ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

พืชไร่นา

สาขา

พืชไร่นา

ภาควิชา

เรื่อง ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

Effect of Ozonated Water Treatment on Seed Quality of Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] and Black Gram [*Vigna mungo* (L.) Hepper]

นามผู้วิจัย นางสาวอารียา นาวินปกาสิตย์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(รองศาสตราจารย์วันชัย จันทร์ประเสริฐ, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์จวงจันทร์ ดวงพัตรา, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(รองศาสตราจารย์สมศิริ แสงโชติ, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

Effect of Ozonated Water Treatment on Seed Quality of Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] and Black Gram [*Vigna mungo* (L.) Hepper]

โดย

นางสาวอารียา นาวินปกาสิตย์

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
พ.ศ. 2552

อารียา นาวินปกาสิตย์ 2552: ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชไร่นา ภาควิชาพืชไร่นา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์วันชัย จันทร์ประเสริฐ, Ph.D. 107 หน้า

การศึกษาผลของน้ำโอโซนความเข้มข้น 12.5, 25.0, 37.5, 50.0 และ 62.5 ppm ต่อความงอกและการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันพันธุ์กำแพงแสน 2 และถั่วเขียวผิวดำพันธุ์อู่ทอง 2 เพื่อการผลิตถั่วงอก พบว่า น้ำโอโซนไม่มีผลต่อความงอกและเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำของเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากการผลิตในปี 2549 แต่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าและระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50}) โดยทำให้อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อแช่เมล็ดในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 50.0 และ 62.5 ppm เมล็ดถั่วเขียวผิวดำที่ผ่านการแช่ในน้ำโอโซนเข้มข้น 25.0-50.0 ppm มีค่า T_{50} ลดลง และทำให้เชื้อรา *Cladosporium* spp.ลดลง สำหรับถั่วเขียวผิวมัน โอโซนช่วยลดปริมาณเชื้อรา *Aspergillus* spp. และ *Cladosporium* spp. แต่ไม่สามารถควบคุมเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิด ส่วนการทดลองในปี 2550 พบว่า น้ำโอโซนไม่มีผลต่อความงอก อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า T_{50} และเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ในขณะที่น้ำโอโซนทุกความเข้มข้นมีแนวโน้มทำให้เชื้อรา *Alternaria alternata* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวดำลดลง แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. และ *M. phaseolina*

ส่วนการศึกษาผลของน้ำโอโซนและน้ำร้อนต่อการงอกและการควบคุมเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวเพื่อพัฒนาเทคนิคการแช่เมล็ดในขั้นตอนการเพาะถั่วงอก โดยนำเมล็ดถั่วเขียวผิวมันพันธุ์กำแพงแสน 2 และถั่วเขียวผิวดำพันธุ์อู่ทอง 2 มาแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 27, 32, 37 และ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า การใช้น้ำโอโซนแล้วตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่าง ๆ ไม่มีผลต่อความงอกและอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า แต่การแช่เมล็ดในน้ำโอโซนตามด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส ช่วยกระตุ้นความเร็วในการงอกของเมล็ด นอกจากนี้การแช่เมล็ดในน้ำโอโซนตามด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ช่วยลดปริมาณเชื้อรา *Cladosporium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่สามารถลดปริมาณเชื้อรา *Aspergillus* spp., *Curvularia* spp. และ *M. phaseolina*

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Areeya Nawinpakasit 2009: Effect of Ozonated Water Treatment on Seed Quality of Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] and Black Gram [*Vigna mungo* (L.) Hepper]. Master of Science (Agriculture), Major Field: Agronomy, Department of Agronomy. Thesis Advisor: Associate Professor Wanchai Chanprasert, Ph.D. 107 pages.

An efficacy of ozonated water at the concentrations of 12.5, 25.0, 37.5, 50.0 and 62.5 ppm on seed germination and seed-borne fungus infection of mungbean seed cv. Kamphaeng Saen 2 and black gram seed cv. Uthong 2 used for bean sprout production was investigated. Seeds produced in 2006 was treated, the results showed that ozonated water had no effect on seed germination and oversoak percentage, but affected seedling growth rate and times to fifty percent germination (T_{50}). Both mungbean and black gram, seedling growth rate were reduced, especially in the ozonated water at the concentrations of 50.0 and 62.5 ppm. Ozonated water at 25.0-50.0 ppm reduced T_{50} only in black gram. It was found that ozonated water at 25.0-37.5 ppm reduced some seed-borne fungi; *Aspergillus* spp. and *Cladosporium* spp. on mungbean. In black gram, ozonated water reduced *Cladosporium* spp. but did not affect *Macrophomina phaseolina*. Seeds produced in 2007, ozonated water did not affect seed germination, seedling growth rate, T_{50} and oversoak percentage of mungbean and black gram. However, it trended to reduce *Alternaria alternata* on black gram seeds whereas no reduction of *Fusarium* spp. and *M. phaseolina* was found.

Further investigation, ozonated water followed by hot water was used to treat mungbean and black gram seeds for controlling seed-borne fungi and improving seed germination aiming to develop a soaking technique for bean sprout production. Mungbean and black gram seeds; cv. Kamphaeng Saen 2 and Uthong 2, respectively; were soaked in ozonated water at 25 ppm and subsequently soaked in hot water at 27, 32, 37 and 42 °C for 1 hour. Ozonated water followed by soaking in hot water had no effect on germination and seedling growth rate but reduced T_{50} when soaked at 37 and 42 °C. Moreover, ozonated water followed by hot water treatment at 42 °C significantly reduced *Cladosporium* spp. in mungbean and black gram, but did not reduce *Aspergillus* spp., *Curvularia* spp. or *M. phaseolina*.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย จันทร์ประเสริฐ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และช่วยเหลืออย่างดียิ่ง ทั้งในด้านการเรียน การดำเนินการวิจัย การแก้ไขและเรียบเรียงวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.จวงจันทร์ ดวงพัตรา และรองศาสตราจารย์ ดร.สมศิริ แสงโชติ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำในการเรียน การดำเนินการวิจัย ตลอดจนแก้ไขและเรียบเรียงวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ และกราบขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.เจริญศักดิ์ โรจนฤทธิ์พิเชษฐ์ ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้าย และรองศาสตราจารย์ ดร.อารมย์ ศรีพิจิตต์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่กรุณาแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ ที่กรุณาให้คำปรึกษาปัญหาต่าง ๆ ในระหว่างทำงานวิจัย และการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ รวมทั้งครู อาจารย์ ทุกท่านที่อบรมสั่งสอน ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้

ขอขอบคุณ คุณชัยณรงค์ แสงผา คุณหล่ำ ชินวงศ์ท้วม และเจ้าหน้าที่แปลงทดลองโครงการพืชโปรตีนสูง ภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ที่ให้ความอนุเคราะห์ช่วยเหลือเป็นอย่างดี ตลอดการทำแปลงทดลอง

ขอขอบคุณ คุณปัญญาศรี ธัญญะภู คุณธีรนาฏ กาลปักษ์ คุณวาสิฏฐี เป้าเล้ง คุณอภิรัฐ บัณฑิต ตลอดจนพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ทุกท่าน ที่เป็นกำลังใจ ให้คำปรึกษา และให้ความช่วยเหลือจนวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงด้วยดี

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ คุณยาย และขอขอบคุณทุกคนในครอบครัว ที่ให้การสนับสนุน และเป็นกำลังใจที่ดีแก่ข้าพเจ้าเสมอมา

อารียา นาวินปกาสิตย์

มีนาคม 2552

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(7)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(8)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	18
อุปกรณ์	18
วิธีการ	19
ผลและวิจารณ์	25
ผล	25
วิจารณ์	59
สรุปและข้อเสนอแนะ	78
สรุป	78
ข้อเสนอแนะ	79
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	80
ภาคผนวก	94
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	107

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ความงอกมาตรฐาน (เปอร์เซ็นต์) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝนปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน	27
2	อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (มิลลิกรัมต่อต้น) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝนปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน	28
3	ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50}, ชั่วโมง) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝนปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน	29
4	เมล็ดบวมน้ำ (เปอร์เซ็นต์) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝนปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน	32
5	เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *A. alternata* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน	35
6	เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน	36
7	เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Cladosporium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน	37

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
8	เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน	40
9	เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *M. phaseolina* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน	41
10	ความงอกมาตรฐาน (เปอร์เซ็นต์) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง	43
11	อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (มิลลิกรัมต่อต้น) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง	44
12	ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50}, ชั่วโมง) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง	46
13	เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *A. alternata* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน	49

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน	50
15	เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Cladosporium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน	52
16	เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Curvularia* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน	53
17	เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน	55
18	เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *M. phaseolina* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน	56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

19 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Penicillium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน 58

ตารางผนวกที่

1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความงอกมาตรฐาน อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด และเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำ ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน 98

2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความงอกมาตรฐาน อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด และเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำ ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2550 หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน 99

3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน 100

4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2550 หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน 101

5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความงอกมาตรฐาน อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า และระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนเข้มข้น 25 ppm แล้วตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน 102

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
6	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนเข้มข้น 25 ppm แล้วตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน	103
7	ความชื้น (เปอร์เซ็นต์) ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ได้จากฤดูฝน ปี 2549 และ 2550	104
8	ชนิดและเปอร์เซ็นต์เชื้อราจากแปลง (field fungi) ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ได้จากฤดูฝน ปี 2549 เมื่อเจริญบนอาหาร Potato drextose agar	104
9	เปอร์เซ็นต์เยื่อหุ้มเมล็ดของถั่วเขียวผิวมัน พันธุ์กำแพงแสน 2 และถั่วเขียวผิวดำ พันธุ์อู่ทอง 2	105

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50}, ชั่วโมง) ของเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25.0, 37.5 และ 50.0 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม 30

2 ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50}, ชั่วโมง) ของเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซน (OW) ความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (W) 47

ภาพผนวกที่

1 ปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ (ก) ถั่วเขียวผิวมัน และ (ข) ถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝนปี 2549 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้นต่างกัน 103

2 ปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ (ก) ถั่วเขียวผิวมัน และ (ข) ถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝนปี 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้นต่างกัน 104

3 ปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ (ก) ถั่วเขียวผิวมัน และ (ข) ถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซน (OW) ความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (W) 105

4 อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส) ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2549 ถึงเดือนตุลาคม 2550 ณ สถานีอุตุนิยมวิทยานครปฐม อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 106

5 ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์) และปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร) ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2549 ถึงเดือนตุลาคม 2550 ณ สถานีอุตุนิยมวิทยานครปฐม อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 106

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

a_w	=	Water activity
CFU/g	=	Colony forming unit per gram
ClO_2	=	Chlorinedioxide
NaOCl	=	Sodiumhypochlorite
NUV	=	Near ultraviolet
O_3	=	Ozone
ppb	=	Parts per billion
pphm	=	Parts per hundred million
ppm	=	Parts per million
T_{50}	=	Times to fifty percent germination

ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

Effcet of Ozonated Water Treatment on Seed Quality of Mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] and Black Gram [*Vigna mungo* (L.) Hepper]

คำนำ

ถั่วเขียวผิวมันเป็นพืชตระกูลถั่วที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เมล็ดสามารถนำไปบริโภคและแปรรูปเป็น ถั่วงอก วุ้นเส้น แป้งถั่วเขียว ขนมหวาน และส่วนประกอบอาหารต่าง ๆ การบริโภคถั่วเขียวในประเทศไทยมีแนวโน้มสูงขึ้นตามลำดับ แต่พื้นที่เพาะปลูกลดลงจาก 954,000 ไร่ ในปี 2549/50 เหลือประมาณ 935,000 ไร่ ในปี 2550/51 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550) ทั้งนี้เพราะเกษตรกรหันไปปลูกพืชอื่นที่ดูแลรักษาง่ายและให้ผลตอบแทนสูงกว่า ส่วนถั่วเขียวผิวดำนิยมปลูกเพื่อบริโภคโดยตรงในรูปเมล็ดหรือถั่วงอก มีตลาดต่างประเทศที่สำคัญคือ ญี่ปุ่น เนื่องจากถั่วงอกที่เพาะจากถั่วเขียวผิวดำมีลักษณะอวบอ้วนและขาวกว่าถั่วงอกจากถั่วเขียวผิวมัน ทั้งยังเก็บไว้ได้นานกว่าอีกด้วย (พีระศักดิ์, 2542)

ปัญหาประการหนึ่งในการผลิตถั่วเขียวของไทยคือปัญหาเรื่องเมล็ดพันธุ์ เกษตรกรส่วนใหญ่มักเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ใช้เอง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้ผ่านการจัดการที่ดี ไม่มีการคัดทำความสะอาด จึงเป็นเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพต่ำ และอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตลดลง (วันชัย, 2542) นอกจากนี้โรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ ยังทำให้เกิดความเสียหายต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ในช่วงการเก็บรักษาและการใช้ประโยชน์ในรูปถั่วงอก เมล็ดพันธุ์ที่นำมาเพาะถั่วงอกควรเป็นเมล็ดที่สะอาด ถ้ามีเชื้อโรคไม่ว่าจะเป็นเชื้อราหรือแบคทีเรีย แม้เพียงเมล็ดเดียวก็อาจทำให้ถั่วงอกที่เพาะทั้งหมดเน่าได้ (กำพล และคมสัน, 2549) ในอุตสาหกรรมการเพาะถั่วงอกไม่สามารถใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคได้ โอโซนจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้ฆ่าเชื้อโรคในผลิตภัณฑ์อาหารโดยไม่มีสารพิษตกค้าง การใช้โอโซนในรูปของก๊าซหรือสารละลายที่ความเข้มข้นต่ำและระยะเวลาสัมผัสสั้นก็เพียงพอที่จะยับยั้งแบคทีเรีย รา ยีสต์ ปรสิต และไวรัสได้ (Kim *et al*., 1999b) การทดลองนี้จึงต้องการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำโอโซนในการกำจัดเชื้อราและผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาคุณภาพเมล็ดพันธุ์และลดการสูญเสียเมล็ดพันธุ์ในการเพาะถั่วงอก

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของน้ำโอโซนที่มีต่อการงอกและการยับยั้งเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

2. เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการใช้น้ำโอโซนเพื่อยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

3. เพื่อศึกษาผลของน้ำโอโซนและน้ำร้อนที่มีต่อการงอกและการยับยั้งเชื้อราในเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

การตรวจเอกสาร

สถานการณ์การผลิตถั่วเขียว

ถั่วเขียวเป็นพืชอายุสั้น ใช้น้ำน้อย ทนแล้งได้ดี เกษตรกรนิยมปลูกเป็นพืชหมุนเวียนหลังเก็บเกี่ยวพืชหลัก ทั้งในสภาพนาและพื้นที่ไร่ เพราะสามารถใช้ความชื้นที่เหลืออยู่ในดินภายหลังเก็บเกี่ยวพืชหลักได้โดยไม่กระทบต่อผลผลิตมากนัก โดยปลูกก่อนหรือหลังการทำนาหรือพืชไร่ เพื่อตัดวงจรการระบาดของศัตรูพืช นอกจากนี้ถั่วเขียวยังช่วยบำรุงและรักษาความอุดมสมบูรณ์ให้กับดิน เพราะสามารถตรึงไนโตรเจนได้ 10-50 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ต่อปี และต้นถั่วเขียวยังเป็นปุ๋ยพืชสดที่ให้ปริมาณไนโตรเจนสูงถึง 5-6 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ต่อปี (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2549) ถั่วเขียวผิวมันสามารถปลูกได้ทั้งต้นฤดูฝน ปลายฤดูฝน และฤดูแล้ง แหล่งปลูกถั่วเขียวที่สำคัญอยู่ในภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเพชรบูรณ์ สุโขทัย นครสวรรค์ กำแพงเพชร พิษณุโลก ตาก อุตรดิตถ์ มีปลูกบ้างเล็กน้อยในบางจังหวัดของภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ (ชัยภัทร์, 2547) ส่วนถั่วเขียวผิวดำจะปลูกได้เพียงปีละหนึ่งครั้ง โดยปลูกพร้อมกับถั่วเขียวผิวมันรุ่นปลายฤดูฝน มีความทนทานต่อความแห้งแล้งมากกว่าถั่วเขียวผิวมัน แหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่ จังหวัดสุโขทัย เพชรบูรณ์ ตาก พิจิตร พิษณุโลก กำแพงเพชร น่าน และลพบุรี (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2549)

ในช่วง 3 ปีที่ผ่านมา (ปี 2548/49-2550/51) พื้นที่เพาะปลูกมีแนวโน้มลดลงจาก 1.02 ล้านไร่ ในปี 2548/49 เป็น 0.94 ล้านไร่ ในปี 2550/51 (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550) เนื่องจากถั่วเขียวเป็นพืชที่ต้องการความประณีตในการเก็บเกี่ยว ทำให้ต้นทุนค่าแรงงานในการเก็บเกี่ยวสูง ประกอบกับการขาดแคลนเมล็ดพันธุ์ดี ทำให้เกษตรกรหันไปปลูกพืชอื่นที่ให้ผลตอบแทนดีกว่า เช่น ข้าวนาปรัง ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ เป็นต้น (ชัยภัทร์, 2547) ขณะที่ผลผลิตและผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 1.11 แสนตัน และ 110 กิโลกรัมต่อไร่ ในปี 2548/49 เป็น 1.12 แสนตัน และ 121 กิโลกรัมต่อไร่ ในปี 2550/51

สถานการณ์การตลาด

ปริมาณการใช้ถั่วเขียวภายในประเทศ แยกเป็นถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ถั่วเขียวผิวมันสามารถแบ่งการใช้ประโยชน์ออกเป็น 2 ระดับ คือระดับครัวเรือน และอุตสาหกรรม สำหรับครัวเรือน ใช้ถั่วเขียวผิวมันเพื่อทำขนมต่าง ๆ และทำถั่วงอก ส่วนระดับอุตสาหกรรมใช้เพื่อทำวุ้นเส้น เพาะถั่วงอก สกัดทำแป้งและโปรตีน (นันทวรรณ, 2540) การใช้ประโยชน์จากถั่วเขียวผิวมันตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบันยังคงมีการใช้ในลักษณะเดิม แต่มีปริมาณการใช้เพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณการใช้ต่อปีดังนี้ ทำพันธุ์ 10,000-15,000 ตัน วุ้นเส้น 40,000-50,000 ตัน เพาะถั่วงอก 40,000-50,000 ตัน แป้งถั่วเขียว 10,000-20,000 ตัน ขนม 20,000-30,000 ตัน และบริโภค 5,000-10,000 ตัน (เรืองเดช, 2538) การส่งออกถั่วเขียวสามารถส่งออกในรูปเมล็ด ผลิตภัณฑ์วุ้นเส้น แป้งถั่วเขียว ถั่วซีก และถั่วงอกบรรจุกระป๋อง ตลาดส่งออกถั่วเขียวผิวมันที่สำคัญ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ศรีลังกา ฮ่องกง กัมพูชา ฟิลิปปินส์ อินเดีย และอินโดนีเซีย (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2549) ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกถั่วเขียวผิวดำประมาณ ปีละ 8 แสนไร่ ผลผลิตรวม 7.8 หมื่นตัน ผลผลิตส่วนใหญ่ร้อยละ 90 ส่งออกจำหน่ายต่างประเทศ สำหรับการบริโภคภายในประเทศมีน้อย คิดเป็นร้อยละ 10 ของผลผลิตทั้งหมด โดยบริโภคในรูปของถั่วงอก ตลาดต่างประเทศที่นำเข้าถั่วเขียวผิวดำของไทยมีจำกัด ที่สำคัญคือ ญี่ปุ่นและอินเดีย ซึ่งในระยะหลัง ๆ ญี่ปุ่นนำเข้าน้อย เพราะถั่วเขียวของไทยมีเชื้อราปนมากับเมล็ด และมีราคาสูงเมื่อเทียบกับประเทศจีนและพม่าซึ่งมีคุณภาพดีกว่า ส่วนปริมาณการนำเข้าของประเทศอินเดียขึ้นอยู่กับผลผลิตภายในประเทศ ประกอบกับปัญหาการกีดกันทางการค้าของอินเดียด้วย (นันทวรรณ, 2540)

คุณค่าทางโภชนาการและประโยชน์ของถั่วเขียว

องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียวและถั่วเขียวผิวดำค่อนข้างคล้ายคลึงกัน คือ มีโปรตีน 25.0-28.0 เปอร์เซ็นต์ น้ำมัน 1.0-1.5 เปอร์เซ็นต์ เส้นใย 3.5-4.5 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 4.5-5.0 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรท 62.0-65.0 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักแห้ง (Lawn and Ahn, 1985) แม้ว่าถั่วเขียวจะมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ แต่ยังขาดกรดอะมิโนซึ่งมีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ เมทไทโอนีน (methionine) และซีสตีน (cystine) เพื่อให้ได้คุณค่าของโปรตีนที่สมบูรณ์ จึงควรรับประทานถั่วเขียวร่วมกับโปรตีนจากแหล่งอื่น ๆ เช่น ข้าว งา เนื้อสัตว์ต่าง ๆ และนม ขณะที่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำมีกรดอะมิโนทั้งสองชนิดนี้อยู่สูง คือ มีเมทไทโอนีนประมาณ 3 เท่า และซีสตีนประมาณ 1.5 เท่าของถั่วเขียว เมล็ดถั่วเขียวมีไขมันต่ำเมื่อเทียบกับถั่วชนิดอื่น จึงไม่สามารถใช้เป็นวัตถุดิบผลิตน้ำมันปรุงอาหารได้ แต่เป็นแหล่งสำคัญของแป้งและแร่ธาตุต่าง ๆ ได้แก่

โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส และแคลเซียม นอกจากนี้เมล็ดถั่วเขียวยังอุดมไปด้วยวิตามินเอ บี 1 บี 2 ไนอาซิน และวิตามินซี ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อร่างกายและการดำรงชีวิตของมนุษย์ทั้งสิ้น (พีระศักดิ์, 2542) ในระหว่างการงอกของเมล็ดถั่วเขียวปริมาณโปรตีน เบต้า-แคโรทีน วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 ฟอสฟอรัส และเหล็ก จะสูงขึ้น โดยเฉพาะวิตามินซีจะสูงขึ้นอย่างมาก ปัจจุบันมีงานวิจัยจำนวนมากแสดงให้เห็นประสิทธิภาพของเมล็ดพันธุ์พืชผักที่กำลังงอกมีบทบาทในการต้านสารอนุมูลอิสระ มีฮอร์โมนและเอนไซม์ช่วยกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันและยับยั้งการเกิดมะเร็ง ลดการเสื่อมถอยของร่างกาย และใยอาหารยังช่วยขจัดสารพิษในลำไส้ใหญ่ได้อีกด้วย (กำพล และคมสัน, 2549)

ถั่วเขียวใช้ทำผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด ความต้องการใช้ถั่วเขียวภายในประเทศมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ทั้งนี้เนื่องจากความต้องการนำไปแปรรูปเพิ่มมากขึ้น เช่น เพาะถั่วงอก วุ้นเส้น แป้งถั่วเขียว และขนมหวานต่าง ๆ ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวนอกจากจะใช้ภายในประเทศแล้ว ยังสามารถส่งไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศได้เป็นจำนวนมาก ทำให้การส่งออกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2549) ส่วนถั่วเขียวผิวดำมีการใช้ประโยชน์ที่สำคัญคือ การใช้เพาะเป็นถั่วงอก โดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่นซึ่งเป็นตลาดใหญ่ที่สุด สำหรับประเทศอินเดียซึ่งเป็นตลาดใหญ่รองจากญี่ปุ่น มีการนำไปใช้ทำแป้งหรือประกอบอาหารจำพวกซุปและแกงต่าง ๆ ในรูปทั้งเมล็ดหรือเมล็ดผ่าซีก (ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, 2542) ส่วนการใช้บริโภคภายในประเทศไทยในรูปของถั่วงอกนั้นไม่เป็นที่นิยมของผู้บริโภค เนื่องจากถั่วงอกที่ได้จากถั่วเขียวผิวดำจะมีกลิ่นเหม็นเขียว แต่ผู้ผลิตบางรายนำถั่วงอกที่ได้จากถั่วเขียวผิวดำผสมรวมกับถั่วงอกจากถั่วเขียวเพื่อจำหน่ายแก่ผู้บริโภค (สมชาย และมนตรี, 2540)

ลักษณะประจำพันธุ์ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

1. ถั่วเขียวผิวมัน ดังรายงานของศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท (2543) ได้แก่

1.1 พันธุ์ชัยนาท 60 มีทรงพุ่มเล็ก และต้นเตี้ย ฝักอยู่เหนือทรงพุ่มเด่นชัด อายุเก็บเกี่ยวสั้น สามารถเก็บผลผลิตได้เมื่ออายุ 55-60 วัน เหมาะสำหรับปลูกต้นฤดูฝน ทนต่อดินด่าง แต่มีข้อจำกัดคือ ไม่ควรปลูกในฤดูแล้ง เนื่องจากฝักแก่ค่อนข้างแตกง่าย ไม่ต้านทานต่อโรคใบจุดสีน้ำตาล ผลผลิตเฉลี่ยใกล้เคียงกับพันธุ์กำแพงแสน 2 และชัยนาท 36 เมื่อเพิ่มจำนวนต้นต่อพื้นที่มากขึ้น

1.2 พันธุ์ชัยนาท 36 มีช่อฝักอยู่เหนือทรงพุ่ม ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์กำแพงแสน 1 กำแพงแสน 2 และชัยนาท 60 ประมาณ 4, 12 และ 6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมล็ดมีขนาดใหญ่ ทนทานต่อดินด่าง เช่น ดินชุดตาคลี ต้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาลปานกลาง ไม่ต้านทานโรคราแป้ง ซึ่งระบาดมากในฤดูแล้ง เหมาะสำหรับปลูกในปลายฤดูฝนและฤดูแล้ง

1.3 พันธุ์ชัยนาท 72 มีความต้านทานต่อหนอนแมลงวันเจาะลำต้นปานกลาง ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ชัยนาท 36 ประมาณ 4-7 เปอร์เซ็นต์ ขนาดเมล็ดใหญ่ มีน้ำหนัก 66 กรัมต่อ 1,000 เมล็ด ปลูกได้ในทุกฤดูและในทุกภาค แต่ควรหลีกเลี่ยงการปลูกในดินด่าง

1.4 พันธุ์กำแพงแสน 1 มีช่อฝักอยู่เหนือทรงพุ่ม มีความต้านทานต่อโรคใบจุดสีน้ำตาล และโรคราแป้งปานกลาง เหมาะสมสำหรับปลูกในฤดูฝนหรือในเขตชลประทาน แต่ค่อนข้างอ่อนแอต่อดินด่าง เช่น ดินชุดตาคลี

1.5 พันธุ์กำแพงแสน 2 มีช่อฝักอยู่เหนือทรงพุ่ม ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงกว่าพันธุ์กำแพงแสน 1 เมื่อปลูกในฤดูแล้งนอกเขตชลประทาน เพราะดอกและฝักชุดแรกมากกว่า มีความต้านทานต่อโรคใบจุดสีน้ำตาลและมีความต้านทานต่อโรคราแป้งปานกลาง แต่อ่อนแอต่อดินด่าง

2. ถั่วเขียวผิวดำ ดังรายงานของศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท (2542) ได้แก่

2.1 พันธุ์อู่ทอง 2 มีทรงต้นตั้งเป็นพุ่ม สูงประมาณ 1 เมตร แตกกิ่งประมาณ 5-6 กิ่ง ออกดอกเมื่อมีอายุ 37-43 วัน ดอกสีเหลืองออกเป็นกระจุกที่ข้อ ฝักมีสีเขียว เมื่อแก่เปลี่ยนเป็นสีดำ ต้นหนึ่งมีฝักประมาณ 50-55 ฝัก ฝักแรกแก่เมื่ออายุประมาณ 70 วัน และเก็บเกี่ยวได้ทั้งหมดเมื่ออายุประมาณ 90 วัน ก้านใบ ใบ และฝัก มีขนดกสีน้ำตาล ขนาดใบใหญ่ ฝักหนึ่งมีเมล็ด 6-8 เมล็ด ผิวของเมล็ดมีสีดำ ตา (hilum) สีขาว น้ำหนัก 1,000 เมล็ด ประมาณ 44 กรัม มีเมล็ดสีน้ำตาลหรือสีแดงและเมล็ดเล็กอยู่น้อย ขนาดเมล็ดสม่ำเสมอ ให้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 180 กิโลกรัมต่อไร่

2.2 พันธุ์พิษณุโลก 2 มีทรงพุ่มเตี้ย แคบ และโปร่งกว่าพันธุ์อู่ทอง 2 สูงประมาณ 57 เซนติเมตร ดอกแรกบานเมื่ออายุประมาณ 33 วัน เก็บเกี่ยวเมื่ออายุประมาณ 77 วัน หรือมีอายุเก็บเกี่ยวสั้นกว่าพันธุ์อู่ทอง 2 ประมาณ 10 วัน ใบมีขนาดปานกลาง ต้นหนึ่งมีฝักประมาณ 44 ฝัก ฝักหนึ่งมีเมล็ด 6-7 เมล็ด เมล็ดมีสีดำ ตา (hilum) สีขาว น้ำหนัก 1,000 เมล็ด ประมาณ 50 กรัม ให้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 190 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์อู่ทอง 2 โดยเฉพาะเมื่อปลูกในฤดูแล้ง

คุณภาพของเมล็ดพันธุ์

คุณภาพของเมล็ดพันธุ์มีความหมายครอบคลุมถึงความมีชีวิตและศักยภาพของเมล็ดพันธุ์ในการงอกและเจริญเติบโต ความมีชีวิตของเมล็ดแสดงออกโดยความงอกภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมและสมบูรณ์ ส่วนศักยภาพของการงอกและเจริญเติบโตนั้น แสดงออกในสภาวะการงอกที่ไม่เหมาะสม ซึ่งรู้จักกันโดยทั่วไปในความหมายของความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (วันชัย, 2542) จวงจันทร์ (2529ก) ให้ความหมายของความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ไว้ว่าคือ ลักษณะดีเด่นบางประการของเมล็ดพันธุ์อันเป็นพลังเงียบที่หลบซ่อนอยู่ภายในเมล็ด และจะแสดงออกมาให้เห็นเมื่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ไม่เหมาะสมหรือแปรปรวนผิดปกติ ลักษณะที่แสดงถึงคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ได้แก่ ความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์ (genetic purity) ความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ (physical purity) ความงอกของเมล็ดพันธุ์ (seed germination) และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (seed vigour) ทั้งนี้ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์เป็นลักษณะสำคัญที่สุดที่บ่งชี้คุณภาพเมล็ดพันธุ์ (Delouche, 1974)

เมล็ดพันธุ์เป็นปัจจัยเบื้องต้นที่มีความสำคัญในการเพาะปลูกพืชไร่ส่วนใหญ่ หากพันธุ์ที่เลือกใช้เป็นพันธุ์ดีเหมาะสมต่อท้องถิ่นปลูก และใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงแล้ว ย่อมทำให้การดูแลและการจัดการการผลิตในเวลาต่อ ๆ มาง่ายและสะดวกขึ้น ผลผลิตที่ได้รับย่อมสูงขึ้นด้วย การใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพสูงปลูกจะให้ผลผลิตสูงกว่าการใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพต่ำ 10-50 เปอร์เซ็นต์ (ทวี, 2526; วันชัย และจวงจันทร์, 2533) เมล็ดพันธุ์จะมีคุณภาพแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ พันธุ์ อายุของเมล็ดหรือฝัก ความชื้นของเมล็ด และขนาดของเมล็ด (จวงจันทร์, 2526)

ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

ปัจจัยภายนอกหลายปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ การเขตกรรมและการจัดการการผลิต ระยะสุกแก่และการเก็บเกี่ยว การนวดและการปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์ การเก็บรักษาและปัญหาโรคแมลง ตลอดจนความเสียหายเชิงกลของเมล็ด ปัจจัยต่าง ๆ เหล่านี้ล้วนมีผลต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ หากการจัดการไม่เหมาะสมอาจทำให้คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ต่ำ สำหรับการผลิตถั่วงอกซึ่งต้องการเมล็ดถั่วเขียวคุณภาพสูง หากเมล็ดพันธุ์มีคุณภาพต่ำจะส่งผลต่อคุณภาพและผลผลิตของถั่วงอกได้ จึงต้องคำนึงถึงปัจจัยเหล่านี้ประกอบด้วย

1. การเขตกรรมและการจัดการการผลิต

Chanprasert *et al*. (1992) ศึกษาอิทธิพลของความหนาแน่นของการปลูกถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 และกำแพงแสน 2 พบว่าความหนาแน่นที่เหมาะสมคือ 500,000 ต้นต่อเฮกตาร์ จะไม่ทำให้คุณภาพของเมล็ด (ความงอกและความแข็งแรง) แตกต่างกันมากนัก ไม่ว่าจะเก็บเกี่ยวที่ 60 หรือ 75 วันหลังปลูก แต่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่เก็บเกี่ยวจากกลุ่มพืชที่มีความหนาแน่นสูงจะเสื่อมความงอกเร็วกว่าเมล็ดที่เก็บเกี่ยวจากกลุ่มพืชที่มีความหนาแน่นต่ำ นอกจากนี้ วันชัย และคณะ (2535) พบว่าในแปลงที่มีการกำจัดวัชพืชด้วยสารควบคุมวัชพืชแบบหลังงอก imazethapyr เมล็ดที่เก็บเกี่ยวได้มีความงอกเฉลี่ย 90-97 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่แปลงที่ไม่มีการกำจัดวัชพืช เมล็ดที่เก็บเกี่ยวได้จะมีความงอกเฉลี่ย 84-87 เปอร์เซ็นต์

2. ระยะสุกแก่และการเก็บเกี่ยว

ถั่วเขียวเป็นพืชที่มีการเจริญเติบโตแบบทอดยอด (indeterminate growth) คือ หลังออกดอกแล้วยังคงมีการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นต่อไปอีกระยะหนึ่ง มีการทยอยออกดอก เป็นผลให้การสุกแก่ (maturation) ของฝักและเมล็ดถั่วเขียวเกิดขึ้นไม่พร้อมกัน เมล็ดถั่วเขียวผิวมันจะสุกแก่ทางสรีรวิทยาที่ประมาณ 14-20 วันหลังดอกบาน ส่วนถั่วเขียวผิวดำจะสุกแก่ทางสรีรวิทยาที่ประมาณ 20-24 วันหลังดอกบาน ฝักที่สุกแก่สังเกตได้ง่ายโดยฝักจะเปลี่ยนเป็นสีดำ (วันชัย, 2542) ในถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 และกำแพงแสน 2 นั้น การเก็บเกี่ยวครั้งแรกที่อายุ 15-19 วันหลังดอกบานสูงสุด หรืออายุประมาณ 55-58 วันหลังปลูก และเก็บเกี่ยวครั้งที่สองเมื่ออายุ 31-35 วันหลังดอกบานสูงสุด หรืออายุประมาณ 71-75 วันหลังปลูก โดยเลือกเก็บเกี่ยวเฉพาะฝักที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำ จะได้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดีที่สุด (บัวกัน, 2533)

3. การนวดและการปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์

การปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์คือการจัดเตรียมเมล็ดที่เก็บเกี่ยวมาแล้วให้เป็นเมล็ดพันธุ์ที่พร้อมปลูก ซึ่งหมายถึงกระบวนการตั้งแต่การขนย้ายเมล็ดจากแปลงเข้าสู่โรงงาน การลำเลียงเมล็ดพันธุ์ในโรงงาน การกะเทาะเมล็ด การทำความสะอาดเบื้องต้น การตากหรืออบลดความชื้น การคัดแยกและทำความสะอาด การคัดขนาด การคลุกสารเคมี และการบรรจุภาชนะ (วันชัย, 2542) สมชาย และคณะ (2538) ศึกษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวดำ พันธุ์พิษณุโลก 2 ที่ได้จากการนวดด้วยวิธีของเกษตรกร คือนวดบนลานดินด้วยรถไถเดินตาม และนวดด้วยเครื่องนวดถั่วเขียวผิวดำ

ตามแบบของกองเกษตรวิศวกรรม จากนั้นทำความสะอาดเมล็ดด้วยตะแกรงร่อน เครื่อง air screen cleaner และเครื่อง air screen cleaner ตามด้วย gravity separator พบว่า การนวดถั่วเขียวด้วยเครื่องนวดร่วมกับการทำความสะอาดด้วยเครื่อง air screen cleaner หรือใช้ air screen cleaner ร่วมกับ gravity separator จะได้เมล็ดที่มีคุณภาพดี คือมีความบริสุทธิ์สูง และมีขนาดเมล็ดที่สม่ำเสมอ

4. การเก็บรักษาและปัญหาโรคและแมลง

ความชื้นของเมล็ดมีความสำคัญต่อการเก็บรักษาถั่วเขียว และมีผลต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ธีระพล และคณะ (2535) พบว่า ถั่วเขียวผิวดำพันธุ์พิษณุโลก 2 ที่เก็บในกระสอบป่านขนาดบรรจุ 12 และ 14 กิโลกรัม และในกระสอบพลาสติกใยสังเคราะห์ (กระสอบปุ๋ย) ขนาดบรรจุ 4 กิโลกรัม เป็นเวลา 6-12 เดือน มีความชื้นเพิ่มขึ้นจากความชื้นก่อนเก็บรักษาเล็กน้อย แต่เมล็ดที่เก็บในถุงพลาสติกและกระป๋องนม ซึ่งเป็นภาชนะปิดสนิท ความชื้นจะไม่แตกต่างจากความชื้นก่อนเก็บเมล็ด บัวกัน (2533) รายงานว่า ภาชนะในการเก็บรักษาจะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ได้ โดยเมล็ดถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 และกำแพงแสน 2 ที่เก็บไว้ในถุงพลาสติก ยังคงมีเปอร์เซ็นต์ความงอกที่ผ่านการเร่งอายุสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่เก็บไว้ในถุงผ้าหลังจากผ่านวิธีการเดียวกันถึง 20 เปอร์เซ็นต์

สิ่งที่ควรระมัดระวังเป็นพิเศษในการผลิตเมล็ดพันธุ์ก็คือโรคที่ติดไปกับเมล็ดพันธุ์ (seed-borne disease) ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากเชื้อรา โดยเชื้อราหลายชนิดเข้าทำลายเมล็ดตั้งแต่ในแปลง Sangchote and Ba (2005) ศึกษาลักษณะการติดมากับเมล็ดและการถ่ายทอดเชื้อ *Bipolaris oryzae* ผ่านทางเมล็ดข้าว โดยแยกส่วนต่าง ๆ ของเมล็ดที่เชื้อเข้าทำลาย พบว่า ส่วน rachilla และ sterile lemma มีการเข้าทำลายของเชื้อ 82 และ 79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และการเกิดโรคของเมล็ดข้าวมีความสัมพันธ์กับความรุนแรงของโรคใบจุดสีน้ำตาลบนใบธงที่ระยะออกดอก ระยะน้ำนม และระยะสุกแก่ โดยความรุนแรงของโรคเพิ่มขึ้นตามระยะการเจริญที่เพิ่มขึ้น เส้นใยของเชื้อราอยู่ในเมล็ดได้เป็นเวลานาน เชื้อราสร้างส่วนขยายพันธุ์ที่ทนทานต่อความแห้งแล้งได้เป็นอย่างดี เช่น sclerotia ของเชื้อ *Sclerotium* พบปะปนไปกับเมล็ดเมื่อเก็บเกี่ยว โรคหลายชนิดเกิดจากเชื้อบักเตรี ซึ่งมักพบอยู่ที่ผิวเมล็ด แต่ก็มีบางชนิดที่เข้าทำลายท่อน้ำท่ออาหารหรือส่วนอื่นภายในเมล็ด เช่น เชื้อ *Pseudomonas phaseolicola* และ *Xanthomonas phaseoli* ในพืชตระกูลถั่วมักพบอยู่ที่ hilum ซึ่งเป็นบริเวณที่มีท่อน้ำท่ออาหาร โดยเชื้อเข้ามาในเมล็ดทางฟันนิคิวลัส (วันชัย, 2542)

เชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์หรือที่เข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ในระหว่างการเก็บรักษา ตลอดจนแมลงต่างๆ ที่เข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ ทั้งที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ตอนเก็บเกี่ยวหรือที่มาเข้าทำลายภายหลังการเก็บเกี่ยวแล้วก็ตาม มีผลทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง โดยเข้าทำลายเมล็ดพันธุ์ขณะที่เมล็ดงอกหรือเป็นต้นกล้า (seedling) เชื้อราจะมีมากขึ้นในเมล็ดที่มีการเสื่อมคุณภาพ นอกจากนี้เชื้อราพวก *Aspergillus flavus* ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดสารพิษที่เรียกว่าอะฟลาทอกซิน (aflatoxin) นั้น ทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดลดลงอย่างรวดเร็ว (จวงจันทร์, 2529ก) ในเมล็ดถั่วเขียว เชื้อที่มีผลต่อความงอกของเมล็ดพบทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย บุษราคัม และคณะ (2538) พบว่าโรคเน่าเละของถั่วงอก ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Erwinia chrysanthemi* ในเมล็ดถั่วเขียวที่เก็บเกี่ยวใหม่ ๆ นั้น เชื้อจะตายอย่างช้า ๆ เมื่อความชื้นของเมล็ดลดลง และเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* ที่ติดไปกับเมล็ดถั่วเขียวผิวดำ เมื่อเพาะเป็นถั่วงอกทำให้รากและลำต้นเป็นสีดำไม่น่ารับประทาน *M. phaseolina* สามารถเข้าทำลายพืชไร่ได้หลายชนิด เช่น ถั่วเขียว ถั่วเขียวผิวดำ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วเหลือง และงา เป็นต้น ทำให้พืชเป็นโรคเน่าดำที่เรียกว่า charcoal rot อาการของโรคคือ รากเน่าดำ เปื่อยยุ่ย มีเม็ด sclerotia เล็ก ๆ สีดำ ปรากฏอยู่มากมายที่ผิวและภายในราก ต่อมาพืชจะแสดงอาการใบเหลืองแห้งตาย ลามขึ้นข้างบน และจะยืนต้นแห้งตายในที่สุด (มัทนา และคณะ, 2540)

5. ความเสียหายเชิงกลของเมล็ดพันธุ์

เมล็ดถั่วเขียวที่ใช้ในอุตสาหกรรมการเพาะถั่วงอกนั้น สิ่งสำคัญก็คือคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งความงอก สาเหตุสำคัญประการหนึ่งที่มีผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ คือ ความเสียหายเชิงกล (mechanical damage) ซึ่งเกิดขึ้นกับเมล็ดในระหว่างขั้นตอนต่าง ๆ ตั้งแต่การเก็บเกี่ยว การนวด การปรับปรุงสภาพ การขนส่งหรือเคลื่อนย้าย (บุษบา, 2547) Grass and Tourkmani (1999) พบว่าเมล็ดข้าวสาลีที่ไม่ผ่านการรับรอง (certification) หรือถูกคัดทิ้ง (rejected seed) ในกระบวนการรับรองเมล็ดพันธุ์ของประเทศ Morocco เนื่องมาจากความงอกของเมล็ดต่ำ มีสาเหตุมาจากเมล็ดได้รับความเสียหายเชิงกลในระหว่างการเก็บเกี่ยวและการนวด เมล็ดที่ไม่ผ่านการรับรอง มีเปอร์เซ็นต์ความเสียหายเชิงกลสูงถึง 66 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่เมล็ดที่ผ่านการรับรอง มีความเสียหายเชิงกลเพียง 7 เปอร์เซ็นต์ และจากการศึกษาของ Vieira *et al*. (1994) พบว่าในขั้นตอนการปรับปรุงสภาพเมล็ดถั่วเหลืองจะทำให้ความงอกของเมล็ดลดลง เนื่องจากความเสียหายจากเครื่องจักรกล ซึ่งเป็นผลกระทบแบบ immediate effect และแบบแฝง (latent effect) ทำให้เมล็ดมีความสามารถในการเก็บรักษาลดลง เมล็ดพันธุ์เหล่านี้มีความงอกต่ำ มีต้นอ่อนที่ผิดปกติ (abnormal seedling) และเมล็ดตาย (dead seed) จำนวนมาก นอกจากนี้ความเสียหายเชิงกลยังทำให้เมล็ด

อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลงอีกด้วย สำหรับถั่วเขียวยังมีรายงานเกี่ยวกับความเสียหายเชิงกลที่มีผลต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์อยู่น้อย

คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของโอโซน

Graham (1997) กล่าวว่าโอโซนเกิดตามธรรมชาติในบรรยากาศชั้นสตราโทสเฟียร์โดยรังสีอุลตราไวโอเลต ทำให้ออกซิเจนแตกตัวเป็นสองอะตอม ก๊าซโอโซนเกิดขึ้นเมื่ออะตอมนี้รวมกับออกซิเจนโมเลกุล ต่อด้วยปฏิกิริยา photochemical ทำให้เกิดการสลายตัวอย่างรวดเร็ว ดังปฏิกิริยา

$$3O_2 \rightleftharpoons 2O_3 + \text{heat and light}$$

โอโซน (ozone) มีสูตรโมเลกุล O_3 และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 48 อยู่ในสถานะก๊าซที่อุณหภูมิและความดันปกติ มีจุดเดือด -111.9 องศาเซลเซียส ที่ความดันบรรยากาศและไม่เสถียร เป็นตัวออกซิแดนท์ (oxidant หรือ oxidizing agent) ที่รุนแรงมาก มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายกลิ่น สี และรสในน้ำ และสามารถละลายในน้ำได้ประมาณ 20 เท่าของการละลายในน้ำของออกซิเจนแต่จะไม่เสถียรในน้ำ ความสามารถในการละลายน้ำของโอโซนขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของน้ำและความดันของโอโซนในสถานะก๊าซ โอโซนมีความเสถียรในอากาศมากกว่าในน้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอากาศที่เย็นและแห้ง (Weber, 1972; Cheremisinoff and Cheremisinoff, 1993)

โอโซนเป็นก๊าซที่โมเลกุลมีการเคลื่อนไหวคล่องแคล่วว่องไว เกิดจากการรวมตัวของออกซิเจน 3 ตัวในสภาวะไม่เสถียร ในช่วงอุณหภูมิปกติ 18-30 องศาเซลเซียส โอโซนจะแยกตัวกลายเป็นอะตอมของออกซิเจน ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Majumdar and Sproul, 1974) และมีผลต่อจุลินทรีย์และสารเคมีหลายชนิด (Kim *et al*., 1999b) นอกจากนี้โอโซนยังสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ *Escherichia coli*, *E. coli* O157:H7, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella typhimirium*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Bacillus cereus* รวมทั้งยีสต์และสปอร์เชื้อรา เช่น *Aspergillus niger* (Restaino *et al*., 1995; Moore *et al*., 2000) ประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียของโอโซนขึ้นกับความเข้มข้น ระยะเวลาที่สัมผัส และสภาพที่เป็นกรดของอาหารจะช่วยให้โอโซนฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้ดีขึ้น (Kim and Yousef, 2000) กลไกในการยับยั้งจุลินทรีย์ของโอโซนอาจเกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะคือโมเลกุลของโอโซนเข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารเคมีที่อยู่ในเซลล์จุลินทรีย์และอนุมูลตัวกลางอิสระที่เกิดขึ้นเป็นตัวเข้าทำลาย โดยสามารถเข้าทำลายเซลล์เมมเบรน

ไซโทพลาสซึม โปรตีน และชั้นของไขมันในเซลล์จุลินทรีย์ และเกิดการจับตัวเป็นก้อนของโปรตีน ทำให้เซลล์แตก หรือเข้าทำลายระบบหายใจของเซลล์จุลินทรีย์ อีกลักษณะคือโอโซนสามารถทำลายเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับ DNA และ RNA ของเซลล์จุลินทรีย์ (ฆรณี, 2547)

คุณสมบัติโดดเด่นของโอโซนคือสามารถใช้ฆ่าเชื้อโรคในอาหารได้โดยไม่เกิดสารตกค้าง เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมียับยั้งเชื้อราชนิดอื่น เนื่องจากสามารถแตกตัวให้ก๊าซออกซิเจนอย่างรวดเร็ว ประมาณ 20-50 นาทีในอากาศ และ 1-10 นาทีเมื่ออยู่ในน้ำ (Mason *et al*., 1977) นอกจากนี้ยังมีผลในการสลายสารพิษที่เชื้อราสร้างขึ้น รวมทั้งอะฟลาทอกซิน (aflatoxin) อีกด้วย (Meaba *et al*., 1998)

การผลิตโอโซน

Cheremisinoff and Cheremisinoff (1993) กล่าวว่าในการผลิตโอโซนทำได้โดยผ่านอากาศแห้งหรือออกซิเจนบริสุทธิ์ (O_2) ไปในช่องแคบระหว่างขั้วไฟฟ้า 2 ขั้ว ที่มีความต่างศักย์สูง ประมาณ 15,000-20,000 โวลต์ (สภาวะนี้เรียกว่า Corona discharge หรือ Cold plasma discharge) ซึ่งโมเลกุลของออกซิเจน (O_2) บางส่วนจะแตกตัวเป็นอะตอมของออกซิเจน (O) โดยการวิ่งชนของอิเลคตรอน (e^-) จากนั้นอะตอมของออกซิเจน (O) จะรวมตัวกับโมเลกุลของออกซิเจน (O_2) กลายเป็นโอโซน (O_3) โดยมีสมการอธิบายปฏิกิริยาการผลิตโอโซน ดังต่อไปนี้

$$O_2 + e^- \longrightarrow 2(O) + \text{Heat}$$

atmospheric oxygen — electricity — ionized oxygen

$$2(O) + 2O_2 \longleftrightarrow 2O_3$$

non-ionized oxygen — ozone

เครื่องผลิตโอโซนทุกชนิดที่ใช้ทางการค้า มักใช้หลักการ corona discharge ดังกล่าวข้างต้น คือ ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าหมุนเวียนระหว่าง 2 อิเลคโทรด ซึ่งจะถูกแยกออกจากกันโดยชั้นของ dielectric จะมีช่องว่างแคบ ๆ ให้ออกซิเจนผ่านเข้าไป พลังงานไฟฟ้าบางส่วนจะถูกเปลี่ยนไปเป็นความร้อน แต่ก๊าซปริมาตรเล็กน้อยที่ผ่านไประหว่างอิเลคโทรดมีความจุไม่เพียงพอที่จะกำจัดความ

ร้อนนี้ออกไปได้ ดังนั้นแหล่งรับความร้อนภายนอกจึงจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อจะถ่ายเทความร้อนนี้ออกไป เพราะโอโซนสามารถสลายตัวได้อย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น (Majumdar and Sproul, 1974) เครื่องผลิตโอโซนแบบการค้าสามารถผลิตโอโซนจากอากาศได้ความเข้มข้นประมาณ 1-3 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าผลิตจากออกซิเจนบริสุทธิ์จะมีความเข้มข้นสูงถึง 2-6 เปอร์เซ็นต์ (Tchobanoglous, 1991; Cheremisinoff and Cheremisinoff, 1993) ภาชนะบรรจุหรืออุปกรณ์สัมผัสกับโอโซนต้องเป็นวัสดุที่ทนต่อการกัดกร่อน เช่น 316 Stainless Steel แก้ว เซรามิกส์ อะลูมิเนียม หรือเทฟลอน (teflon) เป็นต้น ทั้งนี้เพราะโอโซนเป็นตัวออกซิแดนท์ที่รุนแรงมาก และปฏิกิริยาออกซิเดชันของโอโซนจะปลดปล่อยความร้อนออกมา (มั่นสิน, 2539)

ความสำคัญของโอโซนกับความปลอดภัยในอาหาร

โอโซนเป็นสารฆ่าเชื้อในกระบวนการผลิตอาหารที่มีความปลอดภัยกว่าสารอื่น จัดเป็น generally recognized as safe (GRAS) เนื่องจากเป็นสารต้านจุลินทรีย์ชนิดรุนแรงมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อสูง เกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็ว เพราะมีค่าออกซิเดชันโพเทนเชียลสูง ช่วยลดเวลาในการสัมผัสกับพื้นผิว มีครึ่งชีวิตสั้นเพียง 20 นาที (Kim *et al.*, 1999b; Xu, 1999) ในกระบวนการแปรรูปขั้นต่ำของผัก เช่น แครอท ผักกาดหอม และผักสลัด เป็นต้น มักพบการปนเปื้อนยีสต์ ได้แก่ *Candidus* spp., *Cryptococcus* spp., *Rhodotorula* spp., *Trichosporon* spp., *Pichia* spp. และ *Torulaspora* spp. ส่วนเชื้อราที่พบได้แก่ *Sclerotinia*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Cladosporium* และ *Rhizopus* (Manvell and Ackland, 1986; Babie *et al*., 1992) มีการใช้น้ำโอโซนเพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผักผลไม้เนื้อแกะ และสัตว์ปีก น้ำโอโซนมีประสิทธิภาพทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคทางเดินอาหาร (Moore *et al*., 2000) แต่เดิมการล้างผักและผลไม้ด้วยน้ำที่เติมคลอรีนเป็นที่นิยมใช้กันมากในโรงงานผลิตอาหาร เนื่องจากสามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด ไม่มีสี ราคาถูก แต่มีข้อจำกัดในเรื่องกลิ่นตกค้าง (Xu, 1999) Environmental and Health Organization ยืนยันว่าการใช้สารประกอบคลอรีนอาจจะสร้าง trihalomethanes (THMs) (Graham, 1997) หรือ chloro-organic compounds ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (Restaino *et al*., 1995) นอกจากนี้คลอรีนยังมีคุณสมบัติในการกัดกร่อน ระคายเคืองผิว การล้างด้วยน้ำโอโซนจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับการลดปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อน (Graham, 1997) เนื่องจากโอโซนสามารถทำปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าคลอรีนถึง 52 เปอร์เซ็นต์ โดยทำลายเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียและไวรัส โอโซนสลายตัวง่ายให้อะตอมของออกซิเจน ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและไม่มีลักษณะเป็นสารก่อมะเร็งหรือสารก่อกลายพันธุ์ (Xu, 1999; สิริพร, 2543) เมื่อโอโซนในน้ำสลายตัวเกิดอนุมูลอิสระ คือ ไฮโดรเปอโรซิล ($HO_2^{\cdot}$) ไฮโดรซิล ($OH^{\cdot}$) และซุปเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\cdot -}$) (Hoigne and Bader,

1975; Grimes *et al*., 1983) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการออกซิไดซ์สูงมาก สามารถทำปฏิกิริยากับสิ่งสกปรกต่าง ๆ เช่น เกลือของโลหะ สารประกอบอินทรีย์ ไฮโดรเจนและไฮดรอกไซด์ในน้ำ (Kim *et al*., 1999b) การสลายตัวของโอโซนในน้ำเป็นลักษณะที่สำคัญที่นำไปใช้ประโยชน์ในกระบวนการโอโซนเนชัน เนื่องจากโอโซนสามารถออกซิไดซ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและมีความแน่นอนสูง ปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของโอโซน ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่างของสารละลาย แสง UV ความเข้มข้นของโอโซน และอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารละลาย (Tomiyaso *et al*., 1985)

เพ็ญแข และคณะ (2550) ศึกษาและเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างน้ำโอโซนและโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการล้างพริกขี้หนูสด เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา และโคลิฟอร์มบนผิวพริก พบว่า การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์เข้มข้น 200 ppm นาน 30 นาที สามารถลดเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ประมาณ 2.14 log CFU/g ยีสต์และราลดลง 1.98 log CFU/g ส่วนโคลิฟอร์มลดลง 2.22 log CFU/g สำหรับน้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 5 ppm นาน 10 นาที มีประสิทธิภาพในการลดเชื้อจุลินทรีย์มากกว่าโซเดียมไฮโปคลอไรท์ โดยลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้มากที่สุดคือ 2.61 log CFU/g ยีสต์และราลดลง 2.07 log CFU/g และโคลิฟอร์มลดลง 2.07 log CFU/g โดยไม่มีผลต่อค่า a_w ความชื้น และค่าสี L a* b*

ข้อจำกัดของการใช้โอโซน

Kim *et al*. (1999b) รายงานว่า เนื่องจากโอโซนจะสลายตัวได้ง่ายกว่าคลอรีน การสลายตัวของโอโซนเป็นขบวนการที่ซับซ้อน ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย จึงเป็นการยากที่จะคาดคะเนว่าโอโซนจะมีปฏิกิริยาอย่างไรในสภาพที่มีอินทรียสาร โดยอาจจะ oxidize หรือ ionize สารนั้น หรืออาจสลายตัวไปเป็นออกซิเจนและอนุมูลอิสระ ในกรณีการใช้โอโซนกับอาหาร ถ้าใช้ในปริมาณที่มากเกินไป อาจทำให้เกิด lipid oxidation ทำให้อาหารมีกลิ่นผิดปกติ และสีจางลงหรือเปลี่ยนไป โอโซนอาจไปลด ascorbic acid ในบรอคโคลี่ ลดปริมาณ thiamine ในแป้งสาลี แต่ในขณะเดียวกันก็มีรายงานว่า โอโซนทำให้กลิ่นรสของอาหารดีขึ้น ดังนั้นการเสื่อมคุณภาพของอาหารเนื่องจากโอโซน น่าจะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบทางเคมีของอาหารนั้น ความเข้มข้นของโอโซนที่ใช้ตลอดจนสภาวะที่ทำการทดสอบ (สิริพร, 2543) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าโอโซนเป็นก๊าซพิษที่อาจก่อให้เกิดความระคายเคืองอย่างรุนแรงถ้าได้รับโดยตรงและความเข้มข้นสูง โดยเป็นอันตรายโดยตรงต่อปอดและตา ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์อักเสบ ผู้ที่อยู่ในบรรยากาศที่มีโอโซนเข้มข้นอาจถึงแก่ความตายได้ อย่างไรก็ตามโอโซนเข้มข้นเพียง 0.01-0.02 ppm โดยปริมาตร ก็มีกลิ่นเหม็นทำให้คนรู้ตัวเสียก่อน (Cheremisinoff and Cheremisinoff, 1993; สุรพล, 2543) คนสามารถทนโอโซนได้ถึง

0.1 ppm โดยไม่เป็นอันตราย แต่ถ้าความเข้มข้นสูงถึง 1 และ 4 ppm คนจะทนได้เพียง 8 และ 1 นาที ตามลำดับ โดยไม่มีอาการผิดปกติ แต่ถ้านานกว่านี้อาจเกิดอาการผิดปกติ เช่น ไอ คอแห้ง หายใจลำบาก เคืองตา มีน้ำตาไหล ปวดหัว และแสบเยื่อจมูก ถ้าให้คนดมโอโซนเข้มข้นประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ (ที่ผลิตได้โดยตรงจากเครื่อง) จะถึงแก่ความตายภายใน 1 นาที (มั่นสิน, 2539)

ประสิทธิภาพของโอโซนในการฆ่าเชื้อโรคและผลต่อความงอกของเมล็ด

Allen *et al*. (2003) ศึกษาการใช้ก๊าซโอโซนเพื่อฆ่าเชื้อราแก่เมล็ดข้าวบาร์เลย์ที่เก็บรักษาไว้ พบว่า ก๊าซโอโซนมีประสิทธิภาพในการยับยั้งสปอร์และเส้นใยของเชื้อรา โดยถ้าให้โอโซน 0.16 และ 0.10 mg O_3/(g barley)·min นาน 5 นาที สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์และเส้นใยได้ถึง 96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ถ้าให้โอโซน 0.98 mg O_3/(g barley)·min เป็นเวลานานกว่า 15 นาที จะส่งผลให้ความงอกของเมล็ดลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าถ้าเมล็ดมีค่า water activity และอุณหภูมิสูง จะทำให้โอโซนมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อราสูงขึ้นด้วย อย่างไรก็ตาม Sharma *et al*. (2002) ศึกษาผลของการใช้น้ำโอโซนแล้วตามด้วยความร้อนแห้ง (heat treatment) แก่เมล็ดอัลฟัลฟา เพื่อยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 โดยแช่เมล็ดในน้ำโอโซนเข้มข้น 4, 8, 10 และ 21 ppm นาน 2, 4, 8, 16, 32 และ 64 นาที แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่า เมื่อแช่เมล็ดในน้ำโอโซนความเข้มข้นสูงขึ้น มีผลทำให้การยับยั้งเชื้อดีขึ้น แต่ถ้าแช่เมล็ดนานเกิน 8 นาที ก็ให้ผลในการยับยั้งไม่แตกต่างกัน และเมื่อแช่เมล็ดในน้ำโอโซนนาน 64 นาที แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จะลดจำนวน *E. coli* O157:H7 ได้มากที่สุด โดยการใช้น้ำโอโซนควบคู่กับการใช้ความร้อนแห้งไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ด จากการศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารละลายคลอรีนไดออกไซด์ (aqueous ClO_2) น้ำโอโซน (ozonated water) และ thyme oil โดยใช้สารชนิดเดียวหรือใช้ต่อเนื่องกัน (thyme oil ตามด้วย ozonated water และ aqueous ClO_2) เพื่อกำจัด *E. coli* O157:H7 จากเมล็ดอัลฟัลฟาในช่วงก่อนและระหว่างเป็นถั่วงอก พบว่า การใช้สารเพียงชนิดเดียวไม่สามารถกำจัดเชื้อ *E. coli* O157:H7 ได้อย่างสมบูรณ์ และสารที่ใช้ทุกชนิดไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ด ส่วนการล้างเมล็ดอัลฟัลฟาด้วยสารทั้งสามชนิดต่อเนื่องกัน จะลดจำนวนประชากรของเชื้อหลังจากล้างได้มากกว่าการใช้สารชนิดเดียว แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างประชากรของเชื้อที่เพิ่มขึ้นภายหลังจากงอกแล้ว 72 ชั่วโมง (Singh *et al*., 2003)

Hsieh *et al*. (1998) รายงานว่า การใช้น้ำโอโซนอิ่มตัว ความเข้มข้น 5.23-6.43 mg/L สามารถยับยั้งการงอกของ conidia ของเชื้อรา *Bipolaris australiensis*, *Curvularia pallescens* และ *Exserohilum rostratum* ในเมล็ดหญ้าได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ระยะเวลา 10, 13 และ 30 นาที ตามลำดับ และการแช่เมล็ดหญ้าในน้ำโอโซนนาน 10 นาที ช่วยให้เมล็ดมีอัตราการงอกสูงขึ้น แต่ถ้าแช่นาน 30 หรือ 40 นาที จะทำให้ความงอกของเมล็ดลดลงเล็กน้อย ส่วนการรมด้วยก๊าซโอโซนความเข้มข้น 240 ppb นาน 4 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลา 6 วัน ไม่มีผลทำให้ความงอกสูงขึ้น นอกจากนี้ยังมีการใช้ก๊าซโอโซนเพื่อกำจัดแมลงในโรงเก็บเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด โดยพบว่าการรมด้วยก๊าซโอโซนความเข้มข้น 50 ppm แก่เมล็ดข้าวโพดจำนวน 8.9 ตัน เป็นเวลา 3 วัน ทำให้ตัวเต็มวัยของมอดแป้งด้วงงวงข้าวโพด และตัวหนอนของ Indian meal moth มีอัตราการตาย 92-100 เปอร์เซ็นต์ และยังลดระดับการปนเปื้อนของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* บนผิวเมล็ดได้ถึง 63 เปอร์เซ็นต์ (Kells *et al*., 2001)

