ความงอก ความแข็งแรง และการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลือง หลังการเคลือบและพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Bacillus subtilis*

Germination, Vigor and Seedling Growth of Soybean after Seed Coating and Pelleting with *Bacillus subtilis*

จักรพงษ์ กางโสภา* เพชรรัตน์ จี้เพชร และ สุรีมาศ จันต๊ะอินทร์

Jakkrapong Kangsopa*, Phetcarat Jeephet and Sureemard Chantain

Received: 16 May 2020, Revised: 8 October 2020, Accepted: 4 November 2020

บทคัดย่อ

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจของประเทศไทย แต่เมล็ดพันธุ์สำหรับใช้เพาะปลูกยังคงไม่ได้คุณภาพและมาตรฐาน ทำให้ต้นกล้าหลังการเพาะปลูกงอกไม่สม่ำเสมอและอ่อนแอ จึงทำให้ง่ายต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลง งานทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเคลือบและการพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ต่อความงอก ความแข็งแรง และการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลือง ดำเนินการทดลองที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยมีผลการทดลองดังนี้ การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร มีการงอกรากสูงที่สุดคือ 99% อีกทั้งมีความเร็วในการงอกรากและความเร็วในการงอกสูงมากกว่าและแตกต่างกันในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดเปล่า ส่วนการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* ทุกวิธีการ และการเคลือบเมล็ดเพียงอย่างเดียวมีความงอกดีที่สุด อีกทั้งการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร ยังคงมีความยาวต้น ความยาวราก และผลรวมต้นกล้าดีมากกว่าและแตกต่างในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดเปล่าที่ตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ ส่วนการตรวจสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า การเคลือบเมล็ดเพียงอย่างเดียว การพอกเมล็ดเพียงอย่างเดียว และการเคลือบเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ทุกอัตรา มีความงอกดีที่สุด ดังนั้นการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร เป็นวิธีการและอัตราแนะนำที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมากที่สุด

คำสำคัญ: คุณภาพเมล็ดพันธุ์, การยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์, จุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

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

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

ABSTRACT

Soybeans are an important economic crop in Thailand. However, the soybean seeds used for growing soybeans lack quality and standards. This results in inconsistent and weak seedlings after cultivation, which can be easily destroyed by diseases and pesticides. This current experiment aims to study the effect of seed coating and seed pelleting using *Bacillus subtilis* on the germination, vigor, and growth of soybean seedlings. The experiment was conducted at the Seed Technology Laboratory, Agronomy Major, Faculty of Agricultural Production, Maejo University. An experimental design was done in a completely randomized design (CRD). The results of the experiment were as follows. Seeds coated with 0.5 milliliters of *B. subtilis* had the highest rate of radicle emergence at 99 %. Moreover, the speed of radicle emergence and speed of germination were statistically significantly higher compared to untreated seeds. On the other hand, all seeds coated with the *B. subtilis* and normal coated treatments gave the best germination rate. In addition, seeds coated with 0.5 milliliters of *B. subtilis* still had higher shoot length, root length, and total seedling quality when compared with untreated seeds under laboratory conditions. Under greenhouse conditions, compared to seed coating and pelleting, seed coating in combination with *B. subtilis* gave the best germination. Therefore, seed coating with 0.5 milliliters of *B. subtilis* is the most suitable method and recommended rate for soybean seed enhancement.

Key words: seed quality, seed enhancement, microorganisms

บทนำ

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีความสำคัญทางด้านเศรษฐกิจของประเทศไทย เพราะมีความต้องการใช้ในประเทศสูง และนำมาใช้ประโยชน์ได้กว้างขวาง ทั้งการบริโภค และการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ หลายรูปแบบ เช่น น้ำนม ถั่วเหลือง เต้าหู้ เต้าเจี้ยว เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ถั่วเหลืองยังเป็นพืชที่ผลิตได้ไม่เพียงพอต่อการใช้ภายในประเทศ ซึ่งจากการรายงานของ Department of Internal Trad (2020) พบว่า มีการนำเข้าเมล็ดถั่วเหลืองช่วงเดือนมกราคม-พฤษภาคม 2553 สูงขึ้นร้อยละ 12.37 โดยนำเข้าจากบราซิล 56% สหรัฐฯ 42% และแคนาดา 1% ส่วนการผลิตภายในประเทศมีการคาดการณ์ว่าผลผลิตถั่วเหลืองฤดูฝนจะออกสู่ตลาดประมาณ 18,889 ตันหรือคิดเป็นร้อยละ 49 ของปริมาณผลผลิตปี 2563/2564 หนึ่งในถั่วเหลืองที่มีปริมาณการเพาะปลูกมากคือ ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ. 5 ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ย 300-320 กก./ไร่ สามารถทนทานต่อโรคราสนิมและโรคแอนแทรคโนส แต่ยังอยู่ในระดับที่ไม่น่าพอใจ (Keereetaweep *et al*. 1987) อีกทั้งปัญหาด้านการเก็บเกี่ยวที่ล่าช้า ทำให้ผลผลิตและคุณภาพของถั่วเหลืองลดลง เนื่องจากมีโอกาสได้รับความเสียหายจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม โดยเฉพาะฝน ความชื้นอากาศ และอุณหภูมิสูง เป็นต้น จึงอาจส่งผลกระทบต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ไวขึ้น เมื่อนำไปใช้เพาะปลูกในฤดูกาลต่อไปจะทำให้ต้นกล้างอกไม่สม่ำเสมอ และอ่อนแอ และง่ายต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลงที่สำคัญ เช่น โรคราสนิม โรคใบจุดนูน และโรคราน้ำค้าง เป็นต้น (Pa-oblek, 2015)

