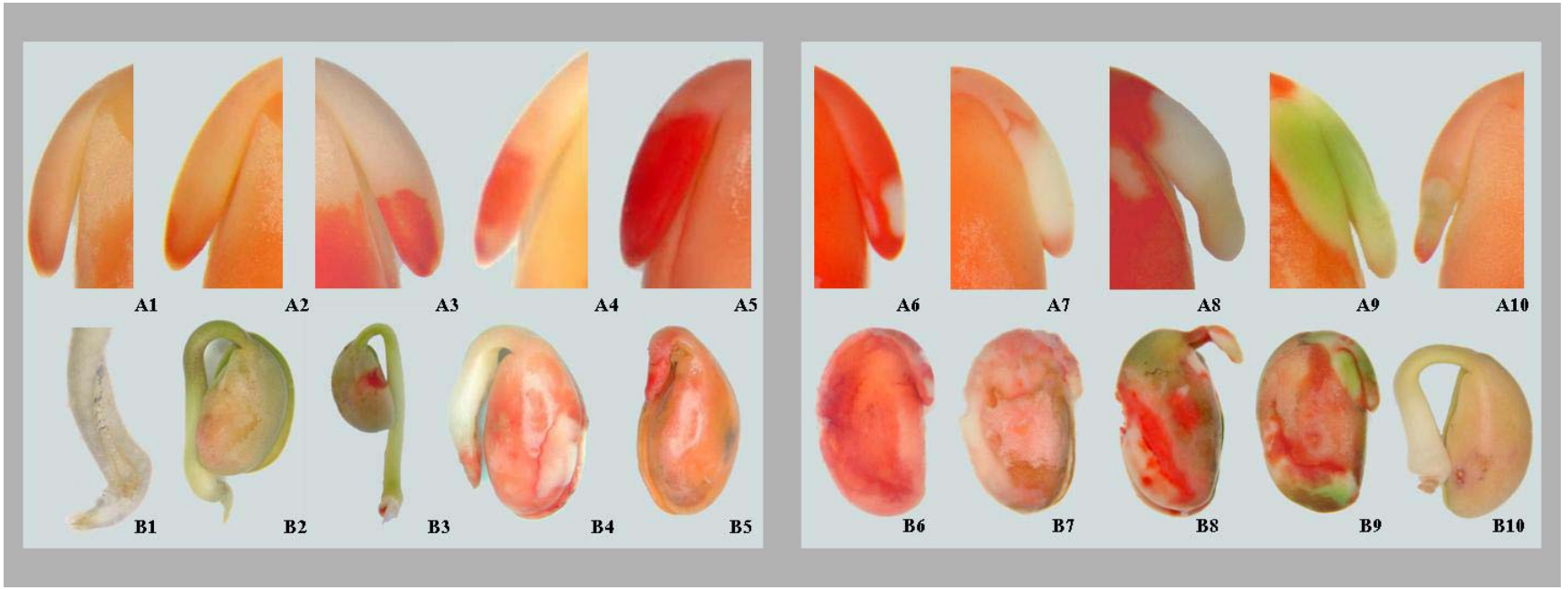
2.1 การเสื่อมคุณภาพในตำแหน่งที่ 1 ส่วนปลายราก (radicle) จากการศึกษาพบว่าตำแหน่งที่ 1 คือ ส่วนของ radicle มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนาเจริญไปเป็นต้นอ่อนของเมล็ด กล่าวคือ หากบริเวณดังกล่าวมีเนื้อเยื่อช้ำหรือตายจะส่งผลต่อการผิดปกติของต้นอ่อน สามารถสังเกตได้ว่าหากตำแหน่งที่ 1 มีรอยช้ำย่อมส่งผลทำให้เกิดอาการผิดปกติกับต้นอ่อน โดยเริ่มจากมีรอยแตกบน primary root การหดสั้นของ primary root จนกระทั่งไม่มีการเจริญเติบโตของระบบราก ตามลำดับ ซึ่งสรุปได้ว่าหากมีเนื้อเยื่อเสียหายในส่วนปลายของ radicle ย่อมส่งผลต่อความมีชีวิตของเมล็ด (ภาพที่ 3.2 A1-5 และ B1-5) ทำให้ต้นอ่อนพัฒนาเป็นต้นอ่อนผิดปกติ

นอกจากนี้ในกรณีที่เนื้อเยื่อบริเวณดังกล่าวตายหรือย้อมไม่ติดสีดังภาพที่ 3.2 (A6-8 และ B6-8) ย่อมส่งผลให้ radicle ของเมล็ดไม่สามารถพัฒนาไปเป็น primary root ทำให้เมล็ดพันธุ์เหล่านี้ไม่สามารถงอกได้ ทั้งนี้หากเนื้อเยื่อบริเวณดังกล่าวเสื่อมคุณภาพ เช่น กรณีเมล็ดเขียวดังภาพที่ 3.2 (A9 และ B9) หรือ ถูกกัดแทะจากแมลงศัตรูพืช ดังภาพที่ 3.2 (A10 และ B10) ย่อมส่งผลให้ต้นอ่อนมีปลายรากที่หดสั้นไม่พัฒนาเป็นปลายรากที่สมบูรณ์

2.2 การเสื่อมคุณภาพในตำแหน่งที่ 2 ส่วนกลางของลำต้นอ่อน (hypocotyl) ตำแหน่งที่ 2 เป็น ส่วนที่อยู่เหนือ radicle ซึ่งจะพัฒนาไปเป็นลำต้นอ่อน มีความสำคัญหากบริเวณดังกล่าวมีรอยช้ำย่อมส่งผลทำให้เกิดรอยแตกของ hypocotyl และ หากบริเวณดังกล่าวมีอาการช้ำมากขึ้นจะส่งผลต่อความมีชีวิตของเมล็ด กล่าวคือ ทำให้เมล็ดงอกเป็นต้นอ่อนผิดปกติ(ภาพที่ 3.3)

นอกจากนี้ในกรณีที่เนื้อเยื่อบริเวณดังกล่าวตายหรือย้อมไม่ติดสีดังภาพที่ 3.3 (A6-9 และ B6-9) ย่อมส่งผลต่อการพัฒนาของส่วน hypocotyl ของต้นอ่อน ทำให้เมล็ดพันธุ์เหล่านี้ไม่สามารถงอกได้ หรือ เนื้อเยื่อบริเวณดังกล่าวถูกทำลาย เช่น การถูกกัดแทะจากแมลงศัตรูพืช ดังภาพที่ 3.3 (A10 และ B10) ส่งผลให้ส่วน hypocotyl ของต้นอ่อนเกิดรอยแผล

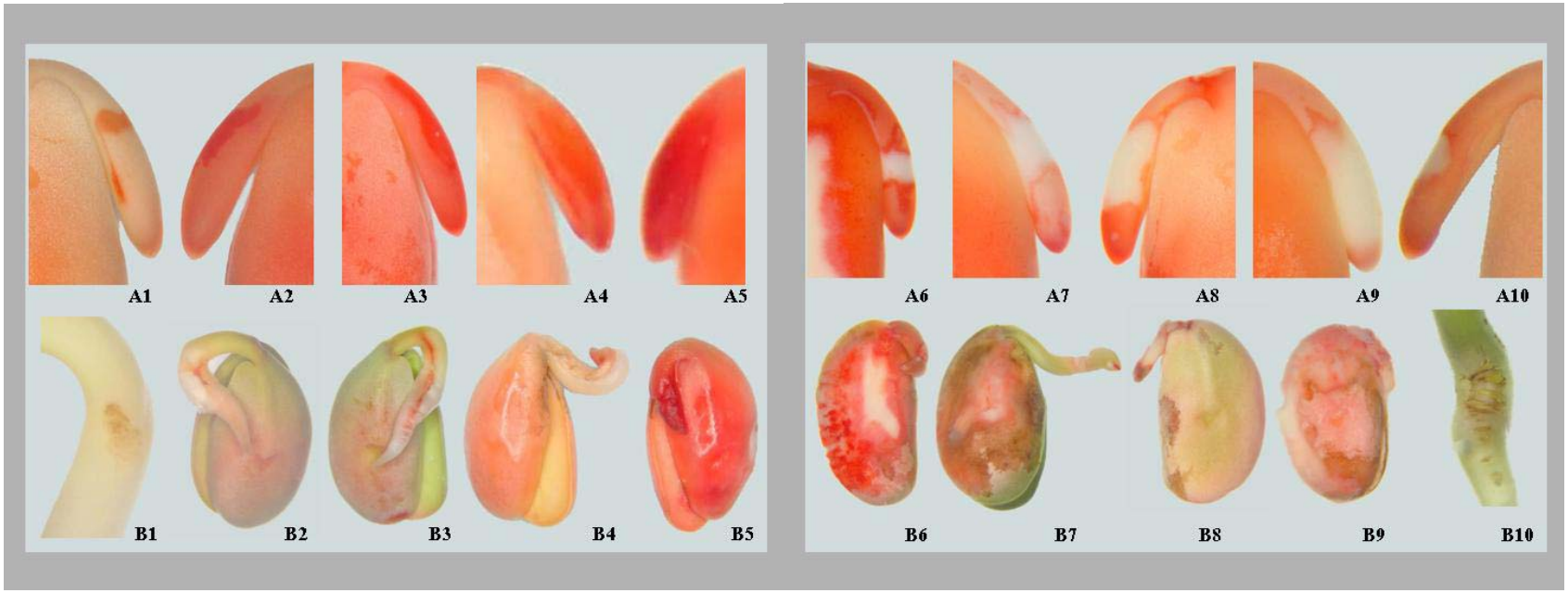
2.3 การเสื่อมคุณภาพในตำแหน่งที่ 3 ส่วนบนของลำต้นอ่อน (hypocotyl) และโคนใบเลี้ยง ตำแหน่งที่ 3 หรือ ส่วนที่อยู่รอยต่อระหว่างส่วนของใบเลี้ยงและ hypocotyl มีความสำคัญต่อการพัฒนาของต้นอ่อน เพราะเป็นบริเวณที่อาหารจากใบเลี้ยงเข้าสู่แกนต้นอ่อน (embryonic axis)



ภาพที่ 3.2 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในบริเวณตำแหน่งที่ 1 ปลายราก (radicle) และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

(A) เมล็ดหลังย้อม

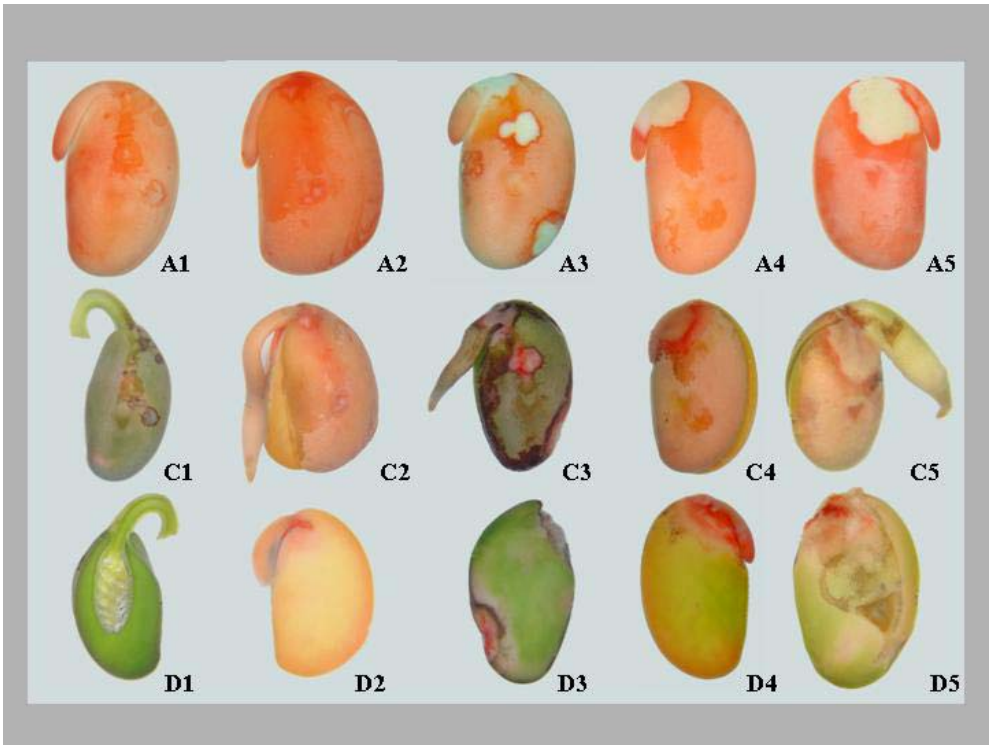
(B) ต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ



ภาพที่ 3.3 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในบริเวณตำแหน่งที่ 2 ส่วนกลางของลำต้นอ่อน (hypocotyl) และลำต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

(A) เมล็ดหลังย้อม

(B) ต้นอ่อนที่3 วันหลังเพาะเป็น



ภาพที่ 3.4 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองบริเวณตำแหน่งที่ 3 ส่วนบนของลำต้นอ่อน (hypocotyl) และส่วนบนของใบเลี้ยง (cotyledon) และ ต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

(A) เมล็ดหลังย้อม

(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

จากภาพที่ 3.4 (A1, C1 และ D1) แสดงให้เห็นรอยช้ำที่เกิดขึ้นบนตำแหน่งที่ 3 ซึ่งส่งผลให้เกิดรอยแผลเล็กๆ บนใบเลี้ยงใกล้รอยต่อกับ hypocotyl จึงไม่มีผลถึงส่วนภายในของเมล็ด ส่วนภาพที่ 3.4 (A2, C2 และ D2) เป็นรอยช้ำบริเวณกว้างในส่วนโคนของใบเลี้ยงที่รอยต่อกับ hypocotyl หากบริเวณดังกล่าวตายหรือย้อมไม่ติดสีดังภาพที่ 3.4 (A3-5, C3-5 และ D3-5) ย่อมส่งผลต่อการพัฒนาของส่วนแกนต้นอ่อน ซึ่งได้แก่ส่วนยอดอ่อน (plumule) hypocotyl และ radicle ของต้นอ่อน ใบเลี้ยงไม่สามารถส่งผ่านอาหารไปยังแกนต้นอ่อน จากเหตุดังกล่าวจึงทำให้เมล็ดงอกเป็นต้นอ่อนผิดปกติ หรือไม่สามารถงอกได้

2.4 การเสื่อมคุณภาพในตำแหน่งที่ 4 ใบเลี้ยงด้าน hilum จากการศึกษา พบว่า การเสื่อมคุณภาพในบริเวณดังกล่าว สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ส่วนที่มีความอ่อนไหวต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ต่างกัน กล่าวคือ บริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่ติดกับตำแหน่งที่ 2 และ 3 ซึ่งอยู่เหนือสุดของตำแหน่งที่ 4 (ภาพ 3.5) และบริเวณเนื้อเยื่อที่ติดกับ hilum (ภาพ 3.6)

ตำแหน่งที่ 4.1 ใบเลี้ยงด้าน hilum ส่วนบนเป็นบริเวณเนื้อเยื่อที่อยู่ติดกับตำแหน่งที่ 2 และ 3 ซึ่งอยู่เหนือตำแหน่งของ hilum เป็นตำแหน่งที่มีความสำคัญต่อการพัฒนาส่วนยอดของต้นอ่อน ภาพที่ 3.5 (A1, C1 และ D1) เป็นภาพเมล็ดที่มีอาการเสื่อมคุณภาพที่เกิดในบริเวณดังกล่าว ซึ่งส่งผลให้ต้นอ่อนเกิดรอยแผลบนใบเลี้ยงในตำแหน่งดังกล่าว แต่รอยแผลที่เกิดขึ้นไม่มีผลเสียหายต่อส่วนที่อยู่ภายในใบเลี้ยง เช่นเดียวกันกับเมล็ดในภาพที่ 3.5 (A2, C2 และ D2) ซึ่งมีรอยแผลบริเวณดังกล่าว แต่ไม่ส่งผลเสียหายต่อส่วนที่อยู่ภายในใบเลี้ยง ทั้งนี้แตกต่างจากเมล็ดในภาพที่ 3.5 (A3, C3 และ D3) แม้รอยแผลจะมีขนาดไม่แตกต่างกัน แต่รอยแผลที่เกิดขึ้นกับต้นอ่อนมีผลเสียหายต่อส่วนที่อยู่ภายในใบเลี้ยง โดยเฉพาะการพัฒนาส่วนยอดของต้นอ่อน ทั้งนี้เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ทั้ง 2 มีความแข็งแรงที่แตกต่างกัน โดยที่เมล็ดในภาพที่ 3.5 (A2 และ A3) มีสีใบเลี้ยงต่างกัน ใบเลี้ยงของภาพ A2 มีสีที่มีลักษณะความแข็งแรงสูงกว่าใบเลี้ยงภาพ A3 ความเสียหายของต้นอ่อนในภาพ A2 จึงมีน้อยกว่าต้นอ่อนในภาพที่ A3 สำหรับภาพที่ 3.5 (A4-5, C4-5 และ D4-5) เนื้อตายในตำแหน่งที่ 4.1 มีขนาดใหญ่ขึ้นตามลำดับ ก็จะเห็นว่าเกิดความเสียหายแก่ใบเลี้ยงของต้นอ่อนมากขึ้นตามลำดับ จึงสรุปได้ว่าตำแหน่งที่ 4.1มีความสำคัญที่มีผลต่อการพัฒนาของส่วนยอด (plumule) และ hypocotyl อย่างเด่นชัด ทั้งนี้ขึ้นกับความแข็งแรงของเมล็ด ขนาดของเนื้อเยื่อที่เสื่อมคุณภาพในตำแหน่งดังกล่าว

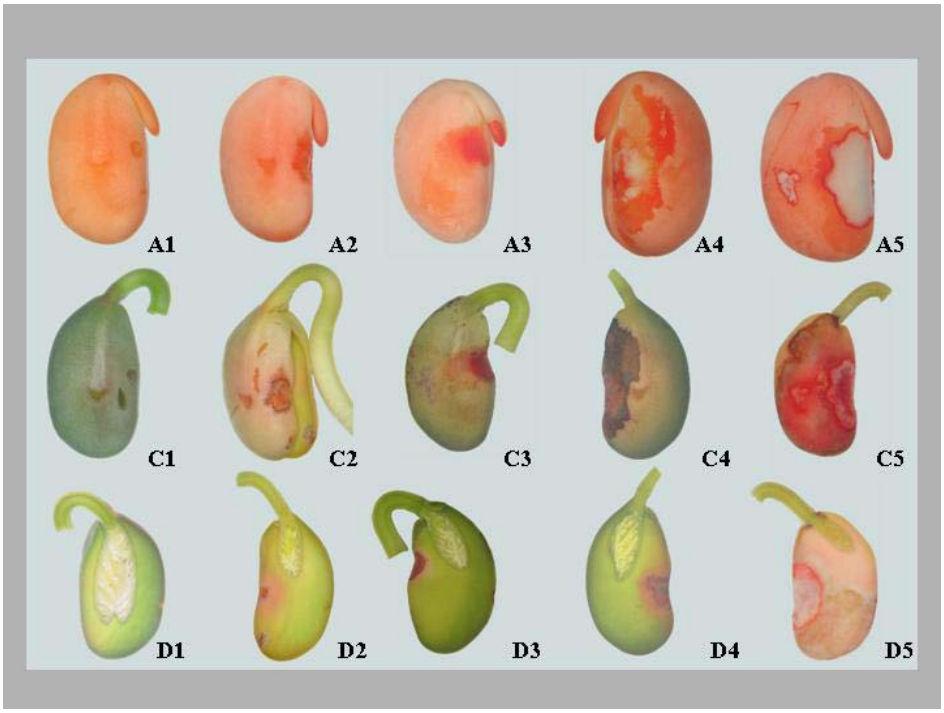
ตำแหน่งที่ 4.2 ใบเลี้ยงด้าน hilum ส่วนที่อยู่ติดกับ hilum เป็นตำแหน่งที่มีความสำคัญน้อยกว่าส่วนที่อยู่ด้านบน (ตำแหน่งที่ 4.1) ภาพที่ 3.6 (A1, C1 และ D1) เป็นภาพเมล็ดที่มีรอยช้ำในบริเวณดังกล่าว ความเสียหายที่เกิดขึ้นเป็นเพียงรอยแผลขนาดเล็กที่ส่วนนอกของใบเลี้ยง ไม่มีผลถึงส่วนภายในใบเลี้ยง บริเวณดังกล่าวมีรอยแผลที่มีความเสียหายที่เกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อทั้งภายนอกและภายในของใบเลี้ยงดังภาพที่ 3.6 (A2-5, C2-5 และ D2-5) กรณีนี้พบว่า มีผลต่อปริมาณอาหารที่สะสมในเมล็ดเพื่อใช้ในการพัฒนาของต้นอ่อน แต่ไม่ทำให้เกิดความเสียหายในระดับที่ทำให้เกิดเป็นต้นอ่อนผิดปกติ

ภาพที่ 3.5 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองบริเวณตำแหน่งที่ 4.1 ใบเลี้ยงด้าน hilum ส่วนบน และ ต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

(A) เมล็ดหลังย้อม

(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ



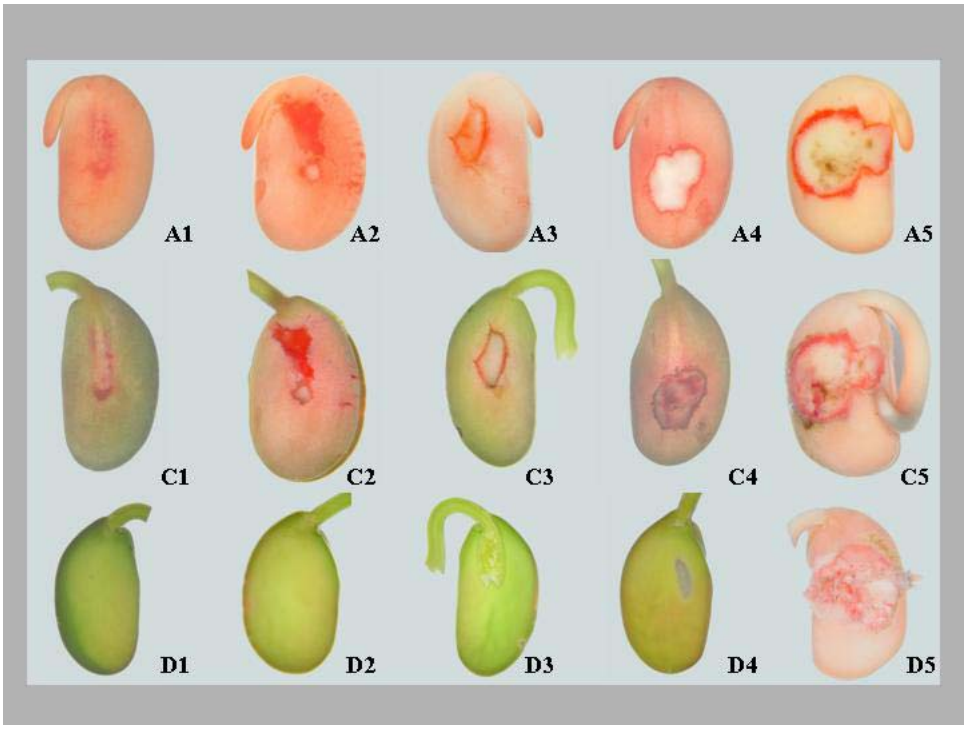
ภาพที่ 3.6 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองบริเวณตำแหน่งที่ 4.2 ใบเลี้ยงด้าน hilum ส่วนที่อยู่ติดกับ hilum และ ต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