ฉันทวรรณ (2545) ศึกษาการลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนผิวของถั่วงอกเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาโดยการล้างน้ำโอโซน ที่ความเข้มข้น 0.03 ppm ด้วยวิธีแช่ในน้ำโอโซนเปรียบเทียบกับน้ำโอโซนไหลผ่าน อัตราเร็ว 3 ลิตรต่อนาที นาน 20 นาที และสะเด็ดน้ำด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 800 รอบต่อนาที นาน 5 นาที พบว่า การล้างด้วยน้ำโอโซนไหลผ่านสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นได้ 0.91-1.30 log CFU/g ส่วนวิธีแช่น้ำโอโซนสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นได้เพียง 0.54-0.85 log CFU/g เนื่องจากวิธีการล้างด้วยน้ำโอโซนไหลผ่านมีการถ่ายเทน้ำตลอดเวลาทำให้มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดได้มากกว่าวิธีแช่ในน้ำโอโซนซึ่งไม่มีการถ่ายเทน้ำ

ประสิทธิภาพของน้ำร้อนในการฆ่าเชื้อโรคและผลต่อความงอกของเมล็ด

การใช้ความร้อนฆ่าเชื้อโรคมีหลายรูปแบบ ได้แก่ ไอร้อน (hot air) ไอร้อนชื้น (humidified hot air) และน้ำร้อน ซึ่งนิยมใช้กับพืชหลายชนิด (สายชล, 2528; Couey, 1984) การใช้น้ำร้อนเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวและแทรกซึมเข้าไปกำจัดเชื้อโรคที่อยู่ภายใต้เยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) รวมทั้งเนื้อเยื่อสะสมอาหาร (storage tissue) ของเมล็ดด้วย โดยวิธีการนี้อาจทำให้เนื้อเยื่อที่ผิวนอกของเมล็ดเปลี่ยนแปลงไป แต่ไม่มีผลต่อเนื้อเยื่อสะสมอาหารซึ่งจำเป็นต่อการงอกของเมล็ด หากใช้ในระยะเวลาที่เหมาะสม (Maude, 1983) การใช้น้ำร้อนกับเมล็ดพันธุ์ส่วนมากมักใช้ที่อุณหภูมิเข้าใกล้ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เมล็ดที่ถูก

ทำลายจากน้ำร้อนจะทำให้งอกช้า ต้นกล้าแคระแกร็นหรืออ่อนแอ หรืออาจทำให้เมล็ดตาย ซึ่งมักเกิดขึ้นในเมล็ดเก่าที่มีความแข็งแรงต่ำ (Baker, 1972)

จากการศึกษาของ Barua *et al*. (2007) ที่ใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 45, 48, 50, 53 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เปรียบเทียบกับสารเคมี Vitavax-200 อัตรา 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 และ 2.5 g kg^{-1} เพื่อควบคุมเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว พบว่า ทั้งการใช้น้ำร้อนและ Vitavax-200 ให้ผลในการกำจัดเชื้อราไปในทิศทางเดียวกัน คือเมื่อใช้อุณหภูมิสูงขึ้นและความเข้มข้นของสารมากขึ้น มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดสูงตามไปด้วย โดยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส สามารถกำจัดเชื้อราได้อย่างเด่นชัดและมีความงอกสูงที่สุด ส่วนการใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จะทำให้ความงอกของเมล็ดลดลง ขณะที่ Rahman *et al*. (2002) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมของน้ำร้อนในการกำจัดเชื้อรา *M. phaseolina* ได้อย่างสมบูรณ์และช่วยเพิ่มความงอกของเมล็ดถั่วเขียว ได้แก่ อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นาน 10, 15 และ 20 นาที และที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส นาน 10 และ 15 นาที แม้ว่าการใช้อุณหภูมิสูงกว่า 58 องศาเซลเซียส นานเกิน 15 นาที สามารถกำจัดเชื้อราได้ดีแต่ทำให้ความงอกของเมล็ดลดลงมาก จึงแนะนำให้ใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 56-58 องศาเซลเซียส นาน 10-15 นาที เพื่อกำจัดเชื้อรา *M. phaseolina* โดยไม่มีผลกระทบต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จะช่วยลดเชื้อรา *Fusarium moniliforme* ที่เข้าทำลายเมล็ดข้าวโพดได้ถึง 85 เปอร์เซ็นต์ (Erdey *et al*., 1997) ขณะที่การใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีประสิทธิภาพสูงมากในการกำจัดเชื้อรา *Drechslera oryzae* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ข้าว (Krishnamurthy *et al*., 2001) ส่วนการศึกษาในเมล็ดพันธุ์ผักชนิดต่าง ๆ พบว่า การใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จะช่วยกำจัดเชื้อรา *Alternaria dauci* ที่ติดมากับเมล็ดแครอท โดยไม่มีผลเสียต่อความงอก การตั้งตัว และผลผลิต (Hermansen *et al*., 1999) การแช่เมล็ดหัวหอมในน้ำร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ให้ผลกำจัดเชื้อ *Alternaria porri* และ *Stemphylium vesicarium* ได้ดีกว่าการใช้สารเคมีฆ่าเชื้อรา แต่ทำให้ความงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าลดลง (Aveling *et al*., 1993) นอกจากนี้ Meah (2004) ยังพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อควบคุมเชื้อโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ผักหลายชนิด คือที่อุณหภูมิ 53-55 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 15 นาที

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมัน พันธุ์กำแพงแสน 2 และถั่วเขียวผิวดำ พันธุ์อู่ทอง 2
2. เครื่องผลิตก๊าซโอโซน ยี่ห้อ Ozone Air Technology® Model : B 103p ประสิทธิภาพการผลิต 250 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง
3. เครื่องชั่งละเอียด (balance) ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
4. ถุงกระดาษเก็บตัวอย่าง
5. กระดาษเพาะความงอก
6. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
7. ถ้วยอะลูมิเนียมสำหรับตรวจสอบความชื้นของเมล็ด (moisture can)
8. กล่องพลาสติกใสขนาด 18 x 27 x 10 เซนติเมตร
9. กล้องจุลทรรศน์ (stereomicroscope และ compound microscope)
10. อุปกรณ์วัดปริมาณโอโซนในน้ำ (ozone test kit)
11. เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)
12. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
13. โหลดูดความชื้น (desiccator)
14. ขวดโหลแก้ว ปริมาตร 1.5 ลิตร
15. จานแก้ว (petridish) และเครื่องแก้วต่าง ๆ

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

1. เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่ใช้ในการศึกษา

ปลูกถั่วเขียวผิวมันพันธุ์กำแพงแสน 2 และถั่วเขียวผิวดำพันธุ์อู่ทอง 2 ที่แปลงทดลองโครงการวิจัยพืชโปรตีนสูง ภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ในช่วงฤดูฝน (เดือนกรกฎาคมถึงตุลาคม) ปี 2549 และ 2550 มีขนาดแปลงทดลอง 42 x 15 เมตร โดยใช้ระยะปลูก 20 x 37.5 เซนติเมตร จำนวน 2 ต้นต่อหลุม ทยอยเก็บเกี่ยวฝักแก่ของถั่วเขียวผิวมัน 2 ครั้งคือ 60 และ 67 วันหลังปลูก ส่วนถั่วเขียวผิวดำเก็บเกี่ยวที่อายุ 90 วันหลังปลูก ซึ่งเป็นระยะที่มีฝักแก่ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ โดยเลือกเก็บฝักที่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีดำใส่ถุงตาข่าย นำไปตากแดดเพื่อลดความชื้นให้เหลือประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปกะเทาะเมล็ดโดยทุบด้วยไม้ ทำความสะอาดเมล็ดโดยใช้กระด้งฝัด ตากเมล็ดอีกครั้งให้เหลือความชื้น 10 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดพันธุ์ที่ได้เก็บรักษาไว้ในตู้เก็บเมล็ดพันธุ์ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส (จนกว่าจะนำมาศึกษาตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์)

2. การตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์

ตรวจสอบเชื้อราจากแปลง (field fungi) ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี agar plate method โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำมาตัวอย่างละ 150 เมล็ด แช่ในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (sodium hypochlorite, NaOCl) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ นาน 5 นาที เพื่อฆ่าเชื้อราที่ผิวเมล็ด หลังจากนั้นวางเมล็ดลงบนอาหารวุ้น potato dextrose agar (PDA) ในจานเลี้ยงเชื้อ จานละ 10 เมล็ด ซ้ำละ 50 เมล็ด แล้วนำไปไว้ใต้แสง NUV (near ultraviolet) สลับกับความมืดอย่างละ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 24 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ stereomicroscope (ISTA, 2003) และคำนวณเปอร์เซ็นต์การติดมาของเชื้อราแต่ละชนิด

3. การตรวจสอบความชื้นของเมล็ดพันธุ์

ชั่งน้ำหนักเมล็ดสดของถั่วเขียวซ้ำละ 20 เมล็ด นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง จากนั้นคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นโดยใช้สูตรที่จวงจันทร์ (2529ข) ระบุไว้คือ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักสดของเมล็ด} - \text{น้ำหนักแห้งของเมล็ด})}{\text{น้ำหนักสดของเมล็ด}} \times 100$$

4. ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์

สุ่มเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำซ้ำละ 50 กรัม ไปแช่น้ำประปาปริมาตร 1 ลิตร ซึ่งบรรจุในขวดโหลแก้ว แล้วปล่อยก๊าซโอโซนลงในน้ำด้วยเครื่องผลิตโอโซน (Ozone Air Technology® Model : B 103p ความสามารถการผลิต 250 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง) โดยให้ก๊าซโอโซนตามระยะเวลาต่างที่กำหนด ได้แก่ 0, 3, 6, 9, 12 และ15 นาที (0, 12.5, 25.0, 37.5, 50.0 และ 62.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ ppm) จากนั้นจึงนำมาตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ดังนี้

4.1 ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา

ตรวจสอบโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี blotter method โดยสุ่มตัวอย่างเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ทรีทเมนท์ละ 50 เมล็ดต่อซ้ำ วางลงในจานเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีกระดาษกรองจำนวน 3 แผ่นที่จุ่มน้ำให้ชื้นแล้ววางบนจานเลี้ยงเชื้อ จานละ 25 เมล็ด หลังจากนั้นนำไปไว้ใต้แสง NUV สลับกับความมืดอย่างละ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 24 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดภายใต้กล้องจุลทรรศน์ stereomicroscope จำแนกชนิดของเชื้อราโดยดูจากลักษณะการเจริญบนเมล็ด (ISTA, 2003) และคำนวณเปอร์เซ็นต์การติดมาของเชื้อราแต่ละชนิด

4.2 ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์

4.2.1 ตรวจสอบความงอกมาตรฐาน

ใช้เมล็ดซ้ำละ 50 เมล็ด เพาะลงในกระดาษเพาะที่ชุ่มน้ำโดยวิธี between paper และใส่ในถุงพลาสติก นำไปวางในตู้ปรับอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ประเมินความงอกภายหลังการเพาะ 4 และ 7 วัน ตามวิธีการของ ISTA (2007) เมล็ดแข็งที่ยังไม่งอกภายหลัง 7 วัน นำมาเจาะเมล็ดด้านตรงกันข้าม hilum ด้วยเข็มหรือกรรไกรตัดเล็บ แล้วนำไปเพาะในตู้เพาะอีก 7 วัน จึงนำมาประเมินความงอกรวม

4.2.2 ตรวจสอบอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (seedling growth rate test)

นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวมาเพาะบนกระดาษเพาะซ้ำละ 50 เมล็ด แล้วใส่ไว้ในตู้เพาะที่มีอุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส ในที่มืด เมื่อครบกำหนด 7 วัน นำเมล็ดออกมาตรวจนับความงอก นำต้นกล้าที่งอกปกติ มาตัดใบเลี้ยงออกเอาเฉพาะส่วนของยอดอ่อนและรากอ่อน บรรจุใส่ถุงกระดาษ นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ชั่งหาน้ำหนักแห้งของยอดอ่อนและรากอ่อน แล้วคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อต้น โดยใช้สูตรที่จวงจันทร์ (2529ข) ระบุไว้คือ

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (SGR)} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของยอดอ่อนและรากอ่อน}}{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}$$

4.2.3 ทดสอบความแข็งแรงโดยการวัด Time to 50% germination (T_{50})

ใช้เมล็ดซ้ำละ 50 เมล็ด เพาะลงในกระดาษเพาะที่ชุ่มน้ำโดยวิธี between paper และใส่ในถุงพลาสติก นำไปวางในตู้ปรับอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ประเมินความงอกภายหลังการเพาะที่ระยะเวลาต่าง ๆ ได้แก่ 12, 15, 18, 21, 24 และ 36 ชั่วโมง โดยประเมินจากต้นกล้าที่มีความยาวของรากอ่อน (radicle) ไม่น้อยกว่า 5 มิลลิเมตร แล้วคำนวณหาอัตราเร็วในการงอก โดยใช้สูตรตาม Coolbear *et al*. (1984) (อ้างโดย Amjad and Anjum., 2003) ดังนี้

$$T_{50} = t_i + \left[\frac{(N+1)/2 - n_i}{n_j - n_i} \right] \times (t_j - t_i)$$

โดยที่ t_i = เวลาก่อนที่เมล็ดจะงอกถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ของความงอกสูงสุด

n_i = ผลรวมของเมล็ดที่งอกจนถึงเวลา t_i

N = จำนวนเมล็ดที่งอกทั้งหมด

t_j = เวลาถัดจากเวลา t_i

n_j = ผลรวมของเมล็ดที่งอกจนถึงเวลา t_j

4.2.4 การทดสอบเมล็ดบวมน้ำ (oversoak test)

สุ่มเมล็ดถั่วเขียวซ้ำละ 50 กรัม มาแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 27 ± 1องศาเซลเซียส แล้วทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นคัดเอาเมล็ดที่ดูดน้ำเร็ว (เมล็ดที่บวมน้ำ) โดยการกวนเมล็ดในน้ำและแยกเอาเมล็ดที่ลอยน้ำออกมา แล้วนำเมล็ดทั้งหมด ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จึงนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำ จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของเมล็ดบวมน้ำ}}{\text{น้ำหนักแห้งของเมล็ดทั้งหมด}} \times 100$$

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์โดยวิธี Analysis of Variance ตามการทดลองแบบ Factorial arrangement in RCB เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher' s Least Significant Different (LSD) ร่วมกับการวิเคราะห์ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (standard error)

การทดลองที่ 2 ผลของน้ำโอโซนและน้ำร้อนต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

นำเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันพันธุ์กำแพงแสน 2 และถั่วเขียวผิวดำพันธุ์อู่ทอง 2 ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2550 มาใช้ในการศึกษา โดยสุ่มเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและผิวดำซ้ำละ 50 กรัมต่อทรีทเมนต์ (ต่อน้ำ 1 ลิตร) มาแช่ในน้ำโอโซน นาน 6 นาที (ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ ppm) โดยใช้อุณหภูมิในการแช่เมล็ดเพื่อคัดเมล็ดบวมน้ำ ดังนี้

ทรีทเมนต์ที่ 1 แช่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวในน้ำที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที แล้วจึงนำไปแช่น้ำที่อุณหภูมิ 27 °C นาน 1 ชั่วโมง

ทรีทเมนต์ที่ 2 แช่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวในน้ำโอโซน 6 นาที แล้วจึงนำไปแช่น้ำอุณหภูมิ 27 °C นาน 1 ชั่วโมง

ทรีทเมนต์ที่ 3 แช่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวในน้ำโอโซน 6 นาที แล้วจึงนำไปแช่น้ำอุณหภูมิ 32 °C นาน 1 ชั่วโมง

ทรีทเมนต์ที่ 4 แช่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวในน้ำโอโซน 6 นาที แล้วจึงนำไปแช่น้ำอุณหภูมิ 37 °C นาน 1 ชั่วโมง

ทรีทเมนต์ที่ 5 แช่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวในน้ำโอโซน 6 นาที แล้วจึงนำไปแช่น้ำอุณหภูมิ 42 °C นาน 1 ชั่วโมง

หลังจากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ที่ได้มาตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ดังนี้

1. ตรวจสอบโรคที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี blotter method

   ทำตามวิธีการดังข้อ 4.1

2. ตรวจสอบความงอกมาตรฐาน

   ทำตามวิธีการดังข้อ 4.2.1

3. ตรวจสอบอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (seedling growth rate test)

   ทำตามวิธีการดังข้อ 4.2.2

4. ทดสอบความแข็งแรงโดยการวัด Time to 50% germination (T_{50})

ทำตามวิธีการดังข้อ 4.2.3

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้นำมาวิเคราะห์โดยวิธี Analysis of Variance ตามการทดลองแบบ Factorial arrangement in RCB เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher' s Least Significant Different (LSD)

สถานที่ทำการทดลอง

1. แปลงทดลองโครงการวิจัยพืชโปรตีนสูง ภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

2. ห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ ภาควิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

3. ห้องปฏิบัติการโรคหลังเก็บเกี่ยว ภาควิชาโรคพืช มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพฯ

ระยะเวลาทำการทดลอง

การทดลองเริ่มตั้งแต่เดือน กรกฎาคม 2549 สิ้นสุดเดือน กุมภาพันธ์ 2550

ผลและวิจารณ์

ผล

การทดลองที่ 1 ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

1. ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์

1.1 ความงอกของเมล็ดพันธุ์

เมื่อแช่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนความเข้มข้น 12.50-62.50 ppm พบว่า น้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่มีผลต่อความงอกของถั่วเขียวทั้งสองชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1 กล่าวคือ ความงอกของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการแช่เมล็ดในน้ำ (control) โดยถั่วเขียวผิวมันมีความงอกระหว่าง 88.50-96.50 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 93.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำ มีความงอก 87.50-94.50 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 91.17 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่ได้จากการปลูกในฤดูฝน ปี 2550 ก็ตอบสนองต่อน้ำโอโซนที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ สอดคล้องกับฤดูปลูก ปี 2549 แต่เมล็ดพันธุ์ที่ผลิตได้ในฤดูปลูกนี้มีความงอกต่ำกว่า โดยเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมัน มีความงอกระหว่าง 68.50-84.50 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 79.92 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ถั่วเขียวผิวดำมีความงอก 60.00-65.50 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 63.00 เปอร์เซ็นต์

1.2 อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า

เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวแต่ละชนิดที่ได้จากการปลูกปี 2549 ตอบสนองต่อน้ำโอโซนแตกต่างกัน หรือมีปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างชนิดของถั่วเขียวและความเข้มข้นของน้ำโอโซน โดยถั่วเขียวผิวมันจะมีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าลดลงเมื่อแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 50.00 ppm ซึ่งมีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าต่ำที่สุดคือ 27.23 มิลลิกรัมต่อต้น ขณะที่ความเข้มข้นอื่น ๆ ให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติกับการแช่น้ำ ส่วนการแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนเข้มข้น 50.00 ppm กลับทำให้ถั่วเขียวผิวดำมีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าสูงที่สุดคือ 28.70 มิลลิกรัมต่อต้น แตกต่างจากการแช่น้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 12.50 และ 62.50 ppm อย่างมีนัยสำคัญ โดยมี

อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า 27.11 และ 25.57 มิลลิกรัมต่อต้น ตามลำดับ ซึ่งการแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนเข้มข้น 62.50 ppm ทำให้เมล็ดมีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าต่ำที่สุดในทุกทรีทเมนต์ สำหรับเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากปี 2550 พบว่า ทั้งถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำตอบสนองต่อน้ำโอโซนไปในทางเดียวกัน กล่าวคือ น้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเขียวทั้งสองชนิด แต่ถั่วเขียวผิวมันมีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าสูงกว่าถั่วเขียวผิวดำ โดยถั่วเขียวผิวมันมีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าเฉลี่ย 27.46 มิลลิกรัมต่อต้น ส่วนถั่วเขียวผิวดำมีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าเฉลี่ย 25.67 มิลลิกรัมต่อต้น (ตารางที่ 2)

1.3 ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยการวัดระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50})

หลังจากแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ได้จากฤดูปลูก ปี 2549 ในน้ำโอโซนความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า ถั่วเขียวผิวมันตอบสนองต่อทุกทรีทเมนต์ไม่แตกต่างกัน แต่ทำให้ถั่วเขียวผิวดำมีแนวโน้มงอกได้เร็วขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการแช่น้ำ โดยการแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนเข้มข้น 25.00-50.00 ppm เมล็ดจะใช้เวลาที่งอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50}) ได้แตกต่างทางสถิติกับการแช่น้ำ แต่ไม่แตกต่างกับการแช่น้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 12.50 และ 62.50 ppm (ตารางที่ 3 และภาพที่ 1) จะเห็นได้ว่าน้ำโอโซนความเข้มข้น 25.00 และ 37.50 ppm ทำให้เมล็ดถั่วเขียวผิวดำมี T_{50} 20.93 และ 20.66 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งถือว่าเร็วกว่าทรีทเมนต์อื่น ๆ และถั่วเขียวผิวมันมี T_{50} น้อยกว่าถั่วเขียวผิวดำ 2.77 ชั่วโมง ส่วนในเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากการปลูกในปี 2550 พบว่าทั้งถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำตอบสนองต่อน้ำโอโซนทุกทรีทเมนต์ไม่แตกต่างกัน โดยถั่วเขียวผิวมันมี T_{50} เฉลี่ย 18.10 ชั่วโมง ขณะที่ถั่วเขียวผิวดำมี T_{50} เฉลี่ย 31.88 ชั่วโมง ซึ่งหมายถึง งอกรากแรกเกิดช้ากว่าถั่วเขียวผิวมันถึง 13.78 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 ความงอกมาตรฐาน (เปอร์เซ็นต์) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้น (ppm)	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
	ปี 2549		
0.00	96.00	94.50	95.25 a[1/]
12.50	96.00	87.50	91.75 a
25.00	90.00	90.50	90.25 a
37.50	94.00	91.00	92.50 a
50.00	88.50	90.50	89.50 a
62.50	96.50	93.00	94.75 a
ค่าเฉลี่ย	A 93.50[2/]	A 91.17	
	ปี 2550		
0.00	84.50	65.00	74.75 a
12.50	84.50	60.00	72.25 a
25.00	68.50	65.50	67.00 a
37.50	84.50	62.50	73.50 a
50.00	76.50	61.50	69.00 a
62.50	81.00	63.50	72.25 a
ค่าเฉลี่ย	A 79.92	B 63.00	

	ปี 2549	ปี 2550
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	ns	4.53
$LSD_{0.05}$ ความเข้มข้น	ns	ns
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ความเข้มข้น	ns	ns
C.V. (%)	5.50	10.80

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียว ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

ตารางที่ 2 อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (มิลลิกรัมต่อต้น) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้น (ppm)	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
	ปี 2549		
0.00	29.01 a[1/]	27.50 ab	28.25
12.50	29.01 a	27.11 b	28.06
25.00	28.15 ab	27.42 ab	27.79
37.50	28.25 ab	27.46 ab	27.85
50.00	27.23 b	28.70 a	27.97
62.50	28.55 ab	25.57 c	27.06
ค่าเฉลี่ย	A 28.27[2/]	B 27.29	
	ปี 2550		
0.00	27.13	24.67	25.90 a
12.50	27.79	25.70	26.74 a
25.00	27.62	26.23	26.92 a
37.50	26.25	26.30	26.28 a
50.00	28.71	24.54	26.63 a
62.50	27.25	26.60	26.93 a
ค่าเฉลี่ย	A 27.46	B 25.67	

	ปี 2549	ปี 2550
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.62	0.98
$LSD_{0.05}$ ความเข้มข้น	ns	ns
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ความเข้มข้น	1.51	ns
C.V. (%)	3.80	6.30

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียว ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

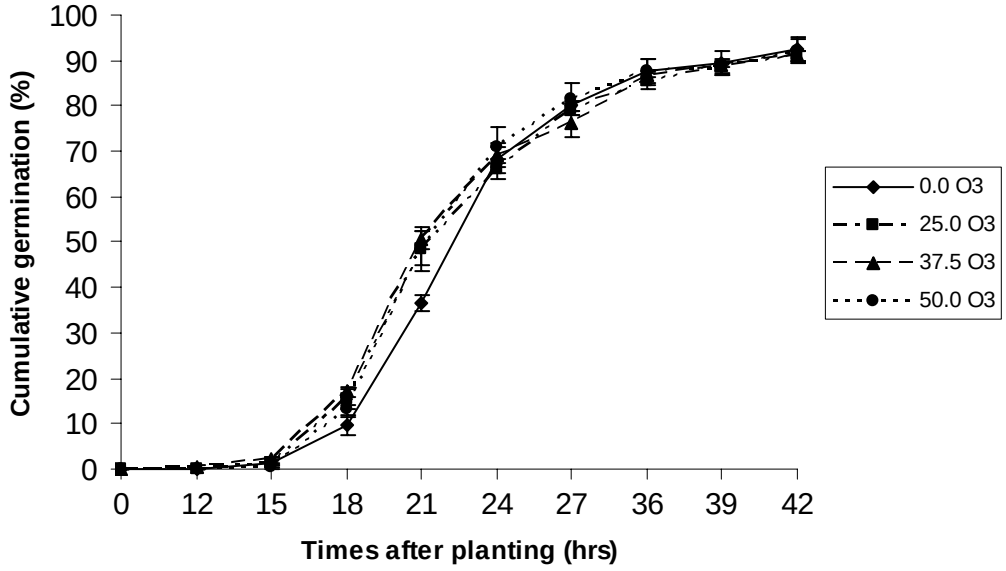
ตารางที่ 3 ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50}, ชั่วโมง) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้น (ppm)	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
	ปี 2549		
0.00	18.30 a[1/]	22.03 a	20.16
12.50	18.47 a	21.52 ab	20.00
25.00	18.68 a	20.93 b	19.80
37.50	18.91 a	20.66 b	19.78
50.00	18.33 a	21.04 b	19.68
62.50	18.20 a	21.35 ab	19.78
ค่าเฉลี่ย	B 18.48[2/]	A 21.25	
	ปี 2550		
0.00	18.67	32.40	25.53 a
12.50	17.99	32.48	25.24 a
25.00	18.54	31.30	24.92 a
37.50	17.82	32.65	25.23 a
50.00	17.93	31.16	24.55 a
62.50	17.65	31.27	24.46 a
ค่าเฉลี่ย	B 18.10	A 31.88	

	ปี 2549	ปี 2550
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.37	0.52
$LSD_{0.05}$ ความเข้มข้น	ns	ns
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ความเข้มข้น	0.90	ns
C.V. (%)	3.20	3.50

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียว ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD



ภาพที่ 1 ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50} , ชั่วโมง) ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25.0, 37.5 และ 50.0 ppm เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (vertical bar แสดงค่า ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน เฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ)

1.4 เปอร์เซ็นต์เมล็ดคัดทิ้ง

เมื่อนำเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ มาทดสอบเมล็ดบวมน้ำ (oversoak test) เพื่อหาเปอร์เซ็นต์เมล็ดคัดทิ้ง พบว่า น้ำโอโซนทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำของทั้งถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ได้จากฤดูปลูก ปี 2549 โดยถั่วเขียวผิวมันมีเมล็ดบวมน้ำ 1.47-1.97 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 1.68 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำมีเมล็ดบวมน้ำ 2.02-2.74 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 2.31 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4) สำหรับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่ได้จากฤดูปลูกปี 2550 ก็ให้ผลไปในทางเดียวกัน แต่เมล็ดพันธุ์ที่ได้จากฤดูปลูกนี้มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำสูงกว่าปี 2549 อย่างเด่นชัด กล่าวคือ เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันมีเมล็ดบวมน้ำอยู่ระหว่าง 6.42-7.85 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 7.44 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำ 24.00-27.06 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 25.50 เปอร์เซ็นต์ เห็นได้ว่าถั่วเขียวผิวดำมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำสูงกว่าถั่วเขียวผิวมันถึง 18.06 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดพันธุ์ที่ได้จากการปลูกในฤดูฝน ปี 2550 มีคุณภาพค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับฤดูปลูก ปี 2549 โดยเมล็ดคัดทิ้งที่พบส่วนใหญ่เป็นเมล็ดที่ถูกเชื้อราเข้าทำลาย เมล็ดที่แตกหักเสียหายจากการกะเทาะ และพบเมล็ดอ่อนบ้างเล็กน้อย

ตารางที่ 4 เมล็ดบวมน้ำ (เปอร์เซ็นต์) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้น (ppm)	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
	ปี 2549		
0.00	1.47	2.02	1.74 a[1/]
12.50	1.80	2.30	2.05 a
25.00	1.80	2.16	1.98 a
37.50	1.50	2.21	1.86 a
50.00	1.97	2.74	2.36 a
62.50	1.53	2.46	1.99 a
ค่าเฉลี่ย	B 1.68[2/]	A 2.31	
	ปี 2550		
0.00	7.85	25.78	16.81 a
12.50	6.42	25.36	15.89 a
25.00	7.84	24.00	15.92 a
37.50	7.17	24.85	16.01 a
50.00	7.80	25.95	16.87 a
62.50	7.59	27.06	17.32 a
ค่าเฉลี่ย	B 7.44	A 25.50	

	ปี 2549	ปี 2550
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.25	1.01
$LSD_{0.05}$ ความเข้มข้น	ns	ns
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ความเข้มข้น	ns	ns
C.V. (%)	21.50	10.40

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียว ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

2. ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา

จากการตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ โดยการแช่เมล็ดลงในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 0, 12.50, 25.00, 37.50, 50.00 และ 62.50 ppm เปรียบเทียบกับการฆ่าเชื้อราที่ผิวเมล็ดด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ได้ผลดังนี้

2.1 *Alternaria alternata*

จากผลการทดลองในตารางที่ 5 พบว่า เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ได้จากการปลูกในปี 2549 มีเชื้อรา *A. alternata* ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวทั้งสองชนิดเพียงเล็กน้อย โดยเมล็ดที่ไม่ได้ฆ่าเชื้อที่ผิวและไม่ได้แช่น้ำโอโซน (แช่น้ำ) มีเชื้อรานี้ติดมาเพียง 1.50 เปอร์เซ็นต์ และการใช้คลอร็อกซ์สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ แสดงว่า เชื้อรา *A. alternata* ที่ติดมานี้อยู่ที่ผิวเมล็ด (seed coat) เท่านั้น อย่างไรก็ตาม เมื่อแช่เมล็ดในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบความแปรปรวนของปริมาณเชื้อรา โดยที่ส่วนใหญ่ไม่แตกต่างจากการไม่ฆ่าเชื้อ ยกเว้นการแช่น้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 25.00 ppm ซึ่งทำให้มีเชื้อรานี้สูงกว่าการแช่น้ำ สำหรับผลการทดลองในปี 2550 พบว่า เมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิด มีเชื้อรา *A. alternata* ติดมาสูงกว่าเมล็ดที่ได้จากปี 2549 กล่าวคือ เชื้อราชนิดนี้ติดมากับถั่วเขียวผิวมัน 13.00 เปอร์เซ็นต์ และติดมากับถั่วเขียวผิวดำ 23.00 เปอร์เซ็นต์ การใช้คลอร็อกซ์ฆ่าเชื้อที่ผิวไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ทั้งหมด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อราบางส่วนติดมาภายในเมล็ด ซึ่งพบเชื้อรานี้ในถั่วเขียวผิวมัน 9.00 เปอร์เซ็นต์ และในถั่วเขียวผิวดำพบ 3.00 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการแช่เมล็ดในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า มีแนวโน้มทำให้เชื้อรา *A. alternata* ลดลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อแช่เมล็ดในน้ำโอโซนความเข้มข้น 12.50, 37.50 และ 62.50 ppm ทำให้ค่าเฉลี่ยของปริมาณเชื้อราที่ติดมากับถั่วเขียวทั้งสองชนิดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการแช่น้ำ

2.2 *Aspergillus* spp.