ดังนั้นเกษตรกรผู้ปลูกถั่วเหลืองส่วนใหญ่ใช้สารเคมีเพื่อควบคุมการเกิดโรคกันอย่างมาก เนื่องจากสามารถควบคุมโรคได้อย่างรวดเร็วและใช้งานได้ง่าย แต่การใช้สารเคมีควบคุมโรคเป็นระยะเวลานานและมากเกินความจำเป็น อาจจะส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมและสุขภาพของผู้ใช้ อีกทั้งปัญหาการเสื่อมคุณภาพเมล็ดพันธุ์อย่างรวดเร็วจากการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวที่ไม่เหมาะสม ทำให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสูญเสียความงอกและความแข็งแรงก่อนถึงเวลาการเพาะปลูกได้ ดังนั้นแนวทางหนึ่งในการควบคุมคุณภาพเมล็ดพันธุ์ให้มีประสิทธิภาพสูงสุดก่อนการเพาะปลูกคือ การยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ร่วมกับจุลินทรีย์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (plant growth-promoting microorganisms) เพื่อลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีที่มากเกินความจำเป็นในระบบการปลูกพืช อีกทั้งลดต้นทุนการผลิตและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Kesan, 2007) จากประเด็นปัญหาดังกล่าวทำให้การเตรียมความพร้อมเมล็ดพันธุ์ผ่านการแก้ปัญหาทางเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ถูกนำมาปฏิบัติมากขึ้นในปัจจุบัน โดยเฉพาะการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีการเคลือบเมล็ดและพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับจุลินทรีย์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งการเคลือบเมล็ดเป็นวิธีการนำพาสารสะสมที่มีลักษณะบางเบาจำพวกพอลิเมอร์ (Thin polymer) มาฉาบยึดเกาะให้สม่ำเสมอไปรอบๆ ผิวของเมล็ดพันธุ์ (Siri, 2015; Pedrini *et al*., 2017; Kangsopa, 2019)

ส่วนการพอกเมล็ดพันธุ์เป็นการห่อหุ้มเมล็ดด้วยวัสดุพอกชนิดต่าง ๆ ทำให้เมล็ดที่ถูกพอกมีขนาด รูปร่างและน้ำหนักของเมล็ดเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม และมีวัสดุประสาน หรือสารเชื่อมยึด ทำหน้าที่หลักช่วยให้วัสดุพอกและเมล็ดพันธุ์ยึดเกาะกันอย่างแน่นหนาโดยสารพอกไม่แตก หรือหลุดร่วงออกจากกัน (Taylor *et al*., 1998) ดังนั้นสารเคลือบเมล็ดและสารพอกเมล็ดพันธุ์จึงเป็นสื่อกลางสำคัญในการนำพาสารจุลินทรีย์ที่ต้องการให้ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ ทำให้การเตรียมความพร้อมเมล็ดพันธุ์ด้วยการเคลือบและพอกเมล็ดร่วมกับจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชก่อนนำไปใช้เพาะปลูก จึงเป็นวิธีที่สามารถใช้เมล็ดพันธุ์ให้เกิดประสิทธิภาพสูงที่สุด (Siri, 2015) นอกจากนี้ การเลือกใช้ Carboxymethyl cellulose (CMC) ที่ระดับความเข้มข้นต่ำจะเหมาะสมต่อการเป็นสารเคลือบ และเมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้นสูง CMC จะเหมาะนำไปใช้เป็นวัสดุประสานสำหรับพอกร่วมกับเมล็ดพันธุ์ โดย CMC เป็นอนุพันธ์เซลลูโลสที่สกัดได้จากพืช มีโครงสร้างเป็นร่างแห จึงง่ายต่อการขึ้นรูปก้อนพอก และก้อนพอกมีการยึดเกาะกันอย่างแน่นหนา (Siri, 2015) อีกทั้งจาก CMC เป็นสารสกัดที่ได้จากพืชจึงถูกนำมาใช้เพื่อเป็นตัวกลางนำพาจุลินทรีย์ให้ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ดีกว่าพอลิเมอร์กลุ่มสังเคราะห์ (Accinelli *et al*., 2018; Rocha *et al*., 2019) ส่วนการเลือกใช้ calcium sulfate เป็นวัสดุพอก ซึ่งมีอนุภาคขนาด 79 ไมครอน (Chindaprasirt *et al*., 2011) ทำให้ง่ายต่อการขึ้นรูปก้อนพอกเมล็ด และทำให้ก้อนพอกมีความแข็งแรงสูง (Punsukumtana, 2009) จึงนิยมถูกนำมาใช้เป็นวัสดุห่อหุ้มเมล็ดให้มีขนาดใหญ่ขึ้น โดยมีความเป็นพิษและเกิดผลกระทบต่อกระบวนการงอกของเมล็ดพันธุ์ อย่างไรก็ตาม วิธีการเคลือบและพอกเมล็ดพันธุ์มีผลต่อความงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชที่แตกต่างกัน จึงทำให้การเลือกวิธีการที่เหมาะสมต่อการยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีความสำคัญต่อการเป็นตัวกลางนำพาสารออกฤทธิ์ให้ติดไปกับเมล็ดพันธุ์

ส่วนข้อดีของวิธีการเคลือบเมล็ดและพอกเมล็ด คือ สามารถเพิ่มจุลินทรีย์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชให้ติดไปกับเมล็ดได้ โดยเฉพาะการใช้ *Bacillus subtilis* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้

ทั่วไปในธรรมชาติ สามารถสร้างเอนโดสปอร์ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ทนต่อสภาพแวดล้อม ทั้งสารเคมี รังสี และความร้อนได้ดีกว่าเซลล์ปกติ (Kloepper *et al*., 2004; Thomma and Sirithorn, 2012) จึงมีความเหมาะสมต่อการนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับวิธีการเคลือบและพอกร่วมกับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง อีกทั้ง *B. subtilis* มีคุณสมบัติสามารถผลิตฮอร์โมนพืช หรือสนับสนุนให้พืชหาอาหาร และการดูดซึมจากดินผ่านกลไกต่างๆ มากขึ้น ยกตัวอย่างเช่น การตรึงไนโตรเจนในบรรยากาศ (Lakshminarayana *et al*., 1992) การกระตุ้นการละลายของฟอสเฟตที่ไม่ละลายน้ำ (Kundu and Gaur, 1980) การสังเคราะห์สารประกอบธาตุเหล็ก (Glick *et al*., 2007) การผลิตกรดอินทรีย์กรดอะมิโน (IAA) ซึ่งช่วยเพิ่มการเจริญของรากและลำต้น (Oteino *et al*., 2015) จึงมีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพิ่มมากขึ้น จากการรายงานของ Junges *et al*. (2013) พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* ทำให้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมีความงอกเพิ่มขึ้น และ Tu *et al*. (2016) พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* SL-13 สามารถยกระดับความงอกของเมล็ดพันธุ์ฝ้ายเพิ่มขึ้น 28.74% จากเดิม อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันประเทศไทยยังคงขาดเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวกับการประยุกต์ใช้วิธีการเคลือบเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองร่วมกับจุลินทรีย์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ดังนั้น คุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีการตอบสนองต่อวิธีการยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่แตกต่างกัน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของความงอก ความแข็งแรง และการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลือง หลังการเคลือบและการพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ที่อัตราแตกต่างกัน ผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกเพื่อยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์และการเพาะปลูกถั่วเหลืองให้มีผลผลิตและคุณภาพเพิ่มสูงขึ้น