(A) เมล็ดหลังย้อม

(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

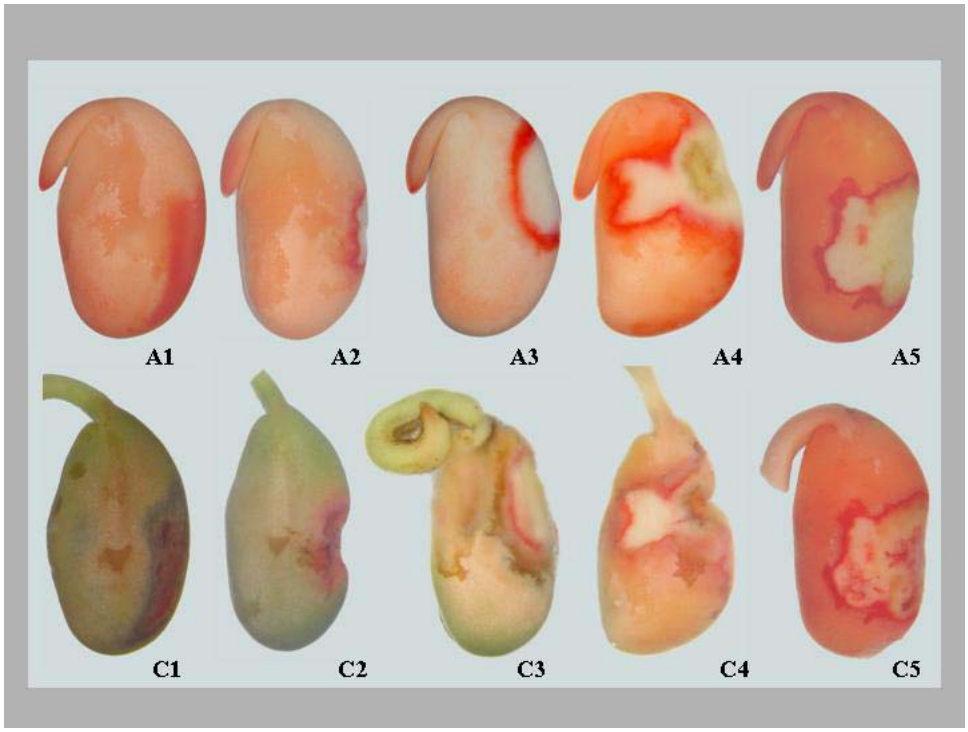
(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

2.5 การเสื่อมคุณภาพในตำแหน่งที่ 5 ส่วนกลางใบเลี้ยง ตำแหน่งที่ 5 หรือ บริเวณกลางใบเลี้ยง เป็นบริเวณที่พบความเสียหายที่เกิดขึ้นเป็นรอยช้ำ (ภาพที่ 3.7 A1-2, C1-2 และ D1-2) หรือเนื้อตาย (ภาพที่ 3.7 A3-5, C3-5 และ D3-5) มีความสำคัญต่อต้นอ่อน ยกเว้นเมล็ดที่มีบาดแผลใหญ่ในบริเวณดังกล่าวจนทำให้เกิดความเสียหาย ทั้งภายนอกและภายในของส่วนใบเลี้ยงของต้นอ่อน ปริมาณอาหารสะสมลดลงทำให้พัฒนาเป็นต้นอ่อนผิดปกติได้ (ภาพที่ 3.7 A4-5, C4-5 และ D4-5)



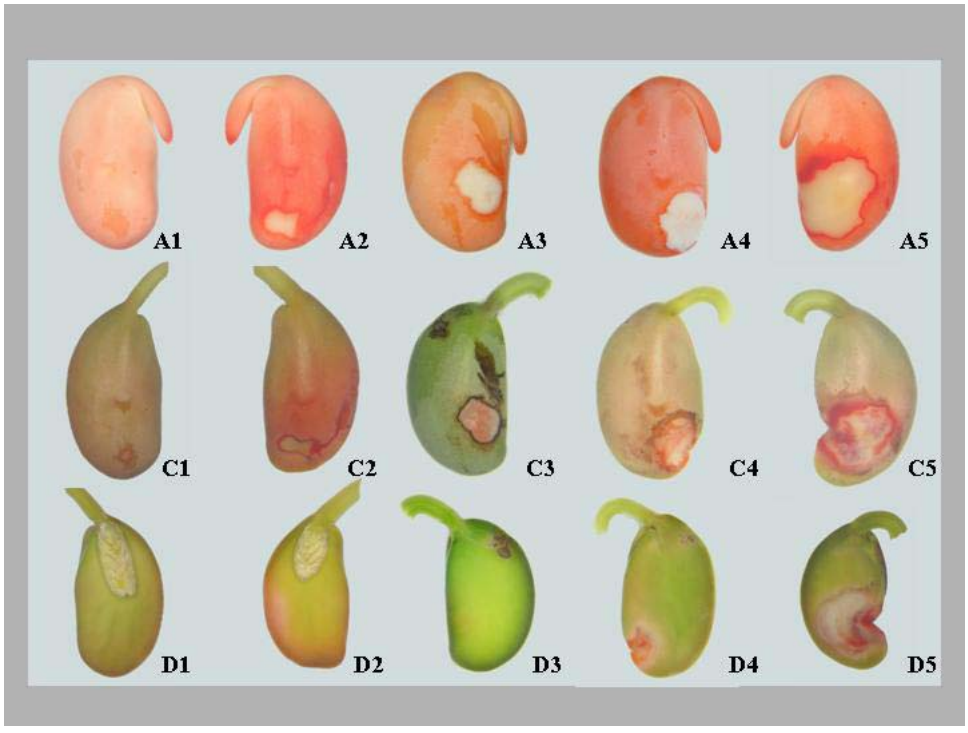
ภาพที่ 3.7 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง บริเวณตำแหน่งที่ 5 ส่วนกลางใบเลี้ยงและต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน
(A) เมล็ดหลังย้อม
(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ
(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

2.6 การเสื่อมคุณภาพในตำแหน่งที่ 6 ใบเลี้ยง ด้าน sub-hylar ตำแหน่งที่ 6 หรือบริเวณใบเลี้ยงด้าน sub-hylar เป็นส่วนของใบเลี้ยงที่มีความเสียหายที่เกิดขึ้นเป็นรอยช้ำ (ภาพที่ 3.8 A1-2 และC1-2) หรือเนื้อตาย (ภาพที่ 3.8 A3-5 และC3-5) ความเสียหายในตำแหน่งดังกล่าว มีความสำคัญต่อความแข็งแรงของต้นอ่อน แต่ความเสียหายมีผลน้อยมากต่อความผิดปกติของต้นอ่อน เช่นเดียวกับอาการที่ผิดปกติในตำแหน่งที่ 5 พื้นที่ความเสียหายที่เกิดขึ้นในส่วนของใบเลี้ยงนี้มีผลต่อปริมาณอาหารสะสมของเมล็ดพันธุ์



ภาพที่ 3.8 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง บริเวณตำแหน่งที่ 6 ใบเลี้ยงด้าน sub-hylar และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน
(A) เมล็ดหลังย้อม
(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

2.7 การเสื่อมคุณภาพในตำแหน่งที่ 7 ส่วนปลายของใบเลี้ยง ตำแหน่งที่ 7 หรือบริเวณส่วนปลายของใบเลี้ยง เป็นตำแหน่งที่อยู่ห่างจากส่วนของ embryonic axis มากกว่าตำแหน่งอื่น ดังนั้นความเสียหายที่เกิดขึ้นจึงมีผลต่อความผิดปกติของต้นอ่อนน้อยกว่าความผิดปกติในบริเวณอื่น ภาพที่ 3.9 (A1, C1 และ D1) แสดงรอยช้ำที่เกิดขึ้นในส่วนปลายของใบเลี้ยง รอยช้ำที่เกิดขึ้นไม่ทำให้เกิดเนื้อตายทางด้านในของใบเลี้ยง และความผิดปกติของต้นอ่อน ส่วนภาพที่ 3.9(A2-5, C2-5 และ D2-5) แสดงถึงความเสียหายของใบเลี้ยง เมื่อขนาดของเนื้อตายมีขนาดใหญ่ขึ้น ความเสียหายที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้พื้นที่สะสมอาหารของใบเลี้ยงลดลง ทำให้ต้นอ่อนมีขนาดเล็ก

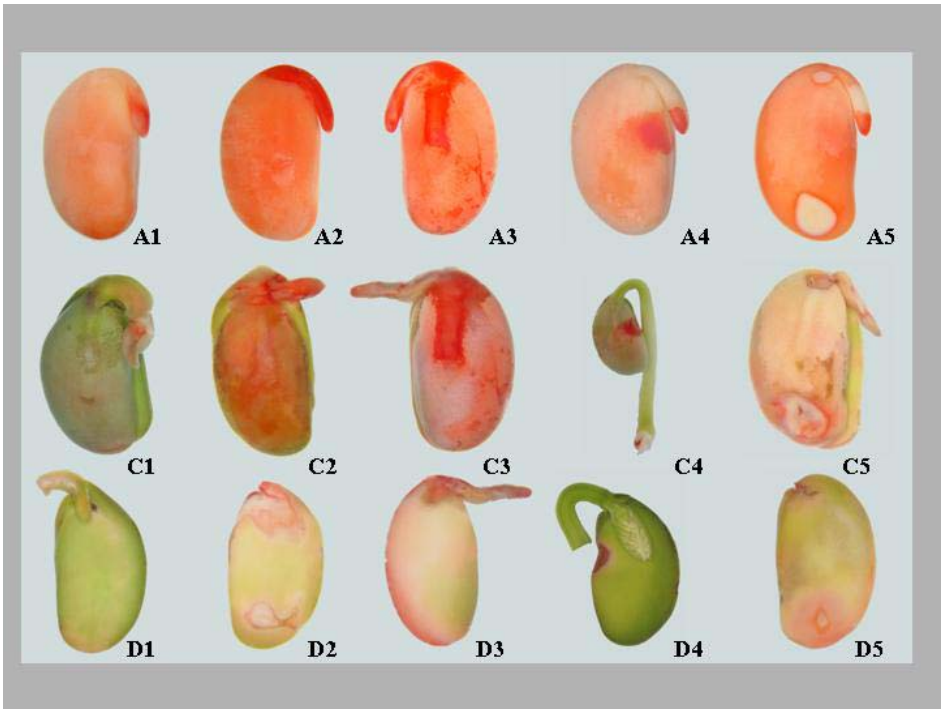


ภาพที่ 3.9 แสดงการติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง บริเวณตำแหน่งที่ 7 ส่วนปลายใบเลี้ยง
(A) เมล็ดหลังย้อม
(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ
(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

3. การเสื่อมคุณภาพในตำแหน่งต่างๆ ของเมล็ดร่วมกันมากกว่า 1 ตำแหน่ง จากการนำเทคนิคการเพาะเมล็ดย้อมมาประเมินคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีการเสื่อมคุณภาพในแต่ละตำแหน่งของเมล็ดทำให้ทราบความสำคัญของแต่ละตำแหน่งในเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อการงอกและการพัฒนาของต้นอ่อน ซึ่งพบว่า ตำแหน่งที่ 1, 2 และ 3 และส่วนบนของตำแหน่งที่ 4 ตามลำดับ ซึ่งเป็นส่วนของ embryonic axis และส่วนที่ใกล้กับ embryonic axis จะมีผลต่อความผิดปกติของต้นอ่อน แต่ตำแหน่งอื่นๆ ความเสียหายมีผลต่อปริมาณอาหารสะสมของใบเลี้ยง ทำให้ต้นอ่อนมีความเสียหาย

อย่างไรก็ตามในความเป็นจริงแล้วเมล็ดพันธุ์แต่ละเมล็ดมีการเสื่อมคุณภาพของเนื้อเยื่อในหลายตำแหน่งร่วมกัน จึงได้ศึกษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่มีการเสื่อมคุณภาพมากกว่า 1 ตำแหน่ง พบว่าในกรณีที่เนื้อเยื่อในตำแหน่งที่ 1 มีการเสื่อมคุณภาพร่วมกับเนื้อเยื่อในตำแหน่งที่ 2 จะส่งผลให้ไม่มีการพัฒนาในส่วนของ primary root และ ส่วน hypocotyl (ภาพที่ 3. 10 A1, C1 และ D1) ทั้งนี้หากเกิดความผิดปกติหรือความเสียหายของเมล็ดพันธุ์ในตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งหรือร่วมกันของตำแหน่งที่ 1, 2 , 3 และส่วนบนของตำแหน่งที่ 4 จะทำให้เมล็ดนั้นไม่สามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อน (ภาพที่ 3. 10 A2-4, C2-4 และ D2-4) หากมีการเสื่อมคุณภาพในตำแหน่งใดๆ ในส่วนของ embryonic axis ร่วมกับตำแหน่งอื่นในส่วนของใบเลี้ยง ต้นอ่อนที่ได้ย่อมมีลักษณะผิดปกติ เช่น การผิดปกติร่วมกันระหว่างตำแหน่งที่ 1 และ ตำแหน่งที่ 4 ทำให้ต้นอ่อนที่งอกเกิดการหดส่วนของรากซึ่งเป็นผลจากรอยช้ำในตำแหน่งที่ 1 ส่วนผลจากรอยช้ำในตำแหน่งที่ 4 ทำให้เกิดรอยแผลที่ใบเลี้ยง (ภาพที่ 3. 10 A5, C5 และ D5)

ในกรณีที่เมล็ดพันธุ์มีความเสียหายเกิดขึ้นในส่วนของใบเลี้ยง โดยที่ embryonic axis ไม่ได้รับความเสียหาย ดังภาพที่ 3.11 ความเสียหายที่เกิดขึ้นกับส่วนใบเลี้ยง ไม่มีผลต่อความงอกของต้นอ่อน เมล็ดสามารถงอกได้เนื่องจากส่วน embryonic axis ไม่ได้รับความเสียหาย แต่จากการสังเกตพบว่าต้นอ่อนมีขนาดเล็กเมื่อเทียบกับเมล็ดที่ไม่เสื่อมคุณภาพ ต้นอ่อนมีความอ่อนแอกว่าต้นอ่อนที่ได้จากเมล็ดพันธุ์ปกติ ทั้งนี้เป็นผลเนื่องจากเนื้อเยื่อของใบเลี้ยง ที่ทำหน้าที่ในการสะสมอาหารให้กับต้นอ่อนเพื่อใช้กระบวนการงอกได้รับความเสียหายหรือถูกทำลาย ปริมาณอาหารที่เหลืออยู่ต้นอ่อนยังสามารถงอกได้ในสภาพแวดล้อมที่มีปัจจัยการงอกที่เหมาะสม ต้นอ่อนที่ได้จึงมีขนาดเล็กกว่าปกติ

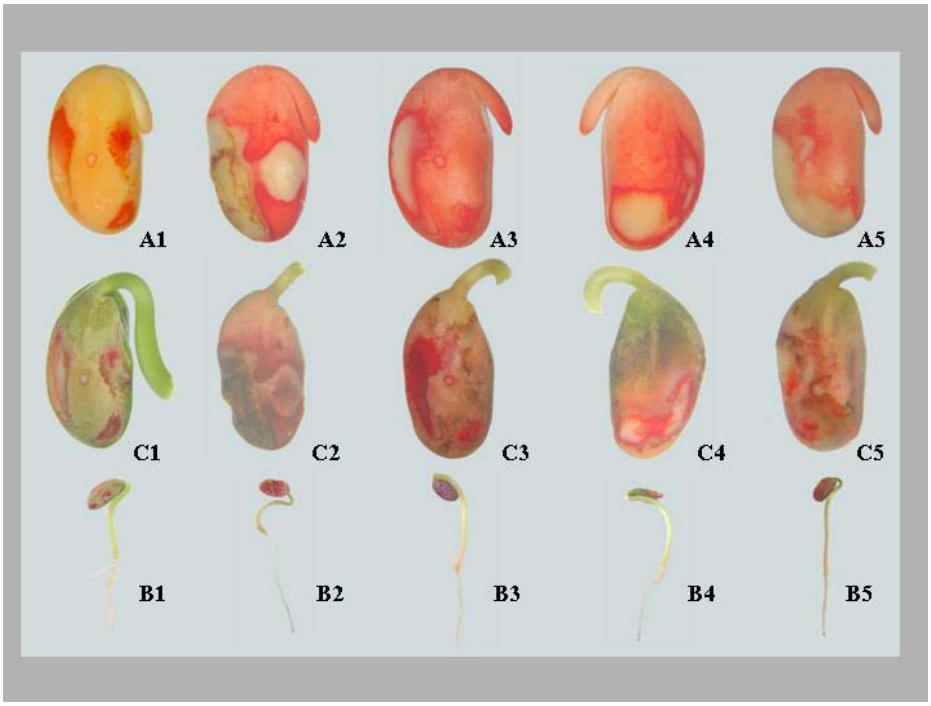


ภาพที่ 3.10 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เกิดการเสื่อมสภาพในบริเวณ embryonic axis ร่วมกับส่วนบนของใบเลี้ยงด้าน hilum

(A) เมล็ดหลังย้อม

(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ



ภาพที่ 3.11 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เกิดการเสื่อมสภาพในบริเวณใบเลี้ยงโดยรวม

(A) เมล็ดหลังย้อม

(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

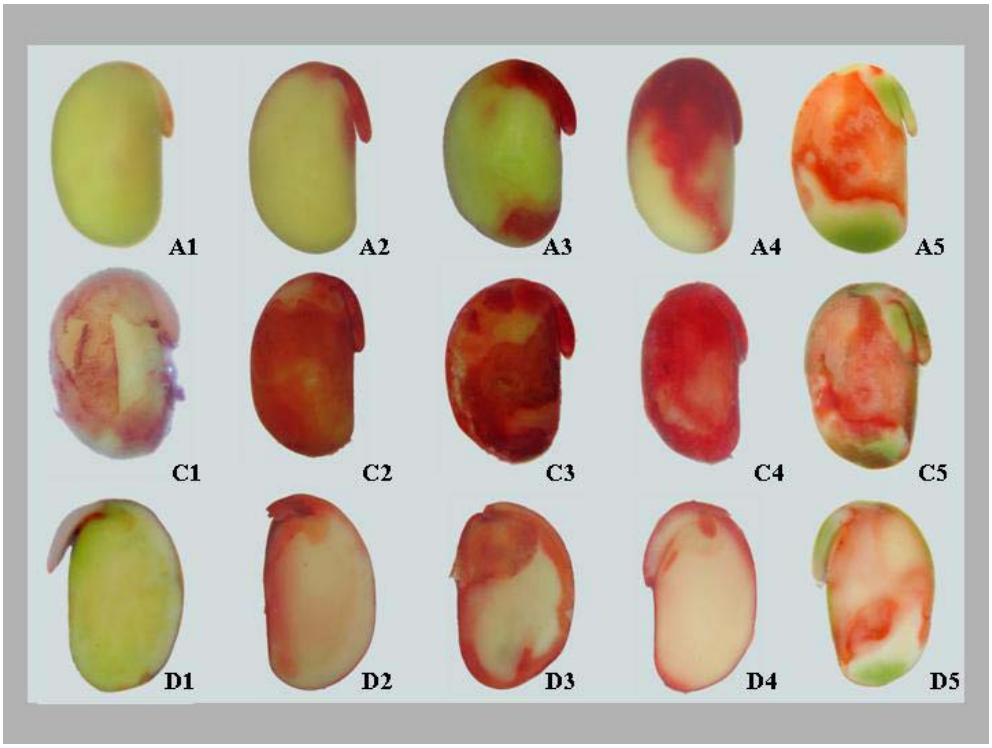
(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

4. การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีลักษณะผิดปกติทางกายภาพ ลักษณะอาการผิดปกติทางกายภาพของเมล็ดพันธ์ถั่วเหลืองที่ศึกษาได้แก่

4.1 เมล็ดเขียว ลักษณะเมล็ดเขียวที่เกิดกับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจนตั้งแต่เป็นเมล็ดแห้ง ในการตรวจสอบเตตราโซเลียมไม่สามารถแยกเมล็ดเขียวในเมล็ดที่เก็บเกี่ยวมาใหม่ๆ การย้อมเมล็ดจะติดสีชมพูของสารเตตราโซเลียมเหมือนเมล็ดพันธุ์ปกติ (ภาพที่ 3.12 A1, C1 และ D1) แต่ในเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาเป็นเวลานาน อาการเมล็ดเขียวจะสามารถตรวจพบได้ กล่าวคือ เมล็ดเป็นสีเขียวในส่วนใบเลี้ยง ทั้งนี้มักพบว่าส่วนปลาย embryonic axis ของเมล็ดมักมีสีแดงช้ำ ภายในใบเลี้ยงมีเนื้อช้ำที่ติดสีแดงเมื่อนำเมล็ดมาเพาะส่วนใหญ่จะเน่า มีเมือกสีแดงห่อหุ้ม และเนื้อตายที่ไม่ติดสี ส่วนใหญ่ใบจริงมีสีแดง (ภาพที่ 3.12 A2-5, C2-5 และ D2-5)

4.2 เมล็ดบวม ลักษณะเมล็ดบวมสามารถสังเกตได้ในเมล็ดแห้ง ส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) บริเวณรอยประกบของใบเลี้ยง จะยื่นออกเป็นปีก เมื่อนำเมล็ดมาย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม พบว่า seed coat ของเมล็ดจะมีการฉีกขาดจากด้านของ hilum ไปยังด้านตรงข้าม นอกจากนี้ยังพบว่ามีเนื้อตายในตำแหน่งที่ 5 หรือบริเวณกลางเมล็ด เมื่อนำเมล็ดมาเพาะเป็นต้นอ่อน จะเกิดรอยแผลในบริเวณดังกล่าว รอยแผลหากมีขนาดใหญ่ย่อมส่งผลทำให้เกิดความผิดปกติต่อการพัฒนาของต้นอ่อน เมื่อ embryonic axis เกิดรอยช้ำหรือมีรอยแผลทำให้ต้นอ่อนเกิดอาการผิดปกติได้ (ภาพที่ 3.13)

4.3 เมล็ดปริ เมล็ดปริเป็นลักษณะที่ seed coat มีรอยแยกสังเกตได้ชัดเจนในเมล็ดแห้งของถั่วเหลือง เมื่อนำเมล็ดเหล่านี้มาย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม และลอกส่วนของ seed coat ออกจะพบเนื้อตายในบริเวณที่เป็นรอยปริ เป็นรูปครึ่งวงกลมประกบกัน มีรอยช้ำล้อมรอบรูปครึ่งวงกลม คล้ายรูปดวงตา ความเสียหายขึ้นกับขนาดของเนื้อตาย ระยะเวลาการเก็บรักษา และตำแหน่งของรอยแผล รอยแผลที่เกิดกับส่วนของใบเลี้ยงจะไม่มีผลต่อความผิดปกติของต้นอ่อน หากรอยแผลไม่เกิดร่วมกับรอยแผลหรือรอยช้ำบริเวณ embryonic axis (ภาพที่ 3.14)

