การใช้สารเร่งเชิงชีวภาพเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

ยงยุทธ โอสถสภา[1]

บทคัดย่อ

ปุ๋ยเคมีที่ใส่ในดินมีการสูญหายหรือเปลี่ยนสภาพได้หลายทาง เช่น ส่วนหนึ่งสูญหายไปกับการกร่อนดินและการชะละลาย ในขณะที่บางส่วนถูกตรึงไว้ในดินอยู่ในรูปที่ละลายยากและไม่เป็นประโยชน์ต่อพืช ทำให้ประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยในการเกษตรค่อนข้างต่ำ การจัดการปุ๋ยอย่างถูกต้อง 4 ประการ คือด้านชนิดปุ๋ย อัตราปุ๋ย จังหวะเวลาในการใส่และบริเวณที่ใส่ปุ๋ย จะช่วยให้ประสิทธิภาพในการใช้ปุ๋ยสูง แต่ยังมีการปฏิบัติอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยให้พืชดูดธาตุอาหารจากปุ๋ยที่ใส่ในดินได้มากขึ้น คือ การใช้ “สารเร่งเชิงชีวภาพ (biostimulants)” ซึ่งหมายถึงสารใดๆ ก็ตาม [ยกเว้นสารที่ให้ธาตุอาหาร (nutrients) หรือสารฆ่าศัตรูพืช (pesticides)] ที่ใส่ให้พืช เมล็ดพืช หรือวัสดุปลูกพืช แล้วช่วยปรับกระบวนการทางสรีระ ทำให้พืชมีศักยภาพในการเจริญเติบโตสูงขึ้น และทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ทั้งด้านที่เกี่ยวข้องกับสิ่งไม่มีชีวิต เช่น อุณหภูมิสูงหรือต่ำเกินไป ความแห้งแล้ง ฯลฯ และด้านที่เกี่ยวกับสิ่งมีชีวิต เช่น โรคพืช “สารเร่งเชิงชีวภาพ” ได้แก่ สารฮิวมิก (humic substances) กรดอะมิโน (amino acids) สารสกัดจากวัชพืชทะเล (seaweed extract) และไคโตซาน (chitosan) เนื่องจาก “สารเร่งเชิงชีวภาพ” เหล่านี้เมื่อให้แก่พืชทางดิน ทางใบ หรือใส่ในสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืช มีผลเชิงบวกต่อกลไกการดูดธาตุอาหารของเซลล์พืช โดยมีผลดีต่อลักษณะสัณฐานของรากและการละลายของธาตุอาหารในดิน

1. คำนำ

สารกระตุ้นเชิงชีวภาพของพืช หรือ “สารเร่งเชิงชีวภาพ (biostimulants)” สำหรับพืช ซึ่งหมายถึงสารใดๆ ก็ตาม [ยกเว้นสารที่ให้ธาตุอาหาร (nutrients) หรือสารปรับปรุงดิน (soil improvers) หรือสารฆ่าศัตรูพืช (pesticides)] ที่ใส่ให้พืชทางดิน ฉีดพ่นทางใบ คลุกเม็ดเมล็ดพืชก่อนปลูก ใส่ในวัสดุปลูก หรือสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ปลูกพืช แล้วสารนั้นช่วยปรับกระบวนการทางสรีระ ทำให้พืชมีศักยภาพในการเจริญเติบโต หรือพัฒนามากขึ้น หรือทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดีขึ้น ซึ่งรวมความถึงช่วยให้พืชปรับตัวต่อสภาพความเครียด อันมีสาเหตุมาจากสิ่งไม่มีชีวิต (abiotic stress) หรือความเครียดจากสิ่งมีชีวิต (biotic stress) สำหรับผลที่เกิดขึ้นจากการกระตุ้นพืช ได้แก่ การเจริญเติบโตของรากและส่วนเหนือดิน ตลอดจนประสิทธิภาพของรากในการดูดธาตุอาหาร

ความเป็นมาของคำ “สารเร่งเชิงชีวภาพ” เป็นสิ่งที่น่าสนใจและควรทราบ ส่วนความหมายของคำนี้มีการเปลี่ยนแปลงมาโดยลำดับ ซึ่ง du Jadin (2015) ประมวลไว้ดังนี้

คำสำคัญ: สารฮิวมิก กรดอะมิโน ไคโตซาน สารสกัดจากวัชพืชทะเล

[1] รองศาสตราจารย์ ดร., ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

คำ “สารเร่งเชิงชีวภาพ (biostimulants)” มีการใช้ครั้งแรกเมื่อ พ.ศ. 2540 หมายถึง “สารที่ใช้ในปริมาณเล็กน้อย ก็ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช” การกำหนดว่า “ใช้ในปริมาณเล็กน้อย” เพื่อแยกสารเร่งเชิงชีวภาพออกจากปุ๋ยและสารปรับปรุงดิน ซึ่งช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชเช่นเดียวกัน แต่ต้องใช้ในปริมาณที่มากกว่า ในครั้งนั้นสารที่อยู่ในข่ายนิยามของสารเร่งเชิงชีวภาพมี 2 อย่าง คือ กรดฮิวมิก (humic acids) และสารสกัดจากวัชพืชทะเล (seaweed extracts) หรือสารสกัดจากสาหร่าย

พ.ศ. 2543 นักวิจัยมีข้อมูลทางวิชาการที่แสดงว่ากรดฮิวมิกและสารสกัดจากวัชพืชทะเล ช่วยให้หญ้าบางชนิดทนแล้งได้ดีขึ้น และสารทั้งสองชนิดดังกล่าวมีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนพืช จึงเน้นผลส่วนนี้ของสาร และเรียกว่า ”ผลิตภัณฑ์ที่มีฮอร์โมน (hormone-containing products)” แทนที่จะเรียกว่าสารกระตุ้นเชิงชีวภาพ แต่คำนี้ไม่เป็นที่นิยมใช้กันมากนัก

พ.ศ. 2550 นักวิชาการให้นิยามของ “สารเร่งเชิงชีวภาพ” ว่าเป็นสารที่ไม่ใช่ปุ๋ย แต่เมื่อใช้ในความเข้มข้นต่ำ สามารถเร่งการเจริญเติบโตของพืชได้ โดยเน้น “สารที่ไม่ใช่ปุ๋ย” นอกจากนี้ ยังมีการจำแนกสารเร่งเชิงชีวภาพ โดยพิจารณาแหล่งที่มาและองค์ประกอบได้เป็น 3 พวก คือ (1) สารฮิวมิก (humic substances, HS) (2) ผลิตภัณฑ์ที่มีฮอร์โมน (hormone containing products, HCP) เป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งมีออกซิน ไซโตไคนิน และอนุพันธ์ของฮอร์โมนทั้งสองนี้ และ (3) ผลิตภัณฑ์ที่มีกรดอะมิโน (amino acid containing products, AACP)

ข้อสังเกตที่สำคัญของวัตถุประสงค์ในการบัญญัติคำ “สารเร่งเชิงชีวภาพ” ก็คือแยกสารในกลุ่มนี้ออกจากสารต่างๆ ที่ใช้ในการผลิตพืช คือ ปุ๋ยและสารฆ่าศัตรูพืช

พ.ศ. 2555 มีการประชุม “สหภาพแห่งโลกว่าด้วยการใช้สารเร่งเชิงชีวภาพในการเกษตร ครั้งที่ 1 (First World Congress on the Use of Biostimulants in Agriculture) ในเดือนพฤศจิกายนที่ Strasbourg เมืองหลวงของแคว้น Alsace ในประเทศฝรั่งเศส ซึ่งถือว่าเป็นครั้งแรกที่คำ Biostimulants ได้รับการยอมรับในวงวิชาการระดับสากล

พ.ศ. 2557 เป็นต้นมา นักวิชาการใช้คำ “สารเร่งเชิงชีวภาพ” กันอย่างกว้างขวาง แล้วเพิ่มขอบเขตของนิยามให้กว้างกว่าเดิมดังนี้

“สารเร่งเชิงชีวภาพ” คือ สารและจุลินทรีย์ที่ให้กับพืช เพื่อ (1) เพิ่มประสิทธิภาพการใช้ธาตุอาหาร (2) ทนต่อความเครียดจากสภาพแวดล้อม และ (3) เพิ่มคุณภาพของพืช โดยมิได้คำนึงถึงปริมาณธาตุอาหารที่มีอยู่ในสารหรือสิ่งที่ให้ ทั้งนี้รวมความไปถึง (1) ผลิตภัณฑ์ที่มีสารหนึ่งอย่างหรือหลายอย่างผสมกันหรือ (2) จุลินทรีย์ที่ให้ผลดังกล่าว สำหรับจุลินทรีย์ที่รวมอยู่ในกลุ่มตัวการเร่งเชิงชีวภาพ ได้แก่ แบคทีเรียเร่งการเจริญเติบโตของพืช (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR) และเชื้อราไมคอร์ไรซา (mycorchizal fungi)

อย่างไรก็ตาม เนื่องจากทางวิชาการด้านปุ๋ยถือว่าจุลินทรีย์ดังกล่าวเป็นปุ๋ยชีวภาพ (biofertilizers) จึงมีนิยามของปุ๋ยชีวภาพ ดังนี้

ปุ๋ยชีวภาพ หมายถึง (1) แบคทีเรียและราที่ใส่ให้แก่พืช เพื่อเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารและการใช้ธาตุอาหารของพืช โดยมิได้คำนึงถึงปริมาณธาตุอาหารที่มีอยู่ในเซลล์ของจุลินทรีย์ และ (2) แบคทีเรียและราที่เป็นตัวการทำหน้าที่เร่งเชิงชีวภาพ ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ธาตุอาหารของพืช

บทความนี้จะอธิบายรายละเอียดของสารเร่งเชิงชีวภาพ 4 กลุ่ม คือ (1) สารฮิวมิก (2) กรดอะมิโน (3) ไคโตซาน และ (4) สารสกัดจากวัชพืชทะเล หรือ

ที่เรียกกันในประเทศไทยว่าสารสกัดจากสาหร่าย ส่วนเรื่องแบคทีเรียเร่งการเจริญเติบโตของพืช (PGPR) และเชื้อราไมคอร์ไรซา มีรายละเอียดใน ยงยุทธ และคณะ (2556)

2. สารฮิวมิก (humic substances)

ก่อนจะอธิบายผลของสารฮิวมิกต่อการเจริญเติบโตของพืช จะกล่าวถึงความหมายของคำ “อินทรียวัตถุในดิน” “ฮิวมัส” และ “สารฮิวมิก” แล้วจึงอธิบายความเป็นมาของสารฮิวมิก และผลของสารฮิวมิกต่อการเจริญเติบโตของพืช จากนั้นจึงอธิบายกลไกที่ทำให้สารฮิวมิกส่งผลต่อการดูดธาตุอาหารและการเจริญเติบโตของพืช

2.1 อินทรียวัตถุในดิน ฮิวมัสและสารฮิวมิกในดิน

สมาคมปฐพีวิทยาแห่งสหรัฐอเมริกาได้ให้นิยามของศัพท์ 3 คำ คือ อินทรียวัตถุในดิน (soil organic matter) ฮิวมัส (humus) และสารฮิวมิก (humic substance) ดังนี้

