

ผลของพลาสมาเย็นต่อการงอกและการควบคุมเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักปลัง

Effect of cold plasma on germination and controlling of seed-borne fungi in ceylon spinach seed

นัฐพงษ์ พุ่มอ่อน¹, ศลิษฐ์ สุภกิจจนกร² และ ปิยะณัฐ ฬากามา^{1*}

Natthapong Phumaon¹, Salit Supakitthanakarn² and Piyanath Pagamas^{1*}

¹ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดนครปฐม 73140

¹ Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, 73140, Thailand

² ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จังหวัดนครปฐม 73140

² Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, 73140, Thailand

บทคัดย่อ: ผักปลัง เป็นผักพื้นบ้านที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง แต่เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ผักปลังมีความงอกไม่สม่ำเสมอและมีเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์มากส่งผลเสียต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ การใช้พลาสมาเย็นสามารถกระตุ้นการงอกและลดการปนเปื้อนของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ในพืชหลายชนิดได้ งานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของพลาสมาเย็นชนิด DBD (dielectric barrier discharge) ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์และการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักปลัง นำเมล็ดพันธุ์ผักปลังสายพันธุ์ BA008 มาฉายพลาสมาเย็น เป็นเวลา 0 (ทริตเมนต์ควบคุม), 5, 10, 15 และ 20 นาที จากนั้นนำเมล็ดมาทดสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ และทดสอบการเกิดโรคในเมล็ดพันธุ์โดยวิธี Blotter test พบว่า การฉายพลาสมาเย็น 5, 10 และ 15 นาที สามารถเพิ่มความงอกของเมล็ดพันธุ์ผักปลังได้ (93.33%, 93.33% และ 88.00% ตามลำดับ) ซึ่งสูงกว่าทริตเมนต์ควบคุมที่มีความงอกเท่ากับ 85.33% โดยการฉายพลาสมาเย็นที่เวลา 20 นาที ให้ค่าความงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติกับทริตเมนต์ควบคุม การฉายพลาสมาเย็นเป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ให้ค่าดัชนีการงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่สูงกว่าทริตเมนต์ควบคุมและการฉายพลาสมาเย็นเป็นเวลา 20 นาที โดยทุกทริตเมนต์ให้ค่าเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ มีค่าอยู่ระหว่าง 7.50-8.06 วัน ส่วน%การเกิดโรคในเมล็ดพันธุ์ผักปลัง พบว่าระยะเวลาการให้พลาสมาเย็นที่นานขึ้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้มากขึ้น โดยมี%การเกิดเชื้อราเท่ากับ 86.67%, 86.67%, 73.33%, 60.00% และ 53.33% จากทริตเมนต์ควบคุมและเมล็ดพันธุ์ผักปลังที่ผ่านพลาสมาเป็นเวลา 5, 10, 15 และ 20 นาที ตามลำดับ การฉายพลาสมาเย็นที่ระยะเวลา 15 นาที สามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ผักปลังและเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดเนื่องจากทำให้ความงอกเพิ่มขึ้นและยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักปลังได้ดี

คำสำคัญ: ผักปลัง; พลาสมาแบบไดอิเล็กทริกแบริเออร์ดิสชาร์จ; คุณภาพของเมล็ดพันธุ์; เชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

ABSTRACT: *Basella alba* (Ceylon spinach) is a native vegetable with high nutritional value. However, its seeds often show irregular germination and seed-borne fungal contamination, which negatively affects seed quality. Cold plasma treatment has been shown to improve seed germination and reduce seed-borne fungal contamination in various plants. This study examined the effects of dielectric barrier discharge (DBD) cold plasma on seed quality and seed-borne fungal inhibition in *Basella alba* seeds. Seeds of ceylon spinach variety BA008 were treated with DBD cold plasma for 0 (control), 5, 10, 15, and 20 minutes. Seed quality was evaluated by germination tests, and fungal incidence was assessed using the blotter test. The results indicated that DBD cold plasma treatment for 5, 10, and 15 minutes increased the germination percentage of ceylon spinach seeds to 93.33%, 93.33%, and 88.00%, respectively, compared to 85.33% in the control. The 20-minute DBD cold plasma treatment did not show a

* Corresponding author: agrpnp@ku.ac.th

Received: date; February 25, 2025 Revised: date; September 25, 2025

Accepted: date; September 25, 2025 Published: date; February 6, 2026

significant difference from the control. Germination index of DBD cold plasma treated seeds for 5, 10, and 15 minutes were non-significantly different, but it was higher than the control and the 20-minutes-treated seeds. Mean germination time did not significantly differ among treatments, ranging from 7.50 to 8.06 days. Disease incidence decreased as plasma exposure time increased, with the values of 86.67%, 86.67%, 73.33%, 60.00%, and 53.33% for control and DBD cold plasma treatments at 5, 10, 15, and 20 minutes, respectively. DBD cold plasma treatment for 15 minutes stimulated the germination of ceylon spinach seeds, and it was the most suitable method as it effectively enhances germination and inhibits the growth of seed-borne fungi.

Keywords: ceylon spinach; dielectric barrier discharge plasma; seed quality; seed-borne disease

บทนำ

ผักปลัง (Ceylon spinach) มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Basella alba* L. เป็นไม้เลื้อยล้มลุกจัดอยู่ในวงศ์ Basellaceae เป็นผักพื้นบ้านที่ใช้เป็นอาหาร และเป็นยาสมุนไพร ผักปลังมีสารสำคัญหลากหลายชนิด เช่น ฟีนอลิก บีทาเลน และแคโรทีนอยด์ เป็นต้น จึงจัดเป็นผักที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ (Chatchawal and Nualkaew., 2009) การขยายพันธุ์ผักปลังนิยมการเพาะเมล็ดแต่ยังพบปัญหาเกี่ยวกับคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ เช่น การงอกต่ำและงอกไม่สม่ำเสมอเนื่องจากสาเหตุหลักเกิดจากโรคที่ติดมากับเมล็ดหลังจากการเก็บเกี่ยว ซึ่งการแยกเมล็ดพันธุ์ผักปลังออกจากผลเป็นการแยกแบบเปียก (wet extraction) และต้องผ่านกระบวนการหมักเพื่อที่จะล้างทำความสะอาดเมล็ดพันธุ์ได้ง่ายขึ้น จึงมีโอกาสมากที่จะมีเชื้อราติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ง่าย หรือโรคที่เกิดขึ้นขณะเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในโรงเก็บ

คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถือเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบต่อผลผลิตและความสำเร็จในการเกษตร เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงไม่เพียงแต่ช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดีและแข็งแรง แต่ยังส่งผลต่อผลผลิตในระยะยาว ทั้งนี้เพราะเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดีจะมีอัตราการงอกสูง รวมถึงสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี (Finch-Savage and Bassel, 2016) ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นในการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรในยุคที่มีการแข่งขันสูง ทำให้เกษตรกรสามารถลดต้นทุนในการผลิตและเพิ่มรายได้ในระยะยาว โดยคุณภาพของเมล็ดพันธุ์จะมีค่าลดลงเรื่อย ๆ หลังจากการแก่ของเมล็ดพันธุ์ (Physiological maturity) (Côme and Corbineau., 2000; McDonald, 2004) การเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เป็นกระบวนการที่ไม่สามารถหยุดยั้งได้ ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพ ประกอบด้วย อุณหภูมิและความชื้นในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ (Takahashi and Abe, 1999; Zanakos et al., 1994) ทั้งนี้สามารถช่วยชะลอการเสื่อมของเมล็ดพันธุ์ได้โดยการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในสภาพที่เหมาะสมคืออุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ และเก็บรักษาในโรงเก็บที่สะอาดปราศจากโรคและแมลง (Ellis et al., 1989)

การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์จึงเป็นกระบวนการที่สำคัญต่อการเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อพิจารณาถึงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ที่ส่งผลโดยตรงต่อการเพาะปลูก อย่างไรก็ตาม เชื้อราที่เกิดขึ้นในโรงเก็บสามารถส่งผลกระทบต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ และเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดความสูญเสียในการผลิตทางการเกษตร (Akkaya et al., 2021) เชื้อราในโรงเก็บมักเจริญในสภาวะที่มีความชื้นสูงและอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ที่มีการจัดเก็บที่ไม่ถูกต้อง เช่น การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในภาชนะที่ไม่ได้รับการระบายอากาศอย่างเพียงพอ (Pitt and Hocking, 2009) เมล็ดพันธุ์ที่ติดเชื้อราจะมีอัตราการงอกและคุณภาพของผลผลิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งทำให้เกษตรกรประสบปัญหาทางเศรษฐกิจและสูญเสียโอกาสทางการตลาด (Mahmood and Ahmad, 2016) เชื้อราที่สำคัญในโรงเก็บ ได้แก่ *Aspergillus*, *Penicillium*, และ *Fusarium* โดยเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ทั้งก่อนและหลังเก็บเกี่ยวรวมถึงเชื้อราในโรงเก็บ ไม่เพียงส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เท่านั้น ยังมีผลทำให้สีของเมล็ดเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ทำให้เกิดความร้อนในกองเมล็ดพันธุ์ เกิดการแตกของเปลือกหุ้มเมล็ด อาหารสะสมในเมล็ดพันธุ์ลดลงและเปลี่ยนแปลงไป รวมถึงยังสร้างสารพิษที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์อีกด้วย (Sauer, 1988; da Rocha et al., 2014; Sheidaei et al., 2019) ตัวอย่างที่ชัดเจนคือ *Fusarium graminearum* ซึ่งเป็นเชื้อราที่สร้างสารพิษ Deoxynivalenol ที่พบได้บ่อยในธัญพืช ทำให้เกิดผลกระทบต่อคุณภาพของเมล็ดพืชอย่างรุนแรง และส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของอาหารเมื่อนำเมล็ดพันธุ์ไปบริโภค (Dill-Macky and Jones, 2000) ในปัจจุบันการยับยั้งเชื้อสาเหตุก่อโรคในเมล็ดพันธุ์ เช่น การเคลือบเมล็ด, การพอกเมล็ด อาจทำให้มีสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อม

เทคโนโลยีพลาสมาเป็นการประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร รวมทั้งทางการแพทย์ เนื่องจากเป็นเทคโนโลยีที่ปลอดภัย และไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม (Sayahi et al., 2024)

พลาสมาเป็นสถานะก๊าซที่เกิดการแตกตัวเป็นอนุภาคของก๊าซไอออนและอิเล็กตรอน ทำให้เกิดสารอนุมูลออกซิเจนที่มีปฏิกิริยา (Reactive Oxygen Species; ROS) สารอนุมูลไนโตรเจนที่มีปฏิกิริยา (Reactive Nitrogen Species; RNS) และรังสี UV อาจถือได้ว่าพลาสมาเป็นสถานะที่ 4 ของสสาร (Misra, 2016; Rathod et al., 2021; Waghmare, 2021) โดยพลาสมาเย็นที่นิยมนำมาใช้มีหลายประเภทยกตัวอย่างเช่น Dielectric barrier discharge (DBD), Atmospheric pressure plasma jet discharge (APPJ), gliding arc discharge และ corona discharge (Sojithamporn et al., 2023) และพบว่าเทคโนโลยีพลาสมาเย็นถูกนำมาใช้เพิ่มมากขึ้นในสิบปีที่ผ่านมาในด้านต่าง ๆ เช่น ในด้านการแพทย์ สภาพแวดล้อม อาหาร และทางการแพทย์ (Ucar et al., 2021; Lin et al., 2022.; Fernandes and Rodrigues, 2024; Sayahi et al., 2024) ส่วนการนำพลาสมาเย็นมาใช้กับเมล็ดพันธุ์ถือเป็นเทคโนโลยีใหม่ ซึ่งได้รับการพิสูจน์ว่าสามารถเพิ่มความสามารถในการงอกของเมล็ดพันธุ์ได้ (Randeniya and de Groot, 2015; Benabderrahim et al., 2024; Guragain et al., 2024) ดังที่พบในเมล็ดพันธุ์แตงโม (Lotfy, 2017) เมล็ดพันธุ์ถั่วดำ (Bilah et al., 2020) และเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว (Le et al., 2022) โดยกลไกหลักของพลาสมาอุณหภูมิต่ำที่เกี่ยวข้องกับการปรับปรุงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์คือ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเมล็ดและชั้นผิวของเปลือกหุ้มเมล็ด ให้เกิดรอยแยก ผิวเปลือกหุ้มมีลักษณะหยาบขึ้น (surface roughness) และเกิดรอยแตกขนาดเล็ก (micro-cracks) โดยการแทรกหมู่ฟังก์ชันที่ชอบน้ำ (hydrophilic groups) เช่น -OH, -COOH ที่ช่วยลดแรงตึงผิวของเยื่อหุ้มเมล็ดซึ่งช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซับน้ำและก๊าซเข้าสู่ภายในเมล็ดได้เพิ่มขึ้น นำไปสู่การกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ นอกจากนี้ พลาสมาเย็นสามารถกระตุ้นให้เกิด ROS เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซิงเกิ้ลตอกซิเจน (1O_2) ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (O_2^-), และไฮดรอกซิลเรดิคัล ($\bullet OH$) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการเป็นสัญญาณออกซิเดชัน (oxidative signaling) ที่กระตุ้นการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ (Gill and Tuteja, 2010; Sharma et al., 2012) ฮอโมนพืช และกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นต่อการงอก เช่น เอนไซม์อะไมเลส (Shelar et al., 2022) นอกจากนี้ การใช้เทคโนโลยีพลาสมาเย็นสามารถลดจำนวนเชื้อราบนพื้นผิวเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง สามารถกระตุ้นกระบวนการงอกของเมล็ด และยังพบว่าพลาสมาเย็นมีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของเปลือกหรือพื้นผิวเมล็ด (Ling et al., 2014) ทำให้เพิ่มความสามารถในการดูดซับน้ำ ซึ่งจำเป็นต่อกระบวนการงอกของเมล็ดพันธุ์ ส่งผลโดยตรงต่อการงอกของเมล็ดพันธุ์ที่เพิ่มขึ้นดังที่พบใน เมล็ดพันธุ์ข้าวสาลี (Li et al., 2017), เมล็ดพันธุ์แตงโม (Lotfy, 2017), เมล็ดพันธุ์ถั่วดำ (Billah et al., 2020) และเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง (Švubová et al., 2021) ทั้งนี้ยังไม่มีการศึกษาทดลองในเมล็ดพันธุ์ฝักปลั่ง จึงคาดว่า การใช้เทคโนโลยีพลาสมาเย็นจะสามารถกระตุ้นกระบวนการงอกและยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ฝักปลั่งได้ การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของพลาสมาเย็นต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์และการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ฝักปลั่ง