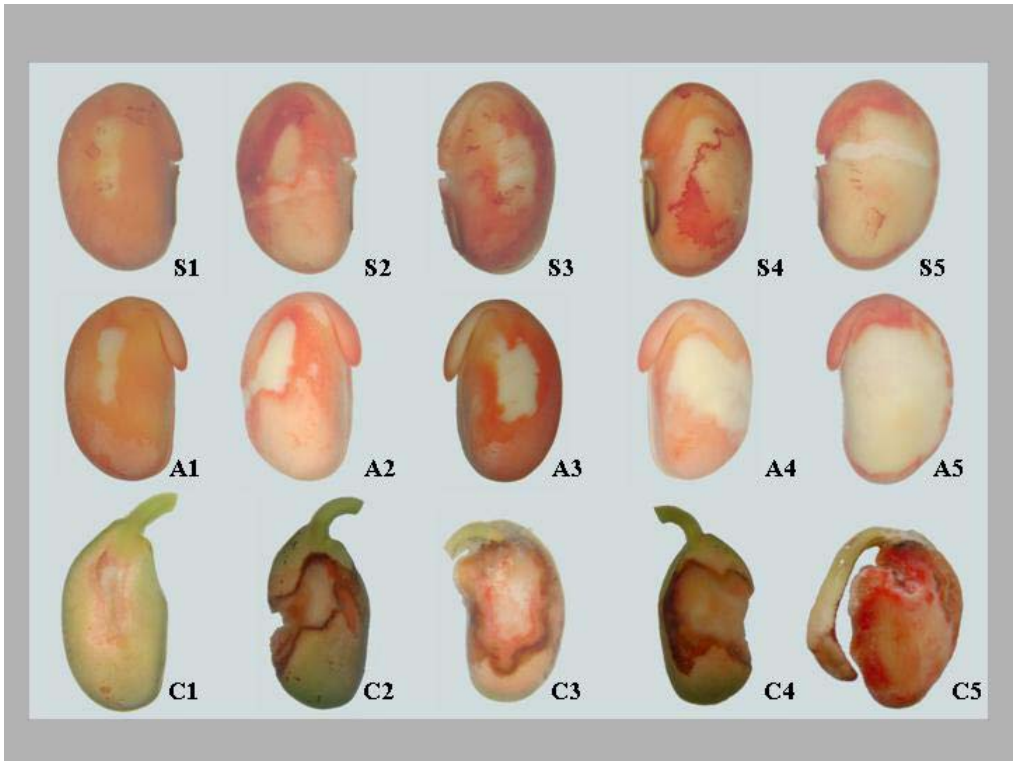


ภาพที่ 3.12 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดเขียวในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

(A) เมล็ดหลังย้อม

(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ



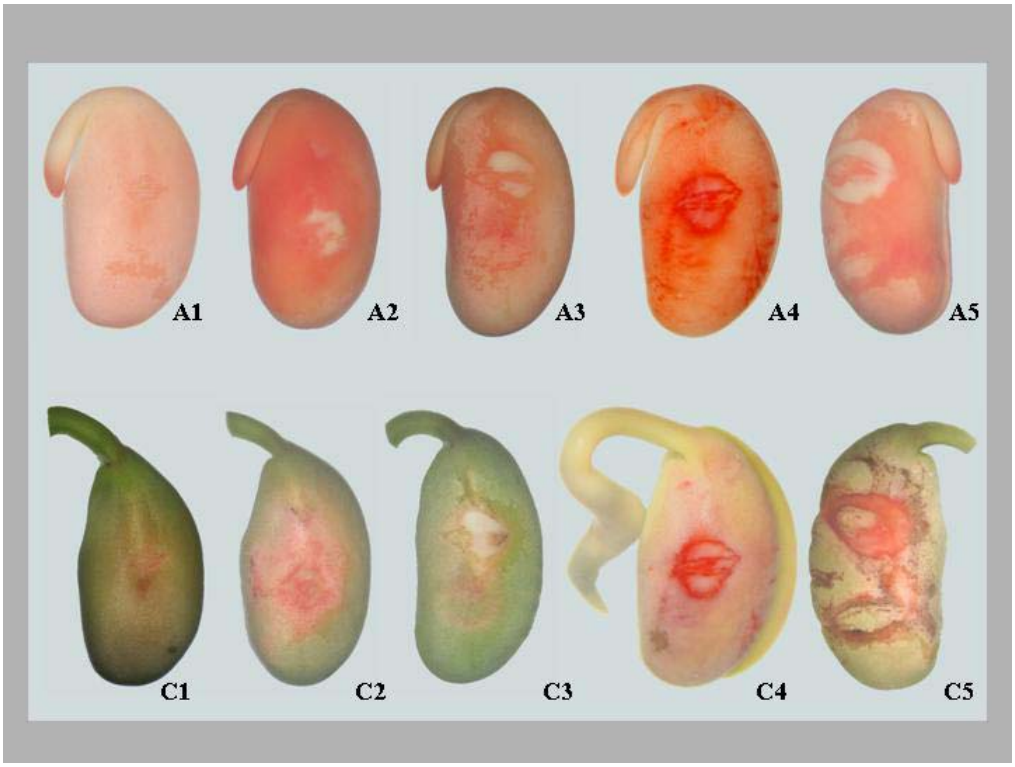
ภาพที่ 3.13 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดบวมในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

(S) เมล็ดหลังย้อมยังมีเปลือกหุ้มเมล็ดอยู่

(A) เมล็ดหลังย้อมลอกเปลือกหุ้มเมล็ดออกแล้ว

(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

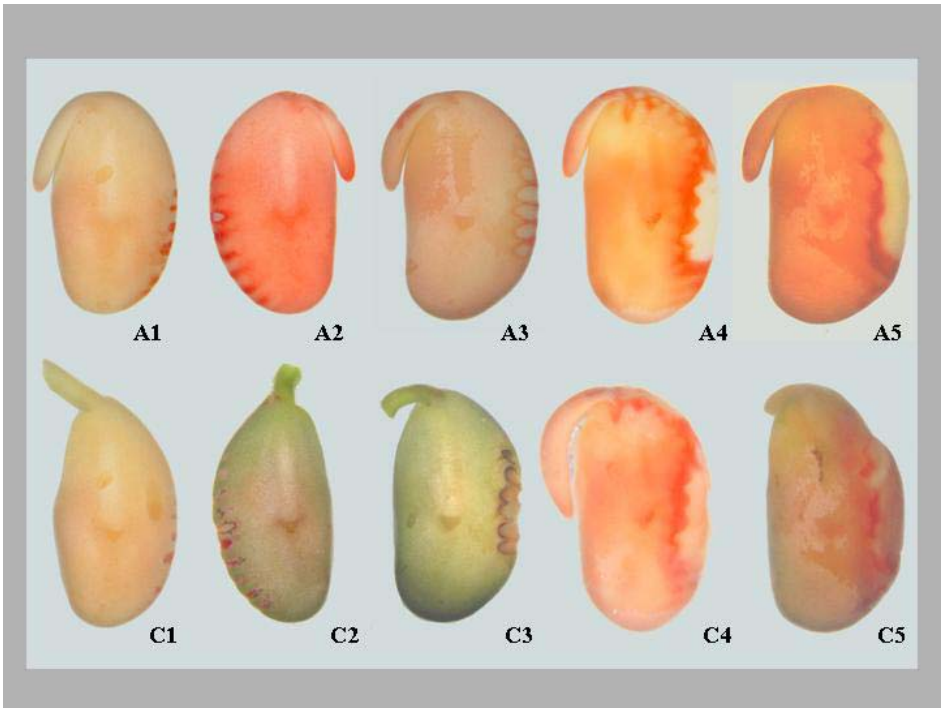


ภาพที่ 3.14 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดปริในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

(A) เมล็ดหลังย้อม

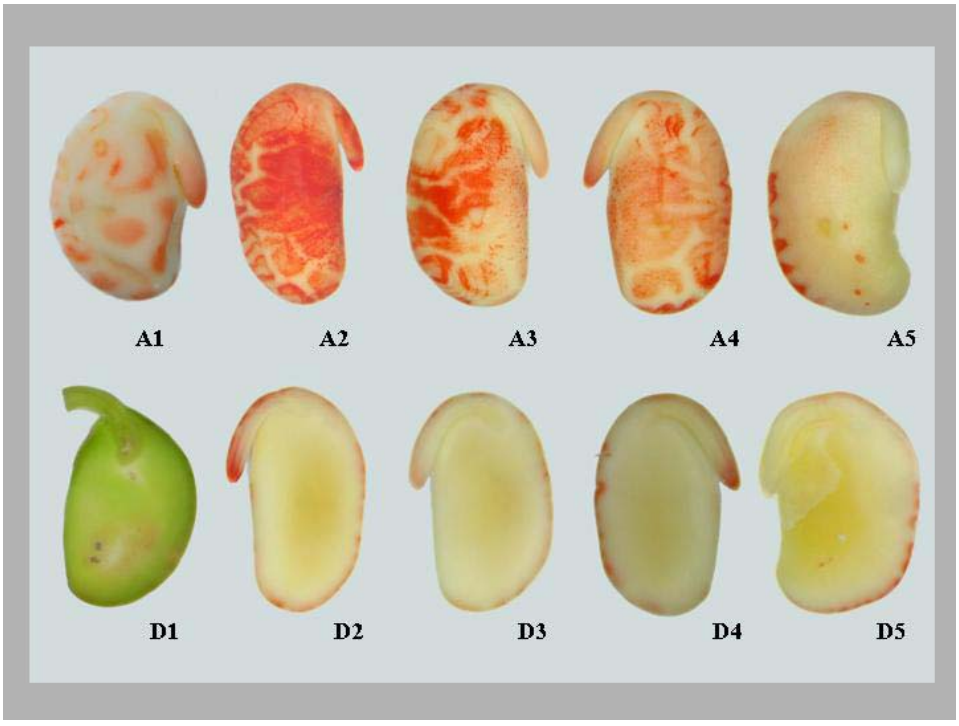
(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

4.4 เมล็ดย่น เมล็ดย่นเป็นอีกลักษณะที่สามารถสังเกตเห็นได้ในเมล็ดแห้งของถั่วเหลือง เมื่อนำเมล็ดเหล่านี้มาย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม พบว่า มีรอยช้ำเป็นริ้วตามรอยย่นของเมล็ด (ภาพที่ 3.15 A1-2 และC1-2) รอยย่นเหล่านี้จะปรากฏในด้านตรงข้ามกับ hilum หรือบริเวณตำแหน่งที่ 6 ในบางเมล็ดจะมีต่อเนื่องถึงบริเวณตำแหน่งที่ 3 เมื่อมีการเก็บรักษานานขึ้น บริเวณรอยช้ำจะพัฒนาเป็นรอยเนื้อตาย ซึ่งย้อมไม่ติดสี (ภาพที่ 3.15 A3 และ C3) รอยเนื้อตายที่เป็นริ้วจะเชื่อมกันเป็นบริเวณใหญ่ขึ้น (ภาพที่ 3.15 A4-5 และ C4-5) แผลที่เกิดขึ้นในส่วนของใบเลี้ยงของต้นอ่อน ไม่มีผลต่อความผิดปกติของต้นอ่อน หากบาดแผลไม่ลามไปถึงบริเวณ embryonic axis



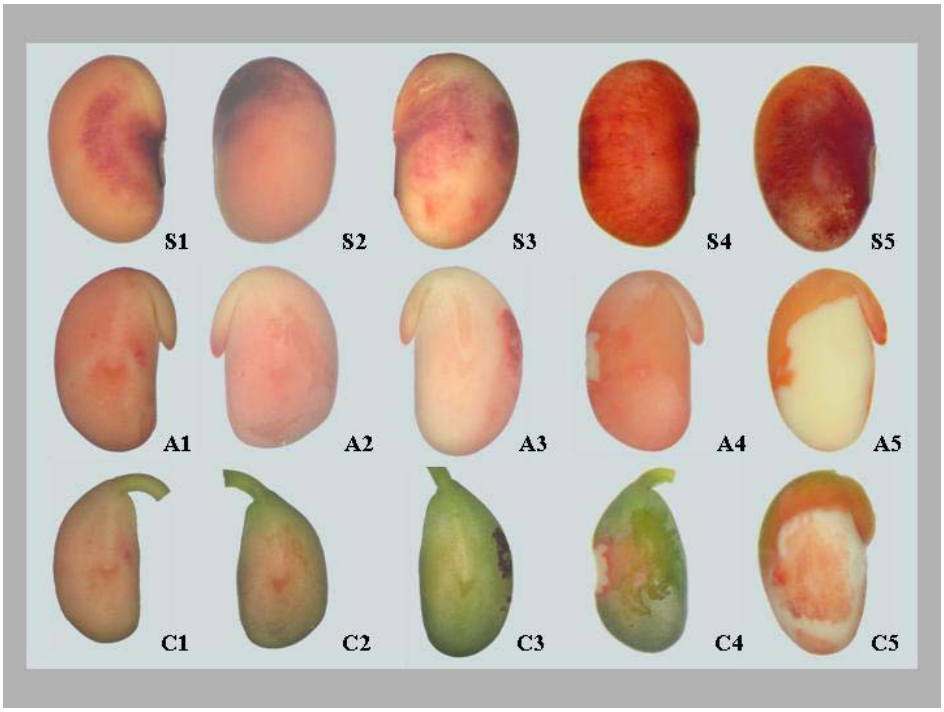
ภาพที่ 3.15 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดย่นในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง
(A) เมล็ดหลังย้อมด้วยอาการผิดปกติ
(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

4.5 เมล็ดลีบย่น เมล็ดลีบย่นเป็นลักษณะที่สามารถสังเกตเห็นได้ในขณะเป็นเมล็ดแห้ง เมล็ดจะลีบแบนและเหี่ยวย่นทั้งเมล็ด เมื่อนำเมล็ดเหล่านี้มาย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม เมล็ดจะพองหรือบวมขึ้นมีขนาดใกล้เคียงเมล็ดปกติ ด้านนอกของใบเลี้ยงย้อมติดสีแดงเป็นลายคล้ายแผนที่ เนื้อเยื่อภายในส่วนของใบเลี้ยงเป็นรอยช้ำสีเหลืองบริเวณกลางใบเลี้ยง ส่วนใหญ่ไม่งอก ยกเว้นเมล็ดใหม่และส่วน embryonic axis ไม่ถูกทำลายเมล็ดจึงจะเจริญเป็นต้นอ่อนได้ (ภาพที่ 3.16)



ภาพที่ 3.16 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดลีบย่นในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง
(A) เมล็ดหลังย้อม
(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

4.6 เมล็ดม่วง เมล็ดม่วงเป็นลักษณะที่สามารถสังเกตเห็นได้ในเมล็ดถั่วเหลืองแห้ง เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา เมื่อนำมาย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม สีม่วงจะเกิดขึ้นเฉพาะบนส่วนของ seed coat ไม่มีอาการผิดปกติกับเนื้อเยื่อของเมล็ด สีม่วงบริเวณ hilum และส่วนบนของเมล็ด ส่วนใหญ่สีม่วงจะแผ่ออกจากบริเวณ hilumไปในส่วนของใบเลี้ยง เมื่อลอก seed coat ออกจะไม่พบสีม่วงที่ใบเลี้ยง ในการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธ์ถั่วเหลืองที่มีอาการเมล็ดสีม่วง จะลอกส่วนของ seed coat ออกก่อนที่จะประเมินการติดสีของเตตราโซเลียม (ภาพที่ 3.17)



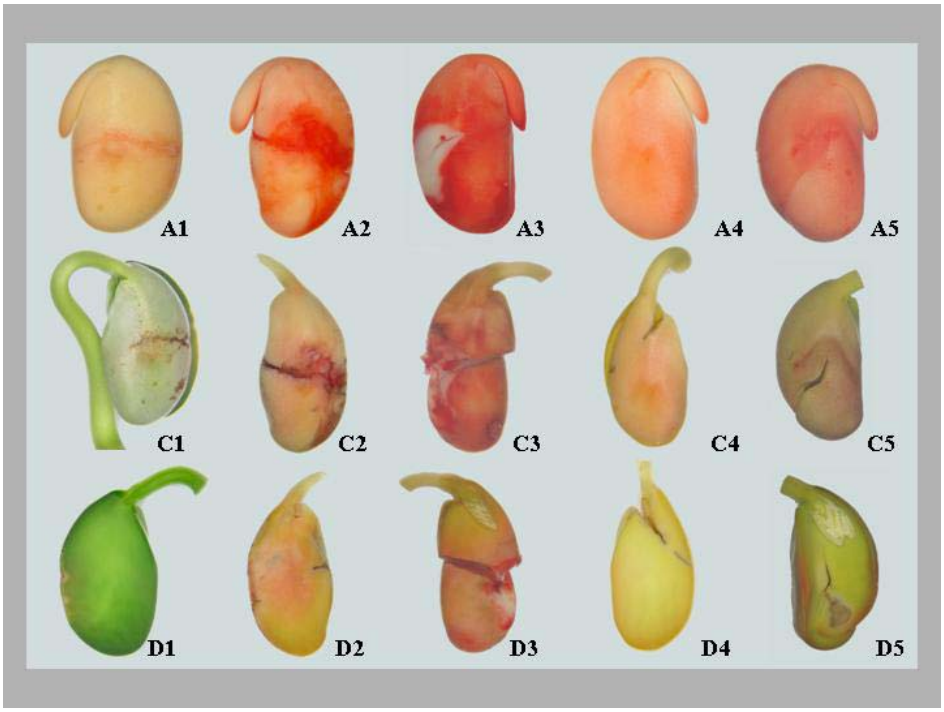
ภาพที่ 3.17 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดม่วงในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

(S) เมล็ดหลังย้อมยังมีเปลือกหุ้มเมล็ดอยู่

(A) เมล็ดหลังย้อมลอกเปลือกหุ้มเมล็ดออกแล้ว

(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

4.7 เมล็ดแตกร้าว การแตกของเมล็ดที่พบส่วนใหญ่เป็นการแตกร้าวที่เกิดขึ้นหลังการเก็บเกี่ยว ในเมล็ดใหม่หากรอยแตกไม่กระทบต่อส่วน embryonic axis ผลกระทบที่เกิดขึ้นจะไม่มาก เมล็ดสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ได้ (ภาพที่ 3.18 A1, C1 และ D1) หากเก็บรักษานานขึ้น บริเวณรอยแตกจะพบรอยช้ำ รอยช้ำจะพัฒนาเป็นเนื้อตายเมื่อเก็บรักษานานขึ้น (ภาพที่ 3.18 A2-3, C2-3 และ D2-3) ต้นอ่อนที่ได้จากเมล็ดแตกร้าวย่อมเป็นต้นอ่อนที่อ่อนแอกว่าเมล็ดปกติ ส่วนใหญ่จะไม่สามารถงอกได้ในสภาพแปลงปลูก แต่หากเกิดบาดแผลบริเวณ embryonic axis ย่อมทำให้ได้ต้นอ่อนที่ผิดปกติ หรือ หากเกิดบริเวณใกล้เคียงเช่นด้านบนตำแหน่งที่ 4 ย่อมทำให้ต้นอ่อนที่ได้ไม่มีการพัฒนาของส่วนยอด (ภาพที่ 3.18 A4, C4 และ D4) นอกจากนี้การแตกร้าวของเมล็ดยังเกิดจากรอยช้ำที่ใบเลี้ยงเป็นบริเวณกว้าง หากไม่มีรอยแตกในส่วน embryonic axis เมล็ดย่อมสามารถเจริญเป็นต้นอ่อนได้ (ภาพที่ 3.18 A5, C5 และ D5)



ภาพที่ 3.18 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดแตกร้าว (mechanical damage) ในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง
(A) เมล็ดหลังย้อม
(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ
(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

4.8 เมล็ดที่ถูกโรคหรือแมลงเข้าทำลาย เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ถูกโรคหรือแมลงทำลาย ย่อมเกิดรอยกัด หรือ เป็นรอยแผล ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของแมลง ซึ่งผลกระทบย่อมขึ้นกับตำแหน่งที่เมล็ดถูกทำลาย และเมื่อเก็บรักษาเมล็ดเหล่านี้สิ่งที่ ปรากฏตามมาคือการเข้าทำลายของเชื้อโรค (ภาพที่ 3.19) มีผลกระทบต่อการงอกและการพัฒนาของต้นอ่อน แตกต่างกันไปตามตำแหน่งที่เชื้อเข้าทำลาย หากทำลายถึงส่วน embryonic axis ย่อมทำให้ต้นอ่อนผิดปกติหรือไม่งอก

ภาพที่ 3.19 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดที่ถูกโรคทำลายในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

(A) เมล็ดหลังย้อม

(C) ด้านนอกใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

5. ลักษณะของการเสื่อมคุณภาพภายใน embryonic axis และบริเวณด้านในใบเลี้ยง จากการศึกษาการติดสีในข้อ 1-4 นั้น การติดสีบนตำแหน่งต่างๆ ทั้ง 6 ตำแหน่งของเมล็ดเป็นบริเวณด้านนอกของเมล็ดหรือใบเลี้ยง แต่การประเมินคุณภาพต้องพิจารณาการติดสีบริเวณด้านในใบเลี้ยงและแกนต้นอ่อนด้วย วิธีพิจารณาการติดสีในบริเวณดังกล่าวต้องใช้ใบมีดโกนหรือมีดผ่าตัดตัดผ่านแกนต้นอ่อนในแนวนอน (longtitudinal) ให้เมล็ดแยกออกจากกันทั้งสองส่วนให้เห็นเนื้อเยื่อภายในแกนต้นอ่อน และใบเลี้ยงด้านในทั้ง 2 ใบ ลักษณะการเสื่อมคุณภาพภายในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองอธิบายได้ดังนี้

เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีความแข็งแรงสูง ลักษณะภายในของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.1 % จะติดสีเฉพาะส่วนปลายของ radicle หรือบริเวณตำแหน่งที่ 1 เท่านั้น เนื่องจากเป็นจุดเจริญมีอัตราการหายใจสูงเนื้อเยื่อมีการดูดรับสารมากกว่าบริเวณอื่น ส่วนบริเวณอื่นของเมล็ดจะไม่ติดสีเนื่องจากสารละลายไม่สามารถเข้าถึงได้ (ภาพที่ 3.20 A1 และ D1) ในเมล็ดที่มีการเสื่อมคุณภาพ เซลที่เสื่อมคุณภาพจะยอมให้สารละลายซึมผ่านได้ง่ายและเร็วจึงเกิดการติดสีของด้านในใบเลี้ยงได้ดังภาพที่ 3.20 A 1-4 และ D 1-4 โดยจะเริ่มมีการติดสีที่ขอบใบเลี้ยงและ embryonic axis โดยรอบก่อน เมื่อเมล็ดเสื่อมคุณภาพมากขึ้นก็จะมีบริเวณด้านในของใบเลี้ยงที่ติดสีเป็นบริเวณกว้างขึ้นเรื่อยๆ ในกรณีที่เมล็ดเสื่อมคุณภาพเพิ่มขึ้นหรือสูญเสียความงอกแล้ว จะพบว่าส่วน embryonic axis ไม่ติดสี หากดูจากลักษณะภายใน แต่ใบจริงจะติดสีแดงช้ำ ส่วนด้านในของใบเลี้ยงติดสีส้มจางที่แสดงถึงอาการช้ำ (ภาพที่ 3.20 A5 และ D5)

เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเมื่อย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม และนำมาเพาะเป็นเวลา 3 วัน หากเป็นเมล็ดพันธุ์ที่สมบูรณ์ จะมีส่วนยอดของต้นอ่อน หรือส่วนของยอดอ่อน (plumule) ที่มีสีเขียวอ่อนขนาดใหญ่ (ภาพที่ 3.21 A1 และ D1) ซึ่งจะมีขนาดเล็กลงเมื่อมีการเสื่อมสภาพมากขึ้นตามระยะเวลาเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 3.21 A 2-3 และ D 2-3) จากนั้นเมื่อเมล็ดเริ่มสูญเสียความมีชีวิตสีของส่วนยอดจะจางไม่ติดสีหรือติดสีแดงช้ำ (ภาพที่ 3.21 A 4-5 และ D 4-5)

ภาพที่ 3.22 แสดงถึงการเสื่อมคุณภาพที่สามารถสังเกตได้ในใบเลี้ยงจริงของต้นอ่อน ทำให้การพัฒนาของส่วนยอดผิดปกติ ส่งผลต่อการพัฒนาของต้นอ่อน ใบจริงมีอาการหดม้วน จากการสังเกตพบว่าส่วนด้านในของใบเลี้ยง บริเวณตำแหน่งเดียวกันกับส่วนยอด เนื้อเยื่อเป็นเนื้อตาย ไม่มีสีเหมือนบริเวณข้างเคียง อาการที่ปรากฏดังกล่าวไม่สามารถสังเกตอาการผิดปกติจากลักษณะของเมล็ดภายนอก (ภาพที่ 3.22 A1-5)

ภาพที่ 3.20 การติดสีที่แสดงอาการเสื่อมคุณภาพใน embryonic axis ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม

(A) เมล็ดหลังย้อม

(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

ภาพที่ 3.21 การติดสีที่แสดงอาการเสื่อมคุณภาพในยอดอ่อน (plumule) ของต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม
(A) เมล็ดหลังย้อม
(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

ภาพที่ 3.22 การติดสีที่แสดงอาการเสื่อมคุณภาพในส่วนยอดของต้นอ่อนหดม้วนที่งอกจาก เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม

(A) เมล็ดหลังย้อม

(D) ด้านในใบเลี้ยงของต้นอ่อนที่ 3 วันหลังเพาะ

6. การจำแนกระดับความแข็งของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยวิธีเตตราโซเลียมที่พัฒนาจากเทคนิคการงอกของเมล็ดย้อม จากการศึกษารูปแบบการติดสีบนเมล็ดพันธุ์หลังการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม และคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีการเสื่อมคุณภาพในแต่ละตำแหน่งของเมล็ด ทำให้สามารถจำแนกการติดสีเตตราโซเลียมเพื่อใช้ประเมินคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ได้เป็น 3 ระดับความแข็งแรง และเมล็ดไม่มีชีวิต (ungerminable) ภายใต้เงื่อนไขว่าผลบวกของเปอร์เซ็นต์เมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความแข็งแรงสูงและปานกลางจะบ่งบอกเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ และผลบวกของเปอร์เซ็นต์เมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความแข็งแรงสูง ปานกลางและ ต่ำ จะบ่งบอกถึงความงอก หรือความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ ผลการศึกษาสามารถแบ่งกลุ่มเมล็ดพันธุ์เพื่อการจำแนกรูปแบบการติดสีของเมล็ดพันธุ์ โดยมีรายละเอียดบ่งชี้ดังต่อไปนี้

6.1 กลุ่มเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูง

1. ใบเลี้ยงหลังย้อมมีสีชมพูอ่อนถึงสีส้มอ่อน หรือ เมื่อนำเมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้ไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยงสีเขียวอาจมีบางส่วนเป็นสีแดง
2. ใบเลี้ยงไม่มีรอยช้ำ หรือรอยแผล หรือเนื้อเยื่อที่ไม่ติดสีในบริเวณตำแหน่งที่ 1, 2, และ 3
3. ใบเลี้ยงอาจมีรอยช้ำในบริเวณตอนล่างของตำแหน่งที่ 4 และตำแหน่งที่ 5, 6 และ 7 ไม่มีรอยแผล หรือ เนื้อตายในบริเวณดังกล่าว

6.2 กลุ่มเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงปานกลาง

1. ใบเลี้ยงหลังย้อมมีสีส้มอ่อน หรือ เมื่อนำเมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้ไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยงสีส้มแดง
2. ใบเลี้ยงไม่มีรอยช้ำ หรือรอยแผล หรือเนื้อเยื่อที่ไม่ติดสีในบริเวณตำแหน่งที่ 1, 2, 3
3. ใบเลี้ยงไม่มีรอยแผล หรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในตอนบนของตำแหน่งที่ 4
4. หลังย้อมใบเลี้ยงมีสีชมพูอ่อน หรือ เมื่อนำเมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้ไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยงเป็นสีเขียว มีรอยช้ำ หรือ รอยแผลหรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีบริเวณตอนล่างของตำแหน่งที่ 4 และตำแหน่งที่ 5, 6 และ 7 ขนาดของแผลไม่เกินพื้นที่ ครึ่งหนึ่งของใบเลี้ยง

6.3 กลุ่มเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงต่ำ

1. ใบเลี้ยงหลังย้อมมีสีแดง หรือ เมื่อนำเมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้ไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยงสีชมพูถึงแดง

2. ไม่มีรอยช้ำ หรือ รอยแผล หรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในบริเวณตำแหน่งที่ 1, 2, 3

3. ใบเลี้ยงต้องไม่มีรอยแผล หรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในตอนบนของตำแหน่งที่ 4

4. หลังย้อมใบเลี้ยงมีสีส้มอ่อน หรือ เมื่อนำเมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้ไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยงสีส้มแดง มีรอยช้ำ หรือ รอยแผลหรือ มีเนื้อเยื่อไม่ติดสีในบริเวณตอนล่างของตำแหน่งที่ 4 และตำแหน่งที่ 5, 6 และ 7 ขนาดของแผลไม่เกินพื้นที่ ครึ่งหนึ่งของใบเลี้ยง

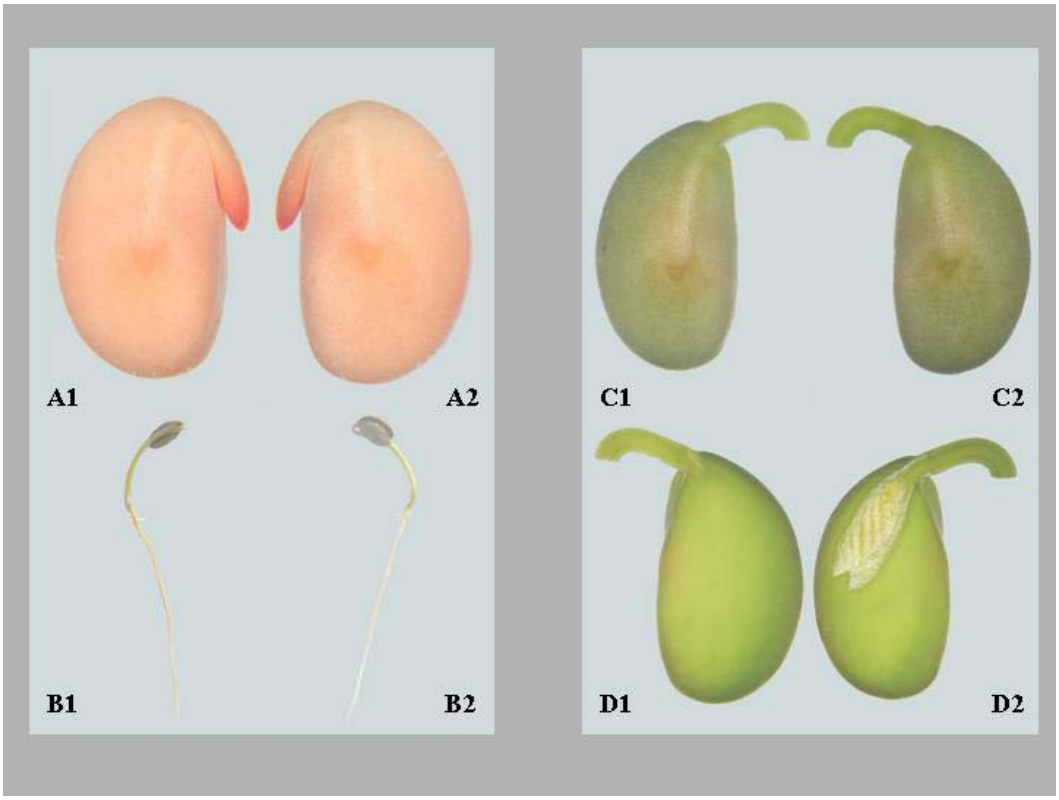
6.4 กลุ่มเมล็ดพันธุ์ที่ไม่มีชีวิต

1. ใบเลี้ยงหลังย้อมมีสีแดงช้ำจนถึงไม่ติดสี เมื่อนำเมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้ไปเพาะต้นอ่อนมีใบเลี้ยง สีแดงช้ำ จนถึงไม่ติดสี

2. มีรอยช้ำหรือรอยแผล หรือ เนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในบริเวณตำแหน่งที่ 1, 2, 3

3. มีรอยแผล หรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในตอนบนของตำแหน่งที่ 4

4. เมล็ดพันธุ์หลังย้อมมีสีแดง หรือ เมื่อนำเมล็ดพันธุ์กลุ่มนี้ไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยงสีชมพูถึงแดง มีรอยช้ำ หรือ รอยแผลหรือ เนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสี



ภาพที่ 3.23 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 1 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพู ไม่ปรากฏรอยช้ำหรือรอยแผล บริเวณตำแหน่งที่ 1 มีสีเข้มกว่าบริเวณอื่นเนื่องจากเป็นเนื้อเยื่อเจริญมีการดูดซับสารละลายได้รวดเร็วกว่าบริเวณเนื้อเยื่อส่วนอื่น

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีลักษณะแข็งแรง รากยาวและลำต้นใหญ่สมบูรณ์

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียว ปราศจากรอยแผล

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ปราศจากรอยแผล ใบจริงมีสีเขียวอ่อนขนาดใหญ่สมบูรณ์

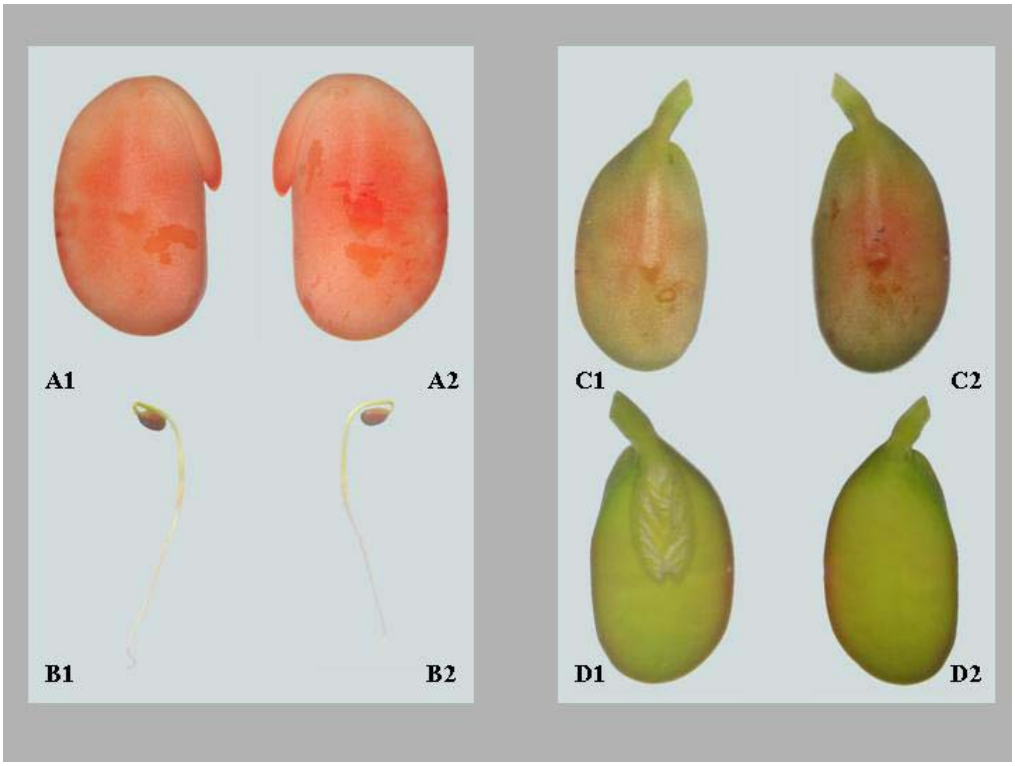
ภาพที่ 3.24 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 2 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว ใบเลี้ยงมีสีชมพูอมส้ม ไม่ปรากฏรอยช้ำ

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนแข็งแรง รากยาวและลำต้นใหญ่สมบูรณ์

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียว บริเวณกลางเมล็ดเป็นสีแดง

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ปราศจากรอยแผล ใบจริงมีสีเขียวอ่อนขนาดใหญ่สมบูรณ์



ภาพที่ 3.25 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 3 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมแดง มีรอยช้ำบริเวณกลางเมล็ด

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนแข็งแรง รากยาวและลำต้นใหญ่สมบูรณ์

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวบริเวณขอบเมล็ด บริเวณกลางเมล็ดเป็นสีแดงปรากฏรอยแผลขนาดเล็ก

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ขอบใบเลี้ยงมีสีส้มแดงปราศจากรอยแผล โดยมีใบจริงสีเขียวอ่อนขนาดใหญ่สมบูรณ์

ภาพที่ 3.26 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 4 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดย้อมแล้ว เมล็ดมีชมพูอมส้ม ปรากฏรอยช้ำสีแดงบริเวณตำแหน่งที่ 6 และ 7 เนื้อเยื่อบริเวณดังกล่าวมีสีเข้มขึ้น

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนแข็งแรง รากยาวและลำต้นใหญ่สมบูรณ์

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียว โดยมีการเปลี่ยนสีเนื้อเยื่อบริเวณรอยช้ำเป็นสีแดง (อาการเมล็ดย่นเริ่มต้น)

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ปราศจากรอยแผล ใบจริงมีสีเขียวอ่อนขนาดใหญ่สมบูรณ์

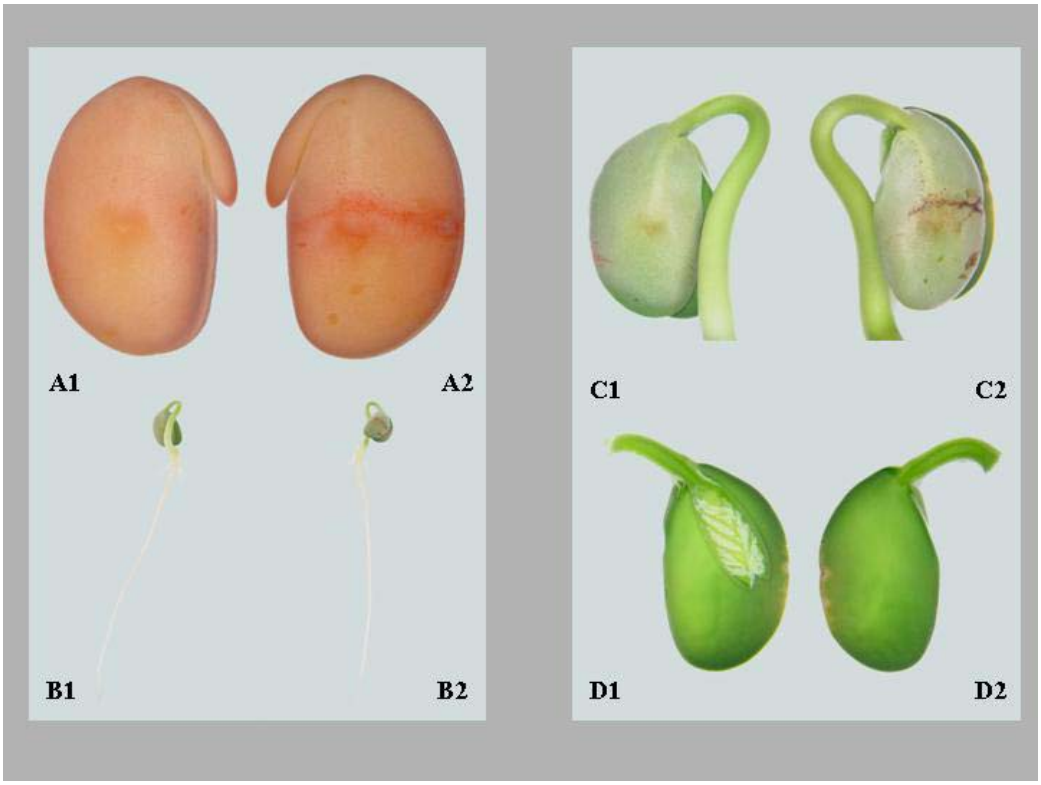
ภาพที่ 3.27 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 5 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม ปรากฏรอยช้ำกลางเมล็ด

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนแข็งแรง รากยาวและลำต้นใหญ่สมบูรณ์

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียว โดยเนื้อเยื่อบริเวณรอยช้ำจะเปลี่ยนสีเป็นรอยแผลสีน้ำตาล

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงสีเขียวอ่อน ใบจริงมีสีเขียวอ่อนขนาดใหญ่สมบูรณ์



ภาพที่ 3.28 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงสูง แบบที่ 6 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม ปรากฏรอยช้ำบริเวณกลางเมล็ด (รอยร้าวจากการปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์)

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนแข็งแรง รากยาวและลำต้นใหญ่สมบูรณ์

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียว มีรอยแผลเป็นรอยยาวกลางใบเลี้ยง

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ปราศจากรอยแผล ใบจริงมีสีเขียวอ่อนขนาดใหญ่สมบูรณ์ (การเสื่อมคุณภาพที่เกิดขึ้นไม่ส่งผลต่อเนื้อเยื่อด้านในของใบเลี้ยง)

ภาพที่ 3.29 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 1 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีส้ม ไม่มีรอยช้ำใดๆ

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นสมบูรณ์

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีส้มอ่อน

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเหลืองส้ม ใบจริงมีสีเหลือง ไม่พบความผิดปกติใดๆ บริเวณเนื้อเยื่อด้านในของใบเลี้ยง

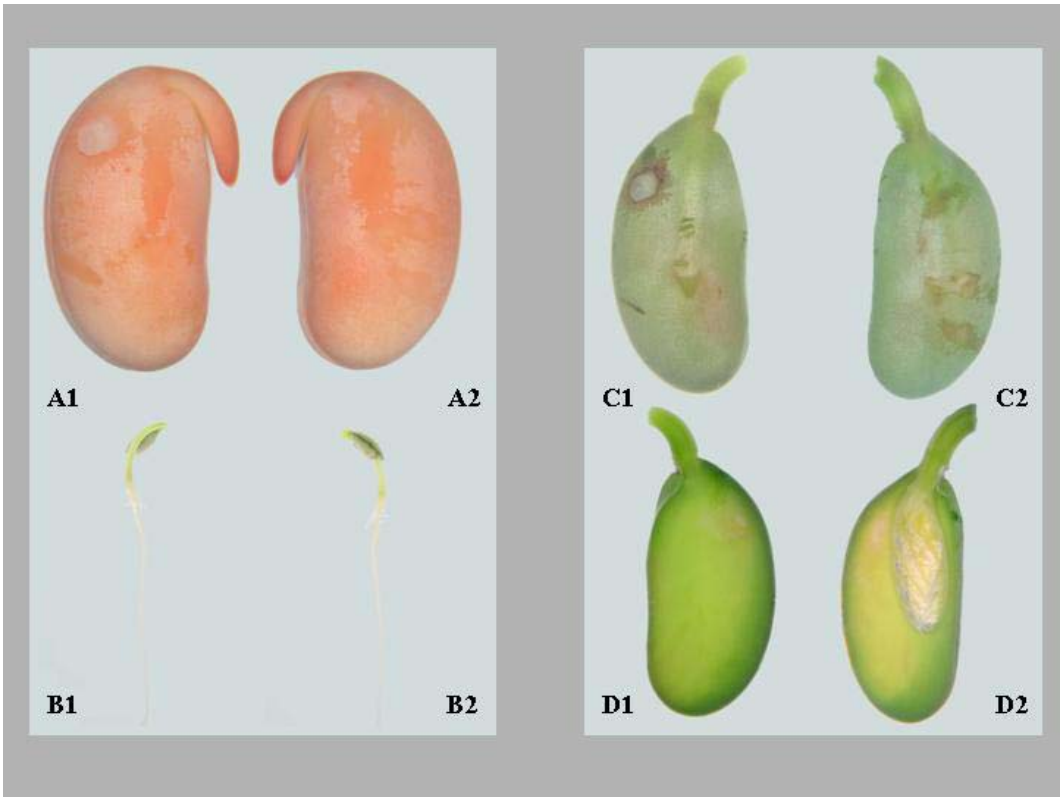
ภาพที่ 3.30 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 2 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีส้ม มีรอยสีแดงช้ำบริเวณตำแหน่งที่ 5 (ส่วนกลางเมล็ด)

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นสมบูรณ์

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีแดงอ่อน มีแผลบริเวณกลางใบเลี้ยง

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเหลืองส้ม ใบจริงมีสีเหลือง ไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อด้านในของใบเลี้ยง



ภาพที่ 3.31 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 3 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม มีเนื้อตายบริเวณด้านบนของตำแหน่งที่ 6

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นสมบูรณ์ ซึ่งมีผลกระทบจากรอยแผลน้อยมาก ต้นอ่อนสามารถเจริญเป็นต้นพืชที่สมบูรณ์ได้

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียว มีรอยแผลเห็นชัดเจนบริเวณตำแหน่งที่ 6

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ใบจริงมีสีเขียวอ่อน พบรอยแผลทำให้เกิดเนื้อเยื่อตายด้านในใบเลี้ยงเล็กน้อย ซึ่งไม่ส่งผลต่อความผิดปกติของต้นอ่อน

ภาพที่ 3.32 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 4 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม มีรอยช้ำบริเวณกลางเมล็ดล้อมรอบรอยแผลบริเวณตำแหน่งที่ 5 (ส่วนกลางเมล็ด ซึ่งเป็นอาการเมล็ดปริ)

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นสมบูรณ์

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียว กลางใบเลี้ยงมีรอยแผลชัดเจน

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ใบจริงมีสีเขียวอ่อนปกติ พบรอยแผล ซึ่งไม่ส่งผลต่อส่วนด้านในใบเลี้ยง

ภาพที่ 3.33 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 5 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมอมพูส้ม มีเนื้อตายในตำแหน่งที่ 5 (ส่วนกลางเมล็ด)

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นสมบูรณ์ แต่สั้นกว่าปกติเล็กน้อย

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน กลางใบเลี้ยงมีสีแดงอ่อน มีรอยแผลเห็นชัดเจนในบริเวณกลางเมล็ด

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ใบจริงมีสีเขียวอ่อนตามปกติ พบรอยแผลขนาดเล็กซึ่งไม่ส่งผลต่อเนื้อเยื่อด้านในใบเลี้ยง

ภาพที่ 3.34 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 6 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม มีเนื้อตายบริเวณด้านล่างของตำแหน่งที่ 5 และ 6

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นสมบูรณ์ แม้พื้นที่ส่วนหนึ่งของใบเลี้ยงเสียหาย

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียว มีรอยแผลเห็นชัดเจน

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ใบจริงมีสีเขียวอ่อนตามปกติมีเนื้อเยื่อตายด้านในใบเลี้ยง และมีรอยแผลเล็กๆ ที่ใบเลี้ยงอีกด้านหนึ่งด้วย