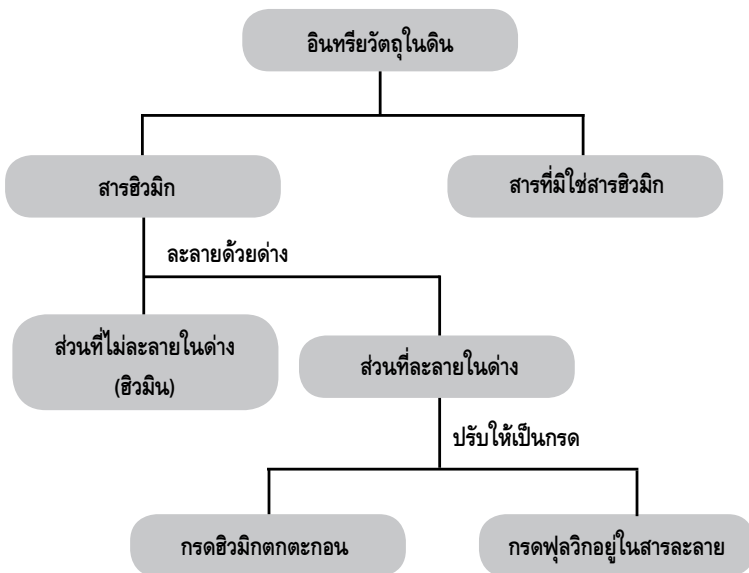
1) อินทรียวัตถุในดิน หมายถึงองค์ประกอบของดินที่เป็นสารอินทรีย์ ซึ่งเกิดจากการเน่าเปื่อยผุพังหรือการสลายตัวของเศษซากพืชและสัตว์ที่ทับถมอยู่ในดิน

2) ฮิวมัส คำนี้ในภาษาอังกฤษมาจากคำในภาษาลาตินแปลว่า “ดิน” ฮิวมัสเป็นส่วนหนึ่งของ “อินทรียวัตถุในดิน” ซึ่งเกิดขึ้นหรือคงเหลือ เมื่อซากพืชและซากสัตว์ส่วนใหญ่ได้สลายตัวไปแล้ว เป็นสารที่มีสีเข้มและทนทานต่อการสลายตัว อินทรียวัตถุในดินมีฮิวมัสเป็นองค์ประกอบประมาณ 70%

3) สารฮิวมิก หมายถึงกลุ่มของสารอินทรีย์เชิงซ้อน มีโมเลกุลขนาดใหญ่ สีน้ำตาลถึงดำ สลายตัวยาก และเป็นส่วนประกอบในอินทรียวัตถุ ในด้านองค์ประกอบของอินทรียวัตถุ แบ่งได้เป็น 2 ส่วนคือ “สารฮิวมิก” และสารที่ “มิใช่สารฮิวมิก (nonhumic substance)

2.2 องค์ประกอบทางเคมีของอินทรียวัตถุในดิน

ในการศึกษาองค์ประกอบเบื้องต้นของอินทรียวัตถุในดิน จากตัวอย่างดินที่ผ่านตะแกรงร่อน



ภาพที่ 1 วิธีการสกัดเพื่อแยกส่วนต่างๆ ของอินทรียวัตถุในดิน
ที่มา: Brady and Weil (2004)

ตารางที่ 1 ความแตกต่างด้านการละลายของกรดฟุลวิก กรดฮิวมิกและฮิวมินในด่าง กรดและน้ำ

ชนิดของสารฮิวมิก	การละลายใน		
	ด่าง	กรด	น้ำ
กรดฟุลวิก	ละลาย	ละลาย	ละลาย
กรดฮิวมิก	ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย
ฮิวมิน	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย	ไม่ละลาย

ที่มา: Brady and Weil (2004)

ซึ่งมีช่องขนาด 2 มิลลิเมตร สามารถแยกอินทรียวัตถุได้เป็น 2 ส่วน คือ “สารฮิวมิก” และสารที่ “มิใช่สารฮิวมิก” ดังภาพที่ 1 แต่ละส่วนมีความหมายต่างกันและละลายในน้ำ กรดและด่าง ต่างกันดังตารางที่ 1

ข้อมูลในภาพที่ 1 และตารางที่ 1 สรุปได้ 2 ประการ คือ

(1) อินทรียวัตถุประกอบด้วยสารฮิวมิก และสารที่ไม่ใช่สารฮิวมิก

(2) สารฮิวมิกประกอบด้วย 3 ส่วน คือ ฮิวมิน กรดฮิวมิก และกรดฟุลวิก ซึ่งทั้งสามส่วนนี้สามารถแยกออกจากกันได้

องค์ประกอบของสารฮิวมิกมี 3 ส่วน ซึ่งแยกออกจากกัน โดยอาศัยสมบัติด้านการละลาย ดังนี้

(1) ฮิวมิน คือ สารอินทรีย์ในอินทรียวัตถุซึ่งไม่ละลายเมื่อสกัดด้วยด่างเจือจาง

(2) กรดฮิวมิก คือ สารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อนหลายชนิด มีสีเข้ม เป็นสารที่ละลายได้เมื่อสกัดด้วยด่างเจือจาง และตกตะกอนเมื่อทำให้สารละลายดังกล่าวเป็นกรดจัด

(3) กรดฟุลวิก คือ สารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อนหลายชนิด มีสีจางกว่ากรดฮิวมิก เป็นสารที่เดิมละลายได้เมื่อสกัดด้วยด่างเจือจาง และไม่ตกตะกอน เมื่อทำให้สารละลายดังกล่าวเป็นกรด

ในบทความนี้วัสดุที่ใช้ในการทดลองอาจเป็น “สารฮิวมิก” ซึ่งมีฮิวมิน กรดฮิวมิกและกรดฟุลวิกเป็นส่วนประกอบ หรือเป็นผลิตภัณฑ์ที่แยกแล้วเป็น ”กรดฮิวมิก” และ “กรดฟุลวิก” ซึ่งนักวิจัยต้องระบุว่าใช้สารชนิดใดในการทดลอง เนื่องจากผลการใช้กับพืชจะแตกต่างกัน ให้สังเกตว่าข้อมูลที่นำเสนอในบทความนี้ส่วนมากเป็นผลของการใช้ “สารฮิวมิก”

2.3 ความเป็นมาของสารฮิวมิก

2.3.1 แหล่งของสารฮิวมิก

สารฮิวมิกเป็นสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่ซึ่งประกอบด้วยสารอินทรีย์โมเลกุลเล็กหลายชนิด (heterogeneous organic molecules) มาประกอบกัน สารฮิวมิกในดินเป็นผลที่ได้จากการย่อยเศษซากของสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้วโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน ประมาณ 60% ของอินทรียวัตถุในดินเป็นสารฮิวมิก ดังนั้นจึงพบสารฮิวมิกอยู่ในดินทั่วไป (Muscolo *et al*., 2007) สารฮิวมิกมีในดิน ปุ๋ยหมักจากเศษพืช ปุ๋ยหมักจากกิจกรรมของไส้เดือน (vermicomposts) มูลไส้เดือน (earthworm casts) ขยะที่ย่อยสลายดีแล้ว ถ่านหินและแร่ลีโอนาไดต์ (leonadite) การใช้สารฮิวมิกในการเกษตรมีหลายวิธี ได้แก่ ใส่ในดิน ใส่ในระบบน้ำชลประทานและฉีดพ่นทางใบ

2.3.2 โครงสร้างของสารฮิวมิก

โครงสร้างโมเลกุลของสารฮิวมิกมีความซับซ้อน แต่เดิมเชื่อกันว่าการที่สารฮิวมิกมีโมเลกุลใหญ่ก็เพราะมีธรรมชาติเป็นพอลิเมอร์ (polimer) ของโมเลกุลสารอินทรีย์หรือโมเลกุลของสารอินทรีย์

อย่างหนึ่งเป็นโมโนเมอร์ (monomer) จำนวนมากมาเชื่อมกันและเกิดสารโมเลกุลใหญ่ ต่อมานักวิชาการมีความเห็นตรงกันว่าสารฮิวมิกประกอบด้วยสารอินทรีย์โมเลกุลขนาดเล็กหลายๆ อย่าง ซึ่งมาเชื่อมกันด้วย hydrophobic interaction และพันธะไฮโดรเจน (Piccolo, 2002; Sutton and Sposito, 2005)

ตามที่ได้กล่าวแล้วว่าโมเลกุลของสารฮิวมิกประกอบด้วยสารอินทรีย์โมเลกุลเล็กหลายชนิดมาประกอบกันเข้า ดังนั้นจึงเป็นการยากที่จะบอกน้ำหนักโมเลกุลที่แท้จริงของสารฮิวมิก อย่างไรก็ตาม บทบาทของสารฮิวมิกต่อพืชเกี่ยวข้องกับสมบัติของสารฮิวมิก 2 ประการ คือ (1) สารที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่ามักส่งผลเชิงบวกต่อกระบวนการเชิงชีวภาพของพืชมากกว่าสารที่มีโมเลกุลใหญ่กว่า และ (2) ลักษณะโครงสร้างของสารฮิวมิก อันได้แก่ประเภทและการจัดเรียงของหมู่ทำปฏิกิริยา (functional groups) ที่โมเลกุลของสาร มีผลต่อกิจกรรมเชิงชีวภาพของพืชมากกว่าขนาดของโมเลกุล (Canellas *et al*., 2010; Muscolo *et al*., 2007)

2.4 ผลของสารฮิวมิกต่อการเจริญเติบโตของพืช

สารฮิวมิกมีผลดีต่อพืชหลายด้าน เช่น เพิ่มมวลชีวภาพ (Ayuso *et al*., 1996; Lee and Bartlett, 1976) เพิ่มจำนวนดอกและผล (Arancon *et al*., 2006), และทำให้คุณภาพของผลดีขึ้น (Yildirim, 2007; Xu and Leskovar, 2015)

ในด้านผลของสารฮิวมิกต่อการดูดธาตุอาหารของเซลล์นั้น มีบางธาตุที่สารฮิวมิกช่วยให้การดูดเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อการดูดบางธาตุ (ตารางที่ 2) สำหรับตัวอย่างของกรณีที่สารฮิวมิกช่วยให้การดูดธาตุอาหารเพิ่มขึ้นมีดังนี้

1) เมื่อทดสอบเพียงช่วงเวลา 16-48 ชั่วโมง สารฮิวมิกกระตุ้นให้เซลล์สร้างอาร์เอ็นเอนำรหัส และโปรตีนที่เกี่ยวข้องการการดูดไนเทรต จึงส่งเสริมการดูดไนเทรตของเซลล์รากกล้าข้าวโพด นอกจากนั้นยังพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์ไนเทรตที่เซลล์ดูดได้ก็เพิ่มขึ้นอีกด้วย (Quaggiotti *et al*., 2004)

ตารางที่ 2 ผลของสารฮิวมิกต่อการดูดธาตุอาหารของพืชชนิดต่างๆ

พืช	ช่วยเพิ่มการดูดธาตุ	ที่มาของสารฮิวมิก
ข้าวบาร์เลย์	N (รูปไนเทรต)	ดิน
ข้าวบาร์เลย์	N (รูปไนเทรต)	ถ่านหิน
ข้าวโพด	N (รูปไนเทรต)	มูลไส้เดือน
ข้าวบาร์เลย์	N, P, Mn, Cu, Zn, Fe	ตะกอนน้ำเสีย ปุ๋ยหมัก พีต
ข้าวโพด	P, Fe	มูลสัตว์ ปุ๋ยหมัก พีต ดิน
ข้าวโพด	N, Zn	ดิน
ถั่วเหลือง	Zn, Fe	พีต ลิโอนาไดต์
ข้าวโพด	Cu, Zn, Mn	ลิโอนาไดต์
มะเขือเทศ	Fe	ลิกไนต์

ที่มา: Halpern *et al*. (2015)