วิธีการศึกษา

เมล็ดพันธุ์ และเครื่องกำเนิดพลาสมาเย็น

การทดลองนี้ใช้เมล็ดพันธุ์ฝักปลั่งสายพันธุ์ BA008 ที่ผ่านการเก็บรักษาในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ดูดอากาศออกและปิดสนิท ในห้องเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์อุณหภูมิ 10°C ความชื้นสัมพัทธ์ 45-50% เป็นเวลา 1 ปี มีความงอกเริ่มต้น 84.65% (ทดสอบโดยการเพาะเมล็ด 50 เมล็ด ทำ 4 ซ้ำ โดยวิธี Between paper ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 14 วัน) จากศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และเครื่องกำเนิดพลาสมาเย็นชนิด dielectric barrier discharge (DBD) ระบบความดันปกติ (atmospheric plasma) (Figure 1) ประดิษฐ์ขึ้นโดยภาควิชาวิศวกรรมคอมพิวเตอร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

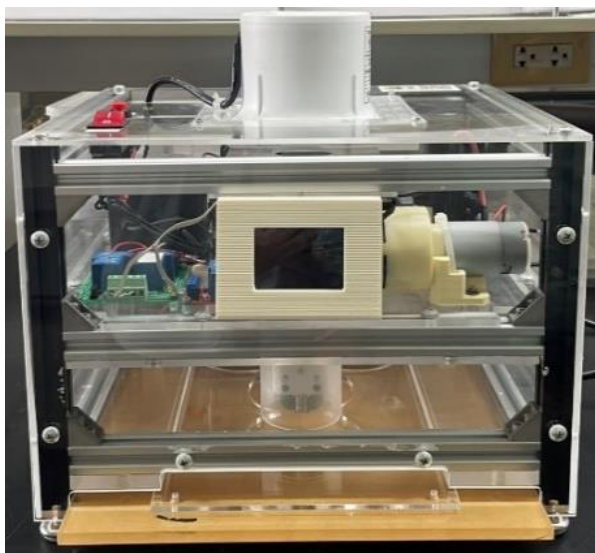


Figure 1 The non-thermal atmospheric pressure plasma device

การทดลองที่ 1 ผลของพลาสมาเย็น (DBD) ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

นำเมล็ดผักปลังมาฉายพลาสมาเย็นชนิด dielectric barrier discharge (DBD) ที่แรงดันไฟฟ้า 9 โวลต์ อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 0 (control), 5, 10, 15 และ 20 นาที จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ที่ได้ไปทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด

การบันทึกผล

1.1 เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ (Germination; %)

นำเมล็ดพันธุ์ผักปลังจากแต่ละทรีตเมนต์มาเพาะบนกระดาษเพาะด้วยวิธี BP (Between paper) 4 ซ้ำ ซ้ำละ 50 เมล็ด ที่อุณหภูมิ 30 °C งดสาเซลเซียส และตรวจนับจำนวนต้นกล้าปกติ ตามหลักการประเมินความงอกของ ISTA (2024) ทำการทดลองเป็นเวลา 14 วัน แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกจากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความงอก} = \left(\frac{\text{จำนวนต้นกล้าปกติที่พบทั้งหมด}}{\text{จำนวนเมล็ดที่เพาะ}} \right) \times 100$$

บันทึกจำนวนเมล็ดตาย (dead seed) และจำนวนต้นกล้าผิดปกติ (abnormal seedling) แล้วคำนวณเป็นค่าเปอร์เซ็นต์ โดยลักษณะของต้นกล้าปกติ (Normal seedling) คือ ต้นกล้าที่มีรากและลำต้นเจริญเติบโตสมบูรณ์ มีใบเลี้ยงครบถ้วนและยอดอ่อนปกติไม่มีรอยชำ ต้นกล้าผิดปกติ (Abnormal seedling) คือ ต้นกล้าที่ราก ลำต้น หรือใบเลี้ยงมีลักษณะผิดปกติ หรือยอดเสียหาย อาจมีหรือไม่มีเชื้อราปรากฏบนผิวเมล็ด และเมล็ดตาย (Dead seed) คือ เมล็ดที่มีสีดำหรือคล้ำ มีเชื้อราเข้าทำลาย เมื่อจับบีบเนื้อเมล็ดนุ่มและ ไม่แสดงลักษณะใด ๆ ที่จะสามารถเจริญเติบโตเป็นต้นกล้าได้ (ISTA, 2024)

1.2 ดัชนีการงอก (Germination index, GI)

เพาะเมล็ดพันธุ์ผักปลังวิธีการเดียวกับการทดสอบความงอกในข้อ 1.1 โดยตรวจนับจำนวนต้นกล้าปกติทุกวันจนครบ 14 วัน แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณค่าดัชนีการงอกดังสูตร (AOSA, 1983)

$$\text{ดัชนีการงอก} = \text{ผลบวกของ} \left(\frac{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}} \right)$$

1.3 เวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอก (Mean germination time, MGT; day)