เมื่อพิจารณาเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากฤดูปลูกปี 2549 พบว่า เชื้อรา *Aspergillus* spp. ส่วนใหญ่ติดมาที่ผิวของถั่วเขียวผิวมัน ซึ่งทราบได้จากเมื่อฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอร็อกซ์แล้ว ทำให้เชื้อราชนิดนี้ลดลงเหลือ 7.00 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การไม่แช่น้ำโอโซนพบเชื้อรานี้ติดมาถึง 86.00 เปอร์เซ็นต์ การแช่น้ำโอโซนที่ความเข้มข้น 25.00 และ 37.50 ppm ทำให้เชื้อรา *Aspergillus* spp. ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่การแช่น้ำโอโซนที่ระดับความเข้มข้นอื่น ๆ ไม่มีความ

แตกต่างจากการแช่น้ำ ส่วนในถั่วเขียวผิวดำ พบว่า เชื้อรา *Aspergillus* spp. ติดมากับเมล็ดไม่มากนัก เพียงไม่เกิน 7 เปอร์เซ็นต์ และการแช่น้ำโอโซนไม่มีผลต่อเชื้อ *Aspergillus* spp. แต่อย่างใด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างถั่วเขียวทั้งสองชนิดพบว่า เชื้อรานี้ติดมากับถั่วเขียวผิวมันมากกว่าถั่วเขียวผิวดำ โดยพบในถั่วเขียวผิวมันเฉลี่ย 67.79 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำพบเฉลี่ย 4.79 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเมล็ดถั่วเขียวที่ได้จากปี 2550 พบว่า เมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิด มีเชื้อรา *Aspergillus* spp. ติดมากับเมล็ดเพียงเล็กน้อยเท่านั้น และน้ำโอโซนทุกความเข้มข้นไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่ติดมากับเมล็ด ยกเว้นการแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันในน้ำโอโซนความเข้มข้น 62.50 ppm ทำให้มีเชื้อ *Aspergillus* spp. สูงขึ้น (ตารางที่ 6)

2.3 *Cladosporium* spp.

เชื้อรา *Cladosporium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำตอบสนองต่อน้ำโอโซนแตกต่างกัน (ตารางที่ 7) โดยพบว่าเมล็ดที่ได้จากการปลูกในปี 2549 มีเชื้อราชนิดนี้ติดมาในปริมาณมาก เนื่องจากเมื่อแช่เมล็ดถั่วเขียวในน้ำ พบการเจริญของเชื้อรานี้ในถั่วเขียวผิวมันเฉลี่ย 79.00 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำพบเฉลี่ย 61.00 เปอร์เซ็นต์ และการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอร็อกซ์ก็สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ แม้ว่าในถั่วเขียวผิวดำจะยังคงเหลือเชื้อรานี้อยู่เล็กน้อย แสดงว่าเชื้อรา *Cladosporium* spp. ติดมาที่ผิวเมล็ดเท่านั้น น้ำโอโซนทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรานี้ได้แตกต่างทางสถิติจากการแช่น้ำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันในน้ำโอโซนเข้มข้น 50.00 ppm สามารถยับยั้งเชื้อราได้มากที่สุด ขณะที่การแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนความเข้มข้นต่าง ๆ ก็สามารถยับยั้งเชื้อรา *Cladosporium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดได้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนเมล็ดที่ได้จากฤดูปลูกปี 2550 พบว่ามีเชื้อรานี้ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดเพียงเล็กน้อย การฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอร็อกซ์สามารถยับยั้งเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ และไม่แตกต่างทางสถิติจากการแช่น้ำ เป็นที่น่าสังเกตว่า เมื่อแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันในน้ำโอโซนเข้มข้น 50.00 และ 62.50 ppm จะทำให้เชื้อรานี้มีการเจริญมากขึ้น โดยพบเฉลี่ย 5.00 และ 9.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างทางสถิติจากการแช่น้ำ อย่างไรก็ตาม การแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนทุกความเข้มข้น ให้ผลในการยับยั้งเชื้อรานี้ไม่แตกต่างทางสถิติจากการแช่น้ำ

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *A. alternata* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
	ปี 2549		
Check [1/]	0.00 (0.71)[2/]	0.00 (0.71)	0.00 (0.71 c)
0.00 O_3	1.50 (1.28)	1.50 (1.28)	1.50 (1.28 bc)
12.50 O_3	0.50 (0.93)	3.50 (1.85)	2.00 (1.39 b)
25.00 O_3	2.50 (1.60)	8.50 (2.93)	5.50 (2.27 a)
37.50 O_3	1.50 (1.28)	8.50 (2.74)	5.00 (2.01 ab)
50.00 O_3	0.00 (0.71)	2.00 (1.26)	1.00 (0.98 bc)
62.50 O_3	1.00 (1.14)	7.00 (2.65)	4.00 (1.90 ab)
ค่าเฉลี่ย	1.00 (B 1.09)[3/]	4.42 (A 1.92)	
	ปี 2550		
Check	9.00 (2.77)	3.00 (1.77)	6.00 (2.27 b)
0.00 O_3	13.00 (3.51)	23.00 (4.83)	18.00 (4.17 a)
12.50 O_3	9.00 (2.92)	5.00 (2.12)	7.00 (2.52 b)
25.00 O_3	8.00 (2.87)	14.00 (3.76)	11.00 (3.32 ab)
37.50 O_3	8.00 (2.87)	12.00 (3.45)	10.00 (3.16 b)
50.00 O_3	10.00 (2.92)	14.00 (3.80)	12.00 (3.36 ab)
62.50 O_3	6.00 (2.32)	13.00 (3.52)	9.50 (2.92 b)
ค่าเฉลี่ย	9.00 (A 2.88)	13.00 (A 3.32)	

	ปี 2549	ปี 2550
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.36	ns
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	0.67	1.00
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	ns	ns
C.V. (%)	43.17	32.00

[1/] กำจัดเชื้อราที่ผิวเมล็ดด้วย 1% NaOCl นาน 5 นาที

[2/] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[3/] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียวและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

ตารางที่ 6 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
	ปี 2549		
Check [1/]	7.00 (2.71 c)[2/]	4.50 (2.03 a)	5.75 (2.37)
0.00 O_3	86.00 (9.30 a)	7.00 (2.61 a)	46.50 (5.95)
12.50 O_3	85.50 (9.27 a)	4.00 (1.98 a)	44.75 (5.63)
25.00 O_3	62.00 (7.44 b)	4.00 (1.98 a)	33.00 (4.86)
37.50 O_3	64.00 (7.97 b)	7.50 (2.80 a)	35.75 (5.38)
50.00 O_3	92.00 (9.62 a)	3.50 (1.98 a)	47.75 (5.80)
62.50 O_3	78.00 (8.82 ab)	3.00 (1.85 a)	40.50 (5.33)
ค่าเฉลี่ย	67.79 (A 7.92)[3/]	4.79 (B 2.18)	
	ปี 2550		
Check	0.00 (0.71 b)	0.00 (0.71 a)	0.00 (0.71)
0.00 O_3	0.00 (0.71 b)	0.00 (0.71 a)	0.00 (0.71)
12.50 O_3	1.00 (1.06 b)	0.00 (0.71 a)	0.50 (0.88)
25.00 O_3	1.00 (1.06 b)	1.00 (1.06 a)	1.00 (1.06)
37.50 O_3	0.00 (0.71 b)	1.00 (1.06 a)	0.50 (0.88)
50.00 O_3	0.00 (0.71 b)	0.00 (0.71 a)	0.00 (0.71)
62.50 O_3	7.00 (2.47 a)	0.00 (0.71 a)	3.50 (1.59)
ค่าเฉลี่ย	1.29 (A 1.06)	0.29 (A 0.81)	

	ปี 2549	ปี 2550
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.45	ns
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	0.85	0.52
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	1.20	0.73
C.V. (%)	16.60	54.90

[1/] กำจัดเชื้อราที่ผิวเมล็ดด้วย 1% NaOCl นาน 5 นาที

[2/] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[3/] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียวและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

ตารางที่ 7 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Cladosporium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
	ปี 2549		
Check [1/]	0.00 (0.71 d)[2/]	0.50 (0.93 c)	0.25 (0.82)
0.00 O_3	79.00 (8.91 a)	61.00 (7.83 a)	70.00 (8.37)
12.50 O_3	49.00 (7.02 b)	23.50 (4.89 b)	36.25 (5.95)
25.00 O_3	39.50 (6.06 b)	29.00 (5.40 b)	34.25 (5.73)
37.50 O_3	34.50 (5.87 b)	33.00 (5.71 b)	33.75 (5.79)
50.00 O_3	18.50 (4.20 c)	35.50 (5.97 b)	27.00 (5.08)
62.50 O_3	41.00 (6.40 b)	27.00 (5.22 b)	34.00 (5.81)
ค่าเฉลี่ย	37.36 (A 5.59)[3/]	29.93 (A 5.13)	
	ปี 2550		
Check	0.00 (0.71 c)	0.00 (0.71 b)	0.00 (0.71)
0.00 O_3	0.00 (0.71 c)	1.00 (1.06 ab)	0.50 (0.88)
12.50 O_3	3.00 (1.61 bc)	2.00 (1.41 ab)	2.50 (1.51)
25.00 O_3	2.00 (1.26 bc)	0.00 (0.71 b)	1.00 (0.98)
37.50 O_3	1.00 (1.06 bc)	2.00 (1.41 ab)	1.50 (1.24)
50.00 O_3	5.00 (1.90 b)	4.00 (1.77 a)	4.50 (1.83)
62.50 O_3	9.00 (3.07 a)	0.00 (0.71 b)	4.50 (1.89)
ค่าเฉลี่ย	2.86 (A 1.47)	1.29 (A 1.11)	

	ปี 2549	ปี 2550
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	ns	ns
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	0.92	0.74
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	1.30	1.05
C.V. (%)	16.90	56.90

[1/] กำจัดเชื้อราที่ผิวเมล็ดด้วย 1% NaOCl นาน 5 นาที

[2/] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[3/] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียวและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

2.4 *Fusarium* spp.

เชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ได้จากการปลูกปี 2549 ตอบสนองต่อน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้แตกต่างกัน จะเห็นได้ว่า เชื้อราชนิดนี้ติดมาภายในเมล็ดถั่วเขียวผิวมัน เนื่องจากเมื่อฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอร็อกซ์แล้วก็ยังตรวจพบถึง 30.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างจากการแช่น้ำ ส่วนในถั่วเขียวผิวดำ พบว่า เชื้อราบางส่วนติดมาที่ผิวเมล็ดและบางส่วนติดมาภายในเมล็ด เนื่องจากเมื่อแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำในน้ำ พบว่ามีเชื้อราชนิดนี้เฉลี่ย 62.00 เปอร์เซ็นต์ แต่หลังจากฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วก็ยังพบ 13.00 เปอร์เซ็นต์ การแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันในน้ำโอโซนทุกความเข้มข้นไม่มีผลยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp. นอกจากนี้ยังพบว่าการแช่เมล็ดในน้ำโอโซนเข้มข้น 37.50 ppm กลับทำให้เชื้อรานี้มีการเจริญมากขึ้น ขณะที่น้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ก็ไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวดำได้เช่นเดียวกัน สำหรับเมล็ดถั่วเขียวที่ได้จากปี 2550 พบว่า เมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดมีเชื้อราชนิดนี้ติดมาสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ แต่การฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอร็อกซ์ก็สามารถยับยั้งเชื้อรานี้ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบเชื้อรานี้ติดมากับถั่วเขียวทั้งสองชนิดเฉลี่ย 96.00 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งถือว่ามีเชื้อราติดมาในปริมาณมาก นอกจากนี้การแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำลงในน้ำโอโซนทุกความเข้มข้นก็ให้ผลในการยับยั้งเชื้อราไม่แตกต่างจากการแช่น้ำ แสดงว่า น้ำโอโซนไม่มีผลต่อเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ติดมากับถั่วเขียวทั้งสองชนิด (ตารางที่ 8)

2.5 *Macrophomina phaseolina*

เมื่อพิจารณาเมล็ดถั่วเขียวที่ได้จากฤดูปลูกปี 2549 พบว่า เชื้อรา *M. phaseolina* ติดมาภายในเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ เนื่องจากเมื่อฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วยังพบว่ามีเชื้อรานี้ไม่แตกต่างทางสถิติจากการแช่น้ำ จะเห็นได้ว่าการแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันในน้ำโอโซนเข้มข้น 12.50, 37.50, 50.00 และ 62.50 ppm มีผลทำให้เชื้อรานี้เจริญมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความเข้มข้น 37.50 ppm ตรวจพบเชื้อราชนิดนี้สูงถึง 72.00 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันในน้ำโอโซนเข้มข้น 25.00 ppm พบว่ามีเชื้อรา *M. phaseolina* ไม่แตกต่างทางสถิติจากการแช่น้ำและการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอร็อกซ์ ขณะที่การแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนเข้มข้น 25.00 และ 50.00 ppm ให้ผลยับยั้งเชื้อราไม่ต่างจากการแช่น้ำและคลอร็อกซ์ แต่การแช่เมล็ดในน้ำโอโซนเข้มข้น 12.50, 37.50 และ 62.50 ppm กลับทำให้เชื้อราเพิ่มการเจริญมากขึ้น ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการแช่น้ำ สำหรับเมล็ดที่ได้จากปี 2550 พบว่า ถั่วเขียวทั้งสองชนิดตอบสนองไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ เชื้อรา *M. phaseolina* ติดมาภายในเมล็ดของทั้งถั่วเขียวผิวมันและ

ถั่วเขียวผิวดำ การใช้คลอร็อกซ์เพื่อฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดจึงไม่มีผลในการยับยั้งเชื้อรา นอกจากนี้ยังพบว่าการใช้น้ำโอโซนทุกความเข้มข้นก็ไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *M. phaseolina* ที่ติดมากับถั่วเขียวทั้งสองชนิดได้ โดยพบเชื้อรานี้ติดมากับถั่วเขียวผิวมันเฉลี่ย 4.29 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในถั่วเขียวผิวดำพบเฉลี่ย 11.71 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
	ปี 2549		
Check [1/]	30.50 (5.48 ab)[2/]	13.00 (3.30 b)	21.75 (4.39)
0.00 O_3	22.00 (4.65 b)	62.00 (7.86 a)	42.00 (6.26)
12.50 O_3	15.50 (3.97 b)	55.00 (7.43 a)	35.25 (5.70)
25.00 O_3	16.00 (3.93 b)	59.50 (7.67 a)	37.75 (5.80)
37.50 O_3	37.50 (6.15 a)	64.50 (8.04 a)	51.00 (7.09)
50.00 O_3	21.50 (4.60 b)	53.00 (7.29 a)	37.25 (5.94)
62.50 O_3	14.50 (3.78 b)	68.00 (8.27 a)	41.25 (6.02)
ค่าเฉลี่ย	22.50 (B 4.65)[3/]	53.57 (A 7.12)	
	ปี 2550		
Check	98.00	94.00	96.00 b
0.00 O_3	100.00	100.00	100.00 a
12.50 O_3	98.00	100.00	99.00 a
25.00 O_3	100.00	100.00	100.00 a
37.50 O_3	100.00	99.00	99.50 a
50.00 O_3	100.00	99.00	99.50 a
62.50 O_3	100.00	99.00	99.50 a
ค่าเฉลี่ย	A 99.43	A 98.71	

	ปี 2549	ปี 2550
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.55	ns
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	1.03	2.48
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	1.46	ns
C.V. (%)	17.30	2.50

[1/] กำจัดเชื้อราที่ผิวเมล็ดด้วย 1% NaOCl นาน 5 นาที

[2/] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[3/] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียวและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

ตารางที่ 9 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *M. phaseolina* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 และ 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
	ปี 2549		
Check [1/]	22.00 (4.32 bc)[2/]	8.00 (2.49 c)	15.00 (3.40)
0.00 O_3	8.00 (2.88 c)	15.00 (3.81 c)	11.50 (3.34)
12.50 O_3	25.50 (5.06 b)	64.00 (7.96 a)	44.75 (6.51)
25.00 O_3	9.50 (2.86 c)	22.00 (4.57 bc)	15.75 (3.72)
37.50 O_3	72.00 (8.49 a)	42.00 (6.44 ab)	57.00 (7.47)
50.00 O_3	37.50 (5.94 b)	25.50 (5.07 bc)	31.50 (5.51)
62.50 O_3	30.50 (4.92 b)	36.00 (5.98 b)	33.25 (5.45)
ค่าเฉลี่ย	29.29 (A 4.93)[3/]	30.36 (A 5.19)	
	ปี 2550		
Check	3.00 (1.61)	13.00 (3.26)	8.00 (2.43 a)
0.00 O_3	10.00 (2.77)	15.00 (3.80)	12.50 (3.28 a)
12.50 O_3	2.00 (1.41)	10.00 (2.92)	6.00 (2.17 a)
25.00 O_3	1.00 (1.06)	9.00 (2.72)	5.00 (1.89 a)
37.50 O_3	3.00 (1.61)	12.00 (3.49)	7.50 (2.55 a)
50.00 O_3	4.00 (1.97)	18.00 (4.25)	11.00 (3.11 a)
62.50 O_3	7.00 (2.72)	5.00 (1.97)	6.00 (2.34 a)
ค่าเฉลี่ย	4.29 (B 1.88)	11.71 (A 3.20)	

	ปี 2549	ปี 2550
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	ns	0.62
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	1.39	ns
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	1.97	ns
C.V. (%)	27.20	45.30

[1/] กำจัดเชื้อราที่ผิวเมล็ดด้วย 1% NaOCl นาน 5 นาที

[2/] ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกันในแต่ละคอลัมน์ของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[3/] ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียวและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกันของแต่ละปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

การทดลองที่ 2 ผลของน้ำโอโซนและน้ำร้อนที่มีต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมัน และถั่วเขียวผิวดำ

1. ผลของน้ำโอโซนและน้ำร้อนที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์

1.1 ความงอกของเมล็ดพันธุ์

เมื่อนำเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ไปแช่ในน้ำโอโซนเข้มข้น 25 ppm แล้วตามด้วยการแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่า ถั่วเขียวทั้งสองชนิดตอบสนองต่อน้ำโอโซนและน้ำร้อนไปในทิศทางเดียวกัน โดยพบแนวโน้มว่าทั้งถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำจะมีเปอร์เซ็นต์ความงอกเพิ่มสูงขึ้นเมื่อแช่น้ำโอโซนแล้วตามด้วยการแช่น้ำร้อน เปรียบเทียบกับการไม่แช่น้ำโอโซนหรือการแช่น้ำโอโซนตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ 10) ทั้งนี้ถั่วเขียวผิวมันมีความงอกระหว่าง 82.00-87.50 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 84.40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำมีความงอก 79.50-85.00 เปอร์เซ็นต์ เฉลี่ย 82.00 เปอร์เซ็นต์

1.2 อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า

อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงว่า น้ำโอโซนและน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเขียวทั้งสองชนิด โดยถั่วเขียวผิวมันมีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าอยู่ระหว่าง 27.23-29.32 มิลลิกรัมต่อต้น เฉลี่ย 28.27 มิลลิกรัมต่อต้น ซึ่งสูงกว่าถั่วเขียวผิวดำที่มีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าระหว่าง 25.87-27.02 มิลลิกรัมต่อต้น เฉลี่ย 26.59 มิลลิกรัมต่อต้น (ตารางที่ 11)

ตารางที่ 10 ความงอกมาตรฐาน (เปอร์เซ็นต์) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
Unozonated+soaked at 27 °C	82.00	79.50	80.75 a[1/]
Ozonated+soaked at 27 °C	82.50	79.50	81.00 a
Ozonated+soaked at 32 °C	82.50	82.00	82.25 a
Ozonated+soaked at 37 °C	87.50	85.00	86.25 a
Ozonated+soaked at 42 °C	87.50	84.00	85.75 a
ค่าเฉลี่ย	A 84.40[2/]	A 82.00	

$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	ns
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	ns
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	ns
C.V. (%)	8.80

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียว ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

ตารางที่ 11 อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (มิลลิกรัมต่อต้น) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
Unozonated+soaked at 27 °C	29.32	26.61	27.96 a[1/]
Ozonated+soaked at 27 °C	27.85	27.02	27.43 a
Ozonated+soaked at 32 °C	27.23	26.58	26.91 a
Ozonated+soaked at 37 °C	28.09	25.87	26.98 a
Ozonated+soaked at 42 °C	28.57	26.89	27.73 a
ค่าเฉลี่ย	A 28.21[2/]	B 26.59	

$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	1.05
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	ns
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	ns
C.V. (%)	5.90

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียว ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

1.3 ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50})

จากการตรวจสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยการวัดค่า T_{50} พบว่า ทั้งถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำตอบสนองต่อน้ำโอโซนและน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ ไปในทางเดียวกัน การแช่เมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดลงในน้ำโอโซนแล้วแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส มีผลกระตุ้นการงอกของเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญ กล่าวคือ ทั้งถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำจะมีค่า T_{50} ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่แช่น้ำโอโซนหรือการแช่น้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 27 และ 32 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ถั่วเขียวผิวมันยังมีค่า T_{50} น้อยกว่าถั่วเขียวผิวดำถึง 10.25 ชั่วโมง โดยถั่วเขียวผิวมันมีค่า T_{50} เฉลี่ย 17.57 ชั่วโมง และถั่วเขียวผิวดำมีค่า T_{50} เฉลี่ย 27.82 ชั่วโมง (ตารางที่ 12 และภาพที่ 4)

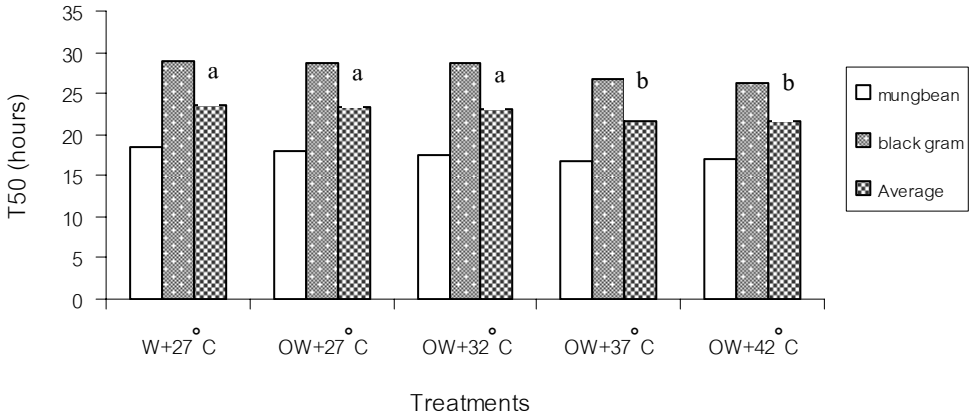
ตารางที่ 12 ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50}, ชั่วโมง) ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
Unozonated+soaked at 27 °C	18.41	28.92	23.67 a[1/]
Ozonated+soaked at 27 °C	18.02	28.64	23.33 a
Ozonated+soaked at 32 °C	17.61	28.66	23.13 a
Ozonated+soaked at 37 °C	16.70	26.64	21.67 b
Ozonated+soaked at 42 °C	17.12	26.22	21.67 b
ค่าเฉลี่ย	B 17.57[2/]	A 27.82	

$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.91
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	1.44
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	ns
C.V. (%)	6.20

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียว ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD



ภาพที่ 2 ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (ชั่วโมง) ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซน (OW) ความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (W)

2. ผลของน้ำโอโซนและน้ำร้อนที่มีต่อการควบคุมเชื้อรา

2.1 *A. alternata*

หลังจากแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน พบว่า เชื้อรา *A. alternata* ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดตอบสนองต่อทุกทรีทเมนต์ไม่แตกต่างกัน แต่การแช่เมล็ดถั่วเขียวในน้ำโอโซนแล้วแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส กลับทำให้เชื้อราชนิดนี้มีการเจริญมากขึ้นซึ่งแตกต่างทางสถิติจากทรีทเมนต์อื่น โดยพบเชื้อรานี้ในถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ 15.00 และ 20.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ คิดเป็นค่าเฉลี่ย 17.75 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 13) และถั่วเขียวผิวมันมีเชื้อรา *A. alternata* ติดมากับเมล็ดเฉลี่ย 7.70 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำมีเชื้อราชนิดนี้ติดมา 13.70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงว่า เชื้อรา *A. alternata* ติดมากับถั่วเขียวผิวดำมากกว่าถั่วเขียวผิวมัน

2.2 *Aspergillus* spp.

เชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่ติดมากับถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำตอบสนองต่อทุกทรีทเมนต์ไปในทางเดียวกัน และพบเชื้อราชนิดนี้ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (ตารางที่ 14) การแช่เมล็ดในน้ำที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ให้ผลไม่แตกต่างจากการแช่เมล็ดในน้ำโอโซนตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 27, 32 และ 37 องศาเซลเซียส ขณะที่การแช่เมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดในน้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส จะไปกระตุ้นการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ ทำให้พบเชื้อรา *Aspergillus* spp. ของถั่วเขียวทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้นเฉลี่ยเป็น 2.25 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตาม การเพิ่มขึ้นนี้แม้จะมีความแตกต่างทางสถิติแต่ก็ถือว่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย

ตารางที่ 13 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *A. alternata* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
Unozonated+soaked at 27 °C	6.00 (2.46)[1/]	13.50 (3.72)	9.75 (3.09 b)
Ozonated+soaked at 27 °C	4.50 (2.13)	16.00 (3.94)	10.25 (3.03 b)
Ozonated+soaked at 32 °C	7.00 (2.61)	9.50 (2.99)	8.25 (2.80 b)
Ozonated+soaked at 37 °C	15.00 (3.87)	20.50 (4.47)	17.75 (4.17 a)
Ozonated+soaked at 42 °C	6.00 (2.53)	9.00 (3.04)	7.50 (2.79 b)
ค่าเฉลี่ย	7.70 (B 2.72)[2/]	13.70 (A 3.63)	

$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.54
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	0.86
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	ns
C.V. (%)	26.30

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียวและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
Unozonated+soaked at 27 °C	0.00 (0.71)[1/]	0.00 (0.71)	0.00 (0.71 b)
Ozonated+soaked at 27 °C	0.00 (0.71)	0.50 (0.93)	0.25 (0.82 b)
Ozonated+soaked at 32 °C	0.00 (0.71)	0.50 (0.93)	0.25 (0.82 b)
Ozonated+soaked at 37 °C	0.50 (0.93)	0.50 (0.93)	0.50 (0.93 b)
Ozonated+soaked at 42 °C	3.00 (1.82)	1.50 (1.28)	2.25 (1.55 a)
ค่าเฉลี่ย	0.70 (A 0.97)[2/]	0.60 (A 0.95)	

$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	ns
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	0.40
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	ns
C.V. (%)	40.90

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียวและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

2.3 *Cladosporium* spp.

เชื้อรา *Cladosporium* spp. ที่ติดมากับถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ตอบสนองต่อน้ำโอโซนและน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ แตกต่างกัน กล่าวคือ เมื่อแช่ถั่วเขียวผิวมันในน้ำที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส จะพบเปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Cladosporium* spp. ไม่แตกต่างจากการแช่ในน้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 27, 32 และ 37 องศาเซลเซียส ขณะที่การใช้น้ำโอโซนตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด โดยพบเพียง 1.50 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น สำหรับในถั่วเขียวผิวดำ พบว่า การใช้หรือไม่ใช้น้ำโอโซนแล้วแช่น้ำที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส พบเปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Cladosporium* spp. ไม่แตกต่างกัน และไม่ต่างจากการแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส แต่การแช่น้ำโอโซนตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส มีผลยับยั้งเชื้อราชนิดนี้ได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับการแช่น้ำโอโซนตามด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส จะเห็นได้ว่าการแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนตามด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส สามารถกำจัดชนิดนี้ได้อย่างสมบูรณ์ (ตารางที่ 15) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *Cladosporium* spp. ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวมันมากกว่าถั่วเขียวผิวดำ โดยพบเชื้อราชนิดนี้ในถั่วเขียวผิวมันเฉลี่ย 37.60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำพบ 12.90 เปอร์เซ็นต์

2.4 *Curvularia* spp.

เมื่อพิจารณาเชื้อรา *Curvularia* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนแล้วตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่า ทั้งถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำตอบสนองต่อทรีทเมนต์ต่าง ๆ แตกต่างกัน โดยการแช่ถั่วเขียวผิวมันในน้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำอุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ให้ผลในการยับยั้งเชื้อรา *Curvularia* spp. ไม่ต่างจากการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส แต่การแช่น้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อราชนิดนี้เพิ่มการเจริญมากขึ้นถึง 24.50 เปอร์เซ็นต์ สำหรับถั่วเขียวผิวดำ พบว่าเชื้อรา *Curvularia* spp. จะเจริญมากขึ้นเมื่อได้รับอุณหภูมิสูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อแช่เมล็ดในน้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส จะพบเชื้อรานี้ 22.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 16) นอกจากนี้ยังเห็นได้ว่าถั่วเขียวผิวดำมีเชื้อรา *Curvularia* spp. ติดมามากกว่าถั่วเขียวผิวมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Cladosporium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
Unozonated+soaked at 27 °C	45.50 (6.76 ab)[1/]	17.50 (3.98 ab)	31.50 (5.37)
Ozonated+soaked at 27 °C	34.50 (5.91 b)	20.50 (4.57 a)	27.50 (5.24)
Ozonated+soaked at 32 °C	54.50 (7.39 a)	16.50 (3.99 ab)	35.50 (5.68)
Ozonated+soaked at 37 °C	52.00 (7.19 ab)	10.00 (3.16 b)	31.00 (5.18)
Ozonated+soaked at 42 °C	1.50 (1.28 c)	0.00 (0.71 c)	0.75 (0.99)
ค่าเฉลี่ย	37.60 (A 5.70)[2/]	12.90 (B 3.28)	

$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.60
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	0.94
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	1.33
C.V. (%)	20.50

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียวและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

ตารางที่ 16 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Curvularia* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำหลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกันเป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
Unozonated+soaked at 27 °C	0.00 (0.71 c)[1/]	3.00 (1.85 c)	1.50 (1.28)
Ozonated+soaked at 27 °C	1.00 (1.14 bc)	6.50 (2.57 bc)	3.75 (1.86)
Ozonated+soaked at 32 °C	3.00 (1.77 b)	3.00 (1.70 c)	3.00 (1.73)
Ozonated+soaked at 37 °C	0.50 (0.93 bc)	9.50 (3.10 b)	5.00 (2.01)
Ozonated+soaked at 42 °C	24.50 (4.95 a)	22.50 (4.77 a)	23.50 (4.86)
ค่าเฉลี่ย	5.80 (B 1.90)[2/]	8.90 (A 2.80)	

$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.41
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	0.65
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	0.91
C.V. (%)	26.80

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียวและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

2.5 *Fusarium* spp.