2) สารฮิวมิกช่วยให้รากข้าวโพดดูดไนโตรเจนและสังกะสี และมีการสะสมธาตุทั้งสองในส่วนเหนือดินสูงขึ้น ส่วนการทดลองในข้าวบาร์เลย์ พบว่าสารฮิวมิกช่วยให้การดูดและสะสมฟอสฟอรัส แมงกานีส ทองแดง สังกะสีและเหล็กมากขึ้นด้วย (Ayuso *et al*., 1996)

3) ผลการทดลองในดินด่างและสารละลายปลูกพืชที่เป็นด่าง แสดงว่าสารฮิวมิกช่วยให้รากพืชดูดจุลธาตุหลายธาตุ เช่น เหล็ก ทองแดง แมงกานีส และสังกะสีได้มากขึ้น (Celik *et al*., 2011; Chen *et al*., 2004; Sanchez *et al*., 2006)

2.5 กลไกที่สารฮิวมิกมีผลต่อการดูดธาตุอาหารของพืช

สารฮิวมิกมีผลต่อการดูดธาตุอาหารของรากพืช เนื่องจากหลายกลไกดังนี้ ประการแรกเป็นกลไกที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการในดิน ซึ่งมีอยู่ 2 อย่างคือ (1) สารฮิวมิกทำให้โครงสร้างของดินดีขึ้น และ (2) สารฮิวมิกทำให้ความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารในดินสูงขึ้น ประการที่สองเป็นกลไกที่มีผลโดยตรงกับกระบวนทางสรีระของพืช ซึ่งมีอยู่ 3 อย่าง คือ (1) ผลของสารฮิวมิกต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานของราก (2) สารฮิวมิกเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ H^+ATPase และ (3) สารฮิวมิกทำให้เอนไซม์ที่ควบคุมการใช้ประโยชน์ไนเทรตมีกิจกรรมสูงขึ้น ดังรายละเอียดต่อไปนี้

2.5.1 สารฮิวมิกทำให้โครงสร้างของดินดีขึ้น

การใส่ปุ๋ยอินทรีย์อัตราสูงพอสมควร ช่วยเพิ่มปริมาณสารฮิวมิกในดิน ทำให้เสถียรภาพของเม็ดดิน (aggregate stability) สูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารฮิวมิกสามารถเชื่อมกับอนุภาคดินเหนียวโดยด้านในมีการเกาะตัวกันอย่างเหนียวแน่นระหว่างดินเหนียวกับสารฮิวมิก (clay-humic complex) แล้วหันเอาส่วนของโมเลกุลที่มีสมบัติผลักน้ำ (hydrophilic components) ออกมาด้านนอก ทำให้น้ำซึมเข้าไปในเม็ดดินได้ยาก สารฮิวมิกในโครงสร้างของเม็ดดินจึงคงทนต่อการย่อยสลายโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ ทำให้เม็ดดินมีเสถียรภาพสูงและไม่แตกสลายโดยง่าย การเกิดเม็ดดินทำให้ดินมีรูพรุนขนาดเล็ก ปานกลางและใหญ่ในสัดส่วนที่เหมาะสม ดินจึงถ่ายเทอากาศดี ความชื้นที่เป็นประโยชน์ในดินสูง และการกร่อนดินน้อยลง สมบัติทางกายภาพของดินดังกล่าวส่งเสริมให้รากมีการกระจายในดินได้ง่าย ซึ่งช่วยให้รากพืชมีพื้นที่ผิวมาก รากจึงดูดธาตุอาหารได้มากขึ้น อย่างไรก็ตาม มีข้อสังเกตในเรื่องนี้ 2 ประการ (Halpern *et al*., 2015) คือ

1) เนื่องจากการทำให้ดินมีสมบัติทางฟิสิกส์ทั้งสองด้าน คือ โครงสร้างดินและน้ำในดินเกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวต้องการสารฮิวมิกปริมาณมาก ดังนั้นปริมาณการใส่ปุ๋ยอินทรีย์ในดินต้องสูงพอ และมีการพรวนกลบซากพืชหลังการเก็บเกี่ยว จนมีการสะสมสารฮิวมิกปริมาณมาก มาตรการทั้งสองต้องใช้เป็นประจำทุกปีจึงจะทำให้เม็ดดินในดินชั้นไถพรวนมีเสถียรภาพสูงและสามารถรักษาสมบัติที่ดีดังกล่าวไว้อย่างต่อเนื่อง

2) บทบาทของสารฮิวมิกต่อสมบัติทางกายภาพของดินที่ดีขึ้น ไม่อาจใช้เป็นคำอธิบายในกรณีผลจากการใช้สารฮิวมิกใส่ในสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชหรือการฉีดพ่นสารฮิวมิกทางใบ

2.5.2 สารฮิวมิกทำให้ความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัส จุลธาตุในดินสูงขึ้น

ดินในบางสภาพ ฟอสฟอรัสและจุลธาตุในดินละลายยาก เป็นเหตุให้พืชที่ปลูกในดินดังกล่าวขาดแคลนธาตุเหล่านี้ การใส่สารฮิวมิกในดินช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของธาตุอาหารหลายธาตุ (Chen *et al*., 2004; Cesco *et al*., 2000; Sanchez-Sanchez *et al*., 2005 ; Delgado *et al*., 2002).

1) สารฮิวมิกช่วยเพิ่มความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดินและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของ

ปุ๋ยฟอสเฟตที่ใช้ ดังนี้

(1) ทำให้สารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตที่ละลายยาก ละลายได้มากขึ้น

(2) ลดการตรึงฟอสฟอรัสในดินของปุ๋ยฟอสเฟตที่ใส่ลงไป

(3) ปลดปล่อยฟอสเฟตบางส่วนที่ถูกตรึงให้ออกมาอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์

2) สารฮิวมิกเพิ่มความเป็นประโยชน์ของเหล็ก ดังนี้

(1) การใส่สารฮิวมิกส่วนที่ละลายน้ำได้ช่วยให้เหล็กไฮดรอกไซด์ในดินละลายได้มากขึ้น

(2) สารฮิวมิกทำปฏิกิริยากับสารประกอบเหล็กในดิน แล้วเกิดสารเชิงซ้อนที่เรียกว่าเหล็ก-ฮิวมิกคอมเพล็กซึ่งละลายได้ เหล็กรูปดังกล่าวเป็นประโยชน์ต่อพืชที่มีกลไกการใช้ประโยชน์จากเหล็กในดินที่แตกต่างกัน 2 กลยุทธคือหาเหล็กจากดินด้วยกลยุทธที่ 1 และกลยุทธที่ 2 (ดูรายละเอียดจาก ยงยุทธ, 2558) คือ

(ก) พวกใบเลี้ยงคู่และพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่ไม่ใช่พืชตระกูลหญ้า ใช้กลยุทธที่ 1

(ข) พวกใบเลี้ยงเดี่ยว เฉพาะพืชตระกูลหญ้า ใช้กลยุทธที่ 2

(3) สารฮิวมิกมีความสามารถในการดึงเหล็กที่เคยอยู่ในรูปคีเลตสังเคราะห์ซึ่งตกตะกอนในดินด่างให้ออกมาได้ เมื่อใส่สารฮิวมิกในดินเนื้อปูนหรือแคลคาเรียส เช่น ดึงเหล็กออกมาจากสารประกอบ Fe-EDDHA ทำให้มะเขือเทศ มะนาวและองุ่นที่ปลูกในดินดังกล่าว นำเหล็กมาใช้ได้มากขึ้น

3) สารฮิวมิกเพิ่มความเป็นประโยชน์ของจุลธาตุอื่นในดิน ดังนี้คือ สารฮิวมิกช่วยกระตุ้นให้กิจกรรมของเอนไซม์ H^+ATPase ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของรากสูงขึ้น ผลจากการที่เซลล์รากขับโปรตอนออกมาสู่ดินที่ผิวรากหรือไรโซสเฟียร์ (rhizosphere) ทำให้พีเอชในบริเวณนั้นลดลง ซึ่งช่วยส่งเสริมให้จุลธาตุพวกโลหะ คือ เหล็ก ทองแดง แมงกานีสและสังกะสีในไรโซสเฟียร์ละลายมากขึ้น

2.5.3 ผลของสารฮิวมิกและกรดฮิวมิกต่อลักษณะสัณฐานของราก

1) ผลของสารฮิวมิก

รากพืชที่ได้รับสารฮิวมิกมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐาน (morphology) (Canellas *et al*., 2002; Zandonadi *et al*., 2007; Schmidt *et al*., 2007) ดังนี้

(1) ต้นกล้าของข้าวสาลีที่ปลูกในน้ำกลั่นซึ่งเติมสารฮิวมิก มีการพัฒนาของรากดีกว่าการปลูกในน้ำกลั่นเพียงอย่างเดียว

(2) สารฮิวมิกจากมูลไส้เดือนช่วยเร่งให้ข้าวโพดแตกรากแขนง และทำให้รากยาวขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากสารฮิวมิกมีฤทธิ์คล้ายออกซิน สามารถกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ H^+ATPase ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของราก แล้วมีผลให้เซลล์รากเจริญเติบโตโดยการเพิ่มขนาด

(3) รากของต้นอะราบิดอพซิส (Arabidopsis) ที่ได้รับสารฮิวมิกซึ่งสกัดจากพีต มีความหนาแน่นของขนรากมากขึ้น

การที่สารฮิวมิกกระตุ้นการเจริญเติบโตของรากแขนงและเพิ่มจำนวนขนราก ช่วยเพิ่มพื้นที่สำหรับการดูดธาตุอาหาร จึงทำให้รากดูดธาตุอาหารได้มากกว่าเดิม

2) ผลของกรดฮิวมิก

(1) กรดฮิวมิกส่งเสริมการพัฒนาของรากแตงกวา กล่าวคือ แตงกวาที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารซึ่งมีกรดฮิวมิก 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง มีภาวะสมดุลของฮอร์โมนภายในราก จึงส่งเสริมให้มีการแตกแขนงของรากมากขึ้น (Mora *et al*., 2012) สำหรับบทบาท

ของกรดฮิวมิกต่อการเจริญเติบโตด้านส่วนเหนือดิน ของแตงกวานั้น Mora และคณะ (2010) รายงานว่า กรดฮิวมิกช่วยให้น้ำหนักของส่วนเหนือดินสูงขึ้น ขณะเดียวกันก็เพิ่มความเข้มข้นของฮอร์โมนไซโตไคนิน และสารพิวเทรสซีน (พอลิอะมีนชนิดหนึ่ง) ช่วยให้กิจกรรมของเอนไซม์โปรตอน-เอทีพีเอส และความเข้มข้นของไนเทรตในส่วนเหนือดินสูงขึ้นด้วย

(2) กรดฮิวมิกส่งเสริมการพัฒนารากในระยะแรกของพืชใบเลี้ยงคู่หลายชนิด การใช้กรดฮิวมิกความเข้มข้น 250 มิลลิกรัมต่อลิตร แช่เมล็ดแตงกวา ดาวเรือง ฟักทองและเจอราเนียม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ช่วยให้ต้นอ่อนที่ออกมานั้นมีการแตกรากแขนง และน้ำหนักราก มากกว่าการแช่ในน้ำกลั่นหรือสารละลายธาตุอาหาร (Hartwigsen and Evans, 2000) ผลการทดลองในถั่วปากอ้า (*Vicia faba* L.) แสดงว่าการเพิ่มกรดฮิวมิก 10 มิลลิลิตรในสารละลาย 1 ลิตร ทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากเพิ่มขึ้น 30.1% และ 56.6% ตามลำดับ และช่วยให้ความเข้มข้นของโพแทสเซียมในพืชเพิ่มขึ้นด้วย (Akinci *et al*., 2009)