เพาะเมล็ดเช่นเดียวกับการทดสอบความงอกในข้อ 1.1 โดยตรวจนับจำนวนต้นกล้าปกติทุกวันจนครบ 14 วัน แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอกดังสูตร (Ellis and Roberts, 1981)

$$\text{เวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอก (วัน)} = \frac{\sum (\text{จำนวนต้นกล้าปกติที่งอกในแต่ละวัน} \times \text{จำนวนวันหลังเพาะ})}{\text{จำนวนต้นกล้าปกติที่งอกทั้งหมด}}$$

การทดลองที่ 2 ผลของพลาสมาเย็นต่อการยับยั้งเชื้อราบนผิวเมล็ดพันธุ์ผักปลัง

นำเมล็ดผักปลังที่ผ่านการฉายพลาสมาเย็นจากพรีเทนดร์ต่าง ๆ มาทดสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค โดยวางเมล็ดบนกระดาษชื้น (Blotter method) (Figure 2) จานละ 10 เมล็ดทำ 4 ซ้ำ วางไว้ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นบันทึกการเกิดโรคบนผิวเมล็ดพันธุ์ตามวิธีการของ ISTA (2024) โดยลักษณะของเมล็ดพันธุ์ที่เกิดโรค และเมล็ดพันธุ์ปกติ ดังแสดงใน Figure 2 แล้วนำค่ามาคำนวณ%การเกิดเชื้อราจากสมการ ดังนี้

$$\text{การเกิดเชื้อรา (\%)} = \left(\frac{\text{จำนวนเมล็ดที่เป็นเชื้อรา}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}} \right) \times 100$$

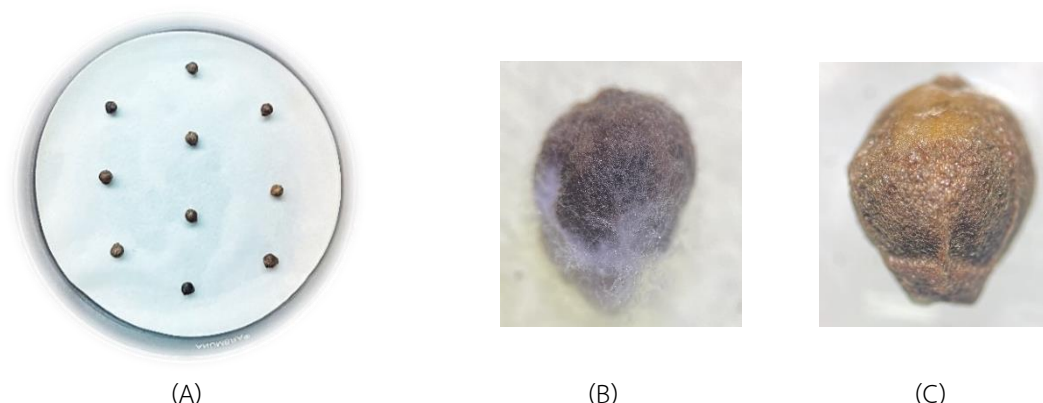


Figure 2 Blotter test method for fungi incidence evaluation (A), infected seed (B) and healthy seed (C).

ผลการศึกษา

การทดลองที่ 1 ผลของพลาสมาเย็นชนิด DBD ต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ผักปลัง

จากการทดลองพบว่า การฉายพลาสมาเย็นสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ผักปลังให้สูงขึ้นได้ อย่างไรก็ตามการฉายพลาสมาเย็นนานขึ้นทำให้การงอกของเมล็ดพันธุ์มีค่าลดลง โดยการฉายพลาสมาเย็นเป็นเวลา 5 และ 10 นาที สามารถเพิ่มการงอกของเมล็ดพันธุ์ผักปลังได้สูงสุดไม่แตกต่างกันทางสถิติเท่ากับ 93.33% ตามลำดับ รองลงมาคือการฉายพลาสมาเย็นเป็นเวลา 15 นาที ทำให้เมล็ดพันธุ์ผักปลังมีความงอกเท่ากับ 88.00% โดยการฉายพลาสมาเย็นเป็นเวลา 20 นาที ทำให้เมล็ดพันธุ์ผักปลังมีความงอกเท่ากับ 85.33% เท่ากับพรีเทนดร์ควบคุม ค่าเปอร์เซ็นต์เมล็ดตายหรือเมล็ดที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายจนไม่สามารถงอกได้เมื่อกดจะนิ่มและ (Figure 2B และ 3C) พบว่า การฉายพลาสมาสามารถลดเปอร์เซ็นต์เมล็ดตายได้ โดยการฉายพลาสมาทุกพรีเทนดร์มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดตายต่ำกว่าเมล็ดที่ไม่ได้ฉายพลาสมา ทั้งนี้เมื่อฉายพลาสมาเป็นเวลานานขึ้นทำให้เปอร์เซ็นต์เมล็ดตายเพิ่มสูงขึ้น ส่วนเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าผิดปกติพบว่า การฉายพลาสมาเป็นเวลา 15 และ 20 นาที ทำให้ค่าเปอร์เซ็นต์ต้นกล้าผิดปกติมีค่าสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับพรีเทนดร์ควบคุม

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 1) ค่าดัชนีการงอก พบว่า การฉายพลาสมาเย็นเป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที ให้ค่าดัชนีการงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติมีค่าอยู่ระหว่าง 3.0-3.2 แต่สูงกว่าทรีตเมนต์ควบคุมและการฉายพลาสมาเย็นเป็นเวลา 20 นาที นอกจากนี้การฉายพลาสมาเย็นในทุกระยะเวลาไม่มีผลต่อเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการงอก โดยทุกทรีตเมนต์มีค่าอยู่ระหว่าง 7.5-8.0 วัน (Table 2)



Figure 3 Normal seedling (A), abnormal seedling (B) and dead seed (C) of Ceylon spinach.