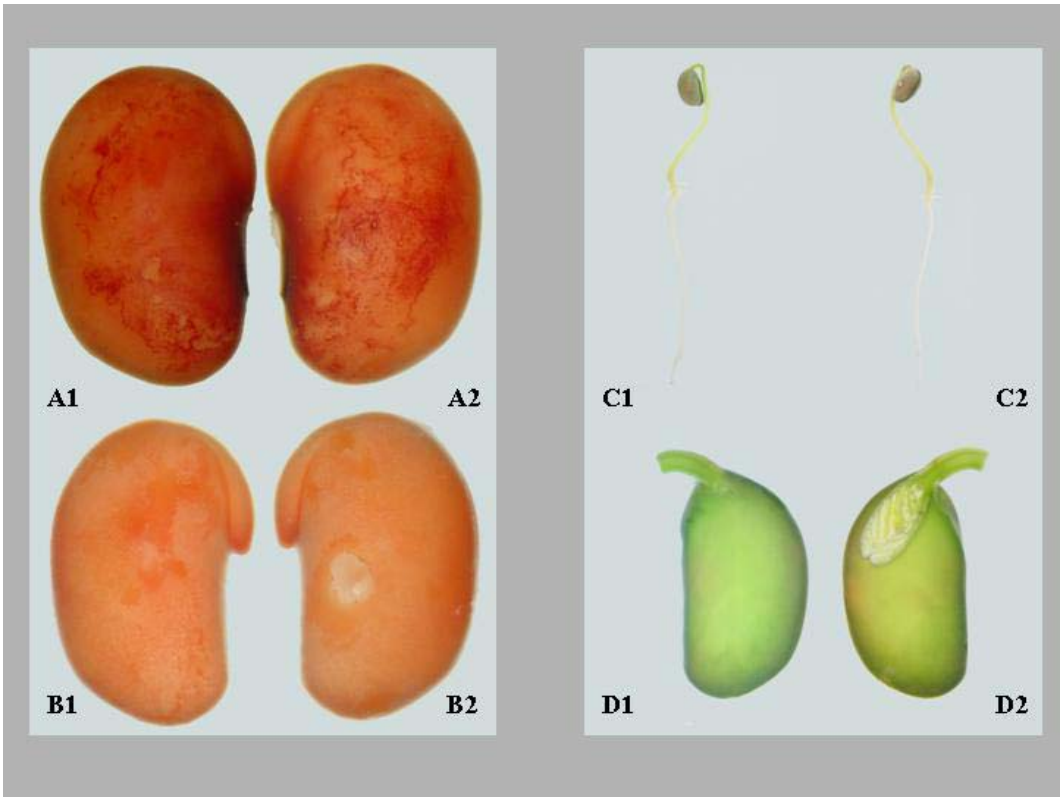
ภาพที่ 3.35 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 7 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม มีเนื้อเยื่อตายในตำแหน่งที่ 5 และตำแหน่งที่ 6 ตอนล่าง

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นสมบูรณ์ แม้มีเนื้อตายบริเวณขอบใบเลี้ยง

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีแดง ขอบใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน มีรอยแผลเห็นชัดเจน ในตำแหน่งที่ 5 และตำแหน่งที่ 6 ตอนล่าง

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ใบจริงมีสีเขียวอ่อนตามปกติ พบรอยแผลด้านในใบเลี้ยงในตำแหน่งที่ 5 และตำแหน่งที่ 6 ตอนล่าง



ภาพที่ 3.36 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงปานกลาง แบบที่ 8 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว และยังไม่ลอกเยื่อหุ้มเมล็ดออกเพื่อแสดงอาการโรคเมล็ดสีม่วง

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูส้ม มีเนื้อตายบริเวณตำแหน่งที่ 5

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นสมบูรณ์ เห็นรอยแผลที่ใบเลี้ยง โรคเมล็ดสีม่วงไม่มีผลต่อการพัฒนาของต้นอ่อน

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ใบจริงมีสีเขียวอ่อนตามปกติ รอยแผลและอาการเมล็ดสีม่วงไม่ทำให้เกิดความเสียหายต่อด้านในของใบเลี้ยง

ภาพที่ 3.37 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 1 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีส้มอมชมพู มีรอยช้ำสีส้มแดง

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นสั้น ลำต้นสีขาว

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีชมพู

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีชมพูจาง ใบจริงมีสีขาวและมีขนาดเล็ก

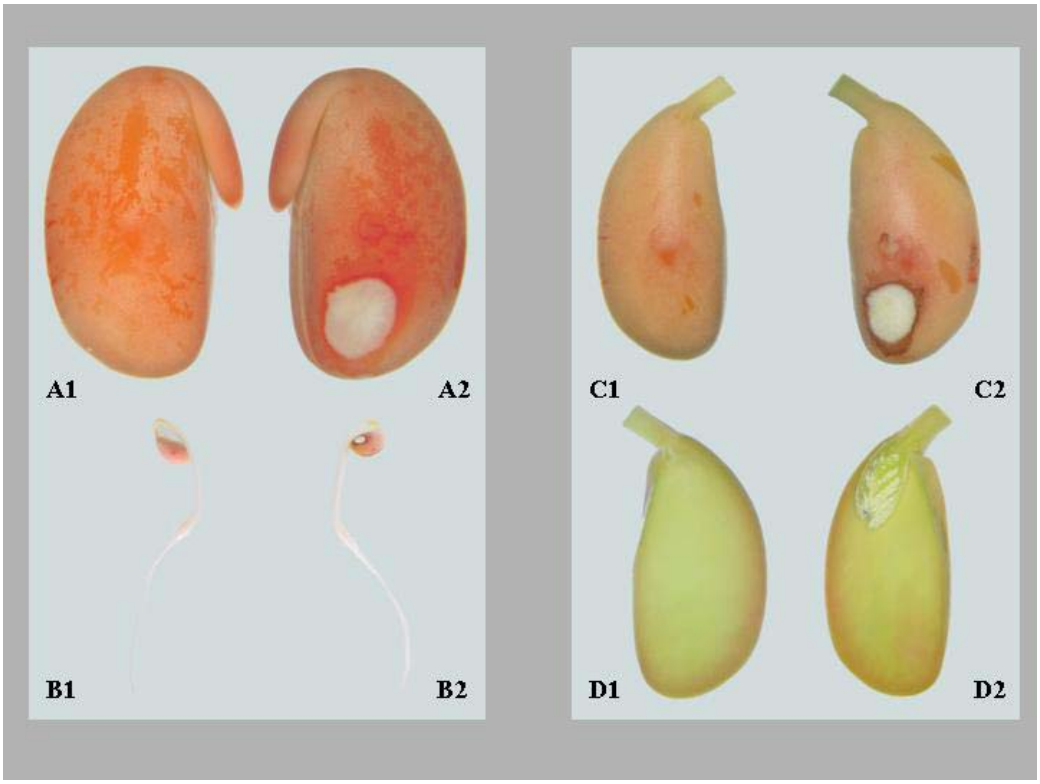
ภาพที่ 3.38 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 2 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ผ่านการย้อมแล้ว เมล็ดมีสีส้มอมชมพู มีรอยช้ำสีส้มแดง กระจายบนเมล็ด

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นสั้น ลำต้นสีขาว

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีชมพู มีรอยช้ำกระจายบนใบเลี้ยง

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีชมพูจาง ใบจริงมีสีขาวและมีขนาดเล็ก



ภาพที่ 3.39 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 3 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม มีรอยช้ำสีส้มแดงกระจาย และ มีเนื้อเยื่อตายบริเวณส่วนปลายของตำแหน่งที่ 4, 5 และ 7

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นขนาดเล็ก

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีชมพูมีรอยช้ำกระจายบนใบเลี้ยง และมีรอยแผลเห็นชัดเจนที่ปลายใบเลี้ยง

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเหลืองส้ม ใบจริงมีสีเขียวอมเหลืองขนาดเล็ก ไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อด้านในใบเลี้ยง

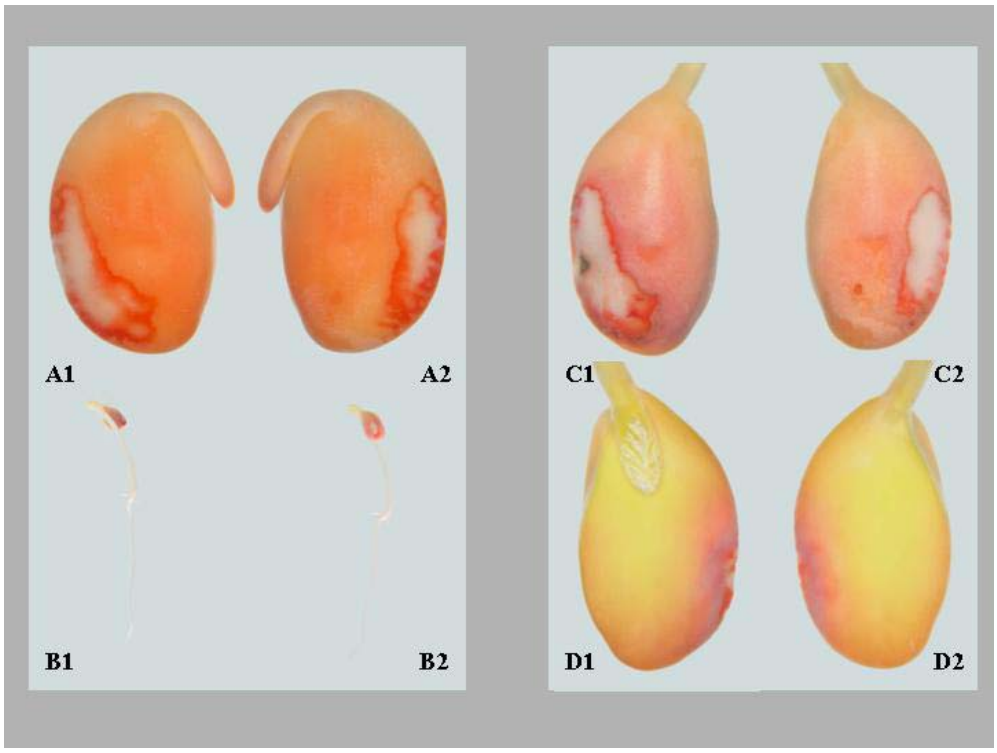
ภาพที่ 3.40 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 4 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม มีรอยช้ำสีส้มแดงกระจาย และมีเนื้อเยื่อตายในตำแหน่งที่ 5 และ 6

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นขนาดเล็ก

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีชมพูมีรอยช้ำสีแดงเข้มกระจายบนใบเลี้ยง และมีรอยแผลชัดเจนในตำแหน่งที่ 5 และ 6

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเหลืองส้ม ใบจริงมีสีเหลืองขนาดเล็ก มีเนื้อเยื่อตายในตำแหน่งที่ 6



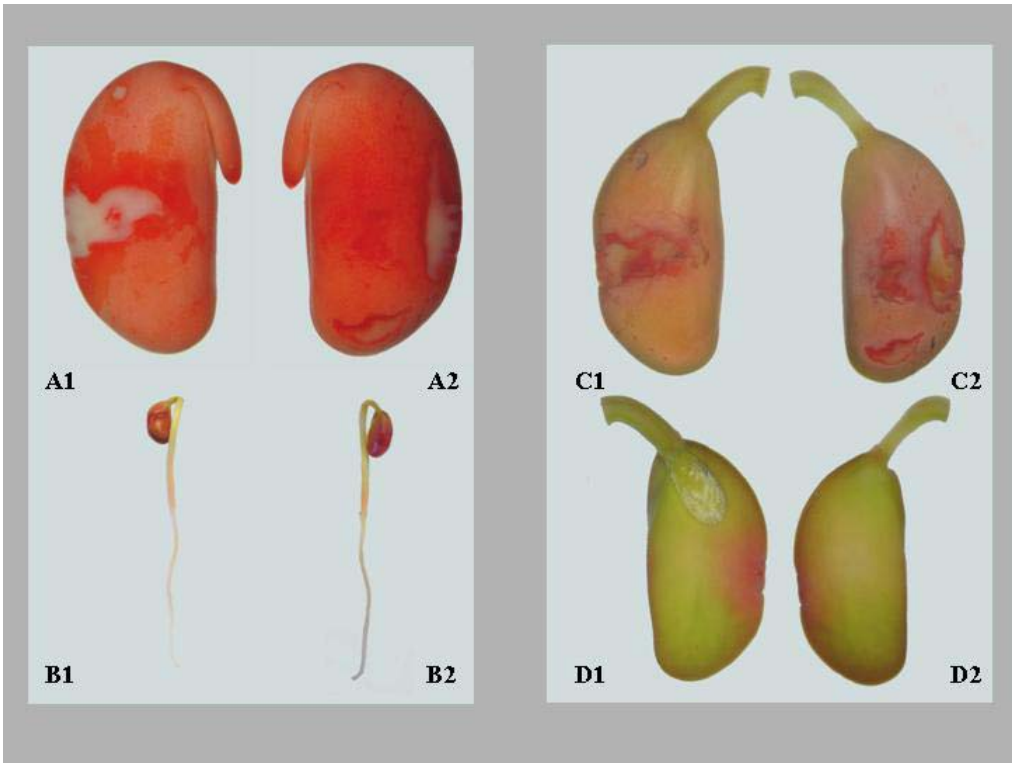
ภาพที่ 3.41 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 5 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีส้ม มีรอยช้ำสีแดงเข้มล้อมเนื้อเยื่อตายบริเวณตำแหน่งที่ 6

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นขนาดเล็ก

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีชมพูมีเนื้อตายเห็นชัดเจนในตำแหน่งที่ 6

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเหลืองส้ม ใบจริงมีสีเหลืองขนาดเล็ก บริเวณขอบใบเลี้ยงในตำแหน่งที่ 6 มีรอยช้ำ



ภาพที่ 3.42 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 6 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม มีรอยช้ำสีแดงเข้มล้อมเนื้อเยื่อตายบริเวณตำแหน่งที่ 5, 6 และ 7

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นขนาดเล็ก

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีชมพูอมส้ม มีรอยแผลเห็นชัดเจนในตำแหน่งที่ 5, 6 และ 7

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเหลืองส้ม ใบจริงมีสีเหลืองขนาดเล็ก ขอบใบเลี้ยงในตำแหน่งที่ 6 มีรอยช้ำ

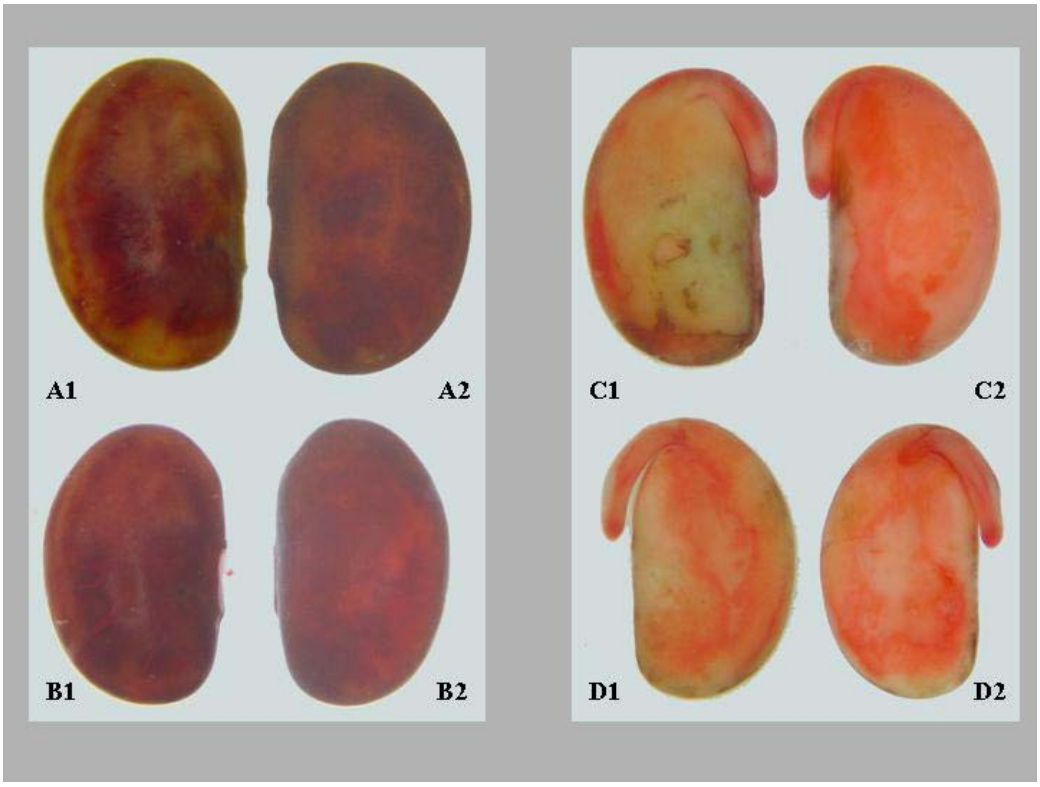
ภาพที่ 3.43 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีระดับความแข็งแรงต่ำ แบบที่ 7 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีลักษณะเป็นดวงสีชมพู ซึ่งเป็นอาการของเมล็ดลีบ มีเนื้อเยื่อตายในตำแหน่งที่ 5

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่ได้จากการเพาะเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีรากและลำต้นขนาดเล็ก

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อนแสดงให้เห็นว่าเมล็ดถูกเก็บเกี่ยวมาไม่นาน มีรอยแผลเห็นชัดเจนในตำแหน่งที่ 5

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ใบจริงผิดปกติ มีรอยแผลในตำแหน่งที่ 5



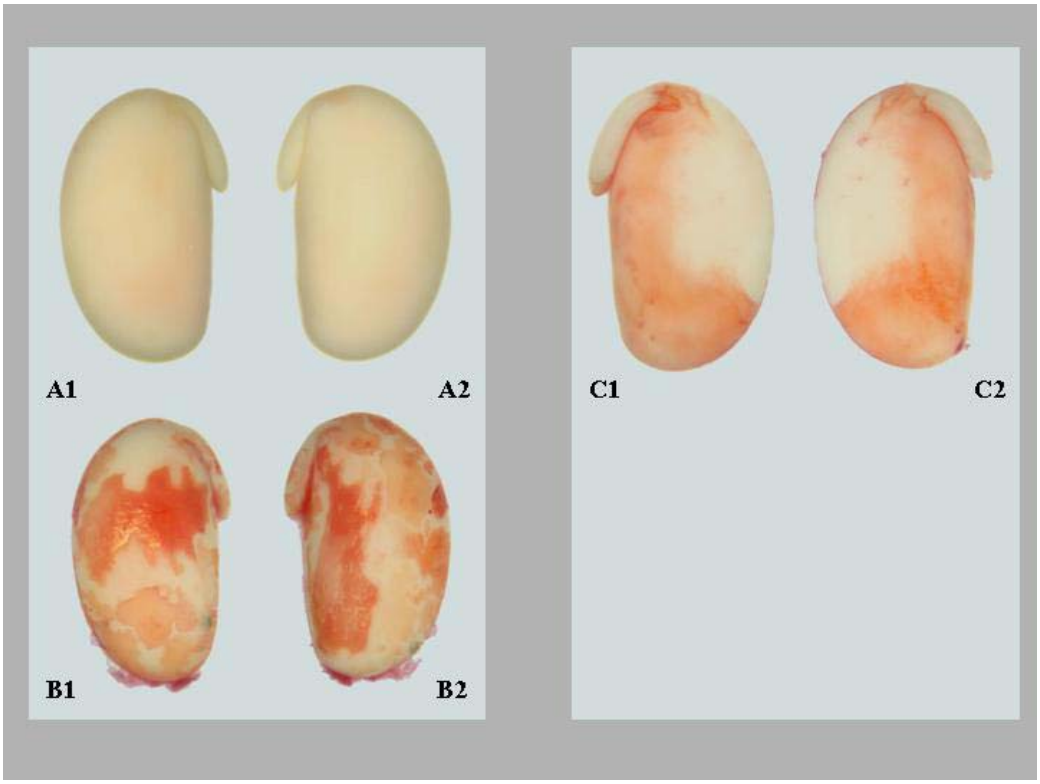
ภาพที่ 3.44 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 1 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว และยังไม่ได้ลอกเยื่อหุ้มเมล็ดออก เมล็ดมีสีน้ำตาลดำ มีลักษณะช้ำทั่วทั้งเมล็ด

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดในภาพ A ไม่มีการงอกของต้นอ่อน เนื้อใบเลี้ยงนิ่ม

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B หลังเพาะ 3 วัน ใบเลี้ยงมีสีแดงช้ำ และมีส่วนเนื้อตายที่ไม่ติดสี

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B หลังเพาะ 3 วัน ใบเลี้ยงมีสีแดงช้ำ ใบจริงมีสีแดงและไม่พัฒนา



ภาพที่ 3.45 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 2 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดที่มีเนื้อเยื่อตายสีขาวทั้งเมล็ด

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดในภาพ A ไม่มีการงอกของต้นอ่อน เนื้อใบเลี้ยงนิ่ม มีรอยช้ำสีแดงทั่วไปบนเมล็ด

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีรอยช้ำสีแดงเรื่อๆ ในตำแหน่งที่ 1, 2, 3, 5 และ 6 เป็นเนื้อเยื่อที่ไม่ติดสี ใบจริงมีสีแดงและไม่พัฒนา

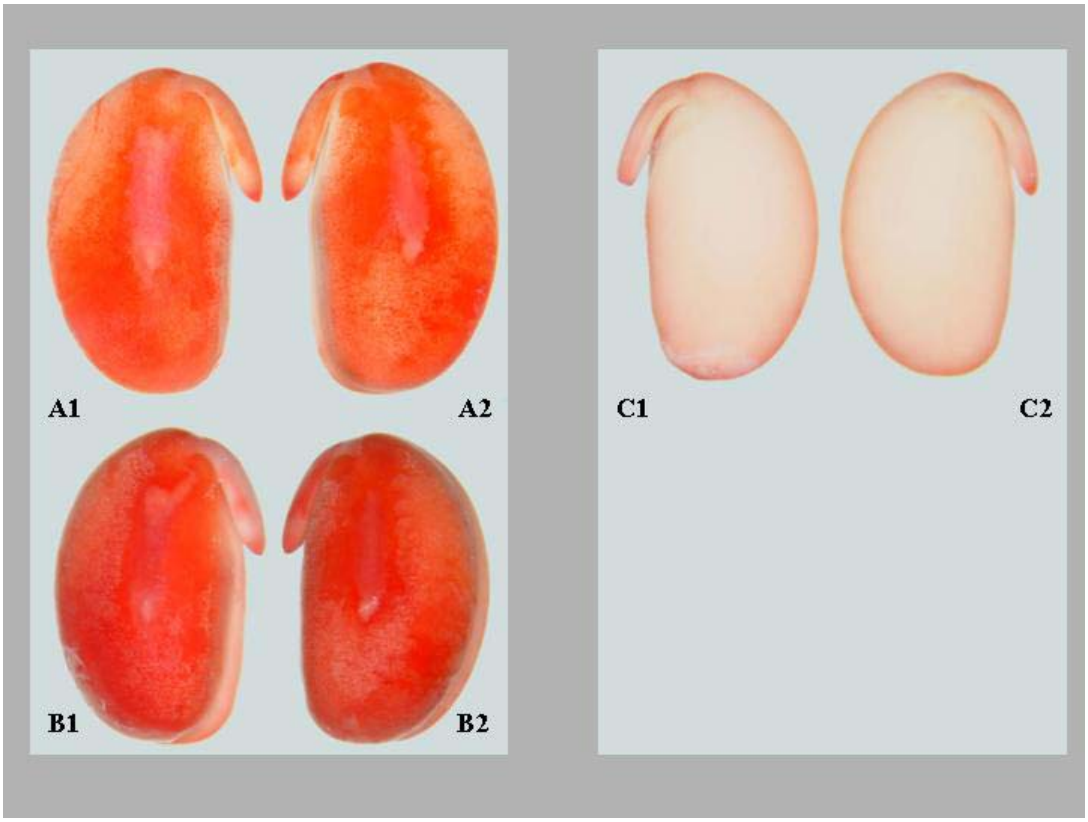
ภาพที่ 3.46 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 3 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว แสดงถึงเมล็ดที่มีชมพูจาง มีเนื้อเยื่อตายในตำแหน่งที่ 5