(3) กรดฮิวมิกส่งเสริมการพัฒนารากของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวหลายชนิด ข้าวโพดที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร ซึ่งใส่กรดฮิวมิกจากมูลไส้เดือน 40 มิลลิกรัมต่อลิตร มีรากยาวขึ้นจากการยืดตัวของเซลล์และมีการแตกรากแขนงมากขึ้น นอกจากนี้กรดฮิวมิกยังช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์โปรตอน-เอทีพีเอส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำให้การดูดธาตุอาหารของรากสูงขึ้นด้วย (Canellas *et al*., 2002) ส่วนข้าวสาลีที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารซึ่งใส่กรดฮิวมิก 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการเจริญเติบโตของรากสูงขึ้น 25% สำหรับหญ้าเบนต์ (*Agrostis stolonifera* L.) ที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหาร ซึ่งมีกรดฮิวมิก 400 มิลลิกรัมต่อลิตร มีน้ำหนักรากมากขึ้นและกิจกรรมของเอนไซม์ดีไฮโดรจีเนสในรากสูงขึ้น กรดฮิวมิกยังช่วยเพิ่มการสังเคราะห์แสงของใบและเพิ่มความเข้มข้นของแมกนีเซียม แมงกานีสและกำมะถันในเนื้อเยื่อด้วย (Liu *et al*., 1998)

2.5.4 สารฮิวมิกเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ H^+ATPase และเอนไซม์ที่ควบคุมการใช้ประโยชน์ไนเทรต

ขั้นตอนแรกที่ออกซินควบคุมให้เซลล์พืชขยายขนาด คือกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ H^+ATPase ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้มีการขับโปรตอน (H^+) ออกไปที่ผนังเซลล์และเพิ่มสภาพกรดของผนังเซลล์ แล้วจึงมีกระบวนการอื่นๆ ตามมา ในที่สุดเซลล์สามารถขยายขนาดได้ สารฮิวมิกมีบทบาทในเรื่องนี้คล้ายออกซินและส่งผลให้เซลล์รากมีการขยายขนาด ดังที่ได้กล่าวแล้ว (Canellas *et al*., 2008; Nardi *et al*., 2000)

อย่างไรก็ตาม ผลสืบเนื่องของสารฮิวมิกยังมีอีก 2 ส่วน คือ (1) ช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ H^+ATPase ส่งผลให้เซลล์รากดูดไนเทรตได้มากขึ้น และ (2) ส่งเสริมการใช้ประโยชน์ไนเทรตของพืช

1) ช่วยให้เซลล์รากดูดไนเทรตได้มากขึ้น ดังนี้คือการขับโปรตอนออกมายังผนังเซลล์ นอกจากจะส่งเสริมการขยายขนาดเซลล์ดังที่กล่าวแล้ว ยังช่วยให้เซลล์รากดูดไนเทรตได้มากขึ้นอีกด้วย โดยทำให้กลไกการดูดไนเทรตไอออนด้วยโปรตีนพาหะขนส่งร่วมทางระหว่างไนเทรตกับโปรตอน (NO_3^- H^+-sympoter) มีประสิทธิภาพสูงขึ้นจึงมีอัตราการดูดไนเทรตสูงขึ้น (Quaggiotti *et al*., 2004; Zandonadi *et al*., 2010)

2) ส่งเสริมการใช้ประโยชน์ไนเทรตของพืช โดยสารฮิวมิกมีบทบาทต่อเนื่องในการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์ไนเทรตของเซลล์พืช ได้แก่ เอนไซม์ไนเทรตรีดักเทส (nitrate reductase) กลูตาเมตดีไฮโดรจีเนส (glutamate dehydrogenase) และกลูตาเมตซินทีเทส (glutamate synthetase) ส่วนของสารฮิวมิกที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้น

กิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้ได้มีลักษณะ 2 ประการ คือ สารฮิวมิกที่ (1) มีส่วนของโมเลกุลซึ่งมีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) และ (2) มีโครงสร้างของโมเลกุลที่ไม่มีความซับซ้อนมากนัก (Muscolo *et al*., 2007)

2.5.5 ผลของสารฮิวมิกต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมในด้านต่างๆ

เนื่องจากเซลล์รากพืชดูดสารฮิวมิกได้ สารฮิวมิกจึงมีบทบาทในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช ดังนี้

1) เซลล์พืชดูดสารฮิวมิกได้ เซลล์รากสามารถดูดโมเลกุลของสารฮิวมิกที่มีขนาดเล็ก แล้วเคลื่อนย้ายสารดังกล่าวสู่ส่วนเหนือดิน และมีผลให้การเจริญเติบโตของพืชดีขึ้น การดูดสารฮิวมิกของเซลล์เป็นดังนี้ รากพืชสามารถดูดกรดฮิวมิกและกรดฟุลวิกได้ แต่ดูดกรดฟุลวิกได้มากกว่ากรดฮิวมิก อัตราการดูดในช่วงแรกเร็วและเป็นกระบวนการแบบแพสซีฟ เนื่องจากเป็นการแพร่ของสารฮิวมิกเข้าไปและสะสมในผนังเซลล์ ส่วนหนึ่งเกาะแน่นอยู่กับผนังเซลล์ ในช่วงต่อมาแม้อัตราการดูดช้าลงแต่ยังดูดได้อย่างต่อเนื่องด้วยกระบวนการแบบแอกทีฟ ซึ่งใช้พลังงานโดยตรงจากเมแทบอลิซึม เซลล์พืชดูดสารฮิวมิกส่วนที่มีโมเลกุลเล็ก น้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 3,500 ดาลตัน ได้มากกว่าสารที่มีโมเลกุลใหญ่และมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 3,500 ดาลตัน กลไกการดูดสารฮิวมิกส่วนที่มีโมเลกุลเล็กเป็นกลไกการดูดแบบแอกทีฟ ส่วนที่เซลล์ดูดได้ประมาณ 10-12% เคลื่อนย้ายทางท่อลำเลียงน้ำหรือไซเล็มไปยังส่วนเหนือดิน (Nardi *et al.*, 2002)

2) สารฮิวมิกกระตุ้นกระบวนการเมแทบอลิซึมในด้านต่างๆ เมื่อเติมสารฮิวมิกในสารละลายธาตุอาหาร ทำให้อัตราการหายใจของมะเขือเทศ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีและข้าวโพดสูงขึ้น การฉีดพ่นทางใบอัตรา 300 มก./ลิตร ช่วยเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบและอัตราการสังเคราะห์แสงของใบชูการ์บีต การเติมในสารละลายธาตุอาหารปลูกข้าวโพด ช่วยเพิ่มการสะสมน้ำตาลในเซลล์รากข้าวโพด จึงเพิ่มความดันออสโมซิสของเซลล์ ทำให้พืชทนแล้งกว่าเดิม สำหรับยาสูบที่ได้รับสารฮิวมิกมีปริมาณของสารอัลคาลอยด์ในใบเพิ่มขึ้น (Tan, 2003)

3) สารฮิวมิกกระตุ้นการหายใจ

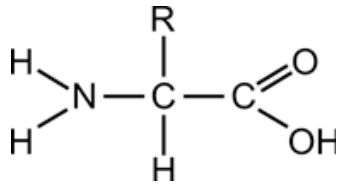
สารฮิวมิกช่วยเพิ่มอัตราการหายใจที่ไมโทคอนเดรีย ส่งเสริมกิจกรรมของวัฏจักรเคร็บ (Kreb cycle) และการสังเคราะห์อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (ATP) อันเป็นสารพลังงานสูง เพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสงในใบ และการสร้างกรดอะมิโนเพื่อใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน นอกจากนี้ สารฮิวมิกยังมีผลต่อการกำเนิดสัณฐานของพืช เช่นการเกิดและการพัฒนารูปร่างของใบพืชโดยทำหน้าที่กระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ที่สำคัญต่างๆ ซึ่งเกี่ยวข้องกับเรื่องดังกล่าว (Muscolo *et al*., 2007; Morard *et al*., 2011)

3. กรดอะมิโน (amino acids)

ก่อนที่จะอธิบายกลไกของกรดอะมิโนในการควบคุมการเจริญเติบโตและการดูดธาตุอาหารของเซลล์พืช จะได้กล่าวถึงเรื่องราวของกรดอะมิโนเป็นพื้นฐานก่อน แล้วจึงอธิบายการดูดกรดอะมิโนของเซลล์พืช ผลของกรดอะมิโนต่อการดูดธาตุอาหารและการเจริญเติบโตของพืช

3.1 เรื่องราวของกรดอะมิโน

กรดอะมิโน คือ สารประกอบอินทรีย์ซึ่งในหนึ่งโมเลกุลมีหมู่ทำหน้าที่ (functional group) 2 แบบ คือ หมู่อะมิโน (amino group) และหมู่คาร์บอกซิลิก (carboxylic group) ดังภาพที่ 2



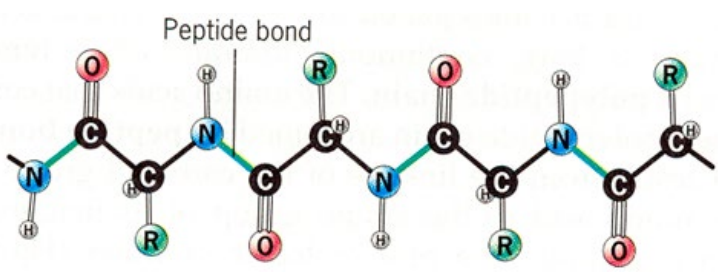
ภาพที่ 2 โครงสร้างพื้นฐานของกรดอะมิโน แสดงหมู่อะมิโน (ซ้าย) หมู่คาร์บอกซิลิก (ขวา) และโซ่ข้าง (side chain, R)
ที่มา: http://www.slideshare.net/yaning05/peptide-bond-structure

สิ่งมีชีวิตมีกรดอะมิโน 20 ชนิด ทำหน้าที่เป็นหน่วยย่อยของโปรตีน แต่มีกว่า 250 ชนิด ทำหน้าที่อื่นๆ ในพืช เช่น ปกป้องพืชเมื่อมีความเครียดจากสภาพแวดล้อมที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต (biotic and abiotic stresses) ทำหน้าที่เป็นโมเลกุลสัญญาณ เก็บสำรองไนโตรเจน และเป็นสารคีเลตทำหน้าที่จับไอออนของโลหะ เช่น ไฟโตซิเดโรฟอร์ (phytosiderophores) จับธาตุเหล็กในดินไว้ในรูปคีเลต เมื่อกรดอะมิโน 2 โมเลกุลมาเชื่อมกันด้วยพันธะเพ็บไทด์ (peptide bond) ได้ไดเพ็บไทด์ (dipeptide) หากมีการเชื่อมต่อของกรดอะมิโนหลายๆ โมเลกุลเป็นเส้น เรียกโมเลกุลใหม่นั้นว่าพอลีเพ็บไทด์ (polypeptide) (Vranova *et al*., 2011)