จากผลการทดลอง พบว่า พลาสมาเย็นสามารถส่งเสริมการงอกของเมล็ดพันธุ์ผักปลังให้เพิ่มขึ้นได้ และจากงานวิจัยของ Le et al. (2022) ที่ทดสอบในเมล็ดถั่วเขียวโดยนำเมล็ดผ่านการฉายพลาสมาเย็นที่ระยะเวลาต่าง ๆ เมื่อส่องภายใต้กล้อง SEM พบว่าบริเวณผิวของเมล็ดมีความพรุนเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการฉายพลาสมาเย็นที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการฉายพลาสมาเย็นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพพื้นผิวของเปลือกหุ้มเมล็ดพันธุ์ได้ โดยทำให้เกิดการกักตุนบนผิวเมล็ด ทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดมีรอยแยก หรือเกิดรอยแตกเล็ก ๆ ซึ่งจะช่วยให้ผิวเมล็ดมีความพรุนมากขึ้นเมื่อส่องภายใต้กล้อง SEM (Sayahi et al., 2024) ส่งผลโดยตรงต่ออัตราการดูดน้ำและออกซิเจนของเมล็ดพันธุ์เพิ่มมากขึ้นทำให้อัตราการงอกเพิ่มสูงขึ้น ดังที่พบในงานวิจัยเมล็ดพันธุ์ฝ้าย, ข้าวสาลี และถั่วดำ เป็นต้น (Li et al., 2017; Wang et al., 2017; de Groot et al., 2018; Billah et al., 2020) น้ำและออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญในกระบวนการงอกของเมล็ด การย่อยอาหารสะสมภายในเมล็ดพันธุ์ การเกิดกิจกรรมทางชีวเคมี และกระบวนการขนส่งอาหารไปส่วนต้นอ่อน (Bewley and Black, 1984) อีกทั้งยังเกี่ยวข้องกับกิจกรรมของเอนไซม์ที่มีบทบาทต่อกระบวนการงอก เช่น อะไมเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สร้างในระหว่างการงอกของเมล็ด โดยทำหน้าที่เปลี่ยนอาหารสะสมภายในเมล็ด เช่น การเปลี่ยนแปลงแป้งเป็นน้ำตาล สำหรับใช้เป็นสารอาหารในการเจริญเติบโตและการพัฒนาของต้นกล้า (Kaneko et al., 2002; Liu et al., 2018; Damaris et al., 2019) ส่งผลให้ความงอกของเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้น (Rasooli et al., 2021; Le et al., 2022) นอกจากนี้การฉายพลาสมาเย็นทำให้เกิดสารอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ ขึ้นรอบเมล็ดพันธุ์ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และไนโตรเจนออกไซด์ (Keidar and Robert, 2015) ที่มีผลต่อการทำงานของกรดแอบไซซิก (ABA) และจิบเบอเรลลิน (GA) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการควบคุมกระบวนการงอกของเมล็ด โดย ABA เป็นฮอร์โมนที่มีบทบาทในการควบคุมการพักตัวของเมล็ด ขณะที่ GA ส่งเสริมการงอกของเมล็ด (Finkelstein et al., 2018) โดยสารอนุมูลอิสระที่เกิดจากการฉายพลาสมาจะยับยั้งการทำงานของฮอร์โมน ABA และกระตุ้นการทำงานของ GA ซึ่งส่งผลให้กระบวนการงอกของเมล็ดพันธุ์ได้รับการกระตุ้น (Bailly et al., 2004; Finkelstein et al., 2018; Fan et al., 2020; Li et al., 2021)

Table 1 Effect of Dielectric Barrier Discharge (DBD) cold plasma treatments on germination (%), dead seed (%) and abnormal seedling (%) of Ceylon Spinach seed

Treatment	Germination (%)	Dead seed (%)	Abnormal seedling (%)
Control	85.33 c	8.00 a	6.67 b
DBD 5 Min	93.33 a	2.67 c	4.00 c
DBD 10 Min	93.33 a	4.00 c	2.67 c
DBD 15 Min	88.00 b	4.00 c	8.00 a
DBD 20 Min	85.33 c	6.67 b	8.00 a
F-test	**	*	*
C.V. (%)	3.04	12.70	11.87

^{1/} The vertical means follow with the same letters are not statistically different when compared with the Fisher's Least Significant Difference (LSD)

*,** There was significantly different at 95% and 99% confidence level, respectively.

Table 2 Effect of DBD plasma treatments on germination index and mean germination time of Ceylon Spinach seed

Treatment	Germination index	Mean germination time (days)
Control	2.78 b	8.06
DBD 5 Min	3.22 a	7.88
DBD 10 Min	3.17 a	7.72
DBD 15 Min	3.00 a	7.49
DBD 20 Min	2.78 b	7.97
F-test	*	ns
C.V.	6.77	4.73

^{1/} The vertical means follow with the same letters are not statistically different when compared with the Fisher's Least Significant Difference (LSD)

ns, non-significant

*, There was significantly different at 95% confidence level.

อย่างไรก็ตามการฉายพลาสมาเย็นที่นานขึ้นส่งผลให้การงอกและค่าดัชนีการงอกมีค่าลดลง การเพิ่มระยะเวลาในการฉายพลาสมากับเมล็ดพันธุ์อาจส่งผลหลากหลายรูปแบบ ที่สำคัญจะพบการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญในเปลือกหุ้มเมล็ด โดยเฉพาะบริเวณที่ได้รับพลาสมาโดยตรง โดยจะพบการแตกของเปลือกหุ้มเมล็ด และการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเปลือกเมล็ดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเพิ่มระยะเวลาการฉายพลาสมา การฉายพลาสมาเป็นเวลานานเกินไปอาจทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของโครงสร้างของผนังเซลล์ เกิดการระเหยของ volatile material ที่เป็นองค์ประกอบของเปลือกหุ้มเมล็ดหรือเซลล์ (volatilization) และเกิดความเสียหายของเซลล์เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเปลือกหุ้มเมล็ดน่าจะเกิดจากก๊าซที่เกิดขึ้นในระหว่างการเกิดพลาสมา เช่น NO₂, O₃ และ NO ทำให้เกิดความเครียดจากไนโตรเจนและสภาวะออกซิเดชันที่รุนแรงเกินไป (Janda et al., 2016; Janda et al., 2021) ซึ่งส่งผลต่อความสามารถในการงอกที่ลดลงหลังจากฉายพลาสมากับเมล็ดพันธุ์เป็นเวลานาน (Adhikari et al., 2021) ซึ่งทำให้%ต้นกล้าผิดปกติของเมล็ดพันธุ์ฝักปลิงจากการทดลองนี้ที่มีค่าสูงขึ้นเมื่อฉายพลาสมาที่เวลา 15 และ 20 นาที (Table1) เช่นเดียวกับรายงานในเมล็ด