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้รับความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ. 5 จากศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่ กองวิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร โดยได้ดำเนินการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ สาขาวิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ระหว่างเดือน สิงหาคม 2562 - กุมภาพันธ์ 2563 ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินการทดลองดังต่อไปนี้

1. การเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Bacillus subtilis*

การทดลองนี้วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized design (CRD) ประกอบด้วย 9 ตำรับทดลอง (ตารางที่ 1) จำนวน 4 ซ้ำ ทำโดยเตรียมสารเคลือบเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองโดยใช้ Carboxymethyl cellulose (CMC) อัตรา 0.1% โดยน้ำหนักเป็นสารเคลือบ ส่วนการพอกเมล็ดพันธุ์ใช้ CMC อัตรา 0.5% โดยน้ำหนักเป็นวัสดุประสาน และใช้ Calcium sulfate อัตรา 50 กรัม/เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง 45 กรัม จากนั้นนำสูตรสารเคลือบและสูตรสารพอกมาปฏิบัติต่อเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *Bacillus subtilis* MBI 600 (Integral®, BASF) (ความเข้มข้นของจำนวนเชื้อ 2.2×10^{10} สปอร์/มิลลิลิตร) ตามตารางที่ 1 หลังจากการเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์แล้วนำไปลดความชื้นของเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในลักษณะต่างๆ

ตารางที่ 1 แสดงสูตรการเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองร่วมกับ *Bacillus subtilis* ในอัตราที่แตกต่างกัน

สารออกฤทธิ์	สูตรการเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง								
	Coating		Pelleting	Coating			Pelleting		
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
[1] CMC (กรัม)	-	0.1	0.5	0.1%	0.1	0.1	0.5	0.5	0.5
Bacillus subtilis (มิลลิลิตร)	-	-	-	0.5	1.0	2.0	0.5	1.0	2.0
น้ำ (มิลลิลิตร)	-	99.9	99.5	99.4	98.9	97.9	99.4	98.9	97.9

[1] CMC: Carboxymethyl cellulose

2. การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

2.1 การตรวจสอบความงอกในสภาพห้องปฏิบัติการ ทำโดยสุ่มเมล็ดพันธุ์ทุกวิธีการจำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด มาทดสอบความงอกโดยวิธี Between paper (BP) จากนั้นนำไปไว้ในตู้เพาะความงอกอุณหภูมิสลับ (8 ชั่วโมง 30°C และ 16 ชั่วโมง 25°C) แล้วตรวจนับความงอกหลังการเพาะครั้งแรกที่ 5 วัน (First count) และ 8 วันหลังเพาะ (Final count) โดยนำมาประเมินผลการตรวจสอบความงอกตามวิธีของ ISTA (2019)

2.2 การตรวจสอบความงอกในสภาพเรือนทดลอง สุ่มเมล็ดพันธุ์ทุกวิธีการจำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด มาทดสอบความงอกในถาดหลุม ซึ่งใช้พีทมอส (Peatmoss) เป็นวัสดุเพาะต้นกล้า แล้วประเมินผลการงอกที่ 5-8 วัน เช่นเดียวกันกับวิธีการตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

2.3 การตรวจสอบความเร็วในการงอกในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง ทำโดยสุ่มเมล็ดพันธุ์ทุกวิธีการจำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด แล้วนำไปเพาะทดสอบความงอก จากนั้นนับจำนวนเมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าปกติ ประเมินนับทุกวัน ตั้งแต่เริ่มนับครั้งแรก (First count) จนถึงวันสุดท้าย (Final count) แล้วนำผลการนับมาคำนวณหาความเร็วในการงอกตามสูตร

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

2.4 การตรวจสอบการงอกของรากและความเร็วในการงอกรากในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยสุ่มประเมินการงอกรากจากการเพาะทดสอบในวันที่ 1 และ 4 วันหลังเพาะ ในแต่ละกรรมวิธีทำ 4 ซ้ำ โดยจะเริ่มตรวจนับเมื่อเมล็ดมีการงอกของรากที่ความยาว 2 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การงอกราก ส่วนการตรวจสอบความเร็วในการงอกรากให้ประเมินนับทุกวัน ในวันที่ 1 ถึงวันที่ 4 หลังเพาะ จากนั้นนำมาคำนวณหาความเร็วในการงอกรากของต้นกล้าถั่วเหลือง

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

2.5 การตรวจสอบการโผล่พ้นดินและความเร็วในการโผล่พ้นดินในสภาพเรือนทดลอง สุ่มประเมินการงอกของ Cotyledon ของต้นกล้าถั่วเหลืองที่โผล่พ้นดินขึ้นมาจากหลุมเพาะต้นกล้าในวันที่ 1 และ 4 วันหลังเพาะ ในแต่ละกรรมวิธี ทำ 4 ซ้ำ จากนั้นนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การโผล่พ้นดินของต้นกล้าถั่วเหลือง ส่วนการตรวจสอบความเร็วในการโผล่พ้นดิน ดำเนินการสุ่มตรวจนับการงอกของ Cotyledon ของต้นกล้าถั่วเหลืองที่โผล่พ้นดินขึ้นมาทุกวันตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 4 หลังการเพาะ จากนั้นนำมาคำนวณหาความเร็วในการโผล่พ้นดินของต้นกล้าถั่วเหลือง

2.6 การตรวจสอบความยาวต้นและความยาวรากในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง โดยสุ่มต้นกล้าปกติที่อายุ 8 วันหลังเพาะ ทำ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 10 ต้น โดยในสภาพห้องปฏิบัติการ ทำการตรวจวัดความยาวต้น โดยวัดตั้งแต่ส่วนรอยต่อของต้นกับรากไปจนถึงปลายสุดใบจริง (Foliage leaf) ส่วนความยาวราก วัดจากบริเวณปลายรากจนถึงบริเวณข้อต่อระหว่างส่วนรากและลำต้นของต้นกล้า (Baki and Anderson, 1973) และการประเมินความยาวต้นกล้าทั้งหมด ตรวจวัดตั้งแต่ปลายรากไปจนจนถึงปลายสุดใบจริง ส่วนการตรวจสอบความยาวต้นในสภาพเรือนทดลอง วัดจากบริเวณข้อต่อต้นและรากไปจนถึงปลายสุดใบจริง (foliage leaf) ใช้หน่วยเป็นมิลลิเมตร