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีลักษณะผิดปกติ ไม่สมบูรณ์

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีชมพู และมีรอยแผลในตำแหน่งที่ 5

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีชมพูจาง ใบจริงมีสีชมพูเหลืองและไม่พัฒนา

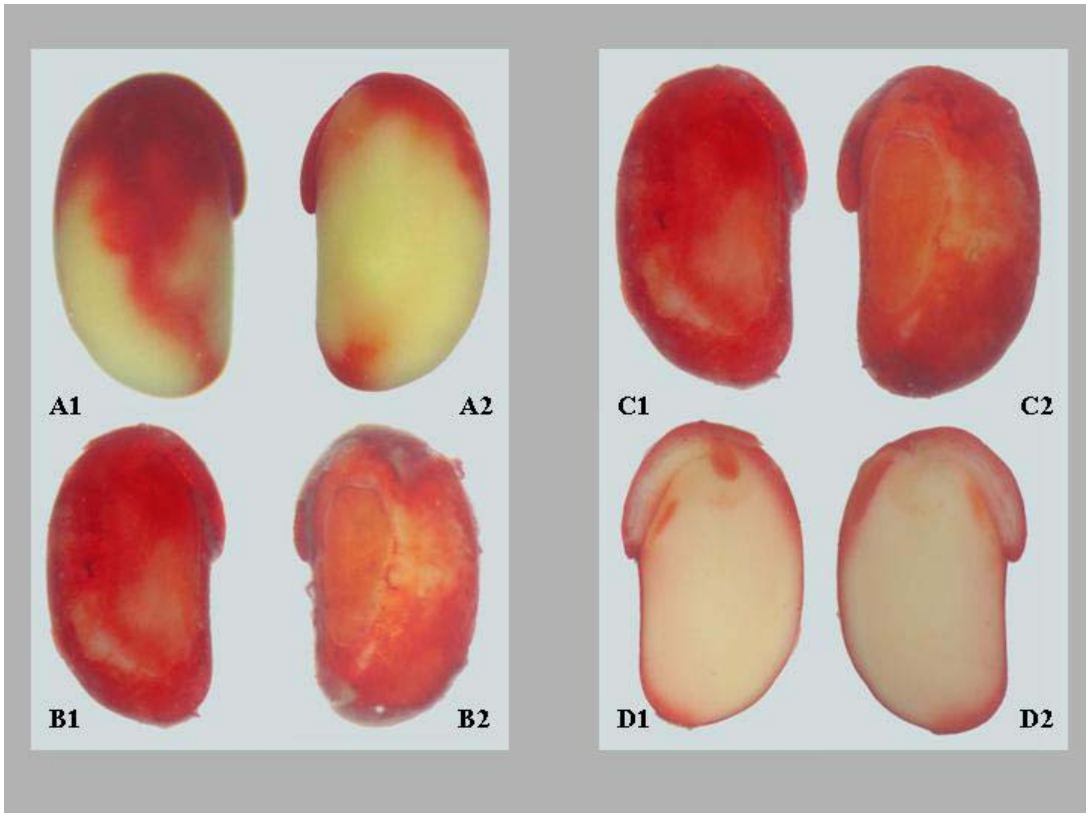


ภาพที่ 3.47 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 4 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีแดงช้ำเกือบทั่วเมล็ด มีส่วนไม่ติดสีในตำแหน่งที่ 1 และ 2

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดในภาพ A ไม่มีการงอกของเมล็ด เนื้อใบเลี้ยงมีสีแดงช้ำเกือบทั่วเมล็ด มีส่วนไม่ติดสีในตำแหน่งที่ 1 และ 2

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีชมพูจาง ใบจริงไม่ติดสีมีขนาดเล็ก และไม่มีการพัฒนา



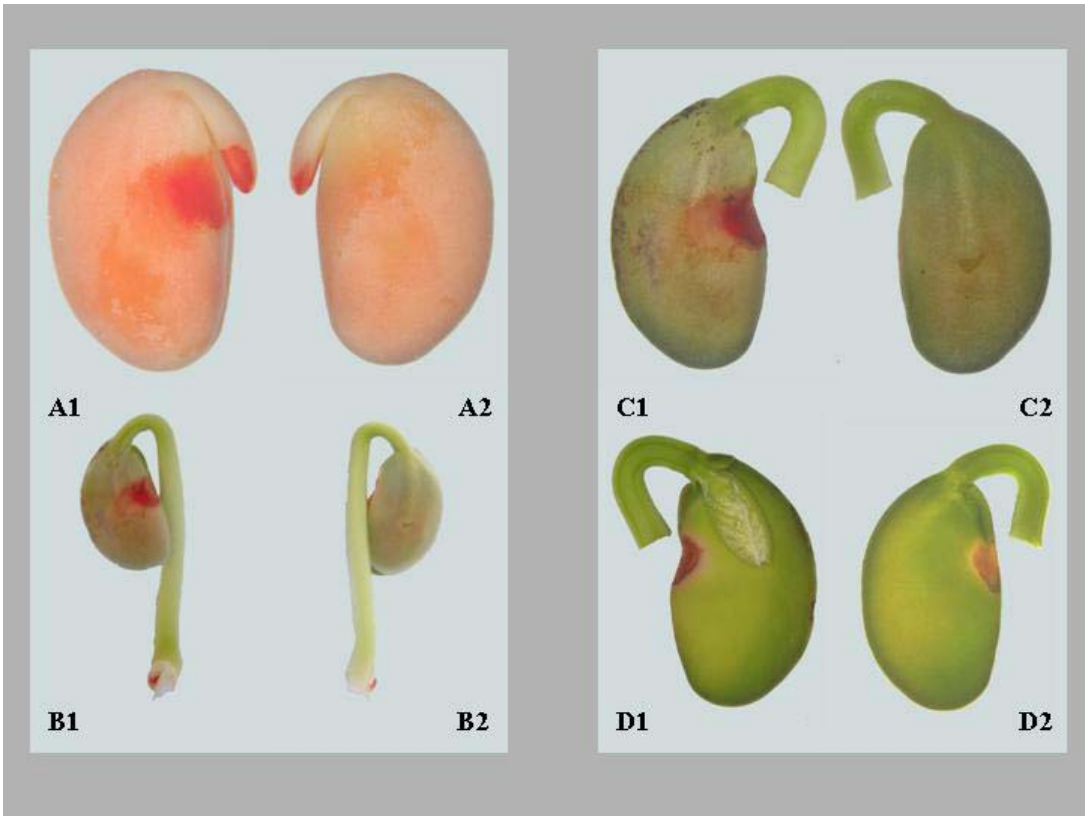
ภาพที่ 3.48 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 5 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีแดงช้ำ มีบริเวณติดสีเหลืองอมเขียวเป็นบริเวณกว้าง (อาการเมล็ดเขียว)

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดในภาพ A ไม่มีการงอกของเมล็ด ใบเลี้ยงมีแดงช้ำทั่วทั้งเมล็ด และมีลักษณะนิ่ม

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีแดงช้ำทั้งเมล็ด

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีชมพูจาง ใบจริงมีสีแดง ส่วนตำแหน่งที่ 1 และ 2 เป็นบริเวณที่ไม่ติดสี



ภาพที่ 3.49 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 6 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม มีรอยแดงช้ำในตำแหน่งที่ 1 และ 4

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดในภาพ A ไม่มีการพัฒนาของ primary root

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียว มีรอยแผลในตำแหน่งที่ 4

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ใบจริงมีสีเขียวอ่อน มีรอยแผลในตำแหน่งที่ 4

ภาพที่ 3.50 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 7 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม มีเนื้อเยื่อตายในตำแหน่งที่ 1 และ 4

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดในภาพ A ไม่มีการพัฒนาของ primary root

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านนอกของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีชมพูอมส้ม มีรอยแผลในตำแหน่งที่ 4

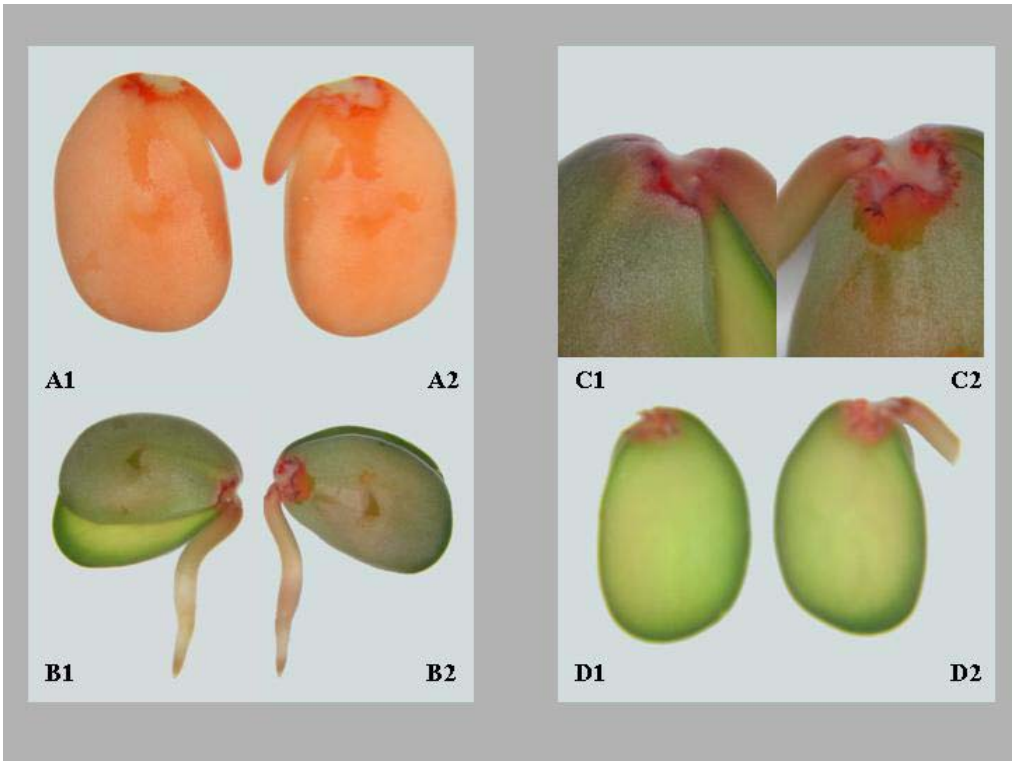
D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเหลืองส้ม ใบจริงมีสีเหลืองขนาดเล็ก

ภาพที่ 3.51 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 8 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม มีรอยแดงช้ำในตำแหน่งที่ 1 และ 2

B 1-2 และ C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดในภาพ A ไม่มีการพัฒนาของ primary root และ hypocotyl ผิดปกติ ไม่มีการพัฒนาของ embryonic axis

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ไม่พบใบจริง เนื่องจากมีรอยแผลด้านในของใบเลี้ยง



ภาพที่ 3.52 การติดสีจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในกลุ่มที่ไม่มีชีวิต (ungerminable) แบบที่ 9 และต้นอ่อนที่งอกจากเมล็ดเดียวกัน

A 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดที่ย้อมแล้ว เมล็ดมีสีชมพูอมส้ม มีเนื้อเยื่อตายในตำแหน่งที่ 3

B 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดในภาพ A ต้นอ่อนมีขนาดเล็กมาก

C 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของเมล็ดในภาพ A มีรอยแผลบริเวณตำแหน่งที่ 3 ของต้นอ่อนในภาพ B

D 1-2 ภาพด้านซ้ายและด้านขวาของใบเลี้ยงด้านในของต้นอ่อนในภาพ B ใบเลี้ยงมีสีเขียวอ่อน ไม่พบใบจริง เนื่องจากรอยแผลบริเวณตำแหน่งที่ 3 ส่งผลถึงการพัฒนาของใบจริง

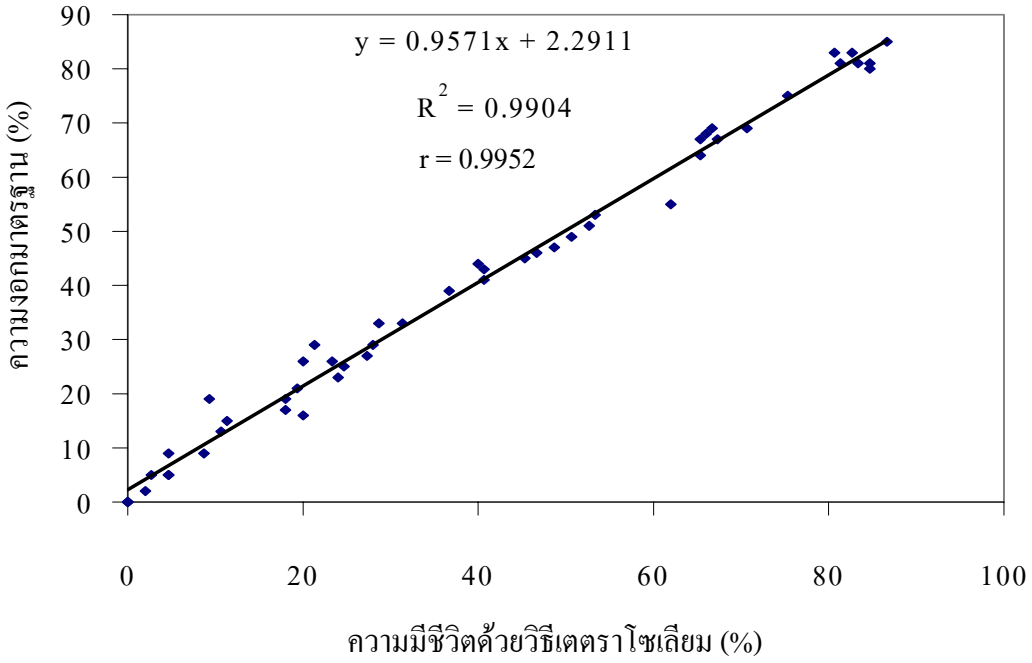
7. การศึกษาเพื่อสอบกลับความแม่นยำ (verification) ของวิธีเตตราโซเลียมในการประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง หลังจากการใช้เทคนิคการเพาะเมล็ดย้อมมาพัฒนาจนได้รูปแบบการติดสี เพื่อประเมินคุณภาพความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองแล้ว ขั้นตอนต่อไปเป็นกระบวนการการศึกษาเพื่อสอบกลับ (verification) ความแม่นยำของวิธีการตรวจสอบเตตราโซเลียมที่พัฒนาขึ้น โดยการนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองต่างสายพันธุ์กันจำนวน 50 ชุดตัวอย่าง มาตรวจสอบความงอกมาตรฐานและความแข็งแรงโดยวิธีเร่งอายุและความงอกในแปลงปลูก นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจสอบที่ได้จากวิธีเตตราโซเลียมที่พัฒนาขึ้นจากเทคนิคการเพาะเมล็ดย้อมดังกล่าว

ผลจากการศึกษา พบว่า การตรวจสอบความงอกมาตรฐานและผลการตรวจสอบความมีชีวิตด้วยวิธีเตตราโซเลียมด้วยเทคนิคการงอกของเมล็ดย้อมได้ผลไปในทิศทางเดียวกัน มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์(correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.9952 เมื่อตรวจสอบความแตกต่างของทั้ง 2 วิธีด้วยวิธี t-test ของเมล็ดแต่ละชุดตัวอย่าง พบว่า เปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานและค่าความมีชีวิตโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ทั้ง 50 ชุดเมล็ดตัวอย่างให้ค่าไม่แตกต่างกันที่ระดับนัยสำคัญยิ่ง (0.01) (ภาพที่ 3.54 และตารางที่ 3.2) ผลการทดลองนี้จึงแสดงว่าวิธีการเตตราโซเลียมที่พัฒนาขึ้นมีความแม่นยำสูงมากเมื่อใช้ตรวจสอบความมีชีวิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

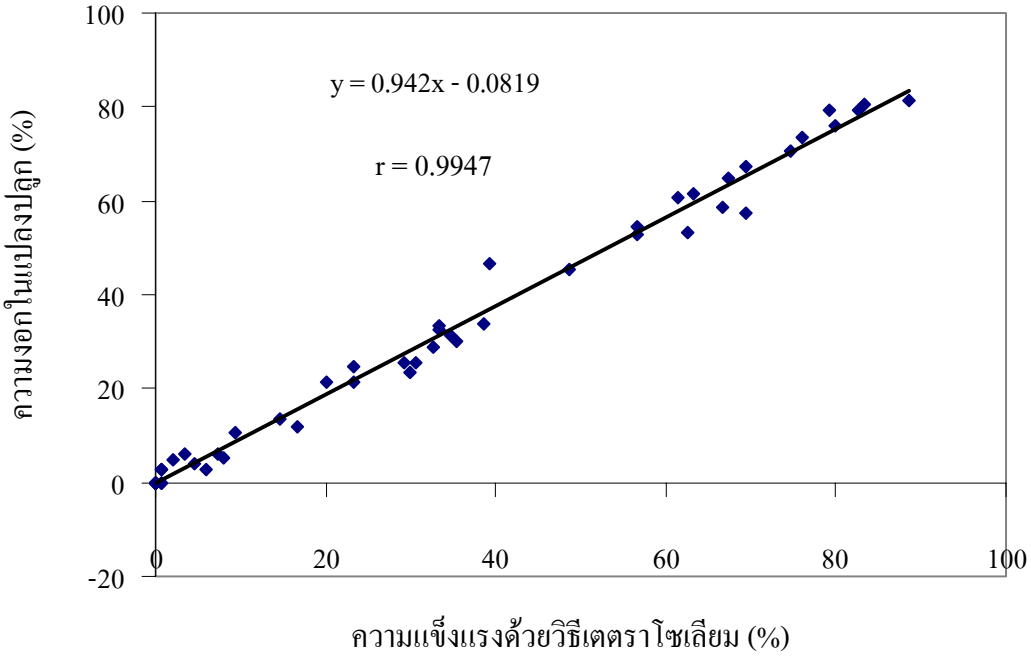
ในการเปรียบเทียบการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยการตรวจสอบความงอกในแปลงปลูกกับการตรวจสอบความแข็งแรงโดยวิธีเตตราโซเลียมที่พัฒนาด้วยเทคนิคการงอกของเมล็ดย้อม พบว่าผลการตรวจสอบทั้ง 2 วิธีให้ค่าที่ใกล้เคียงกัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9947 ทั้งนี้เมื่อตรวจสอบความแตกต่างของทั้ง 2 วิธีด้วยวิธี t-test ของเมล็ดแต่ละชุดตัวอย่าง พบว่า ผลการตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ทั้ง 50 ชุดตัวอย่าง ทั้ง 2 วิธีให้ค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ที่ระดับนัยสำคัญยิ่ง (0.01) (ภาพที่ 3.54 และตารางที่ 3.2) ส่วนการเปรียบเทียบการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์กับการตรวจสอบเตตราโซเลียมที่พัฒนาด้วยเทคนิคการงอกของเมล็ดย้อม พบว่า มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9852 ทั้งนี้เมื่อตรวจสอบความแตกต่างของทั้ง 2 วิธีด้วยวิธี t-test ของเมล็ดแต่ละชุดตัวอย่าง พบว่า การตรวจสอบเมล็ดพันธุ์ทั้ง 50 ชุดเมล็ดตัวอย่างทั้ง 2 วิธีให้ค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญยิ่ง (0.01) (ภาพที่ 3.55 และตารางที่ 3.3)

การทดลองนี้สามารถยืนยันได้ชัดเจนว่า ผลการตรวจสอบความแข็งแรงโดยวิธีเตตราโซเลียมที่พัฒนาขึ้นมีความแม่นยำสูงในการประเมินความแข็งแรงของเมล็ด โดยมีค่าไม่แตกต่างจากเปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลงปลูกและการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ อย่างไรก็ตาม จากการเปรียบเทียบค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่คำนวนได้ พบว่า การเปรียบเทียบกับการตรวจสอบความงอกในแปลงปลูก มีค่าสูงกว่าการเปรียบเทียบกับการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยการ

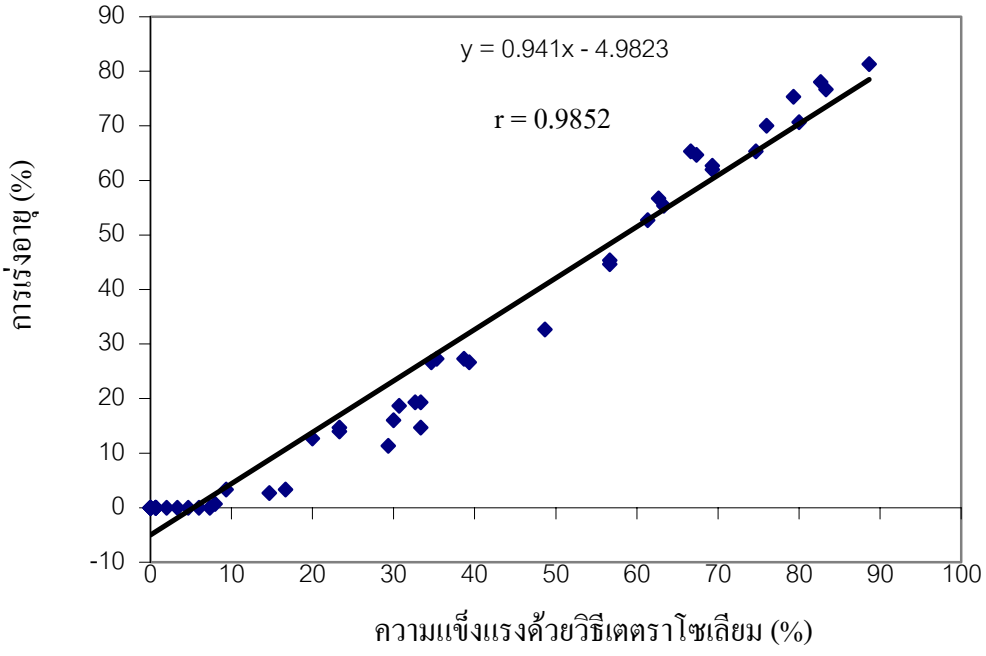
ตรวจสอบการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ แสดงว่าการประมินผลความแข็งแรงตามวิธีเตตราโซเลียมที่พัฒนามาด้วยเทคนิคการงอกของเมล็ดย้อม ให้ค่าใกล้เคียงกับผลการตรวจสอบความงอกในแปลงปลูกมากกว่าการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์



ภาพที่ 3.53 ความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานกับความมีชีวิตโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จำนวน 50 ชุดตัวอย่าง