จากตารางที่ 17 พบว่า เชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ตอบสนองต่อน้ำโอโซนและน้ำร้อนไปในทำนองเดียวกัน การแช่เมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดในน้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 27, 32 และ 37 องศาเซลเซียส ให้ผลในการยับยั้งเชื้อราชนิดนี้ไม่แตกต่างจากการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ขณะที่เมื่อแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนแล้วแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยพบเชื้อรานี้เฉลี่ย 93.25 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่แตกต่างจากการแช่น้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตาม ทั้งถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำมีเชื้อรา *Fusarium* spp. ติดมากับเมล็ดในจำนวนใกล้เคียงกัน โดยพบเฉลี่ย 97.30 และ 96.30 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

2.6 *M. phaseolina*

สำหรับเชื้อรา *M. phaseolina* ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำนั้น ตอบสนองต่อน้ำโอโซนและน้ำร้อนแตกต่างกันทางสถิติ กล่าวคือ เมื่อแช่ถั่วเขียวผิวมันในน้ำโอโซนตามด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 27 และ 32 องศาเซลเซียส พบเชื้อราชนิดนี้ไม่แตกต่างจากการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส แต่การแช่น้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส จะไปกระตุ้นการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ โดยพบว่า การแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อรา *M. phaseolina* มีการเจริญมากที่สุด ขณะที่การแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนแล้วแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 27, 37 และ 42 องศาเซลเซียส พบเชื้อราชนิดนี้ไม่แตกต่างทางสถิติกับการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส แต่การแช่น้ำโอโซนแล้วตามด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งเชื้อรา *M. phaseolina* ได้แตกต่างจากการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังเห็นได้ว่าเชื้อรา *M. phaseolina* มักติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวดำมากกว่าถั่วเขียวผิวมัน โดยพบเชื้อรานี้ติดมากับถั่วเขียวผิวดำเฉลี่ย 16.80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวมันพบ 8.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่18)

ตารางที่ 17 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำหลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกันเป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
Unozonated+soaked at 27 °C	98.50	97.00	97.75 a[1/]
Ozonated+soaked at 27 °C	99.00	98.00	98.50 a
Ozonated+soaked at 32 °C	97.50	95.00	96.25 ab
Ozonated+soaked at 37 °C	99.50	97.00	98.25 a
Ozonated+soaked at 42 °C	92.00	94.50	93.25 b
ค่าเฉลี่ย	A 97.30[2/]	A 96.30	

$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	ns
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	3.50
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	ns
C.V. (%)	3.50

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียว ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

ตารางที่ 18 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *M. phaseolina* ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
Unozonated+soaked at 27 °C	3.50 (1.85 b)[1/]	20.00 (4.52 a)	11.75 (3.19)
Ozonated+soaked at 27 °C	6.00 (2.38 b)	17.00 (4.17 ab)	11.50 (3.27)
Ozonated+soaked at 32 °C	6.00 (2.46 b)	12.00 (3.43 b)	9.00 (2.94)
Ozonated+soaked at 37 °C	11.00 (3.35 a)	15.00 (3.93 ab)	13.00 (3.64)
Ozonated+soaked at 42 °C	16.00 (4.05 a)	20.00 (4.49 a)	18.00 (4.27)
ค่าเฉลี่ย	8.50 (B 2.82)[2/]	16.80 (A 4.11)	

$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.38
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	0.60
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	0.85
C.V. (%)	17.00

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียวและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

2.7 *Penicillium* spp.

จากผลการทดลองในตารางที่ 19 เห็นได้ว่า เชื้อรา *Penicillium spp.* ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำน้อยมาก เพียง 0-3 เปอร์เซ็นต์ และมีการตอบสนองต่อน้ำโอโซนและน้ำร้อนคล้ายกับเชื้อรา *Aspergillus* spp. คือพบว่าการแช่เมล็ดถั่วเขียวในน้ำโอโซนตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส มีผลทำให้เชื้อรา *Penicillium spp.* เจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

ตารางที่ 19 เปอร์เซ็นต์เชื้อรา *Penicillium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง แล้วนำมาตรวจสอบเชื้อราโดยวิธี blotter หลังบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสง NUV สลับกับความมืด อย่างละ 12 ชั่วโมง เป็นระยะเวลา 7 วัน

ทรีทเมนต์	ชนิดของถั่วเขียว		ค่าเฉลี่ย
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	
Unozonated+soaked at 27 °C	0.00 (0.71)[1/]	2.50 (1.52)	1.25 (1.11 b)
Ozonated+soaked at 27 °C	0.00 (0.71)	1.00 (1.14)	0.50 (0.93 b)
Ozonated+soaked at 32 °C	0.00 (0.71)	2.00 (1.39)	1.00 (1.05 b)
Ozonated+soaked at 37 °C	0.00 (0.71)	1.00 (1.14)	0.50 (0.93 b)
Ozonated+soaked at 42 °C	2.00 (1.50)	3.00 (1.85)	2.50 (1.67 a)
ค่าเฉลี่ย	0.40 (B 0.87)[2/]	1.90 (A 1.41)	

$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว	0.33
$LSD_{0.05}$ ทรีทเมนต์	0.52
$LSD_{0.05}$ ชนิดของถั่วเขียว x ทรีทเมนต์	ns
C.V. (%)	44.20

[1/]ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่ตามด้วยอักษรตัวพิมพ์เล็กที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

[2/]ค่าเฉลี่ยในแนวนอนของชนิดถั่วเขียวและค่าเฉลี่ยหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root y+0.5 (ในวงเล็บ) ที่นำหน้าด้วยอักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่เหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's LSD

วิจารณ์

การทดลองที่ 1 ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

1. ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์

1.1 ความงอกของเมล็ดพันธุ์

จากผลการทดลองในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่าน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 12.50-62.50 ppm ไม่มีผลต่อความงอกของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ได้จากการปลูกในปี 2549 และ 2550 โดยเมล็ดถั่วเขียวผิวมันที่ได้จากปี 2549 มีความงอกเฉลี่ย 93.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำมีความงอกเฉลี่ย 91.17 เปอร์เซ็นต์ สำหรับเมล็ดที่ได้จากปี 2550 พบว่า ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำมีความงอกเฉลี่ย 79.92 และ 63.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ Roshchina and Roshchina (2003) ที่กล่าวว่าโดยทั่วไปโอโซนจะไม่มีผลต่อเมล็ด เนื่องจากเมล็ดมีโครงสร้างห่อหุ้มช่วยป้องกันการเกิด ozonation ซึ่งแตกต่างจากใบ ลำต้น และดอกของพืช Allen *et al*. (2003) รายงานว่า เมื่อให้ก๊าซโอโซน 0.98 mg/(g barley)•min เป็นเวลานาน 10 นาที ไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ดข้าวบาร์เลย์ แต่หลังจาก 15 นาที จะทำให้ความงอกของเมล็ดลดลง 5.90 เปอร์เซ็นต์ และถ้าได้รับก๊าซโอโซนนานเกินกว่า 15 นาที มีผลให้ความงอกลดลงมาก โดยถ้าให้ก๊าซโอโซนนาน 45 นาที จะทำให้ความงอกลดลงถึง 28.50 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ Sharma *et al*. (2002) ทำการศึกษาโดยแช่เมล็ดอัลฟัลฟาในน้ำโอโซนเข้มข้น 0-21 ppm เป็นระยะเวลา 2, 4, 8,16, 32 และ 64 นาที พบว่าเมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างจากการแช่น้ำ (control) ยกเว้นทรีทเมนต์ที่แช่ในน้ำโอโซนเข้มข้น 21 ppm นาน 64 นาที จะมีความงอกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากเมล็ดสัมผัสกับน้ำโอโซนความเข้มข้นสูงเป็นเวลานาน ซึ่งสามารถแทรกซึมเข้าสู่ใบเลี้ยงและไฮโปคอททิล แม้ว่าจะยังไม่ทราบถึงกลไกการผ่านของโอโซนและกิจกรรมภายในเมล็ดอย่างแน่ชัด แต่การที่โอโซนสามารถออกซิไดซ์ได้อย่างรุนแรง อาจจะไปรบกวนกลไกสำคัญต่อการงอกของเมล็ด

จากการศึกษาของ Hsieh *et al*. (1998) พบว่าเมล็ดหญ้าสนาม (turf grass) ที่ผ่านการปลูกเชื้อรา หลังจากแช่ในน้ำโอโซนอิ่มตัว ความเข้มข้นประมาณ 5.23-6.43 mg/L นาน 10 นาที จะมีอัตราการงอกสูงกว่าเมล็ดที่แช่น้ำ การแช่น้ำโอโซนเป็นระยะเวลานานออกไปก็ไม่ช่วยปรับปรุงอัตราการงอกให้สูงขึ้น ในทางกลับกันถ้าแช่เมล็ดเป็นเวลานาน 30-40 นาที จะทำให้ความงอกของ

เมล็ดลดลง Gavrilova *et al*. (1999) พบว่า ก๊าซโอโซนหรือน้ำโอโซนที่มีความเข้มข้นสูง นอกจากจะไม่รบกวนต่อกระบวนการงอกแล้ว บ่อยครั้งยังมีผลกระตุ้นการงอกของเมล็ดอีกด้วย ตัวอย่างเช่น ข้าวสาลี (*Triticum aestivum*), ถั่วลันเตา (*Pisum sativum*), มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*), sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) และ yellow goat's-beard (*Tragopogon pratensis*) การใช้โอโซนในปริมาณที่เหมาะสม จะช่วยปรับปรุงการหายใจ พลังงาน อัตราและระยะเวลาในการงอกของเมล็ด รวมทั้งการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของพืช ในความเป็นจริงแล้วเมล็ดจะไม่ได้รับผลกระทบจากการใช้โอโซนความเข้มข้นสูงในระยะเวลาสั้น ๆ และเมล็ดจะถูกกระตุ้นการงอกในสภาพเช่นนี้ ดังนั้นจึงอาจมีการใช้โอโซนเพื่อเป็นสารฆ่าเชื้อโรคหรือสารกระตุ้นการงอกของเมล็ดในอุตสาหกรรมการเกษตรในอนาคต (Rezchikov *et al*., 1998)

เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวทั้งสองชนิดที่ได้จากฤดูปลูกปี 2550 มีความงอกต่ำกว่าเมล็ดที่ได้จากปี 2549 อย่างเด่นชัด ทั้งนี้เนื่องมาจากปัจจัยสภาพแวดล้อมที่ได้รับในระหว่างการพัฒนาของเมล็ดแตกต่างกัน ซึ่งมีผลกระทบต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ จากการทดลองนี้เก็บเกี่ยวถั่วเขียวผิวมัน 2 ครั้ง คือที่ 60 และ 67 วันหลังปลูก และเก็บเกี่ยวถั่วเขียวผิวดำเพียงครั้งเดียว คือที่อายุ 90 วันหลังปลูก เป็นผลให้เมล็ดถั่วเขียวผิวดำที่สุกแก่ก่อนได้รับผลกระทบจากสภาพแวดล้อมอันเนื่องจากสภาพที่มีความชื้นจากน้ำค้างในตอนกลางคืนสูง กลางวันมีแสงแดดร้อนจัดและอุณหภูมิสูง จึงทำให้ความงอกของเมล็ดพันธุ์ลดลง (Delouche, 1980; TeKrony *et al.*, 1980a) ทั้งนี้ถั่วเขียวมีการเจริญแบบทอดยอด (indeterminate growth) สุกแก่ไม่พร้อมกัน ถั่วเขียวผิวมันพันธุ์กำแพงแสน 2 มีอายุเก็บเกี่ยวสั้นกว่าถั่วเขียวผิวดำพันธุ์อู่ทอง 2 ทำให้ถั่วเขียวผิวดำประสบกับความผันแปรของสภาพอากาศนานกว่า นอกจากนี้ถั่วเขียวผิวดำพันธุ์อู่ทอง 2 มีลำต้นค่อนข้างเลื้อย มีใบขนาดใหญ่ และมีขนมาก ทำให้เชื้อโรคในดินมีโอกาสติดไปกับเมล็ดได้ง่าย ประกอบกับในช่วงเก็บเกี่ยวถั่วเขียวผิวดำซึ่งเป็นช่วงปลายฤดูฝน มีฝนตกชุกติดต่อกันหลายวัน และไม่สามารถระบายน้ำออกจากแปลงได้ทัน แปลงทดลองมีปัญหาน้ำท่วมขัง ฝักและเมล็ดถั่วเขียวผิวดำที่อยู่ใกล้ผิวดิน เมื่อได้รับความชื้นสูงอาจทำให้เมล็ดเสื่อมคุณภาพลงอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ Lawn and Ahn (1985) รายงานว่า ในสภาพที่มีความชื้นสูงหรือฝนตกชุกนั้น เมล็ดถั่วเขียวจะดูดซับน้ำจากฝักที่สุกแก่และมีความชื้นสูง อันเป็นสาเหตุให้เมล็ดงอกบนต้น TeKrony *et al*. (1980b) และ Delouche (1980) รายงานสอดคล้องกันว่าสภาพแวดล้อมในแปลงปลูกก่อนการเก็บเกี่ยวมีอิทธิพลต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสภาพที่มีอุณหภูมิและความชื้นสูง ฝนตกชุก เป็นผลให้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเสื่อมคุณภาพอย่างรวดเร็ว

1.2 อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า

การทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยวัดจากอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า พบว่า เมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดที่ได้จากการปลูกปี 2549 ตอบสนองต่อน้ำโอโซนแตกต่างกัน กล่าวคือ การแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันในน้ำโอโซนเข้มข้น 50.00 ppm มีผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการแช่น้ำ (control) โดยมีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า 27.23 มิลลิกรัมต่อต้น ส่วนการแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนเข้มข้น 62.50 ppm ก็ให้ผลเช่นเดียวกัน โดยพบว่ามีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า 25.57 มิลลิกรัมต่อต้น สำหรับเมล็ดถั่วเขียวที่ได้จากปี 2550 พบว่า น้ำโอโซนทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเขียวทั้งสองชนิด โดยถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำมีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าเฉลี่ย 27.46 และ 25.67 มิลลิกรัมต่อต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เห็นได้ว่าการแช่เมล็ดถั่วเขียวในน้ำโอโซนความเข้มข้นสูง จะมีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโอโซนสามารถละลายในน้ำได้ดีกว่าออกซิเจนถึง 10 เท่า และปฏิกิริยาระหว่างโอโซนกับน้ำ จะก่อให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น peroxy radical, superoxide anion radical และ hydroxyl radical (Roshchina and Roshchina, 2003) ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้อาจจะมีผลต่อกระบวนการทางชีวเคมีในทุกส่วนของต้นพืช (Treshow, 1984) โดยปกติแล้วอนุมูลอิสระเหล่านี้มักปรากฏอยู่ในเนื้อเยื่อพืช แต่ถ้าได้รับโอโซนความเข้มข้นสูง อนุภาคส่วนเกินจะเข้าทำลายองค์ประกอบของเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง thylakoids และ chloroplasts ซึ่งจะมีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยเฉพาะในปฏิกิริยา photophosphorylation (Roshchina and Roshchina, 2003)

Naitoh and Shiga (1989) รายงานว่า การใช้ก๊าซโอโซนเข้มข้น 0.02-0.20 ppm และน้ำโอโซนเข้มข้น 0.30-0.50 ppm จะไปลดการยืดยาวของส่วนไฮโปคอททิลของถั่วงอกที่ได้จากถั่วเขียวผิวดำและอัลฟัลฟา แต่พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase และ superoxide dismutase จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างการงอก นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าโอโซนจะไปลดการเจริญเติบโตของส่วนไฮโปคอททิลในต้นกล้าหัวผักกาด (*Raphanus sativus*) ที่อายุ 14 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ในบางกรณีจะทำให้การเจริญเติบโตลดลงถึง 37 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ต้นกล้าที่มีอายุ 7 และ 21 วัน มีการเจริญเติบโตลดลง 25 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Roshchina and Roshchina, 2003) จากการศึกษานี้ พบว่า ถั่วเขียวผิวมันที่ได้จากการปลูกทั้งในปี 2549 และ 2550 มีอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าเฉลี่ยสูงกว่าถั่วเขียวผิวดำอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับกำพล และคมสัน (2549) ที่กล่าวว่า เมล็ดถั่วเขียวที่สามารถนำมาเพาะเป็นถั่วงอกนั้นมี 2 ชนิด คือ ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ เมื่อนำถั่วเขียวผิวมันมาเพาะแล้วจะได้ถั่วงอกต้นโต สี

ค่อนข้างเหลือง และมีอัตราการเจริญเติบโตดีกว่าถั่วเขียวผิวดำ ส่วนถั่วเขียวผิวดำเมื่อนำมาเพาะจะได้ถั่วงอกต้นเล็กกว่าและมีสีขาว แต่ข้อดีก็คือ ถั่วงอกที่เพาะจากถั่วเขียวผิวดำจะมีความคงทนคือเมื่อโดนลมหรือแสงสว่าง จะยังคงขาวไม่คล้ำหรือเขียวมากเหมือนกับถั่วงอกที่เพาะจากถั่วเขียวผิวมัน

1.3 ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยการวัดระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50})

เมื่อแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ได้จากปี 2549 ในน้ำโอโซน พบว่าถั่วเขียวผิวมันใช้เวลาในการงอกถึง 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50}) เฉลี่ย 18.48 ชั่วโมง ขณะที่ถั่วเขียวผิวดำใช้เวลา 21.25 ชั่วโมง เป็นที่น่าสังเกตว่าการแช่เมล็ดในน้ำโอโซนความเข้มข้น 25.00-50.00 ppm มีผลทำให้เมล็ดถั่วเขียวผิวดำงอกได้เร็วขึ้น ซึ่งแตกต่างทางสถิติจากการแช่น้ำ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 1) โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ความเข้มข้น 25.00 และ 37.50 ppm ถั่วเขียวผิวดำจะใช้เวลา 20.93 และ 20.66 ชั่วโมง ตามลำดับ ถั่วเขียวผิวมันใช้เวลาในการงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุดน้อยกว่าถั่วเขียวผิวดำ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากถั่วเขียวทั้งสองชนิดมีเปอร์เซ็นต์เยื่อหุ้มเมล็ดแตกต่างกัน จากการตรวจสอบพบว่า ถั่วเขียวผิวมันพันธุ์กำแพงแสน 2 มีเปอร์เซ็นต์เยื่อหุ้มเมล็ดประมาณ 10.52 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำมีเปอร์เซ็นต์เยื่อหุ้มเมล็ดประมาณ 12.23 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 9) Mishra *et al*. (2007) ก็พบเช่นเดียวกันว่าถั่วเขียวผิวมันมีเยื่อหุ้มเมล็ด 10.70 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ถั่วเขียวผิวดำมีเยื่อหุ้มเมล็ด 11.00 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นผลให้ถั่วเขียวผิวมันดูดซึมน้ำได้เร็วกว่าถั่วเขียวผิวดำ ซึ่งสอดคล้องกับจวงจันทร์ (2529ก) ที่กล่าวว่า น้ำเป็นปัจจัยแรกที่เมล็ดต้องการใช้สำหรับการงอก เพื่อละลายโปรโตพลาสซึม น้ำทำให้อาหารที่เก็บสะสมไว้ในเมล็ดในรูปโมเลกุลใหญ่ ๆ แตกย่อยออกเป็นโมเลกุลเล็ก ๆ เพื่อขนย้ายไปยังจุดเจริญ เมล็ดพันธุ์ที่มีเปลือกหุ้มเมล็ดบางจะมีอัตราการดูดซึมน้ำสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีเปลือกหุ้มหนาหรือเปลือกหุ้มเมล็ดไม่ยอมให้น้ำซึมผ่านเข้าไปในเมล็ด การดูดน้ำของเมล็ดพืชปกติจะเกิดขึ้นบริเวณรอบเปลือกเมล็ด แต่สำหรับพืชตระกูลถั่ว พบว่าตำแหน่งที่ไวต่อการดูดซับน้ำเข้าสู่เมล็ดคือ micropyle และ hilum (วันชัย, 2538)

นอกจากนี้ยังพบว่าถั่วเขียวผิวดำมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดแข็ง (hard seed) มากกว่าถั่วเขียวผิวมัน ซึ่งเป็นการพักตัวของเมล็ดอันเนื่องมาจากส่วนของเปลือกซึ่งทำหน้าที่ห่อหุ้มเมล็ดไว้นั้น ไม่ยอมให้น้ำซึมผ่านเข้าไปยังส่วนต่าง ๆ ภายในเมล็ด ต้องแก้การพักตัวโดยทำให้ส่วนของเปลือกหรือเยื่อหุ้มเมล็ดแตกหรือบางลง น้ำก็สามารถซึมผ่านเข้าไปในเมล็ด ทำให้เมล็ดงอกได้ตามปกติ จากการแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนเข้มข้น 25.00-50.00 ppm แล้วทำให้เมล็ดงอกได้เร็วขึ้นนั้น น่าจะ

เป็นผลมาจากการแตกตัวของโอโซนในน้ำ นอกจากจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระแล้ว ยังมีโมเลกุลของออกซิเจนเกิดขึ้นด้วย ซึ่งการงอกของเมล็ดเป็นขบวนการที่เกี่ยวข้องกับเซลล์ที่มีชีวิตและต้องใช้พลังงาน จึงต้องใช้ออกซิเจนสำหรับการหายใจ เพื่อย่อยสลายอาหารให้ได้มาซึ่งพลังงานที่จำเป็นสำหรับการงอก โดยทั่วไปเมล็ดพันธุ์พืชงอกได้ในบรรยากาศที่มีออกซิเจนประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ถ้าบรรยากาศรอบ ๆ เมล็ดมีออกซิเจนมากขึ้นอัตราการงอกจะเพิ่มขึ้น (จวงจันทร์, 2529ก) Rezchikov *et al*. (1998) รายงานว่า การใช้โอโซนความเข้มข้นสูงเป็นระยะเวลา 2-3 นาที จะทำให้ความสามารถในการซึมผ่านสารของเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลงไป แต่ถ้าให้โอโซนเป็นเวลานาน 30-90 นาที จะมีผลกระตุ้นการงอกของเมล็ด ซึ่งเมล็ดที่ถูกกระตุ้นนี้เป็นเมล็ดที่ต้องแก้การพักตัวด้วยวิธี stratification เท่านั้น เพราะโอโซนจะถูกชักนำให้ตอบสนองในสภาพเครียด จากผลการทดลองในปี 2550 พบว่าเมล็ดถั่วเขียวผิวดำใช้ระยะเวลาในการงอกถึง 50% ของความงอกสูงสุดเฉลี่ยนานถึง 31.88 ชั่วโมง ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากเมล็ดประสบกับความผันแปรของสภาพอากาศในช่วงสุกแก่เก็บเกี่ยว เมล็ดจึงมีความแข็งแรงต่ำ โดยจวงจันทร์ (2529ก) กล่าวว่า เมล็ดพันธุ์ที่มีการเสื่อมคุณภาพเกิดขึ้นและยังไม่ถึงขั้นร้ายแรงนั้น จะยังคงงอกได้ตามปกติ คือ เปอร์เซ็นต์การงอกยังไม่ลดลง แต่อัตราเร็วในการงอกของเมล็ดพันธุ์จะลดลง นั่นคือเมล็ดพันธุ์จะงอกได้ช้าลงนั่นเอง หากการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เกิดขึ้นมาก อัตราการงอกของเมล็ดก็จะช้าลงไปเรื่อย ๆ

1.4 เปอร์เซ็นต์เมล็ดคัดทิ้ง

การทดสอบเมล็ดบวมน้ำเป็นขั้นตอนหนึ่งในการเพาะถั่วงอก ซึ่งเป็นขั้นตอนการล้างทำความสะอาดเมล็ด โดยแช่เมล็ดในน้ำ 1 ชั่วโมง แล้วคัดเอาเมล็ดที่บวมน้ำก่อนทิ้ง จากผลการทดลองในตารางที่ 4 พบว่า น้ำโอโซนทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ได้จากปี 2549 และ 2550 โดยเมล็ดถั่วเขียวผิวมันที่ได้จากปี 2549 มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำเฉลี่ย 1.68 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำเฉลี่ย 2.31 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจัดว่าอยู่ในเกณฑ์ต่ำ ทั้งนี้ตามเกณฑ์คุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่จะนำมาเพาะถั่วงอกของประเทศออสเตรเลีย เกรดที่นำมาเพาะถั่วงอกคือ premium sprouting และ no.1 sprouting ต้องมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำ (oversoak seed) ที่คัดทิ้งไม่เกิน 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Collin, 2001) สำหรับเมล็ดถั่วเขียวผิวมันที่ได้จากปี 2550 มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำเฉลี่ย 7.44 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ถั่วเขียวผิวดำมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำสูงถึง 25.50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจัดว่าสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานและไม่เหมาะที่จะใช้เป็นเมล็ดพันธุ์เพื่อการเพาะถั่วงอก โดยเมล็ดคัดทิ้งที่พบมักเป็นเมล็ดที่ถูกเชื้อจุลินทรีย์เข้าทำลาย เมล็ดที่แตกหักเสียหาย และมีเมล็ดอ่อนบ้างเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับสุวิมล (2544) ที่รายงานว่า ในชั่วโมงแรกของการแช่เมล็ดถั่วเขียว เพื่อนำมาเพาะถั่วงอกจะมีเมล็ด

บางส่วนพองตัวอย่างรวดเร็ว เมล็ดลักษณะนี้อาจเป็นเมล็ดอ่อน เมล็ดที่ถูกแมลงทำลาย เมล็ดที่เสื่อมคุณภาพ และเมล็ดแตก ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้ถั่วงอกเน่าในระหว่างการเพาะ การแช่น้ำและคัดแยกเมล็ดในช่วงนี้จะช่วยให้เมล็ดถั่วเขียวงอกสม่ำเสมอขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาของบุษบา (2547) ที่พบว่า เมล็ดบวมน้ำที่คัดทิ้งในขั้นตอนการทดสอบเมล็ดบวมน้ำ เมื่อนำไปเพาะถั่วงอกจะให้ผลผลิตต่ำ และการคัดเมล็ดบวมน้ำทิ้ง ทำให้ความงอกของเมล็ดถั่วเขียวสูงขึ้นเฉลี่ย 7.30 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในขั้นตอนการทดสอบเมล็ดบวมน้ำ เพื่อคัดเอาเมล็ดที่เสียหรือเมล็ดที่บวมน้ำทิ้งนั้น ทำให้สูญเสียเมล็ดในขั้นตอนนี้ 10-20 เปอร์เซ็นต์ มูลค่าของเมล็ดถั่วเขียวที่ต้องคัดทิ้งปีหนึ่ง ๆ สูงถึง 100-125 ล้านบาท (วันชัย, 2544)

จากการศึกษาของ Williams *et al*. (1995a) พบว่า ถั่วเขียวที่ได้รับความเสียหายจากสภาวะอากาศจากการที่เมล็ดได้รับฝนหรือความชื้นในบรรยากาศสูงในช่วงการเจริญเติบโต ทำให้เมล็ดเกิดขบวนการดูดน้ำแล้วกลับเข้าสู่สภาวะเมล็ดแห้ง (cycle of wetting and drying) ลักษณะเช่นนี้ทำให้เมล็ดเกิดการเปลี่ยนสี เกิดอาการย่นและรอยร้าวบริเวณ testa เมื่อเมล็ดกลับเข้าสู่ขบวนการดูดน้ำอีกครั้ง เมล็ดเหล่านี้จะดูดน้ำอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดอาการบวมพองของเซลล์และเนื้อเยื่อ ซึ่งเมล็ดที่เกิดความเสียหายจากสภาพอากาศเช่นนี้ จะทำให้ความมีชีวิต และความแข็งแรงของเมล็ดลดลงอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้ความเสียหายที่เกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนการเก็บเกี่ยวและปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์ จะก่อให้เกิดผลกระทบทั้งด้านเปอร์เซ็นต์ความงอกและความผิดปกติของต้นกล้า (สวัสดิ์, 2535; Grass and Tourkmani, 1999)

2. ผลของน้ำโอโซนที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำโอโซนในการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ผลิตได้จากปี 2549 และ 2550 เปรียบเทียบกับการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (1% NaOCl) โดยตรวจสุขภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี blotter method จากการทดลองพบการเจริญของเชื้อราชนิดต่าง ๆ ได้แก่ *A. alternata*, *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp. และ *M. phaseolina* บนเมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิด ในปริมาณที่แตกต่างกันตามชนิดของถั่วเขียวและปีทดลอง และน้ำโอโซนก็มีผลยับยั้งเชื้อราแต่ละชนิดแตกต่างกันไป จะเห็นได้ว่าเมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดที่ได้จากปี 2549 มีเชื้อรา *A. alternata* ติดมาเพียงเล็กน้อย ซึ่งพบเชื้อรานี้ติดมากับเมล็ดที่ seed coat เท่านั้น แต่ในปี 2550 พบว่าเชื้อรานี้ติดมารุนแรงกว่าโดยพบทั้งส่วนของ seed coat และ cotyledon และน้ำโอโซนความเข้มข้น 12.50, 37.50 และ 62.50 ppm สามารถยับยั้ง *A. alternata* ได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการแช่น้ำ (ตาราง

ที่ 5) Singh and Mathur (2004) รายงานว่า เส้นใยของเชื้อรา *A. alternata* จะพักตัวอยู่ที่ seed coat หรือ pericarp ของเมล็ดที่ไม่แสดงอาการเป็นโรคหรือแสดงอาการเล็กน้อย แต่เมล็ดที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายในระดับปานกลางถึงรุนแรงจะพบเส้นใยในทุกส่วนของเมล็ด ได้แก่ seed coat หรือ pericarp, endosperm และ embryo ซึ่งพบในพืชจำพวก Capsicum, Glycine, Brassica, Eruca, Helianthus และ Cumin เมล็ดถั่วเหลืองที่ถูกเชื้อรานี้เข้าทำลายในระดับต่ำ จะมีเส้นใยของเชื้ออยู่ภายในเซลล์และระหว่างเซลล์ในทุกชั้นของ seed coat แต่จะไม่เข้าไปถึง endosperm และชั้นที่อยู่รอบ ๆ cotyledon ขณะที่เมล็ดที่ถูกทำลายในระดับปานกลางถึงรุนแรง พบเส้นใยหนาที่ชั้น parenchyma ของ seed coat และ endosperm และยังพบเส้นใยในทุกส่วนของ embryo ด้วย นอกจากนี้ยังพบเส้นใยทั้งภายนอกและภายใน hilum หากเส้นใยเข้าไปภายในเมล็ด จะไปปรากฏอยู่ที่ชั้น parenchyma และ tracheid bar (Kunwar *et al*., 1986)

สำหรับเชื้อรา *Aspergillus* spp. ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ได้จากปี 2549 นั้น พบว่าเชื้อรานี้ติดมาที่ seed coat ของถั่วเขียวผิวมัน น้ำโอโซนความเข้มข้น 25.00-37.50 ppm สามารถยับยั้งเชื้อราชนิดนี้ที่ติดมากับถั่วเขียวผิวมันได้ (ตารางที่ 6) สังเกตได้ว่าถั่วเขียวผิวมันมีเชื้อรา *Aspergillus* spp. ติดมาเฉลี่ย 67.79 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ในถั่วเขียวผิวดำพบเฉลี่ย 4.79 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจัดว่าต่ำมาก ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเมื่อเก็บเกี่ยวถั่วเขียวทั้งสองชนิดมีช่วงเวลาเก็บรักษาระหว่างรอทำการทดลองต่างกัน ทำให้เชื้อรา *Aspergillus* spp. ซึ่งเป็นเชื้อราในโรงเก็บ (storage fungi) มีโอกาสเจริญเติบโตและขยายพันธุ์ในถั่วเขียวผิวมันซึ่งเก็บเกี่ยวก่อนได้มากกว่า อีกประการหนึ่งอาจเนื่องมาจากถั่วเขียวผิวดำมีสารแทนนินเคลือบที่ seed coat โดยแทนนินเป็นสารที่สำคัญในการป้องกันเมล็ดจากการทำลายของแมลง เชื้อรา และจุลินทรีย์ แทนนินเป็นอนุพันธ์ของฟีนอลที่ซับซ้อน พบกระจายอยู่ทั่วไปในต้นพืชและมีมากที่ seed coat เป็นสาร antinutritional ไม่เป็นพิษโดยตรง แต่ทำให้ส่วนของพืชย่อยได้น้อยลง เนื่องจากเผาผลาญ (metabolite) ได้ยาก นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันเมล็ดจากแสง บอกถึงสีเมล็ด (Chalker-Scott and Krahmer, 1989) ยับยั้งการงอกโดยขัดขวางการผ่านของก๊าซ และทำให้ seed coat ย่อยสลายได้ช้าลงเมื่ออยู่ในดิน (Boesewinkel and Bouman, 1995) ส่วนเมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดที่ได้จากปี 2550 พบการติดมาของเชื้อรานี้น้อยมาก ซึ่งอาจเป็นเพราะการทดลองของปีนี้ สภาพการเก็บรักษาเมล็ดไม่อยู่ในสภาพที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อรานี้ก็ได้

จากผลการทดลองในตารางที่ 7 พบว่าเชื้อรา *Cladosporium* spp. ติดมาที่ seed coat ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ และน้ำโอโซนทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งเชื้อรา *Cladosporium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดที่ได้จากปี 2549 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมล็ดที่ได้