3.2 โปรตีนไฮโดรไลเสต

ผลิตภัณฑ์กรดอะมิโนที่ใช้เป็นสารกระตุ้นเชิงชีวภาพ มิได้เป็นกรดอะมิโนอย่างใดอย่างหนึ่งที่บริสุทธิ์ แต่ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิดและเพ็บไทด์ท่อนสั้นๆ (short peptides) ดังภาพที่ 3 ผลิตภัณฑ์ที่มีกรดอะมิโนและเพ็บไทด์เป็นส่วนประกอบเรียกว่าโปรตีนไฮโดรไลเสต (protein hydrolysate) ซึ่งได้จากการนำโปรตีนมาย่อยด้วยปฏิกิริยาแยกสลายด้วยน้ำหรือไฮโดรไลซิส (hydrolysis) (du Jardin, 2012) ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสต จึงหมายถึงผลิตผลของโปรตีนที่ได้จากการไฮโดรไลซิสโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรตีเนส หรือกรด หรือด่าง โดยโมเลกุลของโปรตีนขนาดใหญ่ถูกตัดพันธะ ทำให้มีขนาดเล็กลงเป็นเพ็บไทด์หรือกรดอะมิโนอิสระ โปรตีนที่ใช้เป็นวัตถุในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตมาจากหลายแหล่ง เช่น โปรตีนจากพืช สัตว์และจุลินทรีย์ ได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งใช้สำหรับกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชหลายวิธี เช่น ใส่ในดิน ฉีดพ่นทางใบ หรือคลุกเมล็ดพืชก่อนปลูก (Ertani *et al*., 2009; Maini, 2006; Schiavon *et al*., 2008)

กระบวนการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสต มี 5 ขั้นตอน ดังนี้



ภาพที่ 3 พอลิเพ็บไทด์ท่อนสั้นๆ เกิดจากมีกรดอะมิโนหลายตัวเชื่อมกันด้วยพันธะเป็บไทด์ (peptide bond)
ที่มา: http://www.slideshare.net/yaning05/peptide-bond-structure

1) เลือกวัตถุดิบซึ่งเป็นสารที่ให้โปรตีนสำหรับกระบวนการผลิต วิเคราะห์เพื่อประเมินคุณภาพ

2) ใส่น้ำ ปรับพีเอช และปรับอุณหภูมิให้เหมาะสมสำหรับกระบวนการไฮโดรไลซิส

3) กรณีที่ย่อยด้วยเอนไซม์ ใส่เอนไซม์ย่อยโปรตีน เพื่อเริ่มการย่อย

4) เมื่อการย่อยเสร็จก็หยุดปฏิกิริยาโดยให้ความร้อน

5) นำของเหลวที่ได้จากปฏิกิริยาการย่อยมากรอง เพื่อแยกสิ่งที่ไม่ต้องการออกไป

6) หากต้องการผลิตภัณฑ์ที่เป็นของแข็งก็นำมาระเหยน้ำแล้วทำให้เป็นผงโดยวิธี spray dry

7) บรรจุหีบห่อที่ป้องกันความชื้น เนื่องจากโปรตีนไฮโดรไลเสตดูดความชื้นง่าย

3.3 การดูดกรดอะมิโนของเซลล์พืช

เซลล์รากและเซลล์ใบสามารถดูดโมเลกุลของกรดอะมิโนที่ละลายน้ำได้ โดยใช้โปรตีนพาหะที่เยื่อหุ้มเซลล์ พืชนำกรดอะมิโนที่ดูดได้ไปใช้ประโยชน์ 2 ทาง คือเป็นแหล่งของไนโตรเจนและใช้ในการกระตุ้นเมแทบอลิซึมของเซลล์ แต่เนื่องจากความเข้มข้นของกรดอะมิโนที่ใช้ค่อนข้างต่ำ เมื่อเทียบกับความเข้มข้นของปุ๋ยไนโตรเจน ผลของกรดอะมิโนต่อการเจริญเติบโตของพืช จึงเป็นผลจากการกระตุ้นกิจกรรมของเซลล์ เช่น การเติมกรดอะมิโนในสารละลายธาตุอาหารสำหรับปลูกพืชเพียง 10-100 ไมโครโมล (กรดอะมิโนบริสุทธิ์)/ลิตร ในขณะที่สารละลายสำหรับปลูกพืชมีไนโตรเจนอยู่แล้ว 5,000 ไมโครโมล N/ลิตร การใส่จึงมุ่งหมายที่จะกระตุ้นให้พืชมีการดูดใช้ไนโตรเจนจากสารละลายธาตุอาหารได้ดีขึ้น (Ghasemi *et al*., 2012)

3.4 ผลของกรดอะมิโนต่อพืช

การใช้กรดอะมิโนช่วยพืช 3 ด้าน คือ (1) รากพืชดูดธาตุอาหารมากขึ้น จึงเพิ่มมวลชีวภาพ (2) พืชทนต่อความเครียดที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมที่ไม่มีชีวิต (เช่น อุณหภูมิต่ำหรือสูงเกินไป และการขาดน้ำ) และสิ่งแวดล้อมที่มีชีวิต (เช่น โรค) และ (3) เพิ่มปริมาณสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ในใบ

บทบาทที่เด่นของกรดอะมิโนต่อการเจริญเติบโตของพืช คือ ช่วยเพิ่มการดูดธาตุอาหารและเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ธาตุอาหารที่ดูดได้ทั้งธาตุหลักและจุลธาตุ (ตารางที่ 3) ในที่นี้จะยกตัวอย่างผลเชิงบวกของกรดอะมิโนต่อการดูดใช้ธาตุอาหารของพืช 3 ตัวอย่าง ซึ่ง Maini (2006) ประมวลไว้ดังนี้

1) การใช้กรดอะมิโนร่วมกับปุ๋ยไนโตรเจนที่ลดอัตราการใส่ลงไปครึ่งหนึ่ง ช่วยให้ข้าวโพดได้ผลผลิตคล้ายกับเมื่อใช้ไนโตรเจนอัตราปกติ

2) การใช้กรดอะมิโนร่วมกับปุ๋ยแคลเซียม ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการแก้ไขปัญหาการขาดแคลเซียมของแอปเปิลและมะเขือเทศได้ดีกว่าการใช้ปุ๋ยแคลเซียมเพียงอย่างเดียว

3) การใช้กรดอะมิโนผสมร่วมกับปุ๋ยเหล็กฉีดพ่นทางใบ ช่วยแก้ปัญหาอาการใบอ่อนซีดเหลืองเนื่องจากการขาดเหล็กได้ดีขึ้น

3.5 กลไกของกรดอะมิโนที่มีผลต่อการดูดธาตุอาหารของพืช

การใช้กรดอะมิโนช่วยให้พืชดูดใช้ธาตุอาหารได้ดีขึ้น มาจาก 2 ด้าน คือ ผลต่อกระบวนการทางดินและผลต่อกระบวนการทางสรีระของพืชโดยตรง

ผลต่อกระบวนการทางดินมี 2 ประการ คือ (1) ส่งเสริมกิจกรรมของจุลินทรีย์ดินและกระบวนการแปรสภาพของธาตุอาหารจากรูปสารอินทรีย์ซึ่งพืชใช้ไม่ได้ มาเป็นรูปสารอนินทรีย์ ซึ่งเซลล์รากดูดไปใช้ง่าย หรือที่เรียกว่ามินเนอราลไลเซชัน (mineralization) ของธาตุอาหารในดิน และ (2) เพิ่มการละลายจุลธาตุในดิน ให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชมากขึ้น โดยทำให้อยู่ในรูปคีเลตและเปลี่ยนให้อยู่ในรูปรีดิวซ์

ตารางที่ 3 ผลเชิงบวกของกรดอะมิโนต่อการดูดใช้ธาตุอาหารของพืช

พืช	ธาตุอาหาร/รูปของธาตุอาหาร	แหล่งของกรดอะมิโน หรือชนิดของกรดอะมิโน
ข้าวโพด	N	เนื้อเยื่อจากผิวหนังของสัตว์
ข้าวโพด	NO_3^-	โปรตีนไฮโดรไลเสตจากอัลฟาลฟา
มะเขือเทศ	Fe, Zn, N	กรดอะมิโนฮีสทิดีน ไกลซีนและอาจินีน
ข้าว	Fe, Zn, Cu, Mn	โปรตีนไฮโดรไลเสตจากขนไก่
สาลี่	Fe, Zn	กรดอะมิโนหลายชนิดผสมกัน
ถั่วเหลือง	Fe	กรดอะมิโน 3 แบบ (1) ไกลซีนเป็นหลัก (2) ไกลซีน+กลูตาเมต และ (3) ไกลซีน+อาร์จินีน แต่ละแบบมีโพลีเพ็บไทด์เป็นองค์ประกอบ 3-15%
ข้าวโพด	Cu	ซีสเทอีน
ข้าว	Fe, Zn	นิคโคเทียนามีนและกรดอะมิโนบางชนิด

ที่มา: Halpern *et al*. (2015)

ส่วนผลต่อกระบวนการทางสรีระของพืชโดยตรง มี 3 ประการ คือ (1) มีการเปลี่ยนแปลงด้านลักษณะสัณฐานของราก (2) ช่วยให้จุลธาตุในพืชมีการเคลื่อนย้ายดีขึ้น และ (3) เพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนในพืช

3.5.1 ส่งเสริมกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน

การใส่กรดอะมิโนลงไปในดินช่วยให้กิจกรรมของจุลินทรีย์ในดินสูงขึ้น ซึ่งมีผล 2 ประการ คือ (1) เร่งการสลายตัวของเศษซากพืชให้เป็นฮิวมัส ซึ่งมีผลต่อสมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของดิน และ (2) การสลายตัวของสารอินทรีย์ในดิน มีผลให้ธาตุอาหารที่เคยอยู่ในเศษซากพืช ถูกปลดปล่อยออกมาในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (Garcia-Martinez *et al*., 2010).

3.5.2 ทำปฏิกิริยาคีเลชันกับจุลธาตุพวกโลหะ

พืชที่ปลูกในดินซึ่งมีจุลธาตุที่เป็นประโยชน์ต่ำ จะขับสารที่มีกรดอะมิโนบางชนิดที่เรียกว่าไฟโตซิเดอโรฟอร์ออกมาจากเซลล์ราก เพื่อช่วยละลายและเพิ่มความเป็นประโยชน์ของจุลธาตุเหล่านั้น ซึ่งแสดงว่ากรดอะมิโนสามารถทำปฏิกิริยาคีเลชันกับไอออนของโลหะ เช่น เหล็ก สังกะสี แมงกานีสและทองแดง ได้คีเลตอันเป็นรูปที่เซลล์พืชดูดไปใช้ประโยชน์ได้ง่าย ทั้งทางรากและเซลล์ใบก็ดูดจุลธาตุรูปดังกล่าวไปใช้ได้ด้วย (Jie *et al*., 2008) เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์พืชมีโปรตีนพาหะสำหรับการดูดกรดอะมิโน เช่น โปรตีนพาหะที่ชื่อ lysine histidine transporter 1 (LHT1) amino acid permease 1 (AAP1) และ amino acid\permease 5 (AAP5) ด้วยเหตุนี้เองปุ๋ยจุลธาตุที่ใช้ในสารละลายปลูกพืชและใช้ทางใบ จึงมีส่วนผสมของกรดอะมิโน (Ghasemi *et al*., 2012; Jie *et al*., 2008; Rodríguez-Lucena *et al*., 2010)

3.5.3 ทำปฏิกิริยารีดักชันกับโลหะ

กรดอะมิโนบางชนิด เช่น ซีสเทอีน เป็นรีดักแทนต์ สามารถทำให้ไอออนของโลหะเปลี่ยนจากรูปออกซิไดส์เป็นรูปรีดิวซ์ได้ ดังนั้นการใส่