ภาพที่ 3.54 ความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลงปลูกกับความแข็งแรงโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จำนวน 50 ชุดตัวอย่าง



ภาพที่ 3.55 ความสัมพันธ์ของเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ตรวจสอบโดยวิธีการเร่งอายุกับวิธีตรวจสอบเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง จำนวน 50 ชุดตัวอย่าง

ตารางที่ 3.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานและความมีชีวิตที่ตรวจสอบโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 50 ชุดตัวอย่าง

ชุดตัวอย่าง	พันธุ์	ความมีชีวิต (%)	
		การตรวจสอบความงอกมาตรฐาน	การตรวจสอบความมีชีวิตโดยวิธีการเตตราโซเลียม
1	เชียงใหม่ 60	67	67.33
3	สจ.5	0	0
5	เชียงใหม่ 60	39	36.67
7	สจ.5	81	83.33
10	สจ.5	81	84.67
17	เชียงใหม่ 60	53	53.33
18	เชียงใหม่ 60	33	31.33
19	สจ.5	64	65.33
48	เชียงใหม่ 60	69	70.67
49	สจ.5	19	18
50	สจ.5	29	28
51	เชียงใหม่ 60	23	24
52	เชียงใหม่ 60	17	18
53	สจ.5	9	8.67
54	เชียงใหม่ 60	49	50.67
55	สจ.5	0	0
56	สจ.5	55	62
57	เชียงใหม่ 60	21	19.33
58	เชียงใหม่ 60	45	45.33
59	เชียงใหม่ 60	5	2.67
60	มข.35	13	10.67
61	มข.35	47	48.67
62	มข.35	5	4.67
63	มข.35	80	84.67
64	มข.35	44	40
65	สจ.4	51	52.67
66	สจ.4	41	40.67

ตารางที่ 3.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานและความมีชีวิตที่ตรวจสอบโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 50 ชุดตัวอย่าง (ต่อ)

ชุดตัวอย่าง	พันธุ์	ความมีชีวิต (%)	
		การตรวจสอบความงอกมาตรฐาน	การตรวจสอบความมีชีวิตโดยวิธีการเตตราโซเลียม
67	สจ.4	19	9.33
68	จพ.1	43	40.67
69	จพ.1	16	20
70	จพ.1	83	80.67
71	จพ.1	83	82.67
72	จพ.1	5	4.67
73	เชียงใหม่ 60	33	28.67
74	เชียงใหม่ 60	15	11.33
75	สจ.5	25	24.67
77	สจ.5	2	2
78	เชียงใหม่ 60	9	4.67
81	เชียงใหม่ 60	27	27.33
82	สท.2	0	0
83	สท.2	75	75.33
84	สท.2	26	23.33
85	เชียงใหม่ 2	29	21.33
86	เชียงใหม่ 2	46	46.67
87	เชียงใหม่ 2	69	66.67
88	เชียงใหม่3	26	20
90	เชียงใหม่3	81	81.33
91	เชียงใหม่ 60	67	65.33
92	เชียงใหม่ 60	85	86.67
93	เชียงใหม่ 60	68	66
	เฉลี่ย	39.44	38.81

ตารางที่ 3.2 เปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลงปลูกและความแข็งแรงที่ตรวจสอบโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 50 ชุดตัวอย่าง

ชุดตัวอย่าง	พันธุ์	ความแข็งแรง (%)	
		การตรวจสอบความงอกในแปลงปลูก	การตรวจสอบความแข็งแรงวิธีการเตตราโซเลียม
1	เชียงใหม่ 60	52.67	56.67
3	สจ.5	0	0.00
5	เชียงใหม่ 60	25.33	30.67
7	สจ.5	73.33	76.00
10	สจ.5	79.33	82.67
17	เชียงใหม่ 60	31.33	34.67
18	เชียงใหม่ 60	28.67	32.67
19	สจ.5	64.67	67.33
48	เชียงใหม่ 60	58.67	66.67
49	สจ.5	4.67	2.00
50	สจ.5	24.67	23.33
51	เชียงใหม่ 60	10.67	9.33
52	เชียงใหม่ 60	4	4.67
53	สจ.5	0	0.00
54	เชียงใหม่ 60	54.67	56.67
55	สจ.5	0	0.00
56	สจ.5	53.33	62.67
57	เชียงใหม่ 60	6	3.33
58	เชียงใหม่ 60	32.67	33.33
59	เชียงใหม่ 60	0	0.00
60	มข.35	2.67	0.67
61	มข.35	46.67	39.33
62	มข.35	0	0.00
63	มข.35	57.33	69.33
64	มข.35	34	38.67
65	สจ.4	45.33	48.67
66	สจ.4	30	35.33

ตารางที่ 3.2 เปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลงปลูกและความแข็งแรงที่ตรวจสอบโดยวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 50 ชุดตัวอย่าง(ต่อ)

ชุดตัวอย่าง	พันธุ์	ความแข็งแรง (%)	
		การตรวจสอบความงอกในแปลงปลูก	การตรวจสอบความแข็งแรงวิธีการเตตราโซเลียม
67	สจ.4	5.33	8.00
68	จพ.1	21.33	23.33
69	จพ.1	2.67	0.67
70	จพ.1	76	80.00
71	จพ.1	81.33	88.67
72	จพ.1	0	0.00
73	เชียงใหม่ 60	23.33	30.00
74	เชียงใหม่ 60	0	0.67
75	สจ.5	6	7.33
77	สจ.5	0	0.67
78	เชียงใหม่ 60	2.67	6.00
81	เชียงใหม่ 60	25.33	29.33
82	สท.2	0	0.00
83	สท.2	70.67	74.67
84	สท.2	21.33	20.00
85	เชียงใหม่ 2	13.33	14.67
86	เชียงใหม่ 2	33.33	33.33
87	เชียงใหม่ 2	67.33	69.33
88	เชียงใหม่3	12	16.67
90	เชียงใหม่3	80.67	83.33
91	เชียงใหม่ 60	61.33	63.33
92	เชียงใหม่ 60	79.33	79.33
93	เชียงใหม่ 60	60.67	61.33
	เฉลี่ย	31.29	33.31

ตารางที่ 3.3 เปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ตรวจสอบโดยวิธีการเร่งอายุและวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 50 ชุดตัวอย่าง

ชุดตัวอย่าง	พันธุ์	ความแข็งแรง (%)	
		การตรวจสอบการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์	การตรวจสอบความแข็งแรงวิธีการเตตราโซเลียม
1	เชียงใหม่ 60	44.67	56.67
3	สจ.5	0	0.00
5	เชียงใหม่ 60	18.67	30.67
7	สจ.5	70	76.00
10	สจ.5	78	82.67
17	เชียงใหม่ 60	26.67	34.67
18	เชียงใหม่ 60	19.33	32.67
19	สจ.5	64.67	67.33
48	เชียงใหม่ 60	65.33	66.67
49	สจ.5	0	2.00
50	สจ.5	14.67	23.33
51	เชียงใหม่ 60	3.33	9.33
52	เชียงใหม่ 60	0	4.67
53	สจ.5	0	0.00
54	เชียงใหม่ 60	45.33	56.67
55	สจ.5	0	0.00
56	สจ.5	56.67	62.67
57	เชียงใหม่ 60	0	3.33
58	เชียงใหม่ 60	14.67	33.33
59	เชียงใหม่ 60	0	0.00
60	มข.35	0	0.67
61	มข.35	26.67	39.33
62	มข.35	0	0.00
63	มข.35	62.67	69.33
64	มข.35	27.33	38.67
65	สจ.4	32.67	48.67
66	สจ.4	27.33	35.33

ตารางที่ 3.3 เปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ตรวจสอบโดยวิธีการเร่งอายุและวิธีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 50 ชุดตัวอย่าง (ต่อ)

ชุดตัวอย่าง	พันธุ์	ความแข็งแรง (%)	
		การตรวจสอบการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์	การตรวจสอบความแข็งแรงวิธีการเตตราโซเลียม
67	สจ.4	0.67	8.00
68	จพ.1	14	23.33
69	จพ.1	0	0.67
70	จพ.1	70.67	80.00
71	จพ.1	81.33	88.67
72	จพ.1	0	0.00
73	เชียงใหม่ 60	16	30.00
74	เชียงใหม่ 60	0	0.67
75	สจ.5	0	7.33
77	สจ.5	0	0.67
78	เชียงใหม่ 60	0	6.00
81	เชียงใหม่ 60	11.33	29.33
82	สท.2	0	0.00
83	สท.2	65.33	74.67
84	สท.2	12.67	20.00
85	เชียงใหม่ 2	2.67	14.67
86	เชียงใหม่ 2	19.33	33.33
87	เชียงใหม่ 2	62	69.33
88	เชียงใหม่3	3.33	16.67
90	เชียงใหม่3	76.67	83.33
91	เชียงใหม่ 60	55.33	63.33
92	เชียงใหม่ 60	75.33	79.33
93	เชียงใหม่ 60	52.67	61.33
	เฉลี่ย	26.36	33.31

บทที่ 5
การอภิปรายผล

การทดลองที่ 1 การศึกษาความเป็นพิษของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

เมื่อพิจารณาจากคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ทั้งสองพันธุ์ที่ย้อมด้วยเตตราโซเลียม ความเข้มข้น 0.000-1.000 % เทียบกับเมล็ดแห้ง สรุปได้ดังนี้

1. การย้อมถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์ด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้น 0.050 %เป็นระดับที่ปลอดภัยที่สุด โดยไม่พบความเป็นพิษของสารเตตราโซเลียมในทุกกรณี คือ ไม่มีผลต่อความงอกมาตรฐานและความแข็งแรงที่ตรวจโดยวิธีวัดความยาวยอด ราก และน้ำหนักแห้งของต้นกล้า

2. ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้น 0.075 % เป็นระดับที่สูงสุดที่ปลอดภัยต่อถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์ ในกรณีของความแข็งแรงที่ตรวจวัดโดยการวัดความยาวของยอดและน้ำหนักแห้ง แต่มีผลต่อความยาวราก

3.ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้น 0.100 % เป็นระดับที่สูงสุดที่ปลอดภัยต่อถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์ ในกรณีของความงอกมาตรฐาน แต่มีผลความยาวของราก และยอด และน้ำหนักแห้งของต้นอ่อน

จึงสรุปได้ว่า สารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้น 0.100 % สามารถใช้ย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ. 5 และ ชม. 60 ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงครึ่งได้ โดยไม่มีผลต่อความงอกมาตรฐาน ส่วนสารละลายเตตราโซเลียมที่ความเข้มข้น 0.050 % ปลอดภัยต่อความงอกมาตรฐานและความแข็งแรงของต้นกล้า ทั้งนี้สารละลายเตตราโซเลียมจะเป็นพิษ ซึ่งปรากฏให้เห็นในส่วนของความยาวของรากแก้ว ความยาวของลำต้นกล้า(hypocotyl) และน้ำหนักแห้งของต้นกล้า

ดังนั้นการที่ AOSA (1983) ได้กำหนดให้ใช้สารละลายที่ระดับความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์โดยวิธีเตตราโซเลียม ซึ่งเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสูญเสียความงอกหลังการย้อม แต่ที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีผลทำให้เมล็ดสูญเสียความงอก สามารถนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ย้อมแล้วไปเพาะให้งอกได้ตามปกติ แต่ความยาวของลำต้นและรากจะสั้นลงเล็กน้อย จึงสามารถนำเทคนิคนี้ไปหารูปแบบการติดสีที่เหมาะสมของเตตราโซเลียมโดยวิธีการ

เพาะความงอกของเมล็ดย้อมเปรียบเทียบกับต้นอ่อนที่เจริญมาจากเมล็ดเดียวกันได้ (germination of TZ stained seed)

4. ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้น 0.250 % เป็นระดับที่มีผลต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์ มีผลทำให้ความงอกลดลงเหลือเพียง 20 เปอร์เซ็นต์โดยเฉลี่ย

5. ความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้น 0.500 % หรือสูงกว่าเป็นระดับที่ทำให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองทั้งหมดตายหรือสูญเสียความงอก ไม่สามารถนำเมล็ดที่ย้อมสีแล้วไปใช้ปลูกต่อไป

กรณีที่เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ย้อมในน้ำกลั่น (TZ 0.000 % หรือ control 2) มีความแข็งแรงโดยวิธีวัดความยาวยอด และ รากของต้นอ่อน และน้ำหนักแห้งของต้นอ่อนสูงกว่าเมล็ดแห้ง (control 1) มีเหตุผลมาจากที่เมล็ดดังกล่าวนอกจากไม่ได้รับอันตรายจากพิษของสารละลายเตตราโซเลียม เมล็ดยังได้รับการบ่มในกระดาษชื้นเป็นเวลา 16 ชั่วโมง และแช่ในน้ำกลั่นอีก 1 ชั่วโมงครึ่ง ทำให้เมล็ดเกิดการดูดซับน้ำและเกิดกระบวนการเมตาบอลิซึม การหายใจ และกระบวนการงอกไปล่วงหน้า ทำให้มีการเจริญเติบโตของต้นอ่อนที่เร็วกว่าเมล็ดแห้ง หรือ เป็นกระบวนการ seed priming นั่นเอง

การทดลองที่2 การศึกษาอิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเหลือง พันธุ์ สจ. 5 และ เชียงใหม่ 60

จากผลการทดลองที่ 1 ที่พบว่าความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ 0.1 % ที่ใช้ย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง แม้จะไม่ทำลายความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง แต่ยังคงมีผลต่อความแข็งแรงของต้นอ่อน จึงศึกษาต่อเนื่องถึงความเป็นพิษของสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับ 0.1 % ที่ใช้ย้อมเมล็ดพันธุ์ว่าจะมีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของต้นและผลผลิตถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์หรือไม่

จากผลการทดลอง พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่มีความเข้มข้นไม่เกิน 0.1 %ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองด้านความสูง น้ำหนักแห้ง และ องค์ประกอบของผลผลิตของถั่วเหลือง แต่พบความแตกต่างที่เป็นผลจากระดับความมีชีวิตของเมล็ดและพันธุ์ของถั่วเหลือง อย่างไรก็ตามเมื่อต้นถั่วเหลืองเจริญเติบโตได้ระยะหนึ่งความสูงของต้นถั่วเหลืองจะไม่แตกต่างกัน

ดังนั้นจึงเป็นการยืนยันผลของการทดลองที่ 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับความเข้มข้น 0.1 % ไม่มีผลต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่ว

เหลือง สามารถนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการย้อมที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าวมาเพาะเพื่อตรวจสอบยืนยันผลการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธ์ด้วยวิธีเตตราโซเลียมได้

การทดลองที่ 3. การใช้เทคนิคการงอกของเมล็ดย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียมพัฒนารูปแบบการติดสีเพื่อประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

จากการทดลองที่ 1 ที่พบว่าความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมที่ระดับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำลายความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง พันธุ์ สจ.5 และ ชม.60 จึงนำเทคนิคการเพาะเมล็ดย้อมของวิธีเตราโซเลียมมาพัฒนารูปแบบการติดสีเพื่อประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ให้เป็นรูปธรรมและแม่นยำมากขึ้น

จากผลการทดลองพบว่า เทคนิคการเพาะเมล็ดย้อมของวิธีเตตราโซเลียม โดยการถ่ายภาพเมล็ดย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม เทียบกับต้นอ่อนอายุ 3 วันหลังเพาะความงอกในเมล็ดเดียวกัน สามารถนำมาพัฒนารูปแบบการติดสีของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้เป็นอย่างดี ทำให้การประเมินความมีชีวิตและความแข็งแรงให้แม่นยำและเป็นรูปธรรมมากกว่าที่มีการรายงานไว้ โดยมีผลสรุปได้ดังนี้

1. สีของใบเลี้ยงด้านนอกและความเข้มของสีใบเลี้ยง สามารถนำมาจำแนกความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้ โดยพบความสัมพันธ์ของความเข้มของการติดสีกับอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์

2. การติดสีที่บ่งบอกถึงการเสื่อมคุณภาพของเนื้อเยื่อ ในส่วนของเมล็ดในตำแหน่งต่างๆ 7 ตำแหน่ง ความสำคัญของแต่ละส่วนมีผลต่อความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง การเสื่อมคุณภาพของเนื้อเยื่อในตำแหน่งของ radicle, hypocotyl และรอยต่อของ hypocotyl และ cotyledon และตอนบนของ cotyledon เหนือ hilum (ตำแหน่งที่ 1-4) มีผลอย่างยิ่งยวดต่อความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ส่วนการเสื่อมคุณภาพของเนื้อเยื่อ ในตำแหน่งของใบเลี้ยงส่วนอื่นๆ ไม่มีผลอย่างรุนแรงต่อความมีชีวิตแต่ส่งผลต่อความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ของต้นกล้าที่จะงอกต่อไป

3. การติดสีของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีลักษณะผิดปกติทางกายภาพต่างๆ ได้แก่ เมล็ดบวม เมล็ดปริ เมล็ดย่น เมล็ดลีบ เมล็ดเขียว เมล็ดร้าว เมล็ดสีม่วง และ เมล็ดที่ถูกแมลงทำลาย ได้รูปแบบการติดสีของลักษณะดังกล่าวและพบความสัมพันธ์ของความมีชีวิตและความแข็งแรงที่ชัดเจน

4. การจำแนกคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีอาการเสื่อมคุณภาพด้านใน cotyledon ของเป็นอีกหนึ่งวิธีการในการช่วยจำแนกคุณภาพเมล็ดพันธุ์ให้มีความถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น ซึ่งจากการศึกษา พบว่า ความผิดปกติภายในเมล็ดพันธุ์มีส่วนสัมพันธ์กับตำแหน่งความผิดปกติที่ปรากฏอยู่ภายนอกเมล็ดพันธุ์

5. จากการนำประสบการณ์การตรวจสอบในการจัดทำรูปแบบการติดสีเทียบกับผลการตรวจสอบความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจำนวนมากมายหลายชุดตัวอย่างจนชำนาญ จึงใช้ประสบการณ์ความชำนาญนี้ไปยืนยันผลกับการประเมินคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองจำนวน 50 ชุดตัวอย่าง พบว่ารูปแบบการติดสีถั่วเหลืองสามารถประเมินความมีชีวิตและความงอกในแปลงปลูกได้อย่างแม่นยำ และ มีความสัมพันธ์ในระดับสูงกับผลการตรวจสอบความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุ

6. หากอ้งอิงตามหลักการทางวิชาการแล้ว จะพบว่าวิธีการตรวจสอบความแข็งแรงที่เหมาะสมจะมีค่าความสัมพันธืสูงกับความงอกในแปลงปลูกเท่านั้น แต่จะยังไม่มีวิธีปกติทั่วไปที่จะสามารถบ่งบอกว่าค่าความแข็งแรงจะเท่ากับหรือใกล้เคียงความงอกในแปลงปลูก แต่จากการวิเคราะห์ t-test ของค่าการตรวจสอบความแข็งแรงโดยเตตราโซเลียมกับความงอกในแปลงปลูกที่ไม่แตกต่างทางสถิติ และสังเกตตัวเลขการตรวจสอบแต่ละคู่ของค่าดังกล่าวของเมล็ดพันธุ์ 50 ชุดตัวอย่าง สามารถชี้ชัดได้ว่า ค่าความแข็งแรงโดยวิธีเตตราโซเลียมใกล้เคียงกับค่าความงอกในแปลงปลูกมาก ซึ่งเป็นกฎเกณฑ์ใหม่ด้านการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์เลยทีเดียว ดังนั้นจึงสามารถใช้ความแข็งแรงวิธีเตตราโซเลียมทำนายความงอกในแปลงปลูกได้

บทที่ 6
บทสรุป

1. จากการศึกษาความเป็นพิษของระดับความเข้มข้นของสารละลาย 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride ที่มีต่อการเจริญของถั่วเหลือง สามารถสรุปได้ว่าสารละลายเตตราโซเลียมส่งผลต่อการหดสั้นของ primary root ของต้นอ่อนถั่วเหลืองและการใช้สารละลายเตตราโซเลียมที่เจือจาง(0.1%) เป็นระดับที่ไม่ส่งผลต่อระดับความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ทั้งนี้สามารถใช้ความเข้มข้นของสารละลายดังกล่าวทดสอบความมีชีวิตด้วยวิธีเตตราโซเลียม และ นำเมล็ดเหล่านั้นมาทดสอบความงอกเพื่อยืนยันผลการตรวจสอบ ทำให้การตรวจสอบมีความแม่นยำมากขึ้น

2. ในสภาพแวดล้อมแปลงปลูกที่เหมาะสมการย้อมเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยสารละลาย TZ ที่ระดับความเข้มข้นที่ไม่สูงกว่า 0.1 % ไม่พบผลของความเป็นพิษที่ทำให้ต้นถั่วเหลืองเจริญเติบโตในด้านความสูง การสะสมน้ำหนักแห้ง และ การให้ผลผลิต แตกต่างจากการใช้เมล็ดพันธุ์แห้งปกติ โดยระดับสารละลายที่เมล็ดได้รับไม่มีความสัมพันธ์กับระดับความมีชีวิตและชนิดของพันธุ์ถั่วเหลือง จากความรู้นี้สามารถนำไปใช้พัฒนาการจัดทำรูปแบบมาตรฐานการติดสี (standard patterns) ของ TZ ในถั่วเหลืองที่เป็นรูปธรรมและแม่นยำมากขึ้น โดยถ่ายภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการย้อมด้วยสารละลาย TZ 0.1% (ไม่ผ่าเมล็ด) แล้วนำเมล็ดดังกล่าวไปทดสอบความงอกเพื่อพิจารณาว่าเป็นเมล็ดที่มีชีวิต หรือ เมล็ดตาย และ สังเกตอาการผิดปกติที่เกิดกับต้นอ่อนที่น่าจะสอดคล้องกับการติดสีในส่วนต่างๆ ของเมล็ด

3. ระดับความเข้มของการติดสีสารละลายเตตราโซเลียม ตำแหน่งความผิดปกติที่เกิดขึ้นบนเมล็ด ลักษณะอาการผิดปกติที่ปรากฏทั้งภายนอกและภายในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง เป็นปัจจัยที่บ่งชี้คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ตรวจสอบคุณภาพด้วยวิธีการตรวจสอบเตตราโซเลียมด้วยเทคนิคการงอกของเมล็ดย้อม

4. วิธีการตรวจสอบเตตราโซเลียมด้วยเทคนิคการงอกของเมล็ดย้อม เป็นวิธีการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์โดยแบ่งลักษณะเมล็ดหลังย้อมตามลักษณะความแข็งแรงของเมล็ดที่มีรายละเอียดในการจำแนกดังนี้

4.1 ลักษณะเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูง

เมล็ดพันธุ์มีสีเมล็ดหลังย้อมเป็นสีชมพูอ่อนถึงสีส้มอ่อน เมื่อนำไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยงเป็นสีเขียวทั้งนี้อาจมีบางส่วนเป็นสีแดง เมล็ดพันธุ์ต้องไม่มีรอยช้ำหรือ รอยแผล หรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในบริเวณตำแหน่งที่ 1, 2, และ 3 แต่อาจมีรอยช้ำในตำแหน่งที่ 4, 5, 6 และ ทั้งนี้ต้องไม่มีรอยแผลหรือเนื้อตายที่ย้อมไม่ติดสีในบริเวณดังกล่าว