พันธุ์ผักซีที่พบว่า ระยะเวลาการฉายพลาสมาเย็นที่เพิ่มขึ้นทำให้เกิดความเครียดออกซิเดทีฟและความเสียหายต่อไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ เนื่องจากการเพิ่มระดับของสารอนุมูลอิสระที่มากเกินไป (Rasooli et al., 2021) และเมื่อพิจารณาการฉายพลาสมาเป็นเวลา 20 นาที ที่ทำให้จำนวนเมล็ดตายเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับการฉายพลาสมาที่ระยะเวลาสั้นกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก การเกิดเมล็ดตายนอกจากจะเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราแล้ว ยังเกิดจากเมล็ดที่ไม่สามารถงอกได้เนื่องจากความผิดปกติของต้นอ่อนภายในเมล็ด เมื่อครบระยะเวลาการทดสอบการงอก เมล็ดดังกล่าวจะไม่สามารถงอกได้มีลักษณะนี้หรือเกิดการเข้าทำลายของเชื้อราภายหลัง (secondary infection) ดังนั้นการฉายพลาสมาเย็นนานเกินไปที่ระยะเวลามากกว่า 15 นาที อาจส่งผลเสียต่ออัตราการงอกของเมล็ดพันธุ์ผักปลังได้จากงานวิจัยของ Fan et al. (2020) และ Song et al. (2020) พบว่าการฉายพลาสมาเย็นนานเกินไปทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นอ่อน เนื่องจากการได้รับอนุมูลอิสระมากเกินไปจะทำให้เกิดความเสียหายต่อโครงสร้างของเซลล์ แทนที่จะส่งเสริมการงอกกลับเป็นผลไปลดความสามารถในการงอกเนื่องจากการเป็นพิษจากก๊าซโอโซนหรืออนุมูลอิสระอื่น ๆ ดังนั้นการกำหนดช่วงเวลาฉายพลาสมาเย็นที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิดจึงมีความสำคัญที่จะช่วยเพิ่มอัตราการงอกโดยไม่เกิดผลเสียที่อาจเกิดจากการได้รับอนุมูลอิสระมากเกินไป (Meng et al., 2017)

การทดลองที่ 2 ผลของพลาสมาเย็นต่อการยับยั้งเชื้อราบนผิวเมล็ดพันธุ์ผักปลัง

จากการทดสอบผลของพลาสมาเย็นต่อการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักปลังพบว่า ระยะเวลาการให้พลาสมาเย็นที่นานขึ้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้เพิ่มขึ้น โดยการฉายพลาสมาเย็นเป็นเวลา 20 นาที พบการเกิดเชื้อราบนผิวเมล็ดพันธุ์ต่ำสุดที่ 53.33% รองลงมาคือการฉายพลาสมาเย็นเป็นเวลา 10 และ 15 นาที พบการเกิดเชื้อราบนผิวเมล็ดพันธุ์ไม่แตกต่างกันทางสถิติมีค่าเท่ากับ 73.33% และ 60.00% ตามลำดับ โดยการฉายพลาสมาเย็นเป็นเวลา 5 นาที พบการเกิดเชื้อราบนผิวเมล็ดพันธุ์สูงสุดเท่ากับ 86.67% ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ฉายพลาสมา (Table 3) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการฉายพลาสมาเย็นสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น โอโซน และรังสี UV (Montie et al., 2000) จึงทำให้พลาสมาเย็นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ อัตราการเกิดเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ผักปลังเมื่อเปรียบเทียบกับทรีตเมนต์ควบคุมจึงลดลง โดยผลการทดลองในครั้งนี้เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองในเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด, ข้าวสาลี และข้าว (Scholtz et al., 2015; Puligundla et al., 2018; Randeniya et al., 2015) โดยสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากพลาสมาเย็นมีบทบาทในการทำลายเซลล์ของเชื้อรา เช่น การทำลายโปรตีนและกรดนิวคลีอิก (DNA, RNA) ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญหรือแบ่งเซลล์ของเชื้อรา นอกจากนี้ยังพบว่าพลาสมาเย็นทำให้เกิดการแตกตัวของผนังเซลล์และการทำลายดีเอ็นเอของเชื้อรา *Aspergillus niger* และ *Penicillium expansum* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลให้เชื้อราไม่สามารถเจริญหรือแบ่งเซลล์ได้ (Mravlje et al., 2021) นอกจากนี้เมื่อพิจารณา%การเกิดเชื้อราบนผิวเมล็ดพันธุ์ผักปลังเมื่อผ่านการฉายพลาสมาเย็นเป็นเวลา 5 นาที พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ผ่านการฉายพลาสมา (Table 3) แต่มีความงอกสูงกว่า (Table 3) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการฉายพลาสมาเย็นสามารถลดปริมาณเชื้อราก่อโรคที่เปลือกหุ้มเมล็ดพันธุ์ผักปลังลงได้มาก จนไม่สามารถเข้าทำลายเมล็ดหรือทำให้เกิดการเน่าของเมล็ดพันธุ์ได้ โดยการเกิดโรคหรือการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่ทำให้เกิดความเสียหายกับพืชได้นั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของเชื้อราสาเหตุโรคเป็นหลัก โดยปริมาณเชื้อราก่อโรคต้องมีมากพอจึงจะสามารถเข้าทำลายจนพืชแสดงอาการของโรคได้ (Banko et al., 2006; Matthews et al., 2023) อย่างไรก็ตามเชื้อราที่ยังปรากฏอยู่กับเมล็ดพันธุ์แม้จะไม่มีผลต่อการงอก แต่อาจสามารถเข้าทำลายต้นกล้าผักปลังได้หากนำไปปลูกลงแปลงผลิต ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของการใช้พลาสมาเย็นชนิด DBD ในการปรับปรุงคุณภาพเมล็ดพันธุ์ผักปลังและการควบคุมเชื้อราที่ติดมากับเมล็ด

แม้ว่าเทคโนโลยีพลาสมาเย็น ณ ปัจจุบันไม่ได้เริ่มถูกนำมาใช้จริงในธุรกิจเมล็ดพันธุ์ ยังอยู่ในขั้นตอนการพัฒนามุ่งถึงทำให้ต้นทุนลดลง อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองที่ผ่านมา รวมถึงจากการวิจัยในครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่าเทคโนโลยีพลาสมาเย็นมีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ได้ ทดแทนใช้สารเคมีซึ่งส่งผลเสียต่อเกษตรกรผู้ปลูก ดิน และสิ่งมีชีวิตที่มีประโยชน์ในดิน รวมถึงมีผลตกค้างในแปลงปลูก ดังนั้นสามารถนำเทคโนโลยีพลาสมาเย็นไปประยุกต์ใช้เป็นแนวทางในการควบคุมโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ในอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ได้

Table 3 Effect of Dielectric Barrier Discharge (DBD) cold plasma treatments on disease incident in Ceylon Spinach seeds

Treatment	Disease incident (%)
Control	86.67 a
DBD 5 Min	86.67 a
DBD 10 Min	73.33 b
DBD 15 Min	60.00 b
DBD 20 Min	53.33 c
F-test	**
C.V.	6.21

^{1/} The vertical means follow with the same letters are not statistically different when compared with the Fisher's Least Significant Difference (LSD)

,** There was significantly different at 95% and 99% confidence level, respectively