จากปี 2550 พบเปอร์เซ็นต์การติดมาของเชื้อราชนิดนี้น้อย จึงทำให้เห็นประสิทธิภาพของน้ำโอโซนในการยับยั้งเชื้อราไม่เด่นชัด Hoigne and Bader (1975) และ Grimes *et al*. (1983) รายงานสอดคล้องกันว่า การแตกตัวของโอโซนในน้ำจะก่อให้เกิด hydroperoxyl, hydroxyl และ superoxide radical โดย hydroxyl radical มีความสำคัญในการถ่ายทอดการเกิดอนุภาค ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ทำให้อนุมูลอิสระเหล่านี้มีความสามารถในการออกซิไดซ์สูง (Kim *et al*., 1999b) อัตราการเกิดปฏิกิริยาของ hydroxyl radical กับสารหลายชนิดจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นอนุภาคเหล่านี้จึงสูญสลายไปก่อนที่จะปะทะกับอนุภาคอื่น เช่น จุลินทรีย์ ซึ่งเหตุการณ์นี้จะเกิดขึ้นเมื่อความเข้มข้นของโอโซนมีน้อยกว่าอนุภาคที่ต้องการทำลาย อย่างไรก็ตาม ในหลาย ๆ ระบบพบว่าเมื่อ hydroxyl radical ทำปฏิกิริยากับตัวถูกละลาย แล้วเปลี่ยนไปอยู่ในรูป secondary intermediates ซึ่งมีความรุนแรงต่ำ (เช่น peroxy radicals) จะยังคงอยู่จนกระทั่งปะทะกับอนุภาคอื่น โอโซนจะสลายตัวอย่างรวดเร็วในอาหารที่อยู่ในรูปของเหลว ดังนั้นการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์จึงเกิดขึ้นที่ผิวเป็นส่วนใหญ่ (Hoigne and Bader, 1975) ด้วยเหตุนี้ จึงพบว่าน้ำโอโซนมีผลยับยั้งเชื้อรา *Cladosporium* spp. ซึ่งเป็นเชื้อราที่ติดมาบนผิวเมล็ดได้ โอโซนเป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรง สามารถทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับอนุภาคในน้ำหรืออากาศ แต่ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้าทำลายหรือฝังอยู่ในเนื้อเยื่อพืชอาจถูกจำกัดเนื่องจากความซับซ้อนของสิ่งมีชีวิต (Spotts and Cervantes, 1992) นอกจากนี้การแตกหัก รอยร้าว และบริเวณที่ถูกทำลายของเมล็ด อาจไปจำกัดความสามารถในการเข้าสู่เซลล์ของโอโซน ซึ่งจะมีผลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Kim *et al*.,1999a)

สำหรับเชื้อรา *Fusarium* spp. พบว่าติดมาภายในเมล็ดเป็นส่วนใหญ่ ทั้งนี้น้ำโอโซนทุกความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดได้ โดยการทดลองทั้ง 2 ปีให้ผลในทำนองเดียวกัน เป็นที่น่าสังเกตว่าเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวที่ได้จากปี 2550 มีเชื้อ *Fusarium* spp. ติดมาถึง 100 เปอร์เซ็นต์ แต่การฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอร็อกซ์ก็สามารถยับยั้งเชื้อรานี้ได้แตกต่างจากการแช่น้ำและน้ำโอโซน แม้ว่าจะยังพบเชื้อรานี้สูงถึง 96.00 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 8) การที่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ได้จากฤดูปลูกนี้มีเชื้อรา *Fusarium* spp. ติดมามากนั้นอาจเนื่องมาจากสภาพฟ้าอากาศที่เมล็ดประสบก่อนการเก็บเกี่ยว (weathering effect) ประกอบกับในช่วงเก็บเกี่ยวมีฝนตกติดต่อกันหลายวัน ทำให้การเก็บเกี่ยวถั่วเขียวทั้งสองชนิดล่าช้าออกไป สุวิมล และคณะ (2529) รายงานว่า สภาพแวดล้อมก่อนการเก็บเกี่ยวจะมีผลต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์มากกว่าสภาพแวดล้อมหลังการเก็บเกี่ยว ระยะที่เมล็ดสุกแก่ทางสรีรวิทยาของถั่วเขียวสังเกตได้จากสีของฝักจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีดำ ซึ่งระยะเวลาที่เมล็ดยังอยู่บนต้นในแปลงปลูกไปจนถึงเวลาเก็บเกี่ยวคือ การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ไว้ในแปลง (field storage) การแปรปรวนของดินฟ้าอากาศในระหว่างนี้มีผลมากต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ โดยเฉพาะความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิ และ

ปริมาณน้ำฝน เพราะนอกจากจะทำให้เปลือกฝักแตก ส่งผลให้เมล็ดถูกโรคและแมลงทำลายแล้ว ฝนและแสงแดดยังทำให้สีของเยื่อหุ้มเมล็ดถั่วเขียวซีดลงหรือมีสีเหลืองมากขึ้น สำหรับเมล็ดพันธุ์ที่มีเชื้อแบคทีเรียหรือไวรัสเข้าทำลาย ก็จะเปลี่ยนเป็นสีคล้ำ (จวงจันทร์, 2529ก; อภิพรรณ, 2533) การเก็บเกี่ยวช้าทำให้เมล็ดที่ได้มีความงอกลดลง ทั้งยังเพิ่มการปนเปื้อนของเชื้อราอีกด้วย โดยเฉพาะฝนและความชื้นในอากาศเป็นสาเหตุใหญ่ของการเสื่อมคุณภาพในแปลง (Paschal and Ellis, 1978; Tekrony *et al*, 1980)

Kuniyasu and Kishi (1977) รายงานว่า เชื้อรา *Fusarium moniliforn* และ *Fusarium* spp. จะเข้าทำลายเมล็ดผ่านทาง xylem ของต้นแม่ ส่วน *F. oxysporum* f.sp.*lagenarium* เข้าทำลายเมล็ด bottle gourd ผ่านทาง vascular bundles ของผลเข้าสู่เมล็ด ซึ่ง *F. oxysporum* เป็นเชื้อราที่มักพบในพืชตระกูลถั่ว (Singh and Mathur, 2004) จากการศึกษาของ Velicheti and Sinclare (1991) พบว่าเส้นใยของเชื้อรา *F. oxysporum* เจริญได้ทั้งบนผิวเมล็ด ภายใน hilum และ seed coat ของถั่วเหลือง Sharma (1992) รายงานว่า ถั่วเหลืองที่ถูกเชื้อ *F. oxysporum* เข้าทำลายนั้น จะมีทั้งที่ปรากฏอาการและไม่ปรากฏอาการของโรค ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของการทำลาย ในเมล็ดที่แสดงอาการจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง ในเมล็ดที่ไม่แสดงอาการเป็นโรคพบว่าเส้นใยจะฝังตัวอยู่ที่ seed coat และ hilar stellate parenchyma ส่วนเมล็ดที่ถูกทำลายอย่างรุนแรงจะพบการรวมตัวของเส้นใยในทุกส่วนของเมล็ดรวมทั้งต้นอ่อน (embryonic axis) อาจมีการสร้าง chlamydospores, microsclerotia และ microconidia บนผิวเมล็ดและในช่องว่างของเมล็ด นอกจากนี้ยังพบเส้นใยภายในเซลล์และระหว่างเซลล์ รวมทั้งภายในท่อลำเลียงของ seed coat และ cotyledon อีกด้วย (Sharma, 1992)

เมื่อพิจารณาเชื้อรา *M. phaseolina* ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดที่ผลิตได้จากปี 2549 พบว่า เชื้อรานี้ติดมาภายในเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ และน้ำโอโซนทุกความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อราชนิดนี้ได้ ในทางกลับกันน้ำโอโซนทุกความเข้มข้น ยกเว้นที่ 25.00 ppm มีผลทำให้เชื้อรานี้เจริญมากขึ้นในถั่วเขียวผิวมัน ส่วนถั่วเขียวผิวดำพบว่า การแช่เมล็ดในน้ำโอโซนเข้มข้น 12.50, 37.50 และ 62.50 ppm จะทำให้เชื้อราเจริญมากขึ้นเช่นกัน ส่วนเมล็ดที่ได้จากปี 2550 พบว่า น้ำโอโซนทุกความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อรา *M. phaseolina* ที่ติดมากับถั่วเขียวทั้งสองชนิด และยังให้ผลไม่แตกต่างจากการฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยคลอร็อกซ์อีกด้วย แสดงว่าไม่มีทรีทเมนต์ใดเลยที่สามารถยับยั้งเชื้อราชนิดนี้ได้ (ตารางที่ 9) โดยเชื้อรา *M. phaseolina* เป็นได้ทั้ง soil-borne และ seed-borne (Singh and Mathur, 2004) เป็นเชื้อสาเหตุของโรคเน่าดำ ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญที่สุดในถั่วเขียวผิวดำ เนื่องจากเมื่อนำเมล็ดไปเพาะเป็นถั่วงอกแล้ว จะทำให้รากและลำต้นเป็นสีดำ ส่งผลกระทบต่อการส่งออกเป็นอย่างมาก (สมชาย และมนตรี, 2540) ลักษณะอาการของเมล็ดที่ถูกเชื้อรา

นี้เข้าทำลายจะพบ microsclerotia รูปร่างคล้ายหัวเข็มหมุดสีดำอยู่บนผิวเมล็ด ซึ่งจำนวนของ microsclerotia มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความรุนแรงของการเข้าทำลาย และยังสามารถทำลายเนื้อเยื่อภายในเมล็ดได้ด้วย (Singh and Singh, 1979; Mathur, 1992; Bhatia *et al*., 1998) ในเมล็ดถั่วเหลืองที่ถูกทำลาย จะพบเชื้อรานี้ทั้งที่ seed coat และภายใน seed coat เส้นใยของเชื้อราสามารถผ่านเข้าทางรอยแตกของเมล็ด micropores และ funiculus สำหรับเมล็ดที่ถูกทำลายอย่างรุนแรง เชื้อรานี้จะทำให้เซลล์แตก เกิดเป็นโพรงในเซลล์ และเกิดการตายของเนื้อเยื่อหรือกลุ่มเซลล์ นอกจากนี้ยังสร้าง sclerotia ในใบเลี้ยง รากและยอดอ่อน (Mathur, 1992) จากการที่เชื้อรา *M. phaseolina* สามารถสร้างโครงสร้างพิเศษที่เรียกว่า pycnidia ขึ้นมากมายบนเมล็ด ซึ่งภายในบรรจุ pycnidiospore เป็นจำนวนมากนั้น น่าจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้น้ำโอโซนไม่สามารถยับยั้งเชื้อรานี้แต่กลับทำให้เชื้อราแพร่กระจายมากขึ้น เนื่องจาก pycnidia มีขนาดใหญ่ สามารถป้องกันการทำลายจากโอโซน แต่ในช่วงการพ่นก๊าซโอโซนลงในน้ำ อาจทำให้ pycnidia แตกออก เป็นผลให้ pycnidiospore แพร่กระจายและทำลายเมล็ดอื่นต่อไปได้ ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท (2543) ให้คำแนะนำในการป้องกันกำจัดโรคเน่าดำไว้หลายวิธี ได้แก่ การคลุกเมล็ดพันธุ์ด้วยสารเคมีกำจัดเชื้อราก่อนปลูก การใช้เมล็ดพันธุ์ที่ปราศจากโรค และการปลูกพืชหมุนเวียนสลับกับการปลูกพืชตระกูลถั่ว เป็นต้น

Spotts and Cervantes (1992) รายงานว่า การใช้โอโซนเพื่อฆ่า conidia ของเชื้อรา จะต้องใช้โอโซนความเข้มข้นสูงและระยะเวลานานกว่าการยับยั้งแบคทีเรีย ไวรัส และเชื้อราบางชนิด จากการศึกษาของ Naitoh and Shiga (1982) พบว่า การใช้โอโซนในรูปสารละลาย ความเข้มข้น 0.3-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อกำจัดสปอร์ของ *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Candida paracreus* ต้องใช้เวลา 90-180, 45-60 และ 5-10 นาที ตามลำดับ ส่วนในกรณีของการใช้โอโซนในรูปของก๊าซ Allen *et al*. (2003) พบว่า เมื่อให้ก๊าซโอโซน 0.16 mg O_3/(g barley)•min เป็นเวลานาน 5 นาที สามารถยับยั้งสปอร์ของเชื้อราได้ 96 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 96 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้ามีสปอร์และเส้นใยของเชื้อราปะปนกัน การใช้โอโซนจะลดลงจาก 0.16 เป็น 0.10 mg O_3/(g barley)•min ก็สามารถยับยั้งเชื้อราได้ในระดับเดียวกัน จึงเห็นได้ว่าเส้นใยมีความทนทานต่อก๊าซโอโซนน้อยกว่าสปอร์ของเชื้อรา และยังพบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราของโอโซนจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิและ water activity (a_w) เนื่องมาจากโอโซนจะมีอัตราการสลายตัวอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น จึงทำให้เกิดอนุมูลอิสระมาก ดังนั้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นกับเชื้อราจึงเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ นอกจากนี้น้ำจะช่วยกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาของโอโซนกับสารอินทรีย์ เนื่องจากโอโซนจะแตกตัวในน้ำได้เร็วกว่าในอากาศ เพื่อไปอยู่ในรูปอนุมูลอิสระ (Hoigne and Bader, 1983) การทำให้เมล็ดข้าวบาร์เลย์มีความชื้นสูงขึ้นจึงมีผลให้ประสิทธิภาพใน

การกำจัดเชื้อราสูงขึ้นด้วย ด้วยเหตุนี้จึงสามารถนำก๊าซโอโซนไปใช้ประโยชน์ในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ในโรงเก็บภายใต้สภาพอากาศร้อนชื้นได้ (Allen *et al*., 2003)

Hsieh *et al*. (1998) รายงานว่า น้ำโอโซนอิ่มตัวความเข้มข้น 5.23-6.43 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยับยั้งการงอกของ conidia ของเชื้อรา *Bipolaris australiensis*, *Curvularia pallescens* และ *Exserohilum rostratum* ได้ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อแช่ในน้ำโอโซนนาน 10, 13 และ 30 นาที ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า เชื้อรา *B. australiensis* อ่อนแอต่อโอโซนมากที่สุด ขณะที่ *E. rostratum* ทนทานต่อโอโซนมากที่สุด โดยพบว่า conidia ของ *E. rostratum* ยังมีชีวิตเหลืออยู่ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ หลังจากแช่ในน้ำโอโซนเป็นเวลานาน 15 นาที ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจาก conidia ของเชื้อรานี้มีผนังหนาที่สุดเมื่อเทียบกับเชื้อราอื่น ซึ่งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ conidia มีผลต่อการต้านทานต่อโอโซน กล่าวคือ conidia ที่มีขนาดเล็กและมีสีใส จะอ่อนแอต่อโอโซน ส่วน conidia ที่มีขนาดใหญ่และมีสี จะทนทานต่อโอโซนได้มาก (Hibben and Stotzky, 1969) ด้วยเหตุนี้ conidia ของ *E. rostratum* ซึ่งมีผนังหนา สีเข้ม มีเซลล์ขนาดใหญ่และซับซ้อน จึงทนทานต่อโอโซนมากกว่า conidia ของ *B. australiensis* และ *C. pallescens* ซึ่งมีผนังเซลล์บางกว่า (Hsieh *et al*., 1998) Hibben and Stotzky (1969) พบว่า ก๊าซโอโซนความเข้มข้น 100 pphm ไม่มีผลต่อสปอร์ของเชื้อราจำพวก *Chaetomium* sp., *Stemphylium sarcinaeforme*, *S. loti* และ *Alternaria* sp. เนื่องจากเชื้อราเหล่านี้สร้างสปอร์ที่มีสี อย่างไรก็ตาม Kim *et al*. (1999b) รายงานว่า เมื่อเปรียบเทียบโอโซนกับคลอรีนและสารฆ่าเชื้อชนิดอื่น ๆ พบว่า การใช้โอโซนความเข้มข้นต่ำกว่าและระยะเวลาที่สั้นกว่า ก็เพียงพอในการควบคุมหรือลดประชากรของเชื้อจุลินทรีย์ และยังมีประสิทธิภาพในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ทนทาน เช่น amoebic cysts และไวรัสได้ดีกว่าอีกด้วย นอกจากนี้การใช้โอโซนในกระบวนการผลิตหรือเก็บรักษาผักและผลไม้ ยังช่วยยืดอายุของผลิตผลได้โดยไม่ก่อให้เกิดสารพิษตกค้างในสภาพแวดล้อม

การทดลองที่ 2 ผลของน้ำโอโซนและน้ำร้อนที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ

1. ผลของน้ำโอโซนและน้ำร้อนที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์

หลังจากแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนเข้มข้น 25 ppm แล้วตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 27-42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับการไม่แช่น้ำโอโซน (control) พบว่า น้ำโอโซนและน้ำร้อนไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ด (ตารางที่ 10) และอัตราการ

เจริญเติบโตของต้นกล้า (ตารางที่ 11) ของถั่วเขียวทั้งสองชนิด แม้ว่าการแช่น้ำโอโซนแล้วแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส จะมีแนวโน้มทำให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกสูงขึ้น แต่ก็ไม่แตกต่างทางสถิติจากทรีทเมนต์อื่น Copeland and McDonald (2001) กล่าวว่า การงอกของเมล็ดเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนเกี่ยวข้องกับหลายปฏิกิริยาที่เฉพาะเจาะจงและหลายขั้นตอนซึ่งได้รับผลจากอุณหภูมิ ระดับของอุณหภูมิที่มีต่อการงอก เรียกว่า cardinal temperature ได้แก่ อุณหภูมิต่ำสุด (minimum temperature) อุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum temperarure) และอุณหภูมิสูงสุด (maximum temperature) โดยอุณหภูมิต่ำสุดคือ อุณหภูมิระดับต่ำสุดที่เมล็ดสามารถงอกได้ ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่าระดับนี้การงอกของเมล็ดจะไม่เกิดขึ้น ที่อุณหภูมิระดับนี้เมล็ดสามารถงอกได้ แต่ใช้เวลาในการงอกนานขึ้น ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการงอกของเมล็ด อุณหภูมิที่ระดับนี้ เมล็ดพันธุ์จะงอกได้เร็วที่สุดและมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด สำหรับอุณหภูมิสูงสุดคือ ระดับของอุณหภูมิสูงสุดที่เมล็ดสามารถงอกได้ ถ้าอุณหภูมิสูงกว่าระดับนี้ เมล็ดจะไม่งอก ทั้งยังอาจเป็นอันตรายกับเมล็ด โดยทั่วไปอุณหภูมิสูงสุดที่เมล็ดสามารถงอกได้นี้ มักไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส (จวงจันทร์, 2529ก) การตอบสนองต่ออุณหภูมิขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย รวมทั้งชนิดพืช พันธุ์ แหล่งปลูก คุณภาพเมล็ดพันธุ์ และระยะเวลาตั้งแต่เก็บเกี่ยว เมล็ดพืชเขตอบอุ่นจะต้องการอุณหภูมิต่ำกว่าเมล็ดพืชเขตร้อน เมล็ดพืชป่าต้องการอุณหภูมิต่ำกว่าเมล็ดพืชปลูก และเมล็ดที่มีคุณภาพสูงจะสามารถงอกได้ในสภาพอุณหภูมิกว้างกว่าเมล็ดที่มีคุณภาพต่ำ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเมล็ดพืชส่วนใหญ่อยู่ระหว่าง 15-30 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิสูงสุดอยู่ระหว่าง 30-40 องศาเซลเซียส เมล็ดพืชบางชนิดจะงอกได้เมื่ออุณหภูมิเข้าใกล้จุดเยือกแข็ง (Copeland and McDonald, 2001)

Sharma *et al*. (2002) พบว่า การแช่เมล็ดอัลฟัลฟาในน้ำโอโซนนาน 2-64 นาที ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด และการอบเมล็ดที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ก็ไม่ทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกระหว่างเมล็ดที่แช่น้ำโอโซนและแช่น้ำกลั่นแตกต่างกัน จึงสรุปว่า การใช้น้ำโอโซนร่วมกับความร้อนไม่เป็นอันตรายต่อเมล็ดอัลฟัลฟา จากการศึกษาของ Lee *et al*. (2007) พบว่า เมล็ดถั่วเขียวที่แช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 55-65 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที หรือการใช้ dry heat treatment ที่ระดับเดียวกัน เป็นเวลา 30 นาที มีผลทำให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์ความงอกและการเจริญเติบโตของถั่วงอกสูงมาก ยกเว้นทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จะทำให้เมล็ดถั่วเขียวประมาณ 2 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถงอกได้ตามปกติ และอีกประมาณ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าส่วนไฮโปคอททิลของถั่วงอกเกิดอาการหยาบและย่น ขณะที่การใช้ dry heat treatment ทำให้ส่วนของไฮโปคอททิลและรากของถั่วงอกมีความยาวมากกว่าเมล็ดที่ไม่ได้รับความร้อนอย่างมีนัยสำคัญ Rahman *et al*. (2002) รายงานว่า เมล็ดถั่วเขียวที่ผ่านการแช่น้ำร้อนจะมีความ

งอกเพิ่มขึ้น 36.23 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่แช่น้ำปกติ ส่วนต้นกล้าที่ได้ก็มีความสม่ำเสมอและมีความแข็งแรงสูงกว่า โดยทำให้ได้ต้นกล้าที่แข็งแรงเพิ่มขึ้น 37.31 เปอร์เซ็นต์ Weiss and Hammes (2003) กล่าวว่า เนื่องจากเมล็ดถั่วเขียวมีเยื่อหุ้มเมล็ดค่อนข้างหนา จึงทนทานต่ออุณหภูมิสูงได้ โดยสามารถทนต่อความร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที และอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที อย่างไรก็ตาม Erdey *et al*. (1997) พบว่า ความงอกของเมล็ดข้าวโพดจะลดลงเมื่อแช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิสูงขึ้นและระยะเวลาในการแช่ยาวนานขึ้น แม้ว่าเมล็ดที่แช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และ 57 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที จะมีความงอกใกล้เคียงกับเมล็ดที่ไม่ได้แช่น้ำ แต่ก็อยู่ในระดับต่ำกว่าเมล็ดที่แช่น้ำกลั่นนาน 4 ชั่วโมง Furbeck *et al*. (1989) กล่าวว่า ผลของการแช่น้ำร้อนเทียบได้กับการเร่งอายุของเมล็ดพันธุ์ ความแข็งแรงของเมล็ดจะลดลงก่อนการสูญเสียความมีชีวิต ซึ่งเป็นลักษณะหนึ่งที่แสดงออกถึงความเก่าของเมล็ดพันธุ์ โดยปกติเมล็ดที่เก่าจะมีผลให้ความแข็งแรงของต้นกล้าลดลง สามารถงอกได้ในสภาพแวดล้อมจำกัด และตายในที่สุด (Berjak and Villiers, 1972)

Hermansen *et al*. (1999) รายงานว่า น้ำร้อนอุณหภูมิ 44, 49 และ 54 องศาเซลเซียส สามารถยกระดับความงอกของเมล็ดแครอท โดยเมล็ดที่ไม่ได้แช่น้ำมีความงอก 34 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อแช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 49 และ 54 องศาเซลเซียส จะทำให้ความงอกสูงขึ้นเกือบถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การแช่เมล็ดในน้ำร้อนอุณหภูมิ 59 องศาเซลเซียส นานเกินกว่า 15 นาที มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลงต่ำกว่าเมล็ดที่ไม่ผ่านการแช่น้ำ จากการศึกษาของ Ventura and Garrity (1987) พบว่า การใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ไม่เป็นอันตรายต่อเมล็ดข้าว และยังช่วยให้ต้นกล้ามีความแข็งแรงและมีจำนวนกอเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้แช่น้ำร้อน แต่ถ้าแช่นาน 30 นาที จะทำให้ความงอกลดลง หลังจากเก็บรักษาเมล็ดไว้เป็นเวลา 45 วัน การแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 57 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ส่งผลเสียต่อเมล็ดที่ทำ presoaking แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 25-32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 78 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่การใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 57 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทำให้คุณภาพของเมล็ดลดลง และไม่เหมาะสมที่จะใช้กับเมล็ดข้าว

เมื่อพิจารณาระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ของความงอกสูงสุด (T_{50}) จะเห็นได้ว่าการแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนตามด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส มีผลทำให้เมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดมี T_{50} ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 12 และ ภาพที่ 4) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากอุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อปฏิกิริยาเคมี และกิจกรรมของเอนไซม์

ในขบวนการทางสรีรวิทยาและชีวเคมีต่าง ๆ อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะส่งเสริมให้กิจกรรมทางเมตาโบลิซึม เช่น การหายใจ และการทำงานของเอนไซม์สูงขึ้น (วันชัย, 2538) ระดับของอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลอย่างชัดเจนต่อการดูดซึมน้ำของเมล็ด อุณหภูมิสูงจะเร่งอัตราการดูดน้ำของเมล็ด โดยปกติเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น 10 องศาเซลเซียส อัตราการดูดซึมน้ำของเมล็ดจะสูงขึ้นอีกหนึ่งเท่า ซึ่งการดูดน้ำเป็นขั้นตอนแรกที่เกิดขึ้นในขบวนการงอกของเมล็ด ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงภายในเมล็ด และผลสุดท้ายก็คือได้ต้นกล้าที่เจริญเติบโตเปลี่ยนแปลงมาจากต้นอ่อนหรือคัพภะของเมล็ด (จวงจันทร์, 2529ก) Johnston (1964) กล่าวว่า การทำ presoaking โดยแช่เมล็ดในน้ำ จะช่วยเพิ่มอัตราเร็วในการงอก และสามารถใช้กระตุ้นการงอกของเมล็ดหญ้าหลายชนิด แม้ว่าจะยังไม่ทราบเหตุผลที่แน่ชัด แต่เป็นไปได้ว่ากระบวนการ hydrolysis ที่เกิดขึ้นในระหว่างการแช่น้ำ เป็นผลให้มีการปลดปล่อยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อสังเคราะห์สารได้ในทันทีที่เมล็ดงอก และยังพบว่ามีการซ่อมแซมเมมเบรนเกิดขึ้นเนื่องจากการกระตุ้นของเอนไซม์ในขั้นตอนการดูดน้ำอีกด้วย (Copeland and McDonald, 2001)

เมื่อเมล็ดมีการดูดน้ำเกิดขึ้น ผนังเมมเบรนของออร์แกเนลต่าง ๆ ภายในเซลล์จะมีการจัดเรียงตัวเพื่อให้เข้าสู่สภาพปกติเป็น lipid bilayer อีกครั้งหนึ่ง การดูดน้ำอย่างรวดเร็วอาจทำให้เกิดการเคลื่อนที่ไปมาของฟอสโฟไลปิดและโปรตีน ขณะเดียวกันก็อาจมีกระบวนการซ่อมแซม (molecular repair mechanism) เกิดขึ้นด้วย ในระหว่างการจัดเรียงตัวและการซ่อมแซมโมเลกุลในผนังเมมเบรนนี้ จะมีการรั่วไหลของสารต่าง ๆ จากภายในเซลล์ออกสู่ภายนอกเซลล์ การรั่วไหลจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งการจัดเรียงตัวและการซ่อมแซมของผนังเมมเบรนเสร็จสิ้น (วันชัย, 2538) Erdey *et al*. (1997) พบว่า การทำ hydration-dehydration treatments จะช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับเมล็ดเก่า เนื่องจากไปกระตุ้นกลไกการซ่อมแซมของเซลล์ ในระหว่างที่เมล็ดเปียกไปจนถึงเมล็ดแห้ง ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่สามารถอยู่รอดได้ในสภาพแห้ง มีกลไกของเอนไซม์ที่ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพในระหว่างการจัดเรียงและซ่อมแซมผนังเมมเบรน ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้จะกระตุ้นให้มีการสังเคราะห์ฟอสโฟไลปิดและโปรตีน เพื่อทดแทนโมเลกุลที่เสียหาย ทั้งยังมีระบบป้องกันหรือทำลายสารพิษ ตัวอย่างเช่น เอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) สามารถกำจัดหรือทำลาย superoxide free radical (วันชัย, 2538) Basu (1994) รายงานว่า การเสื่อมสภาพของเมล็ดจะลดลงจากการทำ hydration-dehydration treatments โดยไปกระตุ้นเอนไซม์ที่สามารถกำจัด free radical และเกิดการรั่วไหลของอนุมูลเหล่านี้ในระหว่างการดูดน้ำ การลดลงของ free radical ซึ่งสามารถชักนำให้เกิด lipid peroxidation เป็นผลดีต่อการเพิ่มความแข็งแรงให้กับเมล็ด โดยทั่วไป free radical จะถูกสร้างขึ้นในเมล็ดเก่า อาจทำปฏิกิริยากับชั้นไขมันของเมมเบรนและนำไปสู่การเสื่อมสภาพของผนังเมมเบรน (Priestly, 1986) Copeland and McDonald (2001) กล่าวว่า การทำ

seed hydration ทำได้หลายวิธีการ โดยทำให้เมล็ดดูดซึมน้ำจากนั้นทำให้แห้งแล้วจึงจัดการตามปกติ ซึ่งกระบวนการนี้จะช่วยเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ด ทำให้ต้นกล้ามีความสม่ำเสมอ สามารถงอกได้ในสภาพแวดล้อมที่กว้าง และยังช่วยยกระดับความแข็งแรงของต้นกล้าและการเจริญเติบโตอีกด้วย จากการศึกษาของ Armstrong and McDonald (1992) พบว่า การทำ seed priming ในเมล็ดถั่วเหลือง แต่ไม่ทำให้เมล็ดแห้งนั้น มีผลทำให้ความยาวและน้ำหนักของยอดอ่อนและรากอ่อนเพิ่มขึ้น ในทางกลับกัน เมื่อทำให้เมล็ดแห้งพบว่าสมรรถนะของเมล็ดลดลง เนื่องจากเกิดการรั่วไหลของสารต่าง ๆ ออกมาจากใบเลี้ยงที่แตกหักในปริมาณมาก ทั้งหมดที่กล่าวมานี้แสดงให้เห็นว่าการที่เมล็ดได้รับน้ำหรือความชื้นก่อนเพาะมีผลต่อความแข็งแรงและความงอกของเมล็ด

2. ผลของน้ำโอโซนและน้ำร้อนที่มีต่อการยับยั้งเชื้อรา

การศึกษาประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวของน้ำโอโซนร่วมกับน้ำร้อน โดยแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 27-42 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่า มีการเจริญของเชื้อราจากแปลง (field fungi) ได้แก่ *A. alternata*, *Cladosporium* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp. และ *M. phaseolina* ส่วนเชื้อราในโรงเก็บ (storage fungi) ที่พบ ได้แก่ *Aspergillus* spp. และ *Pencillium* spp. เป็นที่น่าสังเกตว่าการแช่หรือไม่แช่เมล็ดในน้ำโอโซน แล้วแช่น้ำที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส จะพบเปอร์เซ็นต์ของเชื้อราทุกชนิดไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เชื้อราจะตอบสนองต่อการแช่เมล็ดในน้ำโอโซนตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ แตกต่างกัน โดยพบว่าเชื้อรา *A. alternata* มีการเจริญมากขึ้นเมื่อแช่เมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดในน้ำโอโซนตามด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยพบเฉลี่ย 17.75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติจากทรีทเมนต์อื่น (ตารางที่ 13) ซึ่งอาจเป็นเพราะน้ำร้อนอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่ไม่สูงพอที่จะยับยั้งเชื้อรา ในทางกลับกันอาจกระตุ้นให้เชื้อราชนิดนี้ซึ่งติดมาที่ผิวเมล็ดเป็นส่วนใหญ่แพร่กระจายมากขึ้นก็ได้ อย่างไรก็ตามพบเปอร์เซ็นต์เชื้อรา *A. alternata* ที่ติดมาไม่สูงมากนักเมื่อเทียบกับเชื้อราชนิดอื่น