ซีสเทอีนในสารละลายธาตุอาหารที่ปลูกข้าวโพด พบว่ารากข้าวโพดดูดทองแดงจากสารละลายปลูกพืชได้มากขึ้น เนื่องจากทองแดงรูปคิวปริก (Cu II) ถูกรีดิวซ์เป็นคิวปรัสไอออน (Cu I) ซึ่งรากพืชดูดไปใช้ประโยชน์ง่าย (Zhou *et al*., 2007)

3.5.4 มีผลต่อลักษณะสัณฐานของราก

การใส่กรดอะมิโนในสารละลายธาตุอาหารมีผลต่อลักษณะของรากพืช (Walch-Lui *et al*., 2006) ดังนี้

1) การใส่ L-กลูตาเมต มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของรากปฐมภูมิ และช่วยกระตุ้นการแตกรากแขนง นอกจากนี้ยังส่งเสริมการเกิดขนรากบริเวณใกล้ปลายรากอีกด้วย ผลดังกล่าวเกิดขึ้นเมื่อใช้ L-กลูตาเมตเท่านั้น ไม่พบการตอบสนองเช่นนี้เมื่อใส่กรดอะมิโนอื่นๆ อีก 21 ชนิด ซึ่งรวมทั้ง D-กลูตาเมตด้วย

2) กรดอะมิโนทริปโตแฟน ก็กระตุ้นการเจริญเติบโตของราก เนื่องจากกรดอะมิโนชนิดชนิดนี้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการสังเคราะห์ออกซิน

3.5.5 ช่วยให้จุลธาตุในพืชมีการเคลื่อนย้ายดีขึ้น

จุลธาตุที่เคลื่อนย้ายทางโฟลเอ็มมิได้เป็นไอออนอิสระ แต่เคลื่อนย้ายในรูปคีเลตซึ่งมีกรดอะมิโนบางชนิด เช่น กรดอะมิโนในนิโคเตียนามีน (nicotianamine) ซึ่งพืชสังเคราะห์เอง ทำหน้าที่เป็นสารคีเลต เมื่อทดลองให้สารนี้แก่พืชก็พบว่ามีผลด้านการกระตุ้นกระบวนทางสรีระของพืชหลายอย่าง ผลการทดลองให้นิโคเตียนามีนแก่ข้าว ปรากฏว่าทำให้การเคลื่อนย้ายเหล็กและสังกะสีไปยังเมล็ดมากขึ้น ซึ่งเป็นการเพิ่มคุณภาพด้านโภชนาการของเมล็ดข้าว (Curie *et al*., 2009; Yuan *et al*., 2013)

3.5.6 เพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์ของไนโตรเจนในพืช

พืชที่ได้รับกรดอะมิโน มีกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์ไนเทรต และเมแทบอลิซึมของคาร์บอนสูงขึ้น (Maini, 2006; Ertani *et al*., 2009; Schiavon *et al*., 2008) ซึ่งสรุปได้ดังนี้

1) ข้าวโพดที่ปลูกในสารละลายธาตุอาหารและได้รับกรดอะมิโนทางใบ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/ลิตร มีกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์ไนเทรตสูงขึ้นทุกชนิดทั้งในรากและส่วนเหนือดิน คือ ไนเทรตรีดักเทส ไนไทร์ตรีดักเทส กลูตาเมตซินทีเทส และกลูตาเมตซินเทส ซึ่งส่งผลให้ความเข้มข้นของไนเทรตในเนื้อเยื่อพืชลดลง แต่ความเข้มข้นของไนโตรเจนทั้งหมดไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากนี้ยังพบว่า ลักษณะการกระตุ้นกิจกรรมการใช้ประโยชน์ไนเทรตของกรดอะมิโนและโปรตีนไฮโดรไลเสตนั้น คล้ายกับการกระตุ้นของฮอร์โมนพืช 2 อย่าง คือ ออกซินและจิบเบอเรลลิน

2) กรดอะมิโนที่พืชได้รับยังช่วยกระตุ้นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของคาร์บอนอีกด้วย แสดงว่าการให้กรดอะมิโนแก่พืช มีส่วนช่วยควบคุมสมดุลระหว่างคาร์บอนและไนโตรเจน (C:N balance) ทั้งนี้เนื่องจากในกระบวนการใช้ประโยชน์ไนเทรตของพืชนั้น ขั้นสุดท้ายเป็นการสังเคราะห์กรดอะมิโนใหม่คือกลูตาเมต โดยการย้ายหมู่อะมิโนให้กับแอลฟา-คีโตกลูตาเรต ซึ่งมาจากเมแทบอลิซึมของคาร์บอน

4. สารสกัดจากวัชพืชทะเล (seaweed extract)

วัชพืชทะเล (seaweed) หมายถึงสาหร่ายขนาดใหญ่ (macroalgae) ที่พบตามชายฝั่งทะเลแถบอบอุ่น เมื่อนำมาสกัดสารต่างๆ ออกจากเซลล์ ก็เรียกสารที่ได้ว่า “สารสกัดจากวัชพืชทะเล (seaweed extract) เรื่องสารสกัดจากวัชพืชทะเลหรือสารสกัด

จากสาหร่ายทะเล แบ่งสาระออกเป็น 4 ส่วน คือ (1) เรื่องราวทั่วไปของวัชพืชทะเล (2) ลักษณะของสารสกัดจากวัชพืชทะเล (3) ผลของสารสกัดจากวัชพืชทะเลต่อพืช และ (4) กลไกที่สารสกัดจากวัชพืชทะเลมีผลต่อการดูดธาตุอาหารของพืช บทความนี้จะใช้คำ “สารสกัดจากวัชพืชทะเล” เพื่อให้ตรงกับคำในภาษาอังกฤษที่ใช้ “seaweed extract”

4.1 เรื่องราวทั่วไปของวัชพืชทะเล

วัชพืชทะเลเป็นองค์ประกอบสำคัญของระบบนิเวศชายฝั่งทะเล (coastal ecosystems) ประกอบไปด้วยสาหร่ายขนาดใหญ่ (macroscopic marine algae) และสาหร่ายหลายเซลล์ (multicellular marine algae) สำหรับสาหร่ายขนาดใหญ่มีประมาณ 10,000 ชนิด แบ่งเป็น 3 กลุ่ม คือ สาหร่ายสีน้ำตาล (Phaeophyta) สาหร่ายสีแดง (Rhodophyta) และสาหร่ายสีเขียว (Chlorophyta) ซึ่ง Battacharyya *et al*., 2015 และ Khan *et al*., 2009 สรุปไว้ดังนี้

วัชพืชทะเลสีน้ำตาล (brown seaweed-ภาพที่ 4) มีความสำคัญเนื่องจากสาเหตุ 2 ประการ คือ

1) มีประมาณ 2,000 ชนิด แต่ให้มวลชีวภาพมาก กล่าวคือเฉพาะบริเวณชายชายฝั่งทะเลในแถบอบอุ่น วัชพืชทะเลสีน้ำตาลมีมวลชีวภาพมากที่สุดเมื่อเทียบกับวัชพืชทะเลสีแดงและวัชพืชทะเลสีเขียว

ภาพที่ 4 สาหร่ายทะเล *Ascophyllum nodosum*
ที่มา: http://totallypelagic.com/?p=49

2) นำมาใช้มากในการเกษตร และมีการวิจัยมากกว่าสาหร่ายทะเลชนิดอื่น คือ *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis ดังภาพที่ 4 ซึ่งพบในตอนเหนือของมหาสมุทรแอตแลนติก นอกจากนั้นยังนำ *Ecklonia maxima, Macrocystis pyrifera* และ *Durvillaea potatorum* มาใช้มากเช่นเดียวกัน

ภาพที่ 5 วัชพืชทะเลสีน้ำตาลบางชนิดถูกน้ำทะเลพัดพาขึ้นมาบนชายฝั่ง

วัชพืชทะเลเป็นแหล่งอินทรียวัตถุและธาตุอาหาร เกษตรกรในประเทศต่างๆ ของยุโรปที่อยู่ใกล้ทะเล ได้นำมาใช้ในการปรับปรุงดินนานกว่า 100 ปีแล้ว (ภาพที่ 5) ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์จากวัชพืชทะเลมากกว่า 15 ล้านตัน ส่วนมากใช้ในการผลิตพืช ส่วนน้อยใช้เป็นอาหารคนและอาหารสัตว์ สำหรับที่ใช้ในการผลิตพืชนั้น ส่วนมากใช้เป็นปุ๋ยอินทรีย์ เพื่อใส่ในดินโดยตรง อีกส่วนหนึ่งพัฒนาเป็น “สารกระตุ้นเชิงชีวภาพ” สำหรับพืช

4.2 การสกัดสารจากวัชพืชทะเล

การสกัดสารจากวัชพืชทะเลทำได้หลายวิธี โดยมีหลักการสำคัญ คือ ทำให้เซลล์แตกและองค์ประกอบภายในเซลล์ออกมาจากการสกัด ส่วนสารที่ใช้สกัดมีทั้งกรดและด่าง นอกจากนั้นยังมีการใช้ความดันด้วย ดังนั้นแม้วัตถุดิบจะเป็นวัชพืชทะเลชนิดเดียวกัน แต่ถ้าใช้วิธีการสกัดที่ต่างกันหรือใช้สารเคมีต่างกันในกระบวนการสกัด ก็ได้ผลิตภัณฑ์

ที่มีผลต่อการกระตุ้นเชิงชีวภาพที่แตกต่างกันด้วย นอกจากนั้นสภาพของวัชพืชทะเลก่อนสกัดยังอาจมี 2 แบบ คือ สกัดเมื่อแห้ง และสกัดเมื่อยังสด วิธีทั่วไปที่ใช้ในการสกัดวัชพืชทะเลแห้งคือใช้ด่างหรือใช้กรดเป็นสารสกัด สำหรับด่างมักจะใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ ส่วนการสกัดวัชพืชทะเลสด อาจใช้น้ำภายใต้สภาพความดันสูง (du Jadin, 2015)

4.3 องค์ประกอบของสารสกัดจากวัชพืชทะเล

สารสกัดจากที่มาจากวัชพืชทะเลต่างชนิดและใช้สารสกัดที่มีพีเอชต่างกัน ทำให้องค์ประกอบของสารที่ได้แตกต่างกัน อาจแบ่งองค์ประกอบออกเป็น 2 ส่วน คือ สารอนินทรีย์และสารอินทรีย์ (Battacharyya *et al*., 2015; Khan *et al*., 2009) ดังนี้

4.3.1 สารอนินทรีย์

สารอนินทรีย์ที่มีในสารสกัดจาก *Ascophyllum nodosum* ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม แมกนีเซียมกำมะถัน เหล็ก สังกะสี และโซเดียม

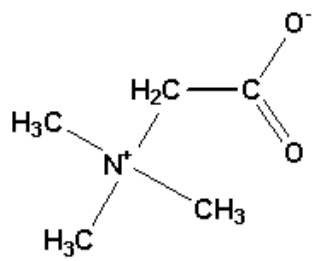
4.3.2 สารอินทรีย์

สารสกัดจาก *Ascophyllum nodosum* มีสารอินทรีย์หลายกลุ่ม ได้แก่ (1) ออสโมไลต์ (osmolite) (2) พอลิแซกคาไรด์ (polysaccharides) (3) สารฟีโนลิก (phenolic compounds) และ (4) ฮอร์โมน (hormones)

1) ออสโมไลต์ เป็นสารซึ่งมีสมบัติละลายน้ำได้ อยู่ในของเหลวภายในเซลล์ ทำหน้าที่ควบคุมออสโมซิสของเซลล์ ช่วยรักษาปริมาตรเซลล์และปริมาณน้ำภายในเซลล์ และมีบทบาทสำคัญในการรักษาโครงรูปของโมเลกุลโปรตีนให้เหมาะสำหรับการทำหน้าที่