2.7 การประเมินน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลำต้นในสภาพห้องปฏิบัติการและในสภาพเรือนทดลอง โดยในสภาพห้องปฏิบัติการนำความยาวต้นกล้าทั้งหมดที่ได้จากการตรวจสอบในข้อที่ 2.6 มาประเมินหาน้ำหนักแห้ง โดยนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักประเมินผล ส่วนในสภาพเรือนทดลองนำลำต้นของต้นกล้าถั่วเหลืองมาชั่งประเมินหาน้ำหนักสด มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม จากนั้นนำลำต้นของต้นกล้าไปประเมินหาน้ำหนักแห้งลำต้น โดยนำไปอบด้วยอุณหภูมิและระยะเวลาเดียวกันกับการตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

2.8 การวิเคราะห์ข้อมูล ทำการวิเคราะห์ข้อมูลคุณภาพเมล็ดพันธุ์ตามลักษณะต่างๆ แปลงข้อมูลเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดเพื่อวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้วิธี Arcsine transformation และเมื่อข้อมูลมีค่าเป็น 0 มีการแปลงค่าโดยวิธี Square root $\sqrt{x+0.5}$ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

จากการเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองร่วม *B. subtilis* ในอัตราที่แตกต่างกัน แล้วนำมาเพาะตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในลักษณะต่างๆ ในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลอง จึงมีผลการทดลองดังนี้

1. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบและพอกเมล็ดร่วมกับ *Bacillus subtilis* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการพิจารณาตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังเพาะทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร มีการงอกรากของต้นกล้าดีที่สุดคือ 99 เปอร์เซ็นต์ ส่วนความเร็วในการงอกรากพบว่า เมล็ดที่ผ่านการเคลือบด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร มีความเร็วในการงอกรากดีมากกว่าและแตกต่างกับเมล็ดเปล่าและวิธีการอื่นๆ แต่ไม่พบความแตกต่างกับการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 1.0 มิลลิลิตร และเมื่อตรวจสอบความงอกพบว่า การเคลือบเมล็ดทุกวิธีการทำให้มีความงอกของเมล็ดถั่วเหลืองดีที่สุดและแตกต่างในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ ส่วนความเร็วในการงอกยังคงพบว่า การเคลือบเมล็ด

ด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร มีความเร็วในการงอกมากกว่าและแตกต่างในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ แต่ไม่พบความแตกต่างกับการเคลือบเมล็ดด้วยสารเคลือบเพียงอย่างเดียว (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การงอกราก ความเร็วในการงอกราก ความงอก และความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง หลังผ่านการเคลือบและพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ในอัตราที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี [1]	สภาพห้องปฏิบัติการ			
	การงอกราก (%) [2]	ความเร็วในการงอกราก (ราก/วัน)	ความงอก (%)	ความเร็วในการงอก (ต้น/วัน)
T1	87 c [3]	40.78 c	71 bc	15.96 c
T2	97 b	45.50 ab	87 a	18.12 ab
T3	83 cd	36.56 d	76 b	14.18 d
T4	99 a	46.67 a	93 a	18.84 a
T5	96 b	44.22 ab	86 a	17.56 b
T6	95 b	42.67 bc	86 a	16.60 c
T7	62 e	24.61 f	55 d	9.77 f
T8	76 d	30.44 e	63 cd	12.29 e
T9	68 e	25.33 f	59 d	9.87 f
F-test	**	**	**	**
CV.(%)	5.19	5.11	7.53	4.19

** : มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $p \leq 0.01$

[1] T1 = เมล็ดเปล่า, T2 = การเคลือบเมล็ดด้วย CMC, T3 = การพอกเมล็ดด้วย Calcium sulfate, T4 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.5 มิลลิลิตร, T5 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0 มิลลิลิตร, T6 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 2.0 มิลลิลิตร, T7 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.5 มิลลิลิตร, T8 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0 มิลลิลิตร, T9 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 2.0 มิลลิลิตร

[2] อักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ $p \leq 0.05$

[3] แปลงข้อมูลการงอกรากและความงอกโดยวิธี arcsin ก่อนนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

2. การเปลี่ยนแปลงคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบและพอกเมล็ดร่วมกับ *Bacillus subtilis* ในสภาพเรือนทดลอง

เมื่อตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังเพาะทดสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า การเคลือบเมล็ดเพียงอย่างเดียว และการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร ไม่ทำให้การโผล่พ้นดิน และความเร็วในการโผล่พ้นดินมีความแตกต่างในทางสถิติกับเมล็ดเปล่า แต่มีความแตกต่างกับวิธีการอื่นๆ ส่วนการตรวจสอบความงอกพบว่า การเคลือบเมล็ดทุกวิธีการและการพอกเมล็ดด้วย Calcium sulfate เพียงอย่างเดียวมีความงอกดีที่สุดและแตกต่างในทาง

สถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ และเมื่อตรวจสอบความเร็วในการงอกพบว่า การพอกเมล็ดด้วย Calcium sulfate เพียงอย่างเดียว และการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* ทุกวิธีการมีความเร็วในการงอกดีที่สุดและแตกต่างในทางสถิติกับกรรมวิธีการทดลองอื่นๆ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การโผล่พ้นดิน ความเร็วในการโผล่พ้นดิน ความงอก และความเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองหลังผ่านการเคลือบและพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ในอัตราที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบในสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี[1]	สภาพเรือนทดลอง			
	การโผล่พ้นดิน (%)[2]	ความเร็วในการโผล่พ้นดิน (ต้น/วัน)	ความงอก (%)	ความเร็วในการงอก (ต้น/วัน)
T1	37 a [3]	10.28 a	59 b	10.72 b
T2	35 ab	9.33 ab	75 a	12.73 c
T3	13 d	3.78 c	73 a	12.67 a
T4	29 abc	8.50 ab	83 a	13.82 a
T5	27 bc	7.44 b	75 a	12.68 a
T6	25 c	7.22 b	79 a	13.14 a
T7	6 e	1.61 c	33 c	5.64 c
T8	9 de	2.28 c	22 d	3.53 d
T9	12 d	3.56 c	18 d	3.05 d
F-test	**	**	**	**
CV.(%)	13.07	24.07	9.19	11.07

** : มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $p \leq 0.01$

[1] T1 = เมล็ดเปล่า, T2 = การเคลือบเมล็ดด้วย CMC, T3 = การพอกเมล็ดด้วย Calcium sulfate, T4 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.5 มิลลิลิตร, T5 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0 มิลลิลิตร, T6 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 2.0 มิลลิลิตร, T7 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.5 มิลลิลิตร, T8 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0 มิลลิลิตร, T9 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 2.0 มิลลิลิตร

[2] อักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ $p \leq 0.05$

[3] แปลงข้อมูลการโผล่พ้นดินและความงอก ก่อนนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิธี arcsin

3. การเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลือง หลังการเคลือบและพอกเมล็ดร่วมกับ *Bacillus subtilis* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

จากการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลืองหลังเพาะทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการพบว่า การเคลือบเมล็ดเพียงอย่างเดียว (T2) การพอกเมล็ดด้วย Calcium sulfate เพียงอย่างเดียว (T3) และการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 (T4) และ 1.0 มิลลิลิตร (T5) มีความยาวลำต้นสูงที่สุดและแตกต่างในทางสถิติเมื่อ

เปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ ส่วนการตรวจสอบความยาวรากพบว่า การพอกเมล็ดด้วย Calcium sulfate เพียงอย่างเดียว (T3) และการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 (T4) และ 1.0 มิลลิลิตร (T5) มีความยาวรากดีที่สุดและแตกต่างกับวิธีการอื่นๆ แต่ไม่พบความแตกต่างในทางสถิติกับการเคลือบเมล็ดเพียงอย่างเดียว และการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 2.0 มิลลิลิตร (T6) และเมื่อพิจารณาผลรวมต้นกล้าถั่วเหลืองพบว่า การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 (T4) และ 1.0 มิลลิลิตร (T5) มีผลรวมต้นกล้าสูงมากกว่าและแตกต่างในทางสถิติกับวิธีการอื่น จากนั้นพิจารณาตรวจสอบน้ำหนักแห้งต้นกล้าพบว่า การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร (T4) และการพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 1.0 (T8) และ 2.0 มิลลิลิตร (T9) มีน้ำหนักแห้งต้นกล้าสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ (ตารางที่ 4) และจากการพิจารณา ภาพที่ 1 แสดงให้เห็นว่า การเคลือบและการพอกเมล็ดทุกวิธีการทำให้ต้นกล้าถั่วเหลืองมีการเปลี่ยนแปลงของรากและลำต้นดีมากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบและพอกเมล็ด

ภาพที่ 1 แสดงต้นกล้าของถั่วเหลืองหลังผ่านการเคลือบและการพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ในอัตราที่แตกต่างกัน หลังผ่านการเพาะทดสอบ 8 วัน เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ, T1 = เมล็ดเปล่า, T2 = การเคลือบเมล็ดด้วย CMC, T3 = การพอกเมล็ดด้วย Calcium sulfate, T4 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.5 มิลลิลิตร, T5 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0 มิลลิลิตร, T6 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 2.0 มิลลิลิตร, T7 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.5 มิลลิลิตร, T8 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0 มิลลิลิตร, T9 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 2.0 มิลลิลิตร; กำลังขยาย 10X.

ตารางที่ 4 ความยาวต้น ความยาวราก ผลรวมต้นกล้า และน้ำหนักแห้งต้นกล้าของถั่วเหลือง หลังผ่านการเคลือบและพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ในอัตราที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี [1]	สภาพห้องปฏิบัติการ			
	ความยาวต้น (มิลลิเมตร)	ความยาวราก (มิลลิเมตร)	ผลรวมต้นกล้า (มิลลิเมตร)	น้ำหนักแห้งต้นกล้า (มิลลิกรัม)
T1	123.30 b[2]	127.50 c	250.80 de	1040 c
T2	139.20 a	152.33 ab	291.53 b	1053 c
T3	140.97 a	161.60 a	302.57 ab	1093 bc
T4	145.90 a	167.33 a	313.23 a	1253 a
T5	147.23 a	165.93 a	313.17 a	1113 bc
T6	118.07 bc	152.40 ab	270.47 c	1163 ab
T7	121.67 b	130.83 c	252.50 c-e	1200 ab
T8	122.40 b	140.47 bc	262.87 cd	1250 a
T9	107.07 c	129.20 c	236.27 e	1230 a
F-test	**	**	**	**
CV.(%)	13.07	24.07	9.19	11.07

** : มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $p \leq 0.01$

[1] T1 = เมล็ดเปล่า, T2 = การเคลือบเมล็ดด้วย CMC, T3 = การพอกเมล็ดด้วย Calcium sulfate, T4 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.5 มิลลิลิตร, T5 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0 มิลลิลิตร, T6 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 2.0 มิลลิลิตร, T7 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.5 มิลลิลิตร, T8 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0 มิลลิลิตร, T9 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 2.0 มิลลิลิตร

[2] อักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ $p \leq 0.05$

4. การเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลือง หลังการเคลือบและพอกเมล็ดร่วมกับ *Bacillus subtilis* ในสภาพเรือนทดลอง

เมื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลืองหลังเพาะทดสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า การเคลือบเมล็ดทุกวิธีการมีความยาวลำต้น และน้ำหนักสดลำต้นดีที่สุด วิธีการอื่นๆ ส่วนการตรวจสอบน้ำหนักแห้งลำต้น พบว่า การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร ดีมากกว่าการพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ทุกวิธีการ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ความยาวต้น น้ำหนักสดต้น และน้ำหนักแห้งต้นของถั่วเหลือง หลังผ่านการเคลือบและพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* ในอัตราที่แตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบในสภาพเรือนทดลอง

กรรมวิธี [1]	สภาพเรือนทดลอง		
	ความยาวต้น (มิลลิเมตร)	น้ำหนักสดต้น (มิลลิเมตร)	น้ำหนักแห้งต้น (มิลลิเมตร)
T1	62.57 ab[2]	7223 ab	878 a-d
T2	66.80 a	7443 a	930 ab
T3	55.97 b	6250 b	963 ab
T4	66.90 a	7410 a	977 a
T5	65.97 a	7303 a	930 ab
T6	65.90 a	7470 a	910 a-c
T7	40.13 c	4527 c	783 cd
T8	44.47 c	4603 c	824 b-d
T9	38.50 c	4240 c	757 d
F-test	**	**	**
CV.(%)	8.89	10.91	9.81

** : มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ $p \leq 0.01$

[1] T1 = เมล็ดเปล่า, T2 = การเคลือบเมล็ดด้วย CMC, T3 = การพอกเมล็ดด้วย Calcium sulfate, T4 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.5 มิลลิลิตร, T5 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0 มิลลิลิตร, T6 = การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* 2.0 มิลลิลิตร, T7 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 0.5 มิลลิลิตร, T8 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 1.0 มิลลิลิตร, T9 = การพอกเมล็ดด้วย *B. subtilis* 2.0 มิลลิลิตร

[2] อักษรต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันทางสถิติ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT ที่ $p \leq 0.05$

Bacillus เป็นหนึ่งในสกุลของแบคทีเรียที่มีการศึกษามากที่สุด เนื่องจากมีประสิทธิภาพส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (Widnyana and Javandira, 2016) จึงนำมาเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพร่วมกับเทคโนโลยีการเคลือบและการพอกเมล็ดพันธุ์ โดยมีผลการทดลองหลังการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่แตกต่างกันจึงสามารถวิจารณ์ผลได้ดังนี้

จากผลการทดลองในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลองแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าวิธีการพอกเมล็ดด้วย Calcium sulfate ร่วมกับ *B. subtilis* ไม่มีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นวิธีการยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ทั้งนี้เมื่อตรวจสอบในภาพห้องปฏิบัติการ การเคลือบเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* มีการเปลี่ยนแปลงของการงอกราก และความงอกดีมากกว่าเมล็ดเปล่า และวิธีการพอกเมล็ดอย่างชัดเจน โดยเฉพาะการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร (T4) ทั้งนี้การใช้ Carboxymethyl cellulose (CMC) เป็นสารเคลือบ ซึ่ง CMC เป็นอนุพันธ์เซลลูโลสที่สกัดจากธรรมชาติ เป็นสารเคลือบเมื่ออยู่ในรูปเป็นแผ่นฟิล์มจะมีความแข็งแรง และยึดเกาะกันแน่นหนา แต่สามารถละลาย

น้ำได้ง่าย (Khorasani and Shojaosadati, 2017; Kangsopa, 2020) จึงทำให้ CMC มีบทบาทสำคัญเป็นตัวกลางนำพา *B. subtilis* ให้ติดไปกับเมล็ด (Ashraf and Foolad, 2005) ทำให้เมล็ดถั่วเหลืองถูกห่อหุ้มด้วยสารเคลือบที่มี *B. subtilis* อย่างบางเบาติดอยู่รอบๆ เมล็ด ซึ่งแตกต่างจากวิธีการพอกเมล็ด ที่มีผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า มีผลขัดขวางต่อการงอก และการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลืองอย่างชัดเจน โดยการพอกเมล็ดเป็นวิธีการห่อหุ้มเมล็ดด้วยสารพอกเมล็ดจนทำให้เมล็ดมีขนาดและรูปร่างเปลี่ยนแปลงไป (Taylor *et al*., 1998) ซึ่งในการทดลองนี้ใช้ Calcium sulfate เป็นวัสดุพอก และใช้ CMC เป็นวัสดุประสาน เมื่อนำไปห่อหุ้มเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองผ่านวิธีการพอกเมล็ด จะทำให้เมล็ดพอกมีขนาดใหญ่ขึ้นและมีความแข็งมากกว่าวิธีการเคลือบเมล็ด โดยเฉพาะ CMC เป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลสชนิดหนึ่ง โดยโมเลกุลของเซลลูโลสประกอบด้วยหน่วยย่อยของ D-anhydroglucopyranose มาเชื่อมต่อกันเป็นสายยาวแบบเชิงเส้น (linear polymer) ด้วยพันธะ β-14 glucosidic ทำให้มีโครงสร้างเป็นร่างแห (Rowe *et al*., 2009) จึงอาจทำให้วิธีการพอกเมล็ดมีผลขัดขวางต่อการซึมผ่านของออกซิเจน และความชื้น โดยสารพอกจะไปอุดตันรูไมโครไพล์ (Micropyle) ที่เป็นตำแหน่งการดูดซึมน้ำของถั่วเหลืองที่ไวที่สุด (Chanprasert, 2010) นอกจากนี้ Calcium sulfate ที่ห่อหุ้มเมล็ดยังทำให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองได้รับความชื้นมากเกินความต้องการต่อการงอกของเมล็ด จึงทำให้เมล็ดดูดซับออกซิเจนได้น้อยไม่เพียงพอต่อกระบวนการงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง และเป็นหนึ่งในสาเหตุที่ทำให้เซลล์เมมเบรนของเมล็ดสูญเสียสภาพ (Chanprasert, 2010) ซึ่งสังเกตได้จากการประเมินคุณภาพเมล็ดพันธุ์จะพบว่าวิธีการพอกเมล็ดจะพบลักษณะของเมล็ดเน่ามากกว่าวิธีการเคลือบเมล็ด อีกทั้งเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเป็นพืชน้ำมัน วิธีการพอกเมล็ดอาจมีผลต่อการสะสมความชื้นเกินความจำเป็น จึงเกิดการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระที่เป็นพิษต่อเซลล์ มีส่วนในการสร้างความเสียหายต่อเยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้โครงสร้างไมโทคอนเดรียผิดปกติได้ในช่วงระยะการเก็บสะสมความชื้นของเมล็ด (Priestley, 1986; Chanprasert, 2010) เมื่อพิจารณาการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร (T4) มีผลทำให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมี ความงอก ความเร็วในการงอก และความสูงของต้นกล้าดีทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพเรือนทดลองมากกว่าวิธีการอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจาก *B. subtilis* สามารถผลิต 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase เพื่อควบคุมระดับเอทิลีน โดยจะเกิดการเผาผลาญ ACC แล้วเปลี่ยนไปเป็น α-ketobutyric และแอมโมเนียที่มีผลต่อการส่งเสริมการงอกของเมล็ด (Arshad *et al*., 2007; Glick *et al*., 2007) สอดคล้องกับ Junges *et al*. (2013) พบว่าการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* ทำให้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมีความงอกดีมากขึ้นจากเดิม ส่วน Martínez *et al*. (2013) รายงานว่า การแช่เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศด้วย *Bacillus* สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกขึ้น 5-6% จากเดิม ต่อมา Tu *et al*. (2016) รายงานเพิ่มเติมว่า การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* SL-13 สามารถยกระดับความงอกของเมล็ดพันธุ์ฝ้ายเพิ่มขึ้น 28.74%