เมื่อพิจารณาเชื้อรา *Cladosporium* spp. เห็นได้ชัดเจนว่าการแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนแล้วแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส สามารถกำจัดเชื้อรานี้ได้เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยในถั่วเขียวผิวมันยังพบเชื้อราชนิดนี้ 1.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำพบว่าน้ำร้อนที่ระดับนี้สามารถกำจัดเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ (ตารางที่ 15) ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อรา *Cladosporium* spp. มักติดมาที่ผิวเมล็ดของถั่วเขียวทั้งสองชนิด และน้ำร้อนอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส สามารถยับยั้งเชื้อราชนิดนี้ได้ อย่างไรก็ตาม การแช่เมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดในน้ำ

โอโซนแล้วแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส กลับมีผลทำให้เชื้อรา *Curvularia* spp. ที่ติดมากับเมล็ดมีการเจริญมากขึ้น โดยในถั่วเขียวผิวมันพบเฉลี่ย 24.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนถั่วเขียวผิวดำพบเฉลี่ย 22.50 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 16) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเชื้อรา *Curvularia* spp. มักเจริญบนผิวเมล็ดเช่นเดียวกับ *Cladosporium* spp. แต่เชื้อรา *Curvularia* spp. มีความทนทานต่อน้ำร้อนอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ได้ดีกว่าเชื้อรา *Cladosporium* spp. เมื่อเชื้อรา *Cladosporium* spp. ถูกกำจัดออกไป เชื้อรา *Curvularia* spp. จึงสามารถเจริญและแพร่กระจายได้มากขึ้น

สำหรับเชื้อรา *Fusarium* spp. ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวทั้งสองชนิดนั้น พบว่า การแช่น้ำโอโซนแล้วแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อรานี้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ก็ยังพบในปริมาณสูงถึง 93.25 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 17) สังเกตได้ว่าเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ได้จากปี 2550 มีเชื้อรา *Fusarium* spp. ติดมาถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อรานี้ก็เข้าทำลายภายในเมล็ด ดังนั้นการแช่น้ำร้อนจึงไม่สามารถกำจัดเชื้อรานี้ได้ แต่การที่เชื้อรามีปริมาณลดลง อาจเป็นเพราะสปอร์และเส้นใยบางส่วนที่อยู่ที่ผิวเมล็ดถูกทำลายไป นอกจากนี้ยังพบว่าเมล็ดถั่วเขียวที่ถูกเชื้อรา *Fusarium* spp. เข้าทำลายนั้น ไม่สามารถงอกได้ เนื่องจากมีเส้นใยสีขาวปกคลุมเมล็ดทั้งหมด สอดคล้องกับ Headrick and Pataky (1989) ที่กล่าวว่า เมล็ดที่ถูกเชื้อรา *F. moniliforme* เข้าทำลาย จะส่งผลเสียต่อการงอกและการตั้งตัวของต้นกล้า Erdey *et al*. (1997) รายงานว่าประสิทธิภาพของน้ำร้อนเพื่อลดการเข้าทำลายของเชื้อราจะเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิและระยะเวลาในการแช่น้ำ โดยพบว่า การแช่เมล็ดข้าวโพดในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทำให้เชื้อรา *F. moniliforme* (Sheldon) ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ และจะลดลงอีก 35 เปอร์เซ็นต์ หลังจากแช่น้ำร้อนเป็นเวลา 15 นาที อย่างไรก็ตาม เมื่อแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 57 และ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ก็สามารถกำจัดเชื้อราได้อย่างสมบูรณ์ Berjak *et al*. (1992) รายงานว่า ความสามารถในการลดการเข้าทำลายของเชื้อรามีความผันแปรไปตามอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ ทั้งนี้อาจเกี่ยวข้องกับตำแหน่งที่อยู่ของเชื้อราภายในเมล็ด โดยเชื้อรา *F. moniliforme* จะอยู่ภายใน pericarp และ pedicel ของเมล็ดข้าวโพด (Russell and Berjak, 1983; Zummo and Scott, 1990) สำหรับการทดลองกับถั่วเขียวในการศึกษาครั้งนี้ใช้อุณหภูมิสูงสุดเพียง 42 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นระดับอุณหภูมิที่ไม่มีผลกระทบต่อความมีชีวิตของเมล็ดเพื่อการเพาะถั่วงอก อุณหภูมิระดับนี้จึงยับยั้งเชื้อรา *Fusarium* spp. ได้ไม่มากนัก ไม่มีประสิทธิภาพเท่าน้ำร้อนอุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส ตามรายงานของ Erdey *et al*. (1997) ดังที่กล่าวมา

เชื้อรา *M. phaseolina* ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวและถั่วเขียวผิวดำ ตอบสนองต่อน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ แตกต่างกัน โดยพบว่า การแช่น้ำโอโซนแล้วแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส จะทำให้เชื้อราชนิดนี้ที่ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวมันเพิ่มการเจริญมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในถั่วเขียวผิวดำพบว่าทุกทรีทเมนต์ให้ผลในการยับยั้งเชื้อราไม่แตกต่างกัน กล่าวคือ การแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นก็ไม่สามารถยับยั้งเชื้อรานี้ได้ และยังพบว่าเชื้อรา *M. phaseolina* มักติดมากับถั่วเขียวผิวดำมากกว่าถั่วเขียวผิวมันซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 18) เชื้อรา *M. phaseolina* เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ความงอกของเมล็ดถั่วเขียวและถั่วเขียวผิวดำลดลง โดยพบว่า หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลานาน 72 ชั่วโมง เมล็ดจะปรากฏอาการที่แสดงถึงการถูกเชื้อราเข้าทำลาย อันได้แก่ microsclerotia, pycnidia เส้นใยสีดำ และบริเวณรากมีรอยด่าง ซึ่งลักษณะเหล่านี้จะทำให้เมล็ดหรือต้นกล้าตายในที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า ยอดอ่อนไม่สามารถโผล่พ้นออกมา ในบางกรณีเมล็ดไม่สามารถงอกได้ มี pycnidia และ microsclerotia จำนวนมากบนผิวเมล็ด รวมทั้งเส้นใยของเชื้อรา และยังสังเกตได้ว่าเมื่อส่วนของต้นกล้าที่เป็นโรค เช่น ยอดอ่อน รากอ่อน เยื่อหุ้มเมล็ด และใบเลี้ยง ไปสัมผัสกับต้นกล้าที่ไม่เป็นโรค จะทำให้ต้นกล้านั้นถูกเชื้อราเข้าทำลายและแสดงอาการของโรคออกมา (Rahman *et al*., 2001) จากการศึกษาของ Singh and Singh (1982) ก็พบเช่นเดียวกันว่า เมล็ดงาที่ถูกเชื้อรา *M. phaseolina* เข้าทำลายอย่างรุนแรง จะไม่สามารถงอกได้หรือทำให้ต้นกล้าเน่าเป็นสีน้ำตาล แต่เมล็ดที่มีระดับการเข้าทำลายน้อยถึงปานกลางจะให้ต้นกล้าที่เป็นโรค Sinclair and Backman (1989) รายงานว่า เชื้อราชนิดนี้มักติดมาที่ seed coat ของเมล็ดถั่วเหลือง เมล็ดที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายนอกจากจะไม่สามารถงอกหรือเป็นต้นกล้าแล้ว ยังอาจตายหลังจากงอกอย่างรวดเร็ว เชื้อรานี้จะเริ่มเจริญและแสดงอาการที่อุณหภูมิ 28-35 องศาเซลเซียส Rahman *et al*. (2002) พบว่า น้ำร้อนทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคจากเชื้อรา *M. phaseolina* ลดลงถึง 90.62 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่แช่น้ำปกติ โดยอุณหภูมิของน้ำร้อนและระยะเวลาที่เหมาะสมในการกำจัดเชื้อรา *M. phaseolina* ได้อย่างสมบูรณ์และช่วยยกระดับความงอกของเมล็ดถั่วเขียว ได้แก่ อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นาน 10, 15 และ 20 นาที และอุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส นาน 10 และ 15 นาที อย่างไรก็ตาม เพื่อความสะดวกในการปฏิบัติจึงแนะนำให้ใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 56-58 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 นาที อย่างไรก็ตาม การใช้อุณหภูมิที่สูงในระดับนี้อาจมีผลต่อความแข็งแรงและเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดถั่วเขียวเพื่อการเพาะถั่วงอกได้ จึงควรมีการศึกษาต่อไป

การศึกษานี้พบเชื้อรา *Aspergillus* spp. และ *Pencillium* spp. เพียงเล็กน้อย เนื่องจาก เชื้อราทั้งสองชนิดเป็นเชื้อราในโรงเก็บ แต่เมล็ดถั่วเขียวที่นำมาใช้ในการศึกษามีความชื้นประมาณ 9-10 เปอร์เซ็นต์ (ตารางผนวกที่ 7) เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 1-2 เดือน ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ความชื้น

สัมพัทธ์ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ แต่เมื่อแช่เมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนตามด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส มีผลให้เชื้อราทั้งสองชนิดเจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (ตารางที่ 14 และ 19) โดยพบเชื้อรา *Aspergillus* spp. และ *Pencillium* spp. ติดมากับเมล็ดถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำเฉลี่ย 2.55 และ 2.50 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Agarwal and Sinclair (1997) กล่าวว่า อุณหภูมิต่ำสุด อุณหภูมิที่เหมาะสม และอุณหภูมิสูงสุด ที่เชื้อราในโรงเก็บส่วนใหญ่ต้องการในการเจริญเติบโตคือ 0-5 องศาเซลเซียส 30-33 องศาเซลเซียส และ 50-55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ การเก็บรักษาเมล็ดไว้ในที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยควบคุมการเข้าทำลายของเชื้อราในเมล็ดที่มีความชื้นสูงได้ กล่าวคือ ถ้าเก็บรักษาเมล็ดไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส เชื้อราในโรงเก็บที่เข้าทำลายเมล็ดที่มีความชื้นสมดุลกับความชื้นสัมพัทธ์ 85 เปอร์เซ็นต์ จะเจริญได้ช้ามาก (Christensen, 1973) ถึงแม้ว่าอุณหภูมิจะเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญของเชื้อรา แต่การเก็บรักษาเมล็ดภายใต้สภาพปกติ ก็เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อราเช่นกัน โดยอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส มีผลทำให้เชื้อราที่ทนทานต่อความหนาวเย็น เช่น *Cladosporium* และ *Pencillium* เจริญได้ดี ขณะที่การเก็บรักษาเมล็ดไว้ในที่อุณหภูมิสูง มีความเหมาะสมต่อการเจริญของ *Aspergillus* ภายใต้สภาพอากาศร้อน เมล็ดที่เก็บรักษาไว้จะอ่อนแอต่อ *Aspergillus* มากกว่าเชื้อราชนิดอื่น เนื่องจากสภาพ a_w ต่ำ และอุณหภูมิสูงจะชักนำให้เกิดการเข้าทำลายของเชื้อรานี้ (Pitt *et al*, 1991) โดยเชื้อรา *A. flavus* สามารถเข้าทำลายข้าวโพดได้มากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูง 30-40 องศาเซลเซียส (Payne *et al*, 1988) Hayden and Maude (1994) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. flavus, A. niger* และ *A. fumigatus* บนอาหารวุ้น คือ 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ส่วน *P. viridicatum* จะเข้าทำลายเมล็ดข้าวโพด (dent corn) ที่มีความชื้น 19-24 เปอร์เซ็นต์ และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 8-24 องศาเซลเซียส (Caldwell, 1973) ซึ่งเชื้อรา *Pencillium* เป็นเชื้อราที่พบในเขตอบอุ่นมากกว่าเขตร้อน (Agarwal and Sinclair, 1997) เชื้อราในโรงเก็บสามารถเจริญในเมล็ดเมื่อมีความชื้นสัมพัทธ์ 65-90 เปอร์เซ็นต์ โดยปกติจะไม่ทำให้เกิดโรคในแปลงแต่มีบทบาทสำคัญทำให้เมล็ดเสื่อมคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษา และสามารถสร้างสารพิษ ซึ่งเป็นอันตรายต่อมนุษย์และสัตว์ที่บริโภคเข้าไป (Agarwal and Sinclair, 1997)

Barua *et al*. (2007) รายงานว่า การแช่เมล็ดถั่วเขียวในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที สามารถควบคุมเชื้อรา *A. flavus*, *A. niger*, *Fusarium* spp. และ *Pencillium* spp. ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับการแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 45, 48, 50 และ 53 องศาเซลเซียส แต่การแช่น้ำร้อนที่ระดับนี้จะทำให้ความงอกของเมล็ดลดลง และสรุปว่าการแช่น้ำร้อนอุณหภูมิ 53 องศาเซลเซียส

นาน 15 นาที ทำให้เชื้อราที่ติดมากับเมล็ดลดลงมากที่สุด ขณะเดียวกันก็มีผลให้ความงอกเพิ่มขึ้นด้วย จากการศึกษาของ Lee *et al*. (2007) พบว่า การแช่เมล็ดถั่วเขียวในน้ำร้อนอุณหภูมิ 55-65 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที สามารถฆ่า conidia ของเชื้อรา *Colletotrichum acutatum* ได้อย่างสมบูรณ์ ส่วนการใช้ dry heat treatment อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-25 นาที สามารถกำจัด conidia ได้ในระดับปานกลาง แต่ถ้าเพิ่มอุณหภูมิของน้ำร้อนและ dry heat treatment เป็น 60-65 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ก็สามารถกำจัด conidia ได้ทั้งหมด จึงกล่าวได้ว่า น้ำร้อนมีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราดีกว่าการใช้ dry heat treatment อย่างไรก็ตาม Begum *et al*. (2004) ศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการกำจัดเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดถั่วลันเตา โดยใช้คลอร็อกซ์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ น้ำร้อนอุณหภูมิ 52 องศาเซลเซียส นาน 12-13 นาที และสารกำจัดเชื้อรา Vitavax พบว่า คลอร็อกซ์และน้ำร้อนไม่มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อราได้เทียบเท่ากับ Vitavax เนื่องจากคลอร็อกซ์สามารถฆ่าเชื้อราที่ผิวได้เท่านั้น ขณะที่น้ำร้อนจะให้ผลในการกำจัดไส้เดือนฝอยได้ดี และสปอร์ของเชื้อราส่วนใหญ่สามารถอยู่รอดได้หลังจากแช่น้ำร้อน จากที่กล่าวมานี้ การใช้น้ำร้อนอุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส มีผลในการยับยั้งเชื้อราได้ดี แต่มีผลต่อความงอกของเมล็ดจึงไม่น่าจะเหมาะกับการแช่เมล็ดถั่วเขียวเพื่อการเพาะถั่วงอก

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

จากการศึกษาผลของน้ำโอโซนที่มีต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมัน พันธุ์กำแพงแสน 2 และถั่วเขียวผิวดำ พันธุ์อู่ทอง 2 ที่ปลูกในฤดูฝน สรุปได้ดังนี้

1. การใช้น้ำโอโซนความเข้มข้น 12.50-62.50 ppm ไม่มีผลต่อความงอกและเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ แต่มีแนวโน้มทำให้อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าลดลง ขณะที่ความเข้มข้น 25.00-50.00 ppm ทำให้ถั่วเขียวผิวดำใช้ระยะเวลาในการงอกถึง 50% ของความงอกสูงสุด (T_{50}) ลดลงในการทดลองปี 2549 แต่ไม่พบความแตกต่างในปี 2550

2. น้ำโอโซนเข้มข้น 12.50-62.50 ppm สามารถกำจัดเชื้อราบางชนิดที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำได้ เช่น *Aspergillus* spp. และ *Cladosporium* spp. แต่ไม่สามารถกำจัดเชื้อรา *Macrophomina phaseolina* ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคเน่าดำกับถั่วเขียวทั้งสองชนิดได้

3. การแช่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ในน้ำโอโซนเข้มข้น 25 ppm แล้วตามด้วยการแช่เมล็ดในน้ำที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน ไม่มีผลต่อความงอกและอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า แต่ทำให้เมล็ดพันธุ์มี T_{50} ลดลง

4. การแช่เมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำในน้ำโอโซนเข้มข้น 25 ppm แล้วตามด้วยการแช่เมล็ดในน้ำที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง สามารถกำจัดเชื้อรา *Cladosporium* spp. ได้ดี

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากมีรายงานว่าเมล็ดถั่วเขียวที่ถูกเชื้อรา *M. phaseolina* เข้าทำลาย จะมีผลทำให้เมล็ดมีขนาดเล็กลง ดังนั้นหากมีการทดลองวิจัยโดยการคัดแยกขนาดเมล็ด เป็นเมล็ดขนาดเล็ก ขนาดกลาง และขนาดใหญ่ นำไปตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ด จะทำให้ทราบว่าเมล็ดขนาดต่างกัน มีปริมาณเชื้อราติดมาแตกต่างกันหรือไม่ และอาจช่วยให้การป้องกันกำจัดง่ายขึ้นด้วยวิธีการคัดแยกเมล็ด

2. ควรบันทึกปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์และเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด เพื่อจะได้ทราบว่าเชื้อราชนิดใดที่มีผลต่อความงอกของเมล็ด

3. การใช้น้ำโอโซนในการทดลองนี้ใช้เครื่องผลิตก๊าซโอโซนขนาด 250 มิลลิกรัมต่อชั่วโมง ซึ่งควบคุมความเข้มข้นโดยใช้ระยะเวลาที่พ่นก๊าซ ในการทดลองต่อไปอาจใช้เครื่องผลิตก๊าซที่มีประสิทธิภาพสูงขึ้น เช่น ขนาด 1 กรัมต่อชั่วโมง แต่ใช้เวลาพ่นก๊าซสั้นลง เพื่อยืนยันผลการทดลอง

4. การผลิตเมล็ดถั่วเขียวให้สะอาด ปราศจากโรค ควรเริ่มปฏิบัติตั้งแต่อยู่ในแปลงปลูก โดยใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ถูกต้องและเหมาะสม อาจคลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกด้วยสารเคมีกำจัดเชื้อรา หรือคลุกดินก่อนปลูกด้วยเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ซึ่งเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *M. phaseolina*

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กำพล กาหลง และ คมสัน หุตะแพทย์. 2549. **คู่มือพึ่งตนเอง สารพัดวิธีเพาะถั่วงอกปลอดสารเคมี**. พิมพ์ครั้งที่ 4. บริษัท ออฟเซ็ท ครีเอชั่น จำกัด, กรุงเทพฯ.

ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์, ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์, กฤติยา เลี่ยวชวลิต และ เสริมศิริ วิจัยวรกิจ. 2545. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการล้างผักด้วยสารไตรโซเดียมฟอสเฟต คลอรีนและการใช้โอโซน. **ว.วิทย.กษ.** 33: 6(พิเศษ): 225-228.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2526**.** คุณสมบัติบางประการของเมล็ดถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9, น. 333-339. *ใน* **รายงานการสัมมนาเรื่องงานวิจัยถั่วลิสง ครั้งที่ 2**. ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์, นครสวรรค์.

_____. 2529ก. **เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์**. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ.

_____. 2529ข. **การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์**. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ.

ฉันทวรรณ ต้นประสงค์. 2545. **การยืดอายุการเก็บรักษาถั่วงอกภายใต้สภาวะบรรยากาศดัดแปลง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทวี ปลื้มทรัพย์. 2526. เมล็ดพันธุ์พืชและหลักการผลิต. *ใน* **คู่มือการปฏิบัติงานผลิตเมล็ดพันธุ์พืช** เอกสารวิชาการ ฉบับที่ 2 ประจำเดือนพฤษภาคม 2526 ศูนย์ขยายพันธุ์พืชที่ 1 จ. พิษณุโลก.

ธีรพล ศีลกุล, จรัสพร ถาวรสุข, ทอม เตียะเพชร, เชาวลิต รักบุญ และ อำนาจ จันทร์กลิ่น. 2535. ศึกษาการใช้ภาชนะในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวดำ, น. 198-208. *ใน* **รายงานผลงานวิจัยปี 2535**. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, ชัยนาท.

บัวกัน วาจาสัตย์. 2533. **ผลของอายุการเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษาต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวพันธุ์กำแพงแสน 1 และกำแพงแสน 2**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุษบา รู้น้อม. 2547. **การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวเพื่ออุตสาหกรรมการเพาะถั่วงอก**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุษราคัม อุดมศักดิ์, อำภา สิบรสปลื้ม และ ปรีชา สุรินทร์. 2538. งานวิจัยโรคถั่วเขียวปี 2518-2538, น. 129-146. *ใน* **รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานวิจัยถั่วเขียวครั้งที่ 6**. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, ชัยนาท.

พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2542. ถั่วเขียว, น. 143-156. *ใน* นพพร สายัมพล, เรวัต เลิศฤทัยโยธิน, รังสฤษดิ์ กาวีต๊ะ และ สนธิชัย จันทร์เปรม, บรรณาธิการ. **พืชเศรษฐกิจ**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

เพ็ญแข จิรอัสดร, ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์, ฆรณี ตุ้ยเต็มวงศ์, วรพจน์ สุนทรสุข และ ภัณฑิรา เกตุแก้ว. 2550. การลดเชื้อปนเปื้อนในพริกขี้หนูสดด้วยโอโซนและคลอรีน, น. 165-172. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 (สาขาวิทยาศาสตร์)**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

มั่นสิน ตัณฑุลเวศม์. 2539. **วิศวกรรมการประปา เล่ม 2**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

มัทนา ศรีหัตถกรรม, จรัส กิจบำรุง และ พรพุฒิ ประเสริฐกุล. 2540**.** การเจริญของเชื้อ *Macrophomina phaseolina* ในส่วนต่าง ๆ ของพืช ภายหลังการติดเชื้อทางราก, น. 175-185. *ใน* **รายงานการประชุมทางวิชาการถั่วเขียวแห่งชาติ ครั้งที่ 7**. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท กรมวิชาการเกษตร.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2538. **สรีรวิทยาเมล็ดพันธุ์**. พิมพ์ครั้งที่ 2. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วันชัย จันทร์ประเสริฐ. 2542. **เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืชไร่**. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

_____. 2544. **เทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียวเพื่ออุตสาหกรรม**. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. (อัดสำเนา)

_____ และ จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2533. งานวิจัยคุณภาพเมล็ดพันธุ์กับการผลิต พืชไร่ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, น. 104-131. *ใน* **รายงานการสัมมนาเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติครั้งที่ 4**. กองขยายพันธุ์พืช กรมส่งเสริมการเกษตร.

_____, พิชญา รุจิวัฒน์, อังสนา วงศ์สถาน และ อุษา ด้วงสงค์. 2535. ปัจจัยบางประการที่มีต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียว. **เกษตรก้าวหน้า**. 7(3): 33-34.

_____, สุวิมล ถนอมทรัพย์ และ ธีระพล ศิลกุล. 2538. งานวิจัยเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวและถั่วเขียวผิวดำ, น. 323-347. *ใน* **รายงานการสัมมนาทางวิชาการถั่วเขียวครั้งที่ 6**. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท กรมวิชาการเกษตร.

ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท. 2542. **การผลิตถั่วเขียวผิวดำอย่างถูกต้องและเหมาะสม**. สถาบันวิจัยพืชไร่, กรมวิชาการเกษตร.

_____. 2543. **การผลิตถั่วเขียวอย่างถูกต้องและเหมาะสม**. สถาบันวิจัยพืชไร่, กรมวิชาการเกษตร.

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2549. ถั่วเขียว พืชอาหารที่ไม่ควรมองข้าม. **จดหมายข่าวผลิใบ**. 9 (6): 1-12.

สมชาย บุญประดับ, ธีระพล ศิลกุล, เทวา เมาลานนท์ และ มนตรี ชาตะศิริ. 2538. การศึกษาคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวดำที่ผ่านกรรมวิธีหลังการเก็บเกี่ยวต่างกัน, น. 393. *ใน* **รายงานการสัมมนาเชิงปฏิบัติการงานวิจัยถั่วเขียวครั้งที่ 6**. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, ชัยนาท.

สมชาย บุญประดับ และ มนตรี ชาตะศิริ. 2540. **การปรับปรุงคุณภาพและผลผลิตถั่วเขียวผิวดำเพื่อการส่งออก**. สถาบันวิจัยพืชไร่, กรมวิชาการเกษตร.

สวัสดิ์ หาญปราบ. 2535. **อิทธิพลของความชื้นและการตกกระทบของเมล็ดที่มีต่อคุณภาพและความสามารถในการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง สจ.5 ที่ได้จากการปลูกในอัตราที่แตกต่างกัน 2 ระดับ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สายชล เกตุษา. 2528. **สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังเก็บเกี่ยวผักและผลไม้**. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สิริพร สธนเสาวภาคย์. 2543. โอโซนกับความปลอดภัยในอาหาร. **อาหาร**. 30 (2): 79-86.

สุรพล รักปทุม. 2543. **โอโซนเพื่อชีวิตและสิ่งแวดล้อม**. โรงพิมพ์ภาพพิมพ์, กรุงเทพฯ.

สุวิมล ถนอมทรัพย์. 2544. **เทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียวเพื่ออุตสาหกรรม**. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ. (อัดสำเนา)

_____, วิไลวรรณ ทองศรี, เชาวลิต รักบุญ และ ธีระพล ศิลกุล. 2529. ศึกษาการพัฒนาของเมล็ดถั่วเขียวที่ปลูกในฤดูฝน, น. 163-175. *ใน* **รายงานผลการวิจัยปี 2529**. ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, ชัยนาท.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2550. ถั่วเขียว : ผลพยากรณ์การผลิต ปีเพาะปลูก 2550 รายจังหวัด. **การพยากรณ์ผลผลิตการเกษตร**. 22 (4): 39-41.

อภิพรรณ พุกภักดี. 2533. **วิทยาศาสตร์การผลิตพืชตระกูลถั่ว**. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อรอนงค์ รัตนอุบล. 2531. **ผลของการเก็บเกี่ยวล่าช้า วิธีการนวด และการเก็บรักษาในสภาพต่าง ๆ ต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Agarwal, V.K. and J.B. Sinclair. 1997. **Principles of Seed Pathology**. 2nd ed. CRC Press, Inc., Florida.

Allen, B., J. Wu and H. Doan. 2003. Inactivation of fungi associated with barley grain by gaseous ozone. **J. Environ. Sci. Health**. 38: 617-630.

Amjad, M. and M.A. Anjum. 2003. Effect of post-irradiation storage on the radiation-induced damage in onion seeds. **Asian J. Plant Sci**. 2: 702-707. Cited P. Coolbear, A. Francis and D. Grierson. 1984. The effect of low temperature pre-sowing treatment on the germination performance and membrane integrity of artificially aged tomato seeds. **J. Exp. Bot**. 35: 1609-1617.

Aveling, T.A.S., H.G. Snyman and S.P. Naude. 1993. Evaluation of seed treatments for reducing *Alternaria porri* and *Stemphylium vesicarium* on onion seed. **Plant Dis**. 77(10): 1009-1011.

Baker, K.F. 1972. Seed pathology, pp. 317-416. *In* T.T. Kozlowski, ed. **Seed Biology Vol.2.** Academic Press, New York.

Barua, J., M.M. Hossain, I. Hossain, A.A.M.S. Rahman and Md.A.T. Sahel. 2007. Control of mycoflora of farmer's stored seeds of mungbean. **Asian J. Plant Sci**. 6(1): 115-121.

Basu, R.N. 1994. An appraisal of research on wet and dry physiological seed treatments and their applicability with special reference to tropical and sub-tropical countries. **Seed Sci. & Technol**. 22: 107-126.

Berjak, P., A. Whittaker and D.J. Mycock. 1992. Wet-heat treatment: A promising method for the elimination of mycoflora from maize grains. **South Afr. J. Sci**. 88: 346-349.

Berjak, P. and T.A. Villiers. 1972. Ageing in plant embryos II. Age induced damage and its repair during early germination. **New Phytol.** 77: 135-144.

Bhatia, A., T. Singh and D. Singh. 1998. Seed-borne infection of *Rhizoctonia bataticola* in guar and its role in disease development. **J. Mycol. Plant Pathol**. 28: 231-235.

Boesewinkel, F.D. and F. Bouman. 1995. The seed: structure and function, pp. 1-24. In J. Kigel and G. Galili, eds. **Seed Development and Germination**. Marcel Dekker, Inc., New York.

Caldwell, R.W., W.C. William and T. John. 1973. The occurrence and toxicity of Indian isolates of *Penicillium viridicatum*. **Proc. 2nd Int. Congr. Plant Pathol**., St. Paul, MN.

Chalker-Scott, L. and R.L. Krahmer. 1989. Microscopic studies of tannin formation and distribution in plant tissue, pp. 345-368. In R.W. Hemmingway, J.J. Karchesy and S.T. Brauham, eds. **Chemistry and Significance of Condensed Tannins**. Plenum Press, New York and London.

Cheremisinoff, N.P. and P.N. Cheremisinoff. 1993. **Water Treatment and Waste Recovery Advanced Technology and Applications**. Prentice Hall, Inc., Englewood Cliffs, New Jersey.

Christensen, C.M. 1973. Loss of viability in storage: microflora. **Seed Sci. &Technol**. 1: 547-562.

Collins, R. 2001. Mungbean growing in central queensland. Available Source: http://www2.dpi.gld.gov.au/dpinotes/fieldcrops/proteinseed/fs98009.c.html, July 7, 2001.

Copeland, L.O. and M.B. McDonald. 2001. **Principles of Seed Science and Technology**. 4th ed. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts.

Couey, H.M. 1984. The development of quarantine system for papaya based on standard horticultural practices. **Hort. Sci**. 19: 571-578.

Delouche, J.C. 1974. Maintaining soybean seed quality, pp.46-62. *In* **Soybean Production, Marketing and Use**. Bulletin Y-69. National Fertilizer Development Center, Alabama.

_____. 1980. Environmental effects on seed development and seed quality. **Hort. Sci**. 15: 775-779.

Erdey, D.P., D.J. Mycock and P.Berjak. 1997. The elimination of *Fusarium moniliforme* (sheldon) infection in maize caryopses by hot water treatments. **Seed Sci. &Technol**. 25: 485-501.

Furbeck, S.M., F.M. Bourland and E.R. Cabrera. 1989. Comparison of the hot water and accelerated ageing techniques for deterioration of cottonseed. **Seed Sci.& Technol**. 17: 255-261.

Gavrilova, A.A., A.V. Churmasov and V.G. Rezchikov. 1999. Mechanism of the ozone action on plant growth processes, pp. 873-874. **Materials of 2nd Meeting of Russian Biophysists**. Biological Center of Russian Academy of Sciences, Pushchino.

Graham, D.M. 1997. Use of ozone for food processing. **Food Technol**. 51: 72-75.

Grass, L. and M. Tourkmani. 1999. Mechanical damage assessment in rejected durum wheat seed lost in Morocco. **Seed Sci. &Technol**. 27:991-997.

Grimes, H.D., K.K. Perkins and W.F. Boss. 1983. Ozone degrade into hydroxyl radical under physiological conditions. **Plant Physiol**. 72: 1016-1020.

Hayden, N.J. and R.B. Maude. 1994. The effect of heat on the growth and recovery of *Aspergillus* spp. from the mycoflora of onion seeds. **Plant Pathol**. 43: 627-630.

Headrick, J.M. and J.K. Pataky. 1989. Resistance to kernel infection by *Fusarium moniliforme* in inbred lines of sweet corn and the effect of infection on emergence. **Plant Dis**. 73: 887-892.

Hermansen, A., G. Brodal and G. Balvoll. 1999. Hot water treatments of carrot seeds: effects on seed-borne fungi, germination, emergence and yield**. Seed Sci. &Technol**. 27: 599-613.

Hibben, C.R. and G. Stotzky. 1969. Effects of ozone on the germination of fungus spores. **Can. J. Microbiol**. 15: 1187-1196.

Hoigne, J. and H. Bader. 1975. Ozonation of water: role of hydroxyl radicala as oxidizing intermediated. **Science** 190: 782-784.