สารอินทรีย์ซึ่งมีอยู่ในสารสกัดจากวัชพืชทะเลและเป็นออสโมไลต์ ได้แก่

(1) บีเทน (betains) และสารคล้ายบีเทน (betain analogues) ได้แก่ (1) γ-aminobutyric acid betaine (ABAB) ซึ่งมีอยู่ 0.02-0.07% (ของน้ำหนักแห้ง) (2) glycine betains (ภาพที่ 6) (3) aminovaleric acid betaine และ (4) laminine



ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของไกลซีน บีเทน

(2) แมนนิทอล (mannitol) เป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลแมนโนส (mannose) จัดเป็นออสโมไลต์ที่สำคัญ และช่วยให้พืชทนต่อความเครียดได้ดี

บทบาทสำคัญของบีเทนและสารคล้ายบีเทนมี 2 ประการ คือ

(1) ช่วยในการปรับออสโมซิสของราก ทำให้บรรเทาจากภาวะความเครียดเมื่ออยู่ในดินเค็มหรือความชื้นที่เป็นประโยชน์ในดินน้อย

(2) ช่วยให้ใบพืชเขียวขึ้น เนื่องจากการเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์และชะลอการสลายของโมเลกุลคลอโรฟิลล์ที่มีอยู่เดิมในใบ

2) พอลิแซกคาไรด์ (polysaccharides) วัชพืชทะเลที่เป็นสาหร่ายสีแดงและสีน้ำตาล มีชนิดของพอลิแซกคาไรด์มากกว่าที่พบในพืชบก เช่น สาหร่ายสีน้ำตาลที่ชื่อ *Ascophyllum nodosum* มี laminaran, fucoidan, glucans ที่มีโครงสร้างคล้าย lichenan, glucan ที่มี fucose เป็นองค์ประกอบ และ alginate สารสกัดจากวัชพืชทะเลมีสารเหล่านี้

เป็นองค์ประกอบในปริมาณที่ต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของสาหร่ายที่ใช้เป็นวัตถุดิบ ช่วงเวลาที่เก็บเกี่ยวสาหร่าย และกระบวนการสกัด สารที่มีกิจกรรมเชิงชีวภาพค่อนข้างมาก คือ laminaran เนื่องจากช่วยกระตุ้นให้พืชสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรค (pathogenesis-related protein) ซึ่งมีสมบัติต้านจุลินทรีย์ (antimicrobial properties) ช่วยให้พืชมีความต้านทานต่อโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย

3) สารฟีโนลิก (phenolic compounds) สารฟีโนลิกเป็นเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่พืชสังเคราะห์เมื่ออยู่ในสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เนื่องจากสารดังกล่าวช่วยป้องกันมิให้เซลล์และออร์แกเนลล์ในเซลล์ได้รับผลกระทบจากความเครียด

บทบาทสำคัญของสารฟีโนลิกต่อพืชคือเป็นสารที่มีกิจกรรมด้านลดออกซิเดชัน (antioxidant activity) เช่น phlorotannins สามารถทำลายอนุมูลอิสระพวกซูเปอร์ออกไซด์ ไฮดรอกซิล และเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเกิดในเซลล์เมื่อพืชมีความเครียด

4) ฮอร์โมน (hormones) แม้ว่าวัชพืชทะเลจะมีธาตุอาหารต่างๆ หลายธาตุ แต่มิใช่ปัจจัยทั้งหมดที่ทำให้พืชตอบสนองเมื่อได้รับสารสกัดจากวัชพืชทะเล ทั้งนี้เนื่องจากพบว่าสารสกัดดังกล่าวมีฮอร์โมนพืชหลายชนิด เช่น ออกซิน ไซโตไคนิน กรดแอบซิสิก

ไซโตไคนินมีในเซลล์ของวัชพืชทะเลหลายรูป เช่น trans-zeatin, trans-zeatin riboside และอนุพันธ์ของสารทั้งสองนี้ นอกจากนั้นยังมีไซโตไคนินที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน คือ cytokinins benzyl amino purine อีกด้วย

สารสกัดจาก *Ascophyllum nodosum* มีออกซินชื่อกรดอินโดลแอซิติกประมาณ 50 มิลลิกรัมต่อสาหร่ายแห้ง 1 กรัม ส่วน *Ecklonia maxima* มีออกซินซึ่งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากถั่วเขียวเช่นเดียวกัน

นอกจากฮอร์โมนทั้งสองชนิดนี้แล้ว สารสกัดจาก *Ascophyllum nodosum* และ *Laminaria digitata* ยังมีกรดแอบซิสิกและสารอื่นที่คล้ายคลึงกับกรดแอบซิสิก ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของกล้าผักกาดหอม

5) สเตอโรล (sterols) เป็นสารที่จัดอยู่กลุ่มลิปิด วัชพืชทะเลแต่ละอย่างมีชนิดของสเตอโรลที่สะสมมากแตกต่างกัน เช่น วัชพืชทะเลสีน้ำตาลมี fucosterol และอนุพันธ์ของ fucosterol มาก วัชพืชทะเลสีน้ำแดงมี colesterol และอนุพันธ์ของ colesterol มาก ส่วนสาหร่ายสีเขียวมี ergosterol และ 24-methylenecholesterol มากกว่าอย่างอื่น

4.4 ภาพรวมผลการใช้สารสกัดจากวัชพืชทะเลวิธีต่างๆ ต่อพืช

การศึกษาใช้สารสกัดจากวัชพืชทะเลกับพืช 3 วิธี คือ ให้ทางใบ ใส่ทางดินและใช้หลังการเก็บเกี่ยว แล้วประมวลผลการใช้ และพิจารณากลไกที่เกี่ยวข้องกับผลที่ได้รับ ซึ่ง Battacharyya *et al*. (2015) ประมวลไว้ ดังตารางที่ 4

4.5 ผลของสารสกัดจากวัชพืชทะเลต่อการใช้ธาตุอาหารของพืช

สารสกัดจากวัชพืชทะเลมีผลต่อพืชหลายด้าน เช่น ส่งเสริมการงอกของเมล็ด ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโต การออกดอกและผลผลิต (Demir *et al*., 2006; Kumar and Sahoo, 2011) นอกจากนี้ยังช่วยให้พืชทนต่อโรคบางชนิดอีกด้วย (Jayaraman *et al*., 2011; Loureiro *et al*., 2012)

4.5.1 ผลต่อการดูดและสะสมธาตุอาหารของพืช

สารสกัดจากวัชพืชทะเลส่งเสริมการดูดธาตุอาหารของพืช (ตารางที่ 5) ผลการทดลองในองุ่นที่ปลูกในวัสดุปลูกเพอไลต์และให้สารละลายธาตุอาหารระดับที่เพียงพอ การฉีดพ่นสารสกัดจากวัชพืชทะเล ช่วยให้ต้นองุ่นสะสมธาตุอาหารต่างๆ ได้

มากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่ไม่ได้ฉีดพ่นสาร แต่ถ้าสารละลายธาตุอาหารที่ให้ทางรากอยู่ในระดับปานกลางหรือต่ำ การฉีดพ่นสารจะไม่มีผลต่อการสะสมธาตุอาหารของต้นองุ่น การฉีดพ่นสารสกัดจากวัชพืชทะเล กระตุ้นให้รากองุ่นดูดธาตุทองแดงได้มากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับตำรับที่เพิ่มความเข้มข้นของทองแดงในสารละลายธาตุอาหาร (Turan and Kose, 2004)

ตารางที่ 4 ภาพรวมของผลการศึกษาการใช้สารสกัดจากวัชพืชทะเลวิธีต่างๆ ต่อพืช

วิธีใช้	ผลที่มีการศึกษา	กลไกที่เกี่ยวข้อง
ฉีดพ่นทางใบ	การปรับตัวต่อความเครียดจากสิ่งไม่มีชีวิต (ความเค็ม ความแห้งแล้ง ความหนาวเย็น อุณหภูมิสูง น้ำขังในดินและภาวะมลพิษ)	กระตุ้นการแสดงออกของยีนหลายตัว
	การเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิต (รากและส่วนเหนือดิน การออกดอก ผลผลิต ขนาดและความสุกแก่ของผล)	1. การสะสมออสโมไลต์ (osmolytes) เช่น โพรลีน ซอบิทอล ไกลซีน บีเทน 2. ประสิทธิภาพการใช้น้ำ (การคายน้ำ สัดส่วนของราก/ส่วนเหนือดิน) 3. สารต้านออกซิเดชัน
ให้หลังการเก็บเกี่ยว	อายุการเก็บรักษา คุณภาพระหว่างการเก็บรักษา	การเปลี่ยนแปลงทางสรีระและชีวเคมี (การวาย การเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ การเคลื่อนย้ายของจุลธาตุ)
การใส่ในดิน	ด้านสภาพแวดล้อม (เชื้อโรคพืชในดิน) การตอบสนองของพืช (จำนวนรากแขนง ปมราก ของถั่ว การมีเชื้อราไมคอร์ไรซาที่รากพืช)	ประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารของราก การเปลี่ยนแปลงในไรโซสเฟียร์ (กิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน พวกแบคทีเรียและเชื้อรา)

ที่มา: Battacharyya *et al*. (2015)

ตารางที่ 5 ผลเชิงบวกของสารสกัดจากวัชพืชทะเลต่อการดูดใช้ธาตุอาหารของพืช

พืช	ผลเชิงบวกต่อการดูดใช้ธาตุ	ชนิดของวัชพืชทะเลที่เป็นแหล่ง
องุ่น	N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn, Mn, Cu	*Ascophyllum nodosum*
ถั่วเหลือง	N, P, K, S	*Kappaphycus alvarezii*
ข้าวสาลี	K	*Ecklonia maxima*
ผักกาดหอม	Ca, K, Mg	*Ecklonia maxima*
แตงกวา	P	*Ecklonia maxima*
สตรอเบอรี่	Fe	*Ascophyllum nodosum*

ที่มา: Halpern *et al*. (2015)

เนื่องจากสารสกัดจากวัชพืชทะเลมีธาตุอาหารเป็นองค์ประกอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโพแทสเซียมซึ่งมีมากกว่าธาตุอื่น พืชจึงใช้ประโยชน์จากธาตุเหล่านี้เสริมจากที่ได้รับจากวัสดุปลูก แต่ถ้าถือว่าสารนี้เป็น “สารกระตุ้นเชิงชีวภาพ” จะต้องพิจารณาผลจากองค์ประกอบส่วนอื่นต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยไม่คำนึงถึงผลจากธาตุอาหารที่มีในสารดังกล่าว การใช้สารสกัดจากสาหร่ายมีผลต่อความเข้มข้นของธาตุอาหารในพืชซึ่งได้รับมาจากวัสดุปลูก (Halpern *et al*., 2015) ดังนี้

1) การฉีดพ่นใบด้วยสารสกัดจากสาหร่ายสีแดงชื่อ *Kappaphycus alvarezii* ให้ถั่วเหลืองซึ่งปลูกในแปลงซึ่งมีการใส่ปุ๋ยอย่างเพียงพอ สารทางใบช่วยเพิ่มความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมและกำมะถันในเมล็ด 36, 61, 49 และ 93% ตามลำดับ

2) ผลการทดลองกับผักกาดหอมแสดงว่าหากปลูกผักกาดหอมในวัสดุปลูกที่ธาตุอาหารไม่เพียงพอ การให้สารสกัดของวัชพืชทะเลทางราก ไม่ทำให้การเจริญเติบโตสูงขึ้น แต่ถ้าพืชได้รับสารละลายที่มีธาตุอาหารเพียงพอ การให้สารดังกล่าวทางรากทำให้การเจริญเติบโตสูงกว่าไม่ใช้สารนี้