สรุป

การนำเมล็ดพันธุ์ผักปลังสายพันธุ์ BA008 มาฉายพลาสมาเย็นชนิด dielectric barrier discharge (DBD) 15 นาที สามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดพันธุ์ผักปลังมีค่าสูงกว่าทรีตเมนต์ควบคุม และยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดได้เพิ่มขึ้น 26.67% เมื่อเปรียบเทียบกับทรีตเมนต์ควบคุม

เอกสารอ้างอิง

- Adhikari, B., M. Adhikari, and G. Park. 2020. The effects of plasma on plant growth, development, and sustainability. *Applied Sciences*. 10: 6047.
- Akkaya, A., S. Altintas, and M. Korkmaz. 2021. Importance of seed quality & contamination prevention. *Seed Science and Technology*. 49: 47-56.
- AOSA. 1983. Seed vigor testing handbook. Virginia, USA: Association of Official Seed Analysts.
- Bailly, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*. 14: 93-107.
- Banko, T. J., P. A. Richardson, and C. X. Hong. 2006. Effects of zoospore concentration and application pressure on foliage blight of *Catharanthus roseus* caused by *Phytophthora nicotianae*. *Plant Disease*. 90: 297-301.
- Benabderrahim, M. A., I. Bettaieb, H. Hannachi, M. Rejili, and T. Dufour. 2024. Cold plasma treatment boosts barley germination and seedling vigor: insights into soluble sugar, starch, and protein modifications. *Journal of Cereal Science*. 116: 103852.
- Bewley, J. D., and M. Black. 1984. *Seeds physiology of development and germination*. New York: Plenum Press.
- Billah, M., S. Sajib, N. Roy, M. Rashid, M. Reza, M. Hasan, and M. Talukder. 2020. Effects of DBD air plasma treatment on the enhancement of black gram (*Vigna mungo* L.) seed germination and growth. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 681: 108253.
- Chatchawal, C., and N. Nualkaew. 2009. Ceylon spinach (*Basella alba* L.), a nutritious local vegetable with potential for health food production. *Journal of Thai Traditional and Alternative Medicine*. 7: 197-201.

- Côme, D., and F. Corbineau. 2000. Storage of seeds. P. 755-770. In: F. Artés, M. I. Gil, and M. A. Conesa (eds.). Improving postharvest technologies of fruits, vegetables and ornamentals. Paris, France: Springer.
- Damaris, R. N., Z. Lin, P. Yang, and D. He. 2019. The rice α -amylase, conserved regulator of seed maturation and germination. *International Journal of Molecular Sciences*. 20: 450.
- da Rocha, M. E. B., F. C. O. Ferier, F. E. F. Maia, M. I. F. Guedes, and D. Rondina. 2014. Mycotoxins and their effects on human health. *Food Control*. 36: 159-165.
- de Groot, G. J. J. B., A. Hundt, A. B. Murphy, M. P. Bange, and A. Mai-Prochnow. 2018. Cold plasma treatment for cotton seed germination improvement. *Scientific Reports*. 8: 14372.
- Dill-Macky, R., and R. K. Jones. 2000. The effect of crop rotation on Fusarium head blight in wheat. *Phytopathology*. 90: 1191-1196.
- Ellis, R. H., and E. H. Roberts. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*. 12: 373-409.
- Ellis, R. H., T. D. Hong, and E. H. Roberts. 1989. A comparison of low moisture content limit to the logarithmic relation between seed moisture and longevity in 12 species. *Annals of Botany*. 63: 601-611.
- Fan, L. M., X. F. Liu, Y. F. Ma, and Q. S. Xiang. 2020. Effects of plasma-activated water treatment on seed germination and growth of mung bean sprouts. *Journal of Taibah University for Science*. 14: 823-830.
- Fernandes, F. A. N., and S. Rodrigues. 2024. Cold plasma technology for sustainable food production: meeting the United Nations sustainable development goals. *Sustainable Food Technology*. 3: 32-53.
- Finch-Savage, W. E., and G. W. Bassel. 2016. Seed vigor and crop establishment: extending performance beyond adaptation. *Journal of Experimental Botany*. 67: 567-591.
- Finkelstein, R., W. Reeves, T. Ariizumi, and C. Steber. 2008. Molecular aspects of seed dormancy. *Annual Review of Plant Biology*. 59: 387-415.
- Gill, S. S., and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48: 909-930.
- Guragain, R. P., H. Kierzkowska-Pawlak, M. Fronczak, A. Kędzierska-Sar, D. P. Subedi, and J. Tyczkowski. 2024. Germination improvement of fenugreek seeds with cold plasma: exploring long-lasting effects of surface modification. *Scientia Horticulturae*. 324: 112619.
- International Seed Testing Association (ISTA). 2024. International rules for seed testing. Switzerland: The International Seed Testing Association.
- Janda, M., V. Martišovits, K. Hensel, Z. Machala, and P. C. Processing. 2016. Generation of antimicrobial NO_x by atmospheric air transient spark discharge. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 36: 767-781.
- Janda, M., K. Hensel, P. Tóth, M. E. Hassan, and Z. Machala. 2021. The role of HNO₂ in the generation of plasma-activated water by air transient spark discharge. *Applied Sciences*. 11: 7053.
- Kaneko, M., H. Itoh, M. Ueguchi-Tanaka, M. Ashikari, and M. Matsuoka. 2002. The α -amylase induction in endosperm during rice seed germination is caused by gibberellin synthesized in epithelium. *Plant Physiology*. 128: 1264-1270.