Hsieh, S.P.Y., S.S. Ninq and D.D.S. Tzeng. 1998. Control of turf grass ssedborne pathogenic fungi by ozone. **Plant Pathol. Bull**. 7: 105-112.

Hunt, N.K. and B.J. Marinas. 1997. Kinetics of *Escherichia coli* inactivation with ozone. **Water Res**. 31: 1355-1362.

ISTA. 2003. **Common Laboratory Seed Health Testing Methods for Detecting Fungi**. International Seed Testing Association. Zurich, Switzerland.

_____. 2007. **International Rules for Seed Testing**. International Seed Testing Association, Bassersdorf, CH-Switzerland.

Kells, S.A., L.J. Mason, D.E. Maier and C.P. Woloshuk. 2001. Efficacy and fumigation characteristics of ozone in stored maize. **J. Stored Prod. Res**. 37: 371-382.

Kim, J.G. and A.E. Yousef. 2000. Inactivation kinetics of foodborne spoilage and pathogenic bacteria by ozone. **J. Food Sci**. 65 (3): 521-528.

_____, _____ and G.W. Chism. 1999a. Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. **J. Food Saf**. 19: 17-34.

_____, _____ and S. Dave. 1999b. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **J. Food Prot**. 62: 1071-1087.

Krishnamurthy, C.D., S. Lokesh and H.S. Shetty. 2001. Occurrence, transmission and remedial aspects of *Drechslera oryzae* in paddy (*Oryza sativa* L.). **Seed Res**. 29: 63-70.

Kuniyasu, K. and K. Kishi. 1977. Seed transmission of *Fusarium* wilt of bottle gourd, *Lagenaria siceraria* Standle, used as rootstock of watermelon. II. The seed infection course from infected stem of bottle gourd to the fruit and seed. **Ann. Phytopathol. Soc. Jpn**. 43: 192-198.

Kunwar, I.K., J.B. Manandhar and J.B. Sinclair. 1986. Histopathology of soybean seeds infected with *Alternaria alternata*. **Phytopathol.** 76: 543-546.

Lawn, R.J. and C.S. Ahn. 1985. Mung bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek/*Vigna mungo* (L.) Hepper], pp. 584-623. *In* R.L. Summerfield and E.H. Robert, eds. **Grain Legume Crops**. William Collins Sons&Co., Ltd., London.

Lee, J.H., K.S. Han, T.H. Kim, D.W. Bae, D.K. Kim, J.H. Kang and H.K. Kim. 2007. Effective heat treatment techniques for control of mung bean sprout rot, incorporable into commercial mass production. **Plant Pathol. J**. 23(3): 174-179.

Majumdar, S.B. and O.J. Sproul. 1974. Technical and economic aspected of water and wastewater ozonation. **Wat. Res**. 9: 253-260.

Mason, L., C.P. Woloshuk and D.E. Maier. 1997. Efficacy of ozone to control insects, molds and mycotoxins, pp. 665-670. *In* E.J. Donahaye, S. Navarro, and A. Varnava, eds. **Proc. Int. Conf. Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products**. Nicosia, Cyprus.

Mathur, R. 1992. **Pathological and Physiological Studies on Some Seed Disorders in Soybean**. Ph.D. thesis, University of Rajasthan, Jaipur, India.

Maude, R.B. 1983. Eradicative seed treatments**. Seed Sci. &Technol**. 11: 907-920.

_____. 1996. **Seedborne Diseases and Their Control : Principles and Practice**. CAB international, Cambridge.

Meaba, H.,Y. Takamoto, M. Kamimura and T. Miura. 1998. Destruction and detoxification of aflatoxins with ozone. **J. Food Sci**. 53: 667-668.

Meah, M.B. 2004. **Folder of Vegetable Seed Treating Plant**. IPM Lab.Dept. of. P.Path. BAU, Mymensingh and USDA-Bangladesh Collaborative Res. Project.

Mishra, D., A.K. Shukla, K.K. Tripathi, A. Singh, A.K. Dixit and K. Singh. 2007. Efficacy of application of vegetable seed oils as grain protectant against infestation by *Callosobruchus chinensis* and its effect on milling fractions and apparent degree of dehusking of legume-pulses. **J. Oleo Sci**. 56 (1): 1-7.

Moore, G., C. Griffith and A. Peters. 2000. Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant. **J. Food Prot**. 63 (8): 1100-1106.

Naitoh, S. and I. Shiga. 1982. Studies on utilization of ozone in food preservation. I. Microbiocidal properties of ozone on various microorganisms suspended in water. **J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol**. 29: 1-10.

Naitoh, S. and I. Shiga. 1989. Studies on utilizing of ozone in food preservation. IX. Effect of ozone treatment on elongation of hypocotyl and microbial counts of bean sprouts. **J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol**. 36: 181-188.

Paschal, E.H. and M.A. Ellis. 1978. Variation in seed quality characteristics of tropically grown soybeans. **Crop Sci**. 18: 837-840.

Payne, G.A., D.L. Thompson, E.B. Lillehoj, M.S. Zuber and C.R. Adkins. 1988. Effect of temperature on the preharvest infection of maize kernels by *Aspergillus flavus*. **Phytopathol.** 78: 1376-1380.

Pitt, J.I. and A.D. Hocking. 1991. Significance of fungi in stored products. *In* B.R. Champ, E. Highley, A.D. Hocking and J.I. Pitt, eds. **Proceedings of an international conference held at Bangkok**, Thailand, 23-26 April, Canberra.

Priestley, D.A. 1986. **Seed Ageing**. Comstock Publishing Associates, Ithaca, New York.

Rahman, S., S. Vearasilp and S. Srichuwong. 2001. Seed-borne *Macrophomina phaseolina* in mungbean and blackgram: Effect on germination and some biochemical changes. **J. Agric**. 17(1): 59-65.

_____, _____ and _____. 2002. Hot water treatment of mungbean seed : effects on seed-borne *Macrophomina phaseolina* and on germination**. J. Agric**. 18(1): 40-45.

Restaino, L., E.W. Frampton, J.B. Hemphill and P. Palniker. 1995. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. **Appl. Environ. Microbiol.** 61 (9): 3471-3475.

Rezchikov, V.G., A.A. Churmasov, A.A. Gavrilova and E.A. Sokolava. 1998. Influence of ozone on the seed germination of Pisum and Hippophae. **Tekhnika in Sel'skom Khozya'stve, Russia (Techique in Agriculture)**. 3: 14-17.

Roshchina, V.V. and V.D. Roshchina. 2003. **Ozone and Plant Cell**. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.

Russell, G.H. and P.Berjak. 1983. Some attemped control measures against *Fusarium verticillioides* in stored maize seeds. **Seed Sci. &Technol**. 11: 441-448.

Sangchote, S. and V.V. Ba. 2005. Seed borne and transmission of *Bipolaris oryzae*, the casual pathogen of brown spot of rice. pp. 163-172. **Proceedings of 43rd Kasetsart University Annual Conference**. Kasetsart University, Bangkok.

Sharma, J. 1992. **Mycoflora of Soybean Seeds and Their Pathological Effects**. Ph.D. thesis, University of Rajasthan, Jaipur, India.

Sharma, R.R., A. Demirci, L.R. Beuchat, and W.F. Fett. 2002. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on inoculated alfalfa seeds with ozonated water and heat treatment. **J. Food Prot**. 65: 447-451.

Sinclair, J.B. and P.A. Backman. 1989. **Compendium of Soybean Diseases**. 3rd ed. APS Press, Minnesota.

Singh, D. and S.B. Mathur. 2004. **Histopathology of Seed-Borne Infections**. CRC Press LLC, Florida.

Singh, N., R.K. Singh and A.K. Bhunia. 2003. Sequential disinfection of *Escherichia coli* O157:H7 inoculated alfalfa seeds before and during sprouting using aqueous chlorine dioxide, ozonated water, and thyme essential oil. **Lebensm.-Wiss.U.-Technol**. 36: 235-243.

Singh, T. and D. Singh. 1979. Anatomy of penetration of *Macrophomina phaseolina* in seeds of sesame. *In* **Recent Research in Plant Science**. Kalyani Publishers, New Delhi, India.

_____ and _____. 1982. Transmission of seed-borne inoculum of *Macrophomina phaseolina* from seed to plant. **Proc. Indian Acad. Sci. (Plant Science)** 91: 357-370.

Sparg, S.G., M.G. Kulkarni and J. van Staden. 2006. Aerosol smoke and smoke-water stimulation of seedling vigor of a commercial maize cultivar. **Crop Sci**. 46: 1336-1340.

Spotts, R.A. and L.A. Cervantes. 1992. Effect of ozonated water on posthavest pathogens of pear in laboratory and packinghouse tests. **Plant Dis**. 76: 246-259.

Tchobanoglous, G. 1991. **Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, and Reuse**. 3rd ed. McGraw-Hill. Inc., New York.

TeKrony, D.M., D.B. Egli and A.D. Phillips. 1980a. Effect of field weathing on the viability and vigour of soybean seed. **Agron. J**. 72: 749-753.

_____, _____ and J. Balles. 1980b. The Effect of field production environment of soyabean seed quality, pp. 403-425. *In* P.D. Hebblethwaite, ed. **Seed Production**. Butterworth and Co., Ltd., London.

Tomiyaso, H., H. Fukutomi and G. Gordon. 1985. Kinetics and Mechanisms of ozone decomposition in basic aqueous solution. **Inorg. Chem**. 24: 2962-2985.

Treshow, M. 1984. Epilogue: A biochemical overview, pp. 425-437. *In* M.J. Koziol and F.R. Whatley, eds. **Gaseous Air Pollutants and Plant Metabolism**. London, Boston: Butterworths.

Velicheti, R.K. and J.B. Sinclair. 1991. Histophathology of soybean seeds colonized by *Fusarium oxysporum*. **Seed Sci. &Technol**. 19: 445-450.

Ventura, A.R. and D.P. Garrity. 1987. Effect of hot water treatments on the quality of rice seed destines for international exchange. **Crop Sci**. 27: 278-283.

Vieira, C.P., R.D. Vieera and J.H.N. Paschoalick. 1994. Effects of mechanical damage during soybean seed processing on physiological seed quality and storage potential. **Seed Sci. &Technol**. 22: 581-589.

Weber, W.J., Jr. 1972. **Physicochemical Processes For Water Quality Control**. John Wiley and Sons, Inc., New York.

Weiss, A. and W.P. Hammes. 2003. Thermal seed treatment to improve the food safety status of sprouts. **J. Appl. Bot**. 77: 152-155.

Williams, R.W., R.J. Lawn, B.C. Imrie and D.E. Byth. 1995. Studies on water damage in mungbean. I. Effect of weathering on seed quality and viability. **Aust. J. Agric. Res**. 46: 887-899.

Zummo, N. and G.E. Scott. 1990. Cob and kernel infection by *Aspergillus flavus* and *Fusarium moniliforme* in inoculated, field-grown maize ears. **Plant Dis**. 74: 627-631.

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความงอกมาตรฐาน อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด และเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำ ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน

Source of Variation	df	Mean Square			
		ความงอกมาตรฐาน	อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า	ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด	เปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำ
Replication	3	36.22^{ns}	0.57^{ns}	0.39^{ns}	0.13^{ns}
Species	1	65.33^{ns}	13.82**	92.32**	2.97**
Treatment	5	43.33^{ns}	1.35^{ns}	0.25^{ns}	0.15^{ns}
Species x Treatment	5	26.93^{ns}	4.47**	0.98*	0.05^{ns}
Error	33	25.37	1.10	0.39	0.19
C.V. (%)		5.50	3.80	3.20	21.50

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความงอกมาตรฐาน อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด และเปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำ ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2550 หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน

Source of Variation	df	Mean Square			
		ความงอกมาตรฐาน	อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า	ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด	เปอร์เซ็นต์เมล็ดบวมน้ำ
Replication	3	74.08^{ns}	1.40^{ns}	1.05^{ns}	15.22**
Species	1	3,434.08**	38.27**	2,277.97**	3,911.44**
Treatment	5	67.48^{ns}	1.31^{ns}	1.43^{ns}	2.99^{ns}
Species x Treatment	5	115.08^{ns}	4.44^{ns}	1.19^{ns}	2.62^{ns}
Error	33	59.54	2.77	0.78	2.93
C.V. (%)		10.80	6.30	3.50	10.40

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน

Source of Variation	df	Mean Square[1/]				
		A. alternata	*Aspergillus* spp.	*Cladosporium* spp.	*Fusarium* spp.	*M. phaseolina*
Replication	3	2.00**	0.92^{ns}	0.91^{ns}	0.64^{ns}	7.54*
Species	1	9.51**	461.55**	2.98^{ns}	85.49**	0.97^{ns}
Treatment	6	2.62*	12.18**	40.85**	5.18**	20.97**
Species x Treatment	6	0.86^{ns}	11.45**	3.09**	9.75**	7.07**
Error	39	0.43	0.70	0.82	1.04	1.89
C.V. (%)		43.70	16.60	16.90	17.30	27.20

[1/]ค่าความแปรปรวนหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root (y+0.5)

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2550 หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน

Source of Variation	df	Mean Square[1/]				
		A. alternata	*Aspergillus* spp.	*Cladosporium* spp.	*Fusarium* spp.	*M. phaseolina*
Replication	3	2.24^{ns}	0.42^{ns}	2.16*	3.33^{ns}	5.02*
Species	1	2.67^{ns}	0.89^{ns}	1.84^{ns}	7.14^{ns}	24.44**
Treatment	6	3.09*	0.81*	1.74*	15.62*	1.98^{ns}
Species x Treatment	6	1.79^{ns}	0.98**	1.76*	6.48^{ns}	1.96^{ns}
Error	39	0.99	0.26	0.54	6.00	1.32
C.V. (%)		32.00	54.90	56.90	2.50	45.30

[1/]ค่าความแปรปรวนหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root (y+0.5)

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความงอกมาตรฐาน อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า และระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด ของถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2550 หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนเข้มข้น 25 ppm แล้วตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน

Source of Variation	df	Mean Square		
		ความงอกมาตรฐาน	อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า	ระยะเวลาที่เมล็ดงอกได้ 50% ของความงอกสูงสุด
Replication	3	60.80^{ns}	2.17^{ns}	3.89^{ns}
Species	1	57.60^{ns}	26.16**	1,049.40**
Treatment	4	55.10^{ns}	1.70^{ns}	7.28*
Species x Treatment	4	2.60^{ns}	1.54^{ns}	1.13^{ns}
Error	27	54.21	2.64	1.96
C.V. (%)		8.80	5.90	6.20

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่เมล็ดในน้ำโอโซนเข้มข้น 25 ppm แล้วตามด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างกัน

Source of Variation	df	Mean Square[1/]						
		A. alternata	*Aspergillus* spp.	*Cladosporium* spp.	*Curvularia* spp.	*Fusarium* spp.	*M. phaseolina*	*Penicillium* spp.
Replication	3	1.33^{ns}	0.09^{ns}	0.36^{ns}	0.33^{ns}	19.47^{ns}	1.51*	0.36^{ns}
Species	1	8.31**	0.005^{ns}	58.55**	8.08**	10.00^{ns}	16.61**	2.96**
Treatment	4	2.62*	0.91**	30.92**	16.39**	37.60*	2.14**	0.77*
Species x Treatment	4	0.73^{ns}	0.19^{ns}	4.12**	2.03**	8.50^{ns}	1.76**	0.08^{ns}
Error	27	0.70	0.15	0.85	0.40	11.61	0.35	0.25
C.V. (%)		26.30	40.90	20.50	26.80	3.50	17.00	44.20

[1/]ค่าความแปรปรวนหลังแปลงข้อมูลด้วยวิธี Square root (y+0.5)

ns ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

** แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตารางผนวกที่ 7 ความชื้น (เปอร์เซ็นต์) ของเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำที่ได้จากฤดูฝน ปี 2549 และ 2550

ซ้ำที่	ปี 2549		ปี 2550	
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ
1	13.21	11.21	10.19	9.09
2	9.80	13.21	9.26	8.41
3	13.33	13.73	9.57	9.01
4	13.13	10.81	9.82	9.57
ค่าเฉลี่ย	12.37	12.24	9.71	9.02

ตารางผนวกที่ 8 ชนิดและเปอร์เซ็นต์เชื้อราจากแปลง (field fungi) ที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ถั่วเขียวผิวมันและถั่วเขียวผิวดำ ที่ได้จากฤดูฝน ปี 2549 เมื่อเจริญบนอาหาร Potato Drextose Agar

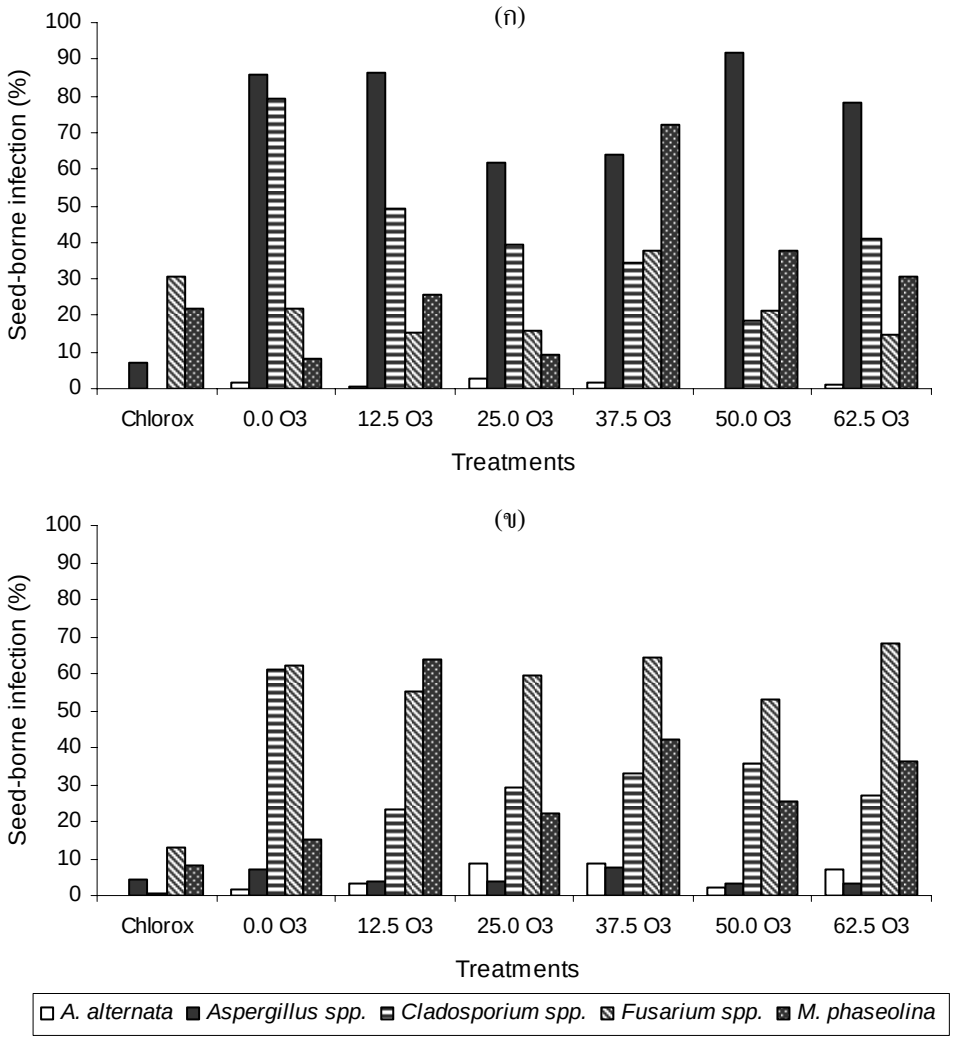
ชนิด	เปอร์เซ็นต์เชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์*	
	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ
Corynespora cassiicola	1.33	4.00
Fusarium spp.	21.33	32.00
Macrophomina phaseolina	4.67	4.67
Phomopsis sp.	2.00	1.33

* ค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

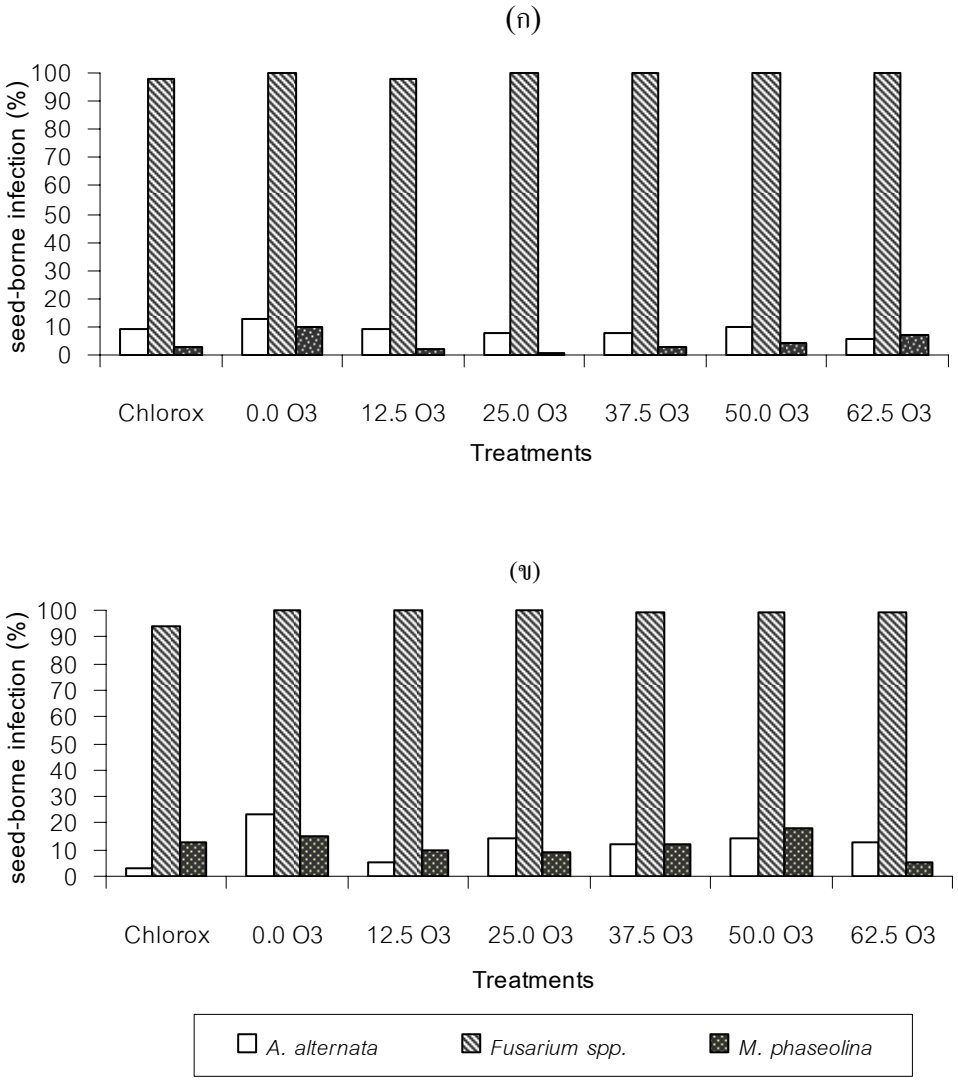
ตารางผนวกที่ 9 เปอร์เซ็นต์เยื่อหุ้มเมล็ดของถั่วเขียวผิวมัน พันธุ์กำแพงแสน 2 และถั่วเขียวผิวดำ พันธุ์อู่ทอง 2

ซ้ำที่	ถั่วเขียวผิวมัน	ถั่วเขียวผิวดำ
1	10.428	12.020
2	10.828	12.110
3	10.391	12.190
4	10.432	12.587
ค่าเฉลี่ย	10.520	12.227

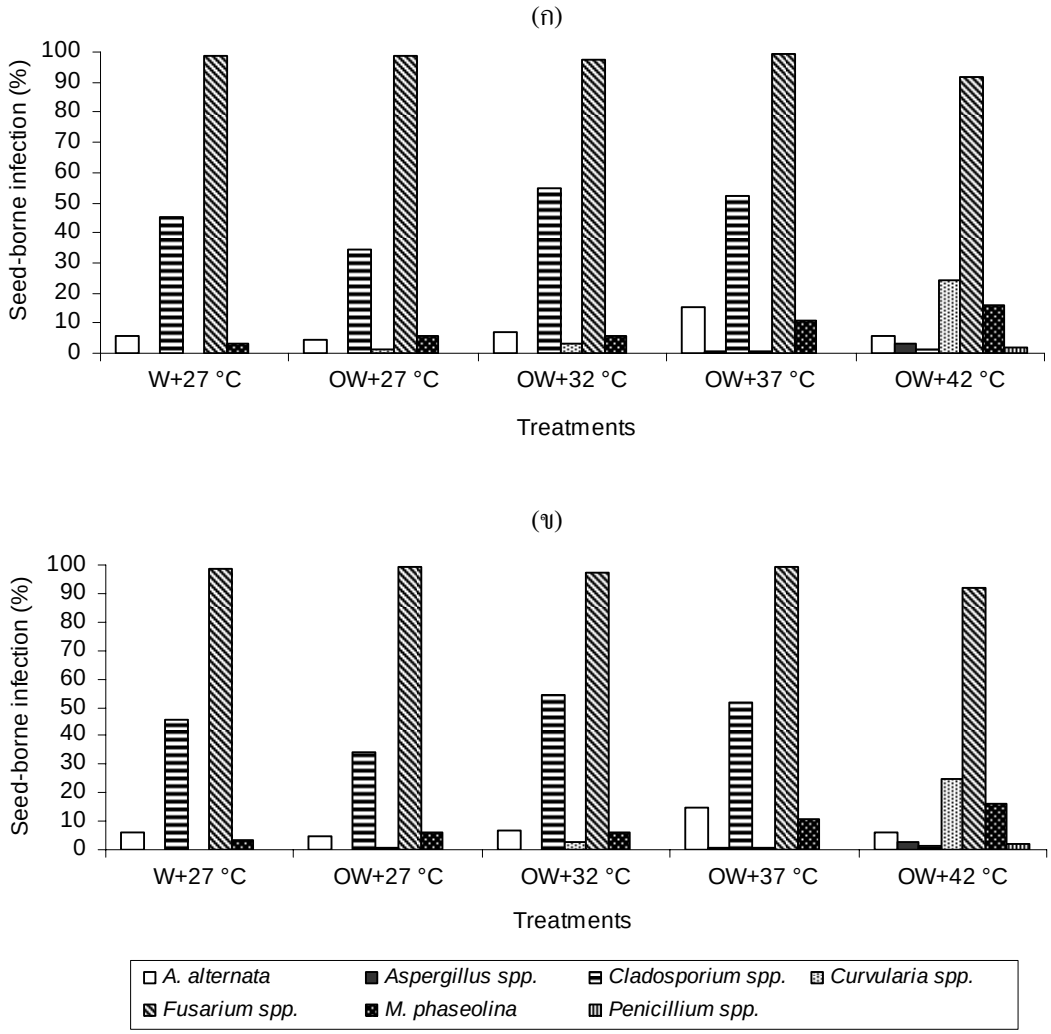
หมายเหตุ เปอร์เซ็นต์เยื่อหุ้มเมล็ด = $\frac{\text{น้ำหนักแห้งของเยื่อหุ้มเมล็ด}}{\text{น้ำหนักแห้งของเมล็ด}}$ x 100



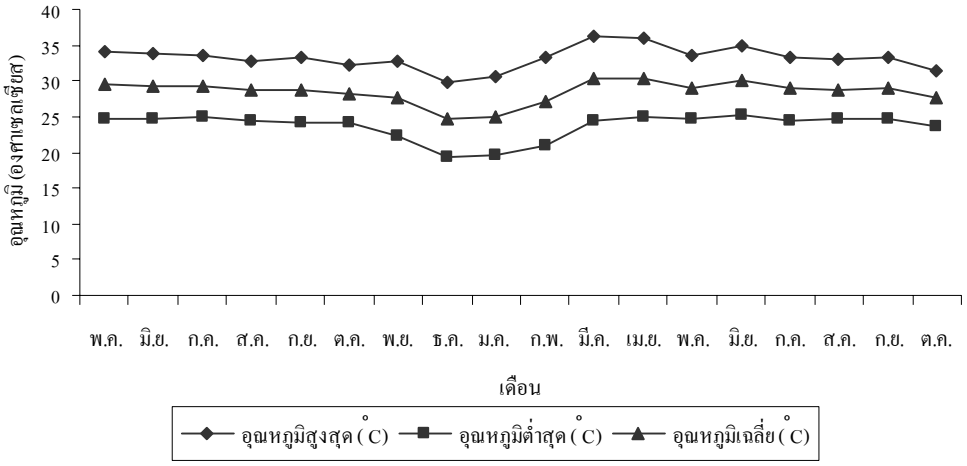
ภาพผนวกที่ 1 ปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ (ก) ถั่วเขียวผิวมัน และ (ข) ถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2549 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน



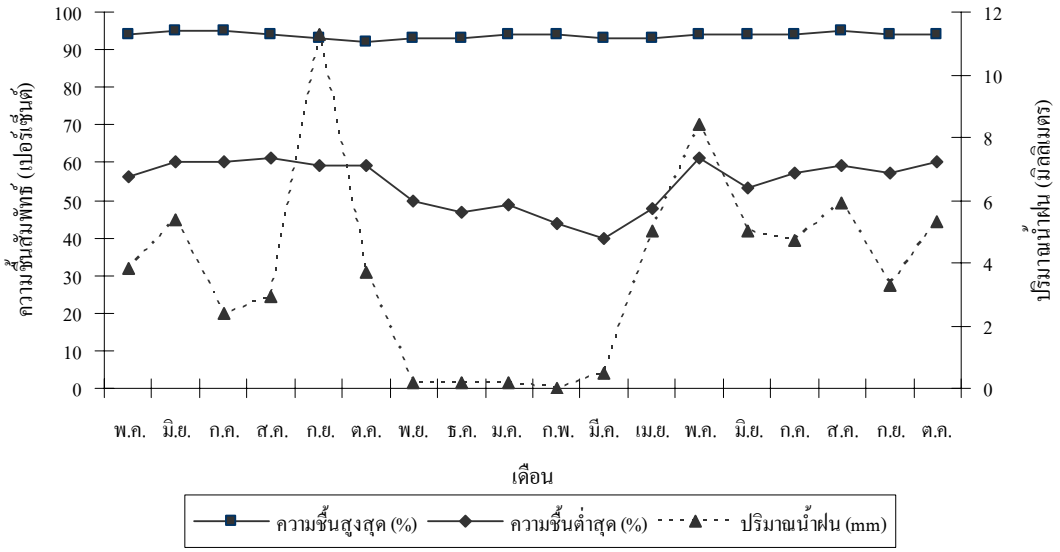
ภาพผนวกที่ 2 ปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ (ก) ถั่วเขียวผิวมัน และ (ข) ถั่วเขียวผิวดำ ที่ปลูกในฤดูฝน ปี 2550 หลังจากแช่ในน้ำโอโซนที่ความเข้มข้นต่างกัน



ภาพผนวกที่ 3 ปริมาณเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดพันธุ์ (ก) ถั่วเขียวผิวมัน และ (ข) ถั่วเขียวผิวดำ หลังจากแช่ในน้ำโอโซน (OW) ความเข้มข้น 25 ppm ตามด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (W)



ภาพผนวกที่ 4 อุณหภูมิอากาศ (องศาเซลเซียส) ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2549 ถึงเดือนตุลาคม 2550 ณ สถานีอุตุนิยมวิทยานครปฐม อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม



ภาพผนวกที่ 5 ความชื้นสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์) และปริมาณน้ำฝน (มิลลิเมตร) ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2549 ถึงเดือนตุลาคม 2550 ณ สถานีอุตุนิยมวิทยานครปฐม อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวอารียา นาวินปกาสิตย์
วัน เดือน ปี ที่เกิด	วันที่ 6 กันยายน 2526
สถานที่เกิด	จังหวัดชลบุรี
ประวัติการศึกษา	ระดับปริญญาตรี คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์