3) ผลการทดลองใช้สารสกัดจากวัชพืชทะเลทางรากและทางใบกับแตงกวาที่ปลูกในวัสดุปลูกพวกเปลือกไม้และให้สารละลายธาตุอาหาร แสดงว่า (1) การให้ทางรากและทางใบส่งเสริมการเจริญเติบโต และ (2) การฉีดพ่นทางใบทุกสัปดาห์ ทำให้ความเข้มข้นของฟอสฟอรัสในใบเพิ่มขึ้น 20% แต่การให้ทางรากพบว่าฟอสฟอรัสในใบเพิ่มขึ้นเพียง 5% เท่านั้น ในขณะที่ความเข้มข้นของไนโตรเจนในใบลดลง

4.5.2 กลไกที่สารสกัดจากวัชพืชทะเลมีผลต่อการดูดธาตุอาหารของพืช

สารสกัดจากวัชพืชทะเลมีผลต่อการดูดธาตุอาหารของรากพืช เนื่องจากหลายกลไกดังนี้ ประการแรกเป็นกลไกที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการในดิน ซึ่งมีอยู่ 2 อย่าง คือ (1) ทำให้โครงสร้างของดินดีขึ้น และ (2) ทำให้ความเป็นประโยชน์ของจุลธาตุในดินสูงขึ้น ประการที่สองเป็นกลไกที่มีผลโดยตรงกับกระบวนทางสรีระของพืช ซึ่งมีอยู่ 2 อย่างคือ (1) ผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะสัณฐานของราก และ (2) ทำให้เชื้อราไมคอร์ไรซาเข้ามาอยู่ร่วมกับรากมากขึ้น ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1) ปรับปรุงโครงสร้างของดิน

วัชพืชทะเลสีน้ำตาลมีสารในกลุ่มพอลิแซกกาไรด์อยู่มาก เช่น แอลจิเนต (alginate) ฟูคอยแดน (fucoidans) ซึ่งเมื่อจับกับโลหะในดินและมีสภาพเป็นเจล ช่วยทำหน้าที่ 2 อย่าง คือเพิ่มการดูดซับน้ำและเชื่อมอนุภาคดินให้จับกลุ่มเป็นเม็ดดิน (Khan *et al*., 2009) แต่เนื่องจากการทำให้ดินมีสมบัติทางฟิสิกส์ทั้งสองด้านนี้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวต้องการสารปริมาณมาก ปริมาณการใส่ในดินจึงต้องสูงพอ คล้ายกับกรณีการใช้สารฮิวมิก ดังที่ได้กล่าวแล้ว

2) เพิ่มการละลายของจุลธาตุในดิน

องค์ประกอบของสารสกัดจากวัชพืชทะเลพวกสารอินทรีย์ที่มีโมเลกุลใหญ่ ทำหน้าที่เป็นสารคีเลตและจับกับจุลธาตุในดิน ช่วยให้ธาตุอาหารเหล่านั้นอยู่ในสภาพที่เป็นประโยชน์ต่อพืช (Spinelli *et al*., 2010) แต่เนื่องจากผลดังกล่าวเกิดจากปฏิกิริยาคีเลชันระหว่างสารอินทรีย์กับองค์ประกอบของดิน ปริมาณสารสกัดจากวัชพืชทะเลที่ใส่ในดินต้องมีปริมาณมากพอจึงจะเกิดผลดังกล่าว

3) ผลต่ออัตราส่วนระหว่างรากกับส่วนเหนือดิน (root : shoot ratio)

การใช้สารสกัดจากวัชพืชทะเลทางใบหรือให้ทางรากในสภาพควบคุม ช่วยให้พืชหลายชนิด

เช่น ข้าวบาร์เลย์ มะเขือเทศ และสตรอเบอรี มีมวลของรากเพิ่มขึ้น สารสกัดจากสาหร่ายสีแดงและสีน้ำตาล ช่วยให้รากของ Buckwheat มีความยาวมากขึ้นเช่นเดียวกัน (Anisimov *et al*., 2013a, b) นอกจากนั้นการใช้สารสกัดจากวัชพืชทะเลทางใบหรือให้ทางราก ยังทำให้สัดส่วนระหว่างมวลของรากและส่วนเหนือดินของพืชหลายชนิดสูงขึ้นด้วย ทั้งนี้เป็นผลจากฮอร์โมนพืช 2 ชนิด คือ ออกซินกับไซโตไคนิน ที่มีในสารสกัดดังกล่าว การที่พืชมีรากมากขึ้นช่วยเพิ่มปริมาณการดูดน้ำและธาตุอาหาร (Khan *et al*., 2009)

4) ส่งเสริมความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราไมคอร์ไรซากับราก

รากของพืชบกส่วนมากมีเชื้อราไมคอร์ไรซาอาศัยอยู่ด้วย และช่วยให้พืชดูดธาตุอาหารจากดินได้มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุฟอสฟอรัสซึ่งระดับความเป็นประโยชน์ในดินมักจะต่ำ เมื่อทดลองในสภาพควบคุมให้ต้นกล้ามะละกอได้รับสารสกัดจากวัชพืชทะเล พวกสาหร่ายสีเขียวและสีแดงบางชนิด พบว่า เชื้อราไมคอร์ไรซาเจริญเติบโตและเข้ามาอาศัยรากมากขึ้น (Kuwada *et al*., 2006) นอกจากนี้ยังช่วยให้รากพืชดูดสังกะสีในดินซึ่งมีระดับสังกะสีที่เป็นประโยชน์ต่ำได้มากขึ้นด้วย (Cavagnaro, 2008)

4.6 สารสกัดจากวัชพืชทะเลกับการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของพืช

การเปลี่ยนแปลงทางสรีระของพืชที่ได้รับสารสกัดจากวัชพืชทะเลมี 4 ประเด็น คือ ผลจากสารที่มีกิจกรรมคล้ายฮอร์โมน ความทนทานต่อความเครียด ผลต่อเอนไซม์และคลอโรฟิลล์ และส่งเสริมการติดผลดังนี้

4.6.1 ผลจากสารที่มีกิจกรรมคล้ายฮอร์โมน

การเจริญเติบโตของพืชเกิดขึ้นจากการกระตุ้นของฮอร์โมน ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสังเคราะห์ขึ้นเองที่อวัยวะหนึ่ง แล้วเคลื่อนย้ายไปมีผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาของอวัยวะอื่น ที่สำคัญคือฮอร์โมนพืช แม้จะมีความเข้มข้นต่ำก็สามารถกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนแปลงด้านสรีระของอวัยวะดังกล่าวจนส่งผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนา ผลของสารสกัดจากวัชพืชทะเลต่อการเจริญเติบโตของพืช ส่วนหนึ่งมาจากอิทธิพลของฮอร์โมนที่มีในสารดังกล่าว เนื่องจากผลการวิเคราะห์แสดงว่าสารสกัดจากวัชพืชทะเลมีฮอร์โมนพืชหลายชนิด เช่น กรดอินโดลแอซิติก กรดจิบเบอเรลลิก ไซโตไคนิน พอลิอะมีน และกรดแอบซิสิก ซึ่ง Battacharyya *et al*. (2015) ได้สรุปผลของการศึกษาบางเรื่องที่เกี่ยวกับฮอร์โมนในสารสกัดจากวัชพืชทะเลดังนี้

1) ต้นมะเขือเทศที่ได้รับสารสกัดจากวัชพืชทะเลความเข้มข้นต่ำ มีการแตกรากแขนงมากขึ้น แต่ถ้าใช้ในความเข้มข้นสูงจะยับยั้งการแตกรากแขนง สารที่คล้ายออกซินในสารสกัดจากวัชพืชทะเลช่วยให้มีการเติบโตของเนื้อเยื่อเจริญให้กำเนิดราก (root primodia) ของข้าวโพด กะหล่ำ ดาวเรือง และมะเขือเทศ

2) กิจกรรมของสารคล้ายฮอร์โมนพืชที่มีในสารสกัดจากวัชพืชทะเล แตกต่างกันตามชนิดของวัชพืชทะเลที่เป็นวัตถุดิบ วิธีการสกัดและลักษณะการเก็บสารสกัดที่ได้ เช่น สารสกัดจาก *Ecklonia maxima* มีทั้งสารที่คล้ายออกซินและไซโตไคนิน แต่เมื่อเก็บสารสกัดไว้ระยะหนึ่ง ทำให้สารคล้ายออกซินหมดไป และสารคล้ายไซโตไคนินลดลง

3) ผลด้านฮอร์โมนพืชที่เกิดขึ้นเมื่อพืชได้รับสารสกัดจากวัชพืชทะเล อาจมาจาก 2 ส่วนคือ ส่วนแรกมาจากสารคล้ายฮอร์โมนซึ่งมีอยู่ในสารสกัดจากสาหร่ายทะเล ซึ่งมีอยู่ไม่สูงนัก และส่วนที่สองมาจากอิทธิพลของสารประกอบอื่นที่มีในสารสกัดจากสาหร่ายทะเล ที่เข้าไปกระตุ้นการทำงานของยีนซึ่งควบคุมเมแทบอลิซึมของฮอร์โมนภายในพืชโดยตรง

จึงเป็นผลร่วมกันของฮอร์โมนซึ่งมีอยู่ในสารสกัด และฮอร์โมนที่เกิดขึ้นใหม่จากการกระตุ้นของสารสกัดนี้

4) ในเมล็ดที่กำลังงอกนั้น การย่อยแป้งในเอนโดสเปิร์มเกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์นี้โดยทั่วไปได้รับการกระตุ้นจากกรดจิบเบอเรลสิก แต่เมื่อเมล็ดข้าวบาร์เลย์ได้รับสารสกัดจาก *Ascophyllum nodosum* ปรากฏว่ามีสารประกอบอินทรีย์บางชนิดในสารสกัดดังกล่าวสามารถกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในเมล็ดข้าวบาร์เลย์ที่กำลังงอก ด้วยกระบวนการที่ไม่ต้องใช้กรดจิบเบอรเรลสิก หรือสารดังกล่าวทำหน้าที่กระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์นี้แทนกรดจิบเบอเรลสิกได้

4.6.2 ความทนทานต่อความเครียด

ความเครียดของพืชอันมีสาเหตุจากสิ่งไม่มีชีวิต อาจเกิดกับพืชในที่แล้ง ดินมีน้ำขัง ดินเค็ม หรือในช่วงที่อากาศร้อน เมื่อสภาพดังกล่าวมีความรุนแรงจนเกิดผลกระทบต่อกระบวนการทางสรีระของพืชระดับหนึ่ง เรียกว่า “พืชมีความเครียด” ซึ่งถ้าเกิดอย่างต่อเนื่องจะทำให้ผลผลิตและคุณภาพของผลผลิตลดลง อย่างไรก็ตาม พืชแต่ละชนิดมีความสามารถในการต่อต้านความเครียดที่เกิดจากสาเหตุเหล่านั้นแตกต่างกันและการพัฒนาพันธุ์พืชเป็นวิธีหนึ่งที่ทำให้พืชทนต่อความเครียดจากสภาพแวดล้อมสูงขึ้น

การใช้สารกระตุ้นเชิงชีวภาพเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ช่วยให้พืชทนต่อความเครียดจากสภาพแวดล้อมได้ดีขึ้น ดังตัวอย่างต่อไปนี้ (Battacharyya *et al