4.2 กลุ่มเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงปานกลาง

เมล็ดพันธุ์ มีสีเมล็ดหลังย้อมเป็นสีส้มอ่อน หรือ เมื่อนำไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยง เป็นสีส้มแดง ต้องไม่มีรอยช้ำ หรือ รอยแผล หรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในบริเวณตำแหน่งที่ 1, 2, และ 3 ต้องไม่มีรอยแผล หรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในตอนบนของตำแหน่งที่ 4 นอกจากนี้อาจเป็นเมล็ดที่มีสีเมล็ดหลังย้อมเป็นสีชมพูอ่อน หรือ เมื่อนำไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยงเป็นสีเขียว ซึ่งมีรอยช้ำ หรือ รอยแผลหรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในบริเวณตอนล่างของตำแหน่งที่ 4 และตำแหน่งที่ 5, 6 และ 7 ทั้งนี้ขนาดของแผลต้องมีขนาดไม่เกินพื้นที่ ครึ่งหนึ่งของใบเลี้ยง

4.3 กลุ่มเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงต่ำ

เมล็ดพันธุ์ มีสีเมล็ดหลังย้อมเป็นสีแดง หรือ เมื่อนำไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยง เป็นสีชมพูถึงแดง ต้องไม่มีรอยช้ำ หรือ รอยแผล หรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในบริเวณตำแหน่งที่ 1, 2, และ 3 ต้องไม่มีรอยแผล หรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในตอนบนของตำแหน่งที่ 4 นอกจากนี้อาจเป็นเมล็ดพันธุ์ที่หลังย้อมเป็นสีส้มอ่อน หรือ เมื่อนำไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยงเป็นสีส้มแดง ซึ่งมีรอยช้ำ หรือ รอยแผลหรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในบริเวณตอนล่างของตำแหน่งที่ 4 และตำแหน่งที่ 5, 6 และ 7 ทั้งนี้ขนาดของแผลต้องมีขนาดไม่เกินพื้นที่ ครึ่งหนึ่งของใบเลี้ยง

4.4 กลุ่มเมล็ดพันธุ์ที่ไม่มีชีวิต (ungerminable)

เมล็ดพันธุ์ มีสีเมล็ดหลังย้อมเป็นสีแดงช้ำ จนถึง ย้อมไม่ติดสี หรือ เมื่อนำ ไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยง เป็นสีแดงช้ำ จนถึง ย้อมไม่ติดสี เมล็ดพันธุ์มีรอยช้ำหรือรอยแผล หรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในบริเวณตำแหน่งที่ 1, 2, 3 เป็นเมล็ดพันธุ์มีรอยแผล หรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสีในตอนบนของตำแหน่งที่ 4 นอกจากนี้อาจเป็นเมล็ดพันธุ์ที่มีสีเมล็ดหลังย้อมเป็นสีแดง หรือ เมื่อนำไปเพาะจะได้ต้นอ่อนที่มีใบเลี้ยง เป็นสีชมพูถึงแดง ซึ่งมีรอยช้ำ หรือ รอยแผลหรือ มีเนื้อเยื่อย้อมไม่ติดสี

5. จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าผลบวกของเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงสูง ปานกลางและ ต่ำ สามารถบ่งบอกถึงเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์หรือความมีชีวิต และผลบวกของเปอร์เซ็นต์เมล็ดพันธุ์ที่มีระดับความแข็งแรงสูง และปานกลาง หรือ TZ vigor สามารถบ่งบอกความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์และมีค่าใกล้เคียงกับเปอร์เซ็นต์ความงอกในแปลงปลูกด้วย ซึ่งผลการศึกษานี้ได้

รูปแบบการติดสีเตตราโซเลียมของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ให้การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์เตตราโซเลียมที่มีความแม่นยำและเป็นรูปธรรมมากขึ้น

6. เทคนิคการงอกของเมล็ดย้อมของถั่วเหลืองสามารถนำไปพัฒนาสื่อการสอนด้วยคอมพิวเตอร์ (computer aid instruction, CAI) ของวิธีการตรวจสอบวิธีเตตราโซเลียมได้เป็นอย่างดี ทำให้ประหยัดสารเคมีที่มีราคาแพง โดยทำการฝึกปฏิบัติกับเครื่องคอมพิวเตอร์ก่อนจนมีความชำนาญระดับหนึ่งแล้วจึงค่อยลงมือปฏิบัติจริง

7. เทคนิคการงอกของเมล็ดย้อมของถั่วเหลืองสามารถนำไปเป็นต้นแบบเพื่อพัฒนาจัดทำรูปแบบการติดสีของเตตราโซเลียมที่ดีกว่าเดิมในเมล็ดพันธุ์ชนิดอื่นได้อีกด้วย

รายการอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. (2545). **นโยบายการผลิตและส่งเสริมการปลูกถั่วเหลือง** [ออนไลน์]. ได้จาก: http://www.doae.go.th.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. (2529). **การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์**. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ. 194 น.

นงลักษณ์ ประกอบบุญ. (2524). การใช้เตตราโซเลียมเพื่อประเมินผลความมีชีวิตของเมล็ดถั่วเหลืองจากการนวดวิธีต่างๆ.**วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**. 14(5) : 209-223.

ธวัชชัย ทีฆชุณหเถียร วสุ อมฤตสุทธิ์ เชิดชาย วังคำ วราภรณ์ จักกรณ์ และ เบญจวรรณ โชติมนทิน. (2544). การพัฒนารูปแบบการติดสีของเมล็ดจากการย้อมด้วยสารละลายเตตราโซเลียม ความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง. ใน **รายงานการประชุมวิชาการถั่วเหลืองแห่งชาติ ครั้งที่ 8**.

Agrawal, P.K. and Surinder, K. (1975). Standard of the tetrazolium test for ragi (*Eleusine coracana*) seeds. **Seed Sci. & Technol**. 3(2): 565-568.

AOSA. (1983). **Seed vigor testing handbook**. Proc. Assoc. Off. Seed Anal. Cont. No.32.

Bittencourt, S.R.M. and Vieira, R.D. (1997). Use of reduced concentrations of tetrazolium solution for the evaluation of the viability of peanut seed lots. **Seed Sci. & Technol**. 25(1): 75-82.

Bittencourt, S.R.M., Vieira, R.D. and Rodrigques, T.J.D. (1997). Criteria for peanut seed pre-conditioning for the tetrazolium test. **Seed Sci. & Technol**. 25(3): 337-342.

Carbonel, S.A.M., Krzyzanowski, F.C. and Mesquita, C.M. (1998). A device to impact on soybean seeds for screening genotypes for resistance to mechanical damage. **Seed Sci. & Technol**. 26(1): 45-52.

Copeland, L.D and McDonald, M.B. (1995). **Principle of seed science and technology**. Chapman & Hall, New York. 409 p.

Cottrell, H.J. (1948). Tetrazolium salt as a seed germination indicator. **Ann. Appl. Biol.** 35(1): 123-131.

Dacosta N.P. and Marcos, F.J. (1994). Alternative methodology for the tetrazolium test for soybean seeds. **Seed Sci. & Technol**. 22(1): 9-17.

Dacosta N.P., Neto, J.D.F., Krzyzanowski, F.C., Henning, A.A. and Deoliveira, M.C.N. (1997). Effect of temperature and imbibition time of soybean seed for the tetrazolium test. **Arqu. de Biol. e Technol**. 10(1): 169-177.

_____. (1998). An alternative procedure in the tetrazolium test for soybean seed. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**. 33(6): 869-877.

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.

Deswel, D.P. and Chand, U. (1997). Standardization of the tetrazolium test for viability estimation in ricebean (Vigna umbellate (Thunb.) Ohwi & ohashi) seeds. **Seed Sci. & Technol**. 25(1): 409-417.

Don, R., Bartz, J., Bryant, G.F.M., Geffen, A.V., Lunn, G., Overaa, P. and Steiner, A.M. (1990). Germination and tetrazolium testing of treated barley seed samples from glyphosate treated crops in seven ISTA. **Seed Sci. & Technol**. 18(3): 641-651.

Enescu, V. (1997). The tetrazolium programme. **Seed Sci. & Technol**. 5(4): 806-808.

Gopal, M. and Thapliyal, R.C. (1969). Topographical tetrazolium test for Indian tree seeds. Van-Vigyan, (1)Dehra Dum. 7(1):37-45.

Grabe, F.D. (1970). **Tetrazolium testing handbook for agricultural seed**. Association of Official Seed Analysts. 62 p.

Gupta, B.N. and Raturi, A.S (1975). Tetrazolium staining of seeds for interpretation of viability of six Indian tree species. **Indian for**. 101, 659-973.

Hampton, J.G. (1995). Method of viability and vigor testing a critical appraisal. In S. B. Amarjit (ed.). **Seed quality: mechanisms and agricultural implications**. (pp 81-118). Food production press, New York.

Hecker, R.J. (1963). Use of tetrazolium salts in determining viability of sugar beet pollen. **Am. Soc. Sugar Beet Technol**. 12(6) : 521-528

Hill, K. (1994). **Seed quality assessment**. Seed Technology Centre, Massey University, NewZealand. 91 p.

Hill, M.J. (2001). Seed quality and quality assessment. *In* **Conference on Functional Genomics of Rice and Seed Biotechnology**, **BioThailand 2001: From Research to Market**. 141-168.

Howarth, M.S. and Phillip, C.S. (1993). Tetrazolium staining viability seed test using color image processing. **Am. Soc. Agric. Eng**. 36(6):1937-1940

ISTA. (1996). International Rules for Seed Testing.

Knierim, M. and Leist, N. (1988). Methodological improvement in the tetrazolium testing of viability of Abies seed. **Seed Sci. & Technol**. 16(1): 227-237.

Kuo, W.H.J., Yan, A.C. and Leist. N. (1996). Tetrazolium test for the seeds of *Salvia splendens* and *S. Ferinacea*. **Seed Sci. & Technol**. 24(1): 17-21.

Kulik, M.M. and Yaklich, R.W. (1982).Evaluation of vigor tests in soybean seed: Relationship of accelerated aging, cold, sand, bench and speed of germination test to field performance. **Crop. sci**. 22:766-770.

Lakon, G. (1928). Ist die Bestimmug der keimfahigkeit der Samen ohne keimversuch moglich. Angewandte Botanik 10: 470.

_____. (1942). Topographical determination of the viability of cereal seed by tetrazolium salts. **Ber. dfsch. Bot. Ges**. 60: 299-305.

Lambou. M.G. (1953). 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride as a rapid indicator of viability in cotton seed. **Science**. 117, 690-693.

Mason, S.C., Vorst, J.J., Hankins, B.J. and Holt, D.A. (1982). Standard, cold, tetrazolium germination tests as estimators of field emergence of mechannically damaged soybean seed. **Agron. J**. 74:546-550

Neto J.D.F., Krzyzanowski F.C., Henning, A.A. and Dacosta N.P. (2001). **Referee test for vigour and viability for soybean seed** [On-line]. Available: http://www.seedtest.org./Comp tests/Comptests TC. Cfm?TC=TEZ.

Norton, J.D. (1966). Testing of plum pollen viability with tetrazolium salts. **Am. Soc. Hort. Sci. Proc**. 89 : 132-134.

Pant, N.C., Purohit, M. and Lal, R.B. (1999). Tetrazolium test for the seeds of *Dendrocalamus strictus* Nees. **Seed Sci. & Technol**. 27(3): 907-910.

Pasha, M.K. and Das, R.K. (1982). Quick viability test of soybean seeds by using tetrazolium chloride. **Seed Sci. & Technol**. 10(1): 651-655.

Prabowo, T. (1973). **Effects of mechanical damage in soybean seed upon germination and stand establishment**. M.S. thesis, Mississippi State University.

Porter, R.H., Durrell, M. and Romm, H.J. (1947). The use of 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride as a measure of seed germinability. **Plant Physiol**. 22, 149-159.

PTCL. (2002). **Safety data for 2,3,5-triphenyl-2h-tetrazolium chloride** [On-line]. Available: http://www.physchem.ox.ac.uk/msds/tr/2,3,5-triphenyl-2h-tetrazolium_chloride.html.

SAPS. (2002). **Comparing differences in respiratory activity in tissue slices using TTC** [On-line]. Available: http://www.-saps.plantsci.cam.ac.uk/sapshom.html.

Sarah. F.S. and Brenda, W. (2002). **Seed testing details: tetrazolium chloride** (TZ) [On-line]. Available: http://www.2020seedlabs.com/tetrazolium.html.

Savonen, E.M. (1999). An improvement to the topographic tetrazolium testing of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.)seeds. **Seed Sci. & Technol**. 26(1): 49-57.

Suvarnin, V. (1984). **Tetrazolium evaluation of seed vigor in soybean seed (*Glycine max* (L.) Merrill)**. M.S. thesis. Mississippi State University. 50 p.

TeKrony, D.M. and Egli, D.B. (1977) Relationship between laboratory indices of soybean seed vigor and field emergence. **Crop sci.** 17: 573-577.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกมาตรฐานของต้นอ่อนถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	84.432	42.216	3.3304	0.2309
Factor A	1	13.438	13.438	1.0602	0.4114
Error (a)	2	25.352	12.676		
Factor B	2	8456.795	4228.398	6463.7237	0.0000
Error (b)	4	2.617	0.654		
AxB	2	0.225	0.113	0.0569	
Error (c)	4	7.910	1.978		
Factor C	7	144435.321	20633.617	6196.9162	0.0000
AxC	7	8.784	1.255	0.3769	
BxC	14	3623.205	258.800	77.7258	0.0000
AxBxC	14	6.886	0.492	0.1477	
Error (d)	84	279.691	3.330		
TOTAL	143	156944.656			

C.V. = 3.89%

ตารางผนวกที่ 2 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อความยาวลำต้นของต้นอ่อนถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	2.368	1.184	0.3323	
Horizontal Factor A	1	0.128	0.128	0.0360	
Error (a)	2	7.128	3.564		
Vertical Factor B	2	10.624	5.312	36.2779	0.0027
Error (b)	4	0.586	0.146		
AxB	2	0.051	0.025	0.2599	
Error (c)	4	0.389	0.097		
Subplot Factor C	7	3569.701	509.957	1488.9696	0.0000
AxC	7	0.197	0.028	0.0820	
BxC	14	1.298	0.093	0.2708	
AxBxC	14	0.136	0.010	0.0284	
Error (d)	84	28.769	0.342		
Total	143	3621.375			

C.V. = 5.01%

ตารางผนวกที่ 3 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อความยาวรากของต้นอ่อนถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	1.393	0.696	4.2505	0.1905
Horizontal Factor A	1	0.000	0.000	0.0004	
Error (a)	2	0.328	0.164		
Vertical Factor B	2	4.601	2.300	4.0670	0.1087
Error (b)	4	2.262	0.566		
AxB	2	0.167	0.084	1.3895	0.3482
Error (c)	4	0.241	0.060		
Subplot Factor C	7	2543.045	363.292	2023.1962	0.0000
AxC	7	0.450	0.064	0.3584	
BxC	14	2.784	0.199	1.1074	0.3636
AxBxC	14	0.911	0.065	0.3622	
Error (d)	84	15.083	0.180		
Total	143	2571.265			

C.V. = 7.74%

ตารางผนวกที่ 4 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งของต้นอ่อนถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	0.000	0.000	31.0000	0.0313
Horizontal Factor A	1	0.000	0.000	4.0000	0.1835
Error (a)	2	0.000	0.000		
Vertical Factor B	2	0.001	0.001	19.6000	0.0086
Error (b)	4	0.000	0.000		
AxB	2	0.000	0.000	0.1429	
Error (c)	4	0.000	0.000		
Subplot Factor C	7	0.029	0.004	199.6792	0.0000
AxC	7	0.000	0.000	0.2830	
BxC	14	0.000	0.000	0.9434	
AxBxC	14	0.000	0.000	0.3962	
Error (d)	84	0.002	0.000		
Total	143	0.033			

C.V. = 12.46%

ตารางผนวกที่ 5 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อความสูงที่อายุ 15 วัน หลังปลูกของต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	4.054	2.027	0.7711	
Factor A	1	58.536	58.536	22.2676	0.0421**
Error (a)	2	5.258	2.629		
Factor B	2	59.353	29.676	27.4337	0.0046**
Error (b)	4	4.327	1.082		
AxB	2	0.096	0.048	0.1218	
Error (c)	4	1.579	0.395		
Factor C	3	5.062	1.687	2.5736	0.0691
AxC	3	1.592	0.531	0.8096	
BxC	6	1.285	0.214	0.3268	
AxBxC	6	3.792	0.632	0.9639	
Error (d)	36	23.602	0.656		
TOTAL	71	168.536			

C.V. = 7.87%

ตารางผนวกที่ 6 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อความสูงที่อายุ 30 วัน หลังปลูกของต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	57.898	28.949	0.8783	
Factor A	1	1928.205	1928.205	58.5014	0.0167**
Error (a)	2	65.920	32.960		
Factor B	2	202.797	101.398	4.1945	0.1042
Error (b)	4	96.697	24.174		
AxB	2	44.776	22.388	1.0217	0.4381
Error (c)	4	87.652	21.913		
Factor C	3	51.623	17.208	1.5478	0.2189
AxC	3	5.845	1.948	0.1753	
BxC	6	13.320	2.220	0.1997	
AxBxC	6	45.767	7.628	0.6861	
Error (d)	36	400.220	11.117		
TOTAL	71	3000.720			

C.V. = 13.10%

ตารางผนวกที่ 7 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อความสูงที่อายุ 60 วัน หลังปลูกของต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	331.881	165.941	2.7693	0.2653
Factor A	1	8.820	8.820	0.1472	
Error (a)	2	119.843	59.922		
Factor B	2	258.654	129.327	3.6984	0.1232
Error (b)	4	139.876	34.969		
AB	2	237.043	118.522	2.5616	0.1922
Error (c)	4	185.073	46.268		
Factor C	3	106.498	35.499	0.9861	
AC	3	8.807	2.936	0.0815	
BC	6	39.346	6.558	0.1822	
ABC	6	42.530	7.088	0.1969	
Error (d)	36	1296.020	36.001		
TOTAL	71	2774.391			

C.V. = 12.55%

ตารางผนวกที่ 8 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อความสูงที่อายุ 90 วัน หลังปลูกของต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	400.207	200.104	5.6155	0.1512
Factor A	1	0.889	0.889	0.0249	
Error (a)	2	71.269	35.634		
Factor B	2	110.271	55.135	1.7210	0.2889
Error (b)	4	128.144	32.036		
AxB	2	128.409	64.204	3.2228	0.1466
Error (c)	4	79.686	19.922		
Factor C	3	181.343	60.448	1.9812	0.1342
AxC	3	4.086	1.362	0.0446	
BxC	6	108.149	18.025	0.5908	
AxBxC	6	37.394	6.232	0.2043	
Error (d)	36	1098.373	30.510		
TOTAL	71	2348.220			

C.V. = 10.35%

ตารางผนวกที่ 9 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งที่อายุ 15 วันหลังปลูกของต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	0.023	0.012	3.3680	0.2289
Factor A	1	0.213	0.213	62.1367	0.0157
Error (a)	2	0.007	0.003		
Factor B	2	0.210	0.105	9.5479	0.0300
Error (b)	4	0.044	0.011		
AxB	2	0.021	0.011	20.0211	0.0082
Error (c)	4	0.002	0.001		
Factor C	3	0.022	0.007	1.2031	0.3225
AxC	3	0.022	0.007	1.1647	0.3366
BxC	6	0.027	0.004	0.7227	
AxBxC	6	0.011	0.002	0.2984	
Error (d)	36	0.222	0.006		
TOTAL	71	0.825			

C.V. = 22.79%

ตารางผนวกที่ 10 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งที่อายุ 30 วันหลังปลูกของต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	29.108	14.554	7.8183	0.1134
Factor A	1	165.499	165.499	88.9028	0.0111
Error (a)	2	3.723	1.862		
Factor B	2	69.478	34.739	8.3622	0.0373
Error (b)	4	16.617	4.154		
AxB	2	9.402	4.701	1.4702	0.3322
Error (c)	4	12.790	3.197		
Factor C	3	2.243	0.748	0.2741	
AxC	3	2.643	0.881	0.3229	
BxC	6	4.907	0.818	0.2998	
AxBxC	6	2.906	0.484	0.1775	
Error (d)	36	98.202	2.728		
TOTAL	71	417.517			

C.V. = 36.12%

ตารางผนวกที่ 11 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งที่อายุ 60 วันหลังปลูกของต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	4655.227	2327.614	5.0729	0.1647
Factor A	1	52.463	52.463	0.1143	
Error (a)	2	917.659	458.830		
Factor B	2	6884.635	3442.317	6.2543	0.0587
Error (b)	4	2201.563	550.391		
AxB	2	37.801	18.900	0.0742	
Error (c)	4	1018.443	254.611		
Factor C	3	122.515	40.838	0.0804	
AxC	3	856.973	285.658	0.5626	
BxC	6	3117.592	519.599	1.0234	0.4260
AxBxC	6	768.886	128.148	0.2524	
Error (d)	36	18277.962	507.721		
TOTAL	71	38911.719			

C.V. = 37.36%

ตารางผนวกที่ 12 ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนอิทธิผลของระดับความเข้มข้นของสารละลายเตตราโซเลียมและความมีชีวิตของเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อน้ำหนักแห้งที่อายุ 90 วันหลังปลูกของต้นถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และ ชม.60

SV	DF	SS	MS	F	P-value
Replication	2	50956.401	25478.201	4.3145	0.1882
Factor A	1	54571.067	54571.067	9.2410	0.0933
Error (a)	2	11810.595	5905.298		
Factor B	2	1101.767	550.884	0.2363	
Error (b)	4	9325.864	2331.466		
AxB	2	2183.162	1091.581	0.2428	
Error (c)	4	17986.203	4496.551		
Factor C	3	8452.430	2817.477	1.4683	0.2395
AxC	3	2870.185	956.728	0.4986	
BxC	6	2734.108	455.685	0.2375	
AxBxC	6	3405.669	567.612	0.2958	
Error (d)	36	69080.324	1918.898		
TOTAL	71	234477.776			

C.V. = 24.28%

ประวัติผู้เขียน

นายวสุ อมฤตสุทธิ์ เกิดเมื่อวันที่ 13 ธันวาคม พ.ศ. 2512 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี และ ปริญญาโท จากคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อปี พ.ศ. 2534 และ 2537 ตามลำดับ หลังจากจบการศึกษาได้รับการบรรจุเป็นข้าราชการ สังกัด คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี เมื่อ วันที่ 2 พฤษภาคม พ.ศ. 2537 โดยได้ปฏิบัติงานตำแหน่งผู้ช่วยคณบดีฝ่ายกิจการนักศึกษา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ระหว่าง ปี พ.ศ. 2539–2540 และปฏิบัติงานตำแหน่งรองคณบดีฝ่ายกิจการนักศึกษา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ระหว่าง ปี พ.ศ. 2540-2542 จากนั้นในปี พ.ศ. 2544 ได้ลาศึกษาต่อเต็มเวลาในระดับดุษฎีบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และได้ลาศึกษาต่อบางส่วนในปี พ.ศ. 2546 ซึ่งได้รับการแต่งตั้งเป็น ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ในปี พ.ศ. 2546 และ ปัจจุบันได้รับการแต่งตั้งให้ปฏิบัติงานตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 8 หัวหน้าสำนักงานไร่ฝึกและห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์