เมื่อพิจารณาการพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* อัตรา 1.0 (T8) และ 2.0 มิลลิลิตร (T9) แสดงให้เห็นชัดเจนว่า มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งต้นกล้าสูงเพิ่มขึ้นจากเดิม ทั้งนี้การพอกเมล็ดเป็นการห่อหุ้มเมล็ดด้วยวัสดุพอกรอบๆ เมล็ดด้วย Calcium sulfate จึงทำให้เมล็ดพอกมีพื้นที่สำหรับให้ *B. subtilis* ติดไปกับเมล็ดถั่วเหลืองได้ในปริมาณที่มากกว่าวิธีการเคลือบเมล็ด จึงทำให้ปริมาณของ *B. subtilis* ติดไปกับเมล็ดได้มากกว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์ ดังนั้นจากผล

การทดลองจึงแสดงให้เห็นว่า ปริมาณของ *B. subtilis* ที่ติดไปกับเมล็ดที่ผ่านการพอกในปริมาณมากกว่าวิธีการเคลือบเมล็ด ไม่มีผลกระทบต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ นอกจากนี้ *B. subtilis* ที่ติดไปกับเมล็ดในปริมาณมากมีโอกาสรอดชีวิตติดอยู่กับเมล็ดได้ยาวนานมากยิ่งขึ้น จึงทำให้ *B. subtilis* ที่ติดไปกับเมล็ดสามารถออกฤทธิ์ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้เพิ่มมากขึ้นจากเดิม โดย *B. subtilis* ยังมีบทบาทสำคัญสามารถสังเคราะห์ Phytohormone ในกลุ่ม ออกซิน จิบเบอเรลลิน และ ไซโตไคนิน ที่มีบทบาทต่อการกระตุ้นการงอกราก รวมทั้งส่งเสริมพัฒนาการการเจริญเติบโตของต้นกล้า (Glick, 2012) ได้ดีมากกว่าเมล็ดเปล่า โดยเฉพาะ Indole-3-acetic acid (IAA) ซึ่งมีบทบาททำให้เกิดการเจริญเติบโตของพืชเพิ่มขึ้น โดยการเพิ่มการแบ่งเซลล์ของลำต้นของต้นกล้าให้ยืดขยายเซลล์เพิ่มสูงขึ้นจากเดิม (Zaidi *et al*., 2006) นอกจากนี้ IAA ยังทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญที่ปลายรากพืชทำให้มีพื้นผิวสัมผัสเพิ่มขึ้น และเพิ่มความสามารถในการลำเลียงธาตุอาหาร (Yang *et al*., 2009) จึงทำให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการพอกเมล็ดร่วมกับ *B. subtilis* มีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งต้นกล้าดีเพิ่มสูงขึ้นจากเดิม นอกจากนี้พบรายงานการทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชโดยการตรึงไนโตรเจนใน *Bacillus* OSU-142 ซึ่งสามารถเพิ่มผลผลิตของข้าวสาลี ชูก้าบีท และผักขมได้เพิ่มมากขึ้น (Cakmakci *et al*., 2007) และพบรายงานการเพิ่มขึ้นของความยาวต้น และความยาวรากของต้นกล้าผักกาดหอม หลังการพอกเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *B. subtilis* CC-pg104 (Rekha *et al*., 2007) นอกจากนี้ เมื่อเมล็ดมะเขือเทศได้รับการคลุกด้วย *B. subtilis* (EPC016) พบว่า การเจริญเติบโตของต้นกล้าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการคลุก (Ramyabharathi *et al*., 2013) ดังนั้นจากผลการทดลองจึงแสดงให้เห็นว่าการเคลือบเมล็ดเป็นวิธีการนำพา *B. subtilis* ให้ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ดีมากกว่าวิธีการพอกเมล็ดพันธุ์ อีกทั้งยังสามารถส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลืองได้ดีมากขึ้นจากเดิม

ดังนั้นจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวิธีการเคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับ *B. subtilis* จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมต่อการยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมากกว่าวิธีการพอกเมล็ดพันธุ์

สรุป

จากผลของการเคลือบและพอกเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองร่วมกับ *B. subtilis* ในอัตราที่แตกต่างกันแล้วนำมาเพาะตรวจสอบคุณภาพในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันสามารถสรุปได้ว่า การเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร มีการงอกรากดีที่สุดคือ 99% ส่วนการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* ทุกวิธีการและการเคลือบเมล็ดเพียงอย่างเดียวมีความงอกดีที่สุดและแตกต่างในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ ส่วนการเคลือบเมล็ดด้วย *B. subtilis* อัตรา 0.5 มิลลิลิตร มีความยาวต้น ความยาวราก และผลรวมต้นกล้าดีมากกว่าและแตกต่างในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดเปล่าเมื่อตรวจสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ ส่วนการตรวจสอบในสภาพเรือนทดลองพบว่า การเคลือบเมล็ดเพียงอย่างเดียว การพอกเมล็ดเพียงอย่างเดียว และการเคลือบเมล็ดทุกวิธีการ และการพอกเมล็ดเพียงอย่างเดียวมีความงอกมากกว่าและแตกต่างในทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ ส่วนการเคลือบเมล็ดด้วย CMC, *B. subtilis* ที่อัตรา 0.5, 1.0 และ 2.0 มิลลิลิตร มีความยาวต้นและน้ำหนักสดต้นสูงมากกว่าวิธีการพอกเมล็ดทุกวิธีการแต่ไม่พบความแตกต่างกันในทางสถิติกับเมล็ดกับเมล็ดเปล่า

เอกสารอ้างอิง

Accinelli, C., Abbas, H.K., Little, N.S., Kotowicz, J.K. and Shier, W.T. 2018. Biological control of aflatoxin production in corn using non-aflatoxigenic *Aspergillus flavus* administered as a bioplastic-based seed coating. **Crop Protection** 107(2018): 87-92.

Arshad, M., Saleem, M. and Hussain, S. 2007. Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. **Trends in Biotechnology** 25(8): 356-362.

Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2005. Pre-sowing seed treatment-a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. **Advances in Agronomy** 88(2005): 223-271.

Baki, A. and Anderson, J.D. 1973. Vigor determination in soybean seed by multiple criteria. **Crop Science** 13(6): 630- 633.

Cakmakci, R., Erat, M., Erdogan, U. and Donmez, M.F. 2007. The influence of plant growth-promoting rhizobacteria on growth and enzyme activities in wheat and spinach plants. **Journal of Plant Nutrition and Soil Science** 170(2): 288-295.