- Keidar, M., and E. Robert. 2015. Preface to special topic: plasmas for medical applications. *Physics of Plasmas*. 22: 121901.
- Le, T. Q. X., L. N. Nguyen, T. T. Nguyen, E. H. Choi, Q. L. Nguyen, N. K. Kaushik, and N. T. Dao. 2022. Effects of cold plasma treatment on physical modification and endogenous hormone regulation in enhancing seed germination and radicle growth of mung bean. *Applied Sciences*. 12: 10308.
- Lin, S. P., D. Fhumsupan, Y. J. Chou, K. C. Hsieh, H. Y. Hsu, Y. Ting, and K. C. Cheng. 2022. Applications of atmospheric cold plasma in agricultural, medical, and bioprocessing industries. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 106: 7737-7750.
- Li, K., C. Zhong, Q. Shi, H. Bi, and B. Gong. 2021. Cold plasma seed treatment improves chilling resistance of tomato plants through hydrogen peroxide and abscisic acid signaling pathway. *Free Radical Biology and Medicine*. 172: 286-297.
- Li, Y., T. Wang, Y. Meng, G. Qu, Q. Sun, D. Liang, and S. Hu. 2017. Air atmospheric dielectric barrier discharge plasma induced germination and growth enhancement of wheat seed. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 37: 1621-1634.
- Ling, L., J. Jiafeng, L. Jiangang, M. Minchong, H. Xin, S. Hanliang, and D. Yuanhua. 2014. Effects of cold plasma treatment on seed germination and seedling growth of soybean. *Scientific Reports*. 4: 5859.
- Liu, X., R. Li, Y. Dai, and Y. Sun. 2018. Salinity inhibits rice seed germination by reducing α -amylase activity via decreased bioactive gibberellin content. *Frontiers in Plant Science*. 9: 29556245.
- Lotfy, K. 2017. Effects of cold atmospheric plasma jet treatment on the seed germination and enhancement growth of watermelon. *Open Journal of Applied Sciences*. 7: 705-719.
- Mahmood, S., and H. Ahmad. 2016. Fungal contamination of seeds and its effect on seed quality. *Journal of Phytopathology*. 164: 285-292.
- Matthews, A., S. P. T. Muthukumar, S. Hamill, E. A. B. Aitken, and A. Chen. 2023. Impact of inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *zingiberi* on symptomatic appearances and yield of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Access Microbiology*. 5: 000605.
- Meng, Y., G. Qu, T. Wang, Q. Sun, D. Liang, and S. Hu. 2017. Enhancement of germination and seedling growth of wheat seed using dielectric barrier discharge plasma with various gas sources. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*. 37: 1105-1119.
- McDonald, M. B. 2004. Orthodox seed deterioration and its repair. P. 237-304. In: R. L. Benceh-Arnold and R. A. Sanchez (eds.). *Handbook of seed physiology: applications to agriculture*. London, UK: The Haworth Reference Press.
- Misra, N. 2016. Quality of cold plasma treated plant foods. P. 253-272. In: N. N. Misra, O. K. Schluter, and P. J. Cullen (eds.). *Cold plasma in food and agriculture*. London, UK: Elsevier.
- Mravlje, J., M. Regvar, P. Starič, M. Mozetič, and K. Vogel-Mikuš. 2021. Cold plasma affects germination and fungal community structure of buckwheat seeds. *Plants*. 10: 851.

- Montie, T. C., K. Kelly-Wintenberg, and J. R. Roth. 2000. An overview of research using the one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAUGDP) for sterilization of surfaces and materials. *IEEE Transactions on Plasma Science*. 28: 41-50.
- Pitt, J. I., and A. D. Hocking. 2009. *Fungi and food spoilage*. 3rd Edition. New York, USA: Springer.
- Puligundla, P., S. Choi, and C. Mok. 2018. Microbial decontamination of Gwamegi (semi-dried pacific saury) using corona discharge plasma jet, including physicochemical and sensory evaluation. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 27: 274-283.
- Randeniya, L. K., and G. J. de Groot. 2015. Non-thermal plasma treatment of agricultural seeds for stimulation of germination, removal of surface contamination and other benefits: a review. *Plasma Processes and Polymers*. 7: 608-623.
- Rasooli, Z., G. Barzin, T. D. Mahabadi, and M. Entezari. 2021. Stimulating effects of cold plasma seed priming on germination and seedling growth of cumin plant. *South African Journal of Botany*. 142: 106-113.
- Rathod, N. B., R. C. Ranveer, P. K. Bhagwat, F. Ozogul, S. Benjakul, S. Pillai, and U. S. Annapure. 2021. Cold plasma for the preservation of aquatic food products: an overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 20: 4407-4425.
- Sayahi, K., A. H. Sari, A. Hamadi, B. Nowruzi, and F. Hassani. 2024. Evaluating the impact of cold plasma on seedling growth properties, seed germination, and soybean antioxidant enzyme activity. *BMC Biotechnology*. 24: 93.
- Sauer, D. B. 1988. Effects of fungal deterioration on grain: nutritional value, toxicity, germination. *International Journal of Food Microbiology*. 7: 267-275.
- Scholtz, V., J. Pazlarova, H. Souskova, J. Khun, and J. Julak. 2015. Nonthermal plasma—a tool for decontamination and disinfection. *Biotechnology Advances*. 6: 1108-1119.
- Sharma, P., A. B. Jha, R. S. Dubey, and M. Pessarakli. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*. 1: 217037.
- Sheidaei, S., A. Hamidi, H. Sadeghi, B. Oskouei, and L. Zare. 2019. Impact of storage fungi on soybean seed deterioration in different storage conditions and seed moisture content. *Iranian Journal of Seed Research*. 6: 65-76.
- Shelar, A., A. V. Singh, P. Dietrich, R. S. Maharjan, A. Thissen, P. N. Didwal, M. Shinde, P. Laux, A. Luch, V. Mathe, T. Jahnke, M. Chaskar, and R. Patil. 2022. Emerging cold plasma treatment and machine learning prospects for seed priming: a step towards sustainable food production. *RSC Advances*. 12: 10467-10488.
- Sojithamporn, P., K. Leksakul, C. Sawangrat, N. Charoenchai, and D. Boonyawan. 2023. Degradation of pesticide residues in water, soil, and food products via cold plasma technology. *Foods*. 12: 4386.
- Song, J. S., M. J. Lee, J. E. Ra, K. S. Lee, S. Eom, H. M. Ham, H. Y. Kim, S. B. Kim, and J. Lim. 2020. Growth and bioactive phytochemicals in barley (*Hordeum vulgare* L.) sprouts affected by atmospheric pressure plasma during seed germination. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 53: 314002.
- Švubová, R., L. Slováková, L. Holubová, D. Rovňanová, E. Gálová, and J. Tomeková. 2021. Evaluation of the impact of cold atmospheric pressure plasma on soybean seed germination. *Plants*. 10: 177.

- Takahashi, R., and J. Abe. 1999. Soybean maturity genes associated with seed coat pigmentation and cracking in response to low temperatures. *Crop Science*. 6: 1657-1662.
- Ucar, Y., Z. Ceylan, M. Durmus, O. Tomar, and T. Cetinkaya. 2021. Application of cold plasma technology in the food industry and its combination with other emerging technologies. *Trends in Food Science and Technology*. 114: 355-371.
- Waghmare, R. 2021. Cold plasma technology for fruit based beverages: a review. *Trends in Food Science and Technology*. 114: 60-69.
- Wang, X. Q., R. W. Zhou, G. de Groot, K. Bazaka, A. B. Murphy, and K. Ostrikov. 2017. Spectral characteristics of cotton seeds treated by a dielectric barrier discharge plasma. *Scientific Reports*. 7: 5601.
- Zanakis, G. N., R. H. Ellist, and R. J. Summerfield. 1994. A comparison of changes in vigour among three genotypes of soyabean (*Glycine max*) during seed development and maturation in three temperature regimes. *Experimental Agriculture*. 2: 157-170.