Chanprasert, W. 2010. **Seed Physiology.** Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)

Chindaprasirt, P., Boonserm, K., Chairuangsri, T., Vichit-Vadakan, W., Eaimsin, T., Sato, T. and Pimraksa, K. 2011. Plaster material from waste calcium sulfate containing chemicals, organic fibers and inorganic additive. **Construction and Building Materials** 25: 3193-3203.

Department of Internal Trad. 2020. **Situation of the Soybean Seed.** Available Source: https://bit.ly/3pOcLkU, October 28, 2021. (in Thai)

Glick, B.R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica** 2012(5): 1-15. Article ID 963401.

Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J. and Duan, J. 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase -producing soil bacteria. **European Journal of Plant Pathology** 119(3): 329-339.

ISTA. 2019. **International Rules for Seed Testing, Edition 2019.** International Seed Testing Association, Bassersdorf.

Junges, E., Toebe, M., Feliciano dos Santos, R., Finger, G. and Muniz, M.F.B. 2013. Effect of priming and seed-coating when associated with *Bacillus subtilis* in maize seeds. **Revista Ciência Agronômica** 44(3): 520-526.

Kangsopa, J. 2019. Seed Coating. **Journal of Agricultural Production** 1(2): 63-76. (in Thai)

Kangsopa, J. 2020. Binder material for seed pelleting. **Khon Kaen Agriculture Journal** 48(1): 119 -130. (in Thai).

Keereetaweep, R., Kaewmeechai, S., Chotiyarnwong, A., Gong-in, S., Phothaen, N. and Kajonmalee, V. 1987. Soybean varietal improvement for rust resistance, pp. 49-58. *In* **Seminar Report: the 2nd Soybean Research.** Pitsanulok. (in Thai)

Kesan, J.P. 2007. **Agricultural Biotechnology and Intellectual Property: Seeds of Change.** CAB International, Wallingford, UK.

Khorasani, A.C. and Shojaosadati, S.A. 2017. Starch-and carboxymethylcellulose-coated bacterial nanocellulose-pectin bionanocomposite as novel protective prebiotic matrices. **Food Hydrocolloids** 63(2017): 273-285.

Kloepper, J.W., Ryu, C.M. and Zhang, S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. **The American Phytopathological Society** 94(11): 1259-1266.

Kundu, B.S. and Gaur, A.C. 1980. Establishment of nitrogen-fixing and phosphate-solubilizing bacteria in rhizosphere and their effect on yield and nutrient uptake of wheat crop. **Plant and Soil** 57(1980): 223-230.

Lakshminarayana, K., Narula, N., Hooda, I.S. and Faroda, A.S. 1992. Nitrogen economy in wheat (*Triticum aestivum*) through use of *Azotobacter chroococcum*. **Indian Journal of Agricultural Sciences** 62(1): 75-76.

Martínez, L.L., Peniche, R.M., Iturriaga, M.H. and Arvizu -Medrano, S.M. 2013. Characterization of rhizobacteria isolated from tomato and their effect on tomato and bell pepper growth. **Revista Fitotecnia Mexicana** 36(1): 63-69.

Oteino, N., Lally, R.D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K.J. and Dowling, D.N. 2015. Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. **Frontier in Microbiology** 6(2015): 745.

Pa-oblek, S. 2015. **Research and Development on Soybean.** Department of Agricultural, Bangkok. (in Thai)

Pedrini, S., Merritt, D.J., Stevens, J. and Dixon, K. 2017. Seed Coating: Science or Marketing Spin?. **Trends in Plant Science** 22(2): 106-116.

Priestley, D.A. 1986. **Seed Aging: Implications for Seed Storage and Persistence in the Soil.** Comstock Publishing Associates, London.

Punsukumtana, L. 2009. Reuse Plaster. **Ceramics Journal** 3(3): 34-35. (in Thai)

Ramyabharathi, S., Meena, B. and Raguchander, T. 2013. Induction of defense enzymes and proteins in tomato plants by *Bacillus subtilis* EPCO16 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. **Madras Agricultural Journal** 100(Special Issue): 126-130.

Rekha, P.D., Lai, W., Arun, A.B. and Young, C.C. 2007. Effect of free and encapsulated *Pseudomonas putida* CC-FR2-4 and *Bacillus subtilis* CC-pg104 on plant growth under gnotobiotic conditions. **Bioresource Technology** 98(2): 447-451.

Rocha, I., Ma, Y., Carvalho, M.F., Magalhães, C., Janoušková, M. and Vosátka, M. 2019. Seed coating with inocula of *arbuscular mycorrhizal* fungi and plant growth promoting rhizobacteria for nutritional enhancement of maize under different fertilization regimes. **Archives of Agronomy and Soil Science** 65(1): 31-43.

Rowe, R.C., Sheskey, P.J. and Quinn, M.E. 2009. **Handbook of Pharmaceutical Excipients.** 6th ed. Pharmaceutical Press, London.

Siri, B. 2015. **Seed Conditioning and Seed Enhancements.** Klungnanawitthaya Priting, Khon Kaen. (in Thai).

Taylor, A.G., Allen, P.S., Bennett, M.A., Bradford, K.J., Burris, J.S. and Misra, M.K. 1998. Seed enhancements. **Seed Science Research** 8(2): 245-256.

Thomma, K. and Sirithorn, P. 2012. Effect of antagonistic bacterium *Bacillus subtilis* B006 as seed coating for control of *Botryosphaeria rhodina*, cause of gummosis disease. **Khon Kaen Agriculture Journal** 40(1): 53-60. (in Thai)

Tu, L., He, Y.H., Shan, C.H. and Wu, Z.S. 2016. Preparation of microencapsulated *Bacillus subtilis* SL-13 seed coating agents and their effects on the growth of cotton seedlings. **BioMed Research International** 2016: 1-7. DOI: 10.1155/2016/3251357

Widnyana, K.I. and Javandira, C. 2016. Activities *Pseudomonas* spp. and *Bacillus* sp. to stimulate germination and seedling growth of tomato plants. **Agriculture and Agricultural Science Procedia** 9(2016): 419-423.

Yang, O., Li, C., Li, H., Li, Y. and Yu, N. 2009. Degradation of synthetic reactive azo dyes and treatment of textile wastewater by a fungi consortium reactor. **Biochemical Engineering Journal** 43(3): 225-230.

Zaidi, S., Usmani, S., Singh, B.R. and Musarrat, J. 2006. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ 101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*. **Chemosphere** 64(6): 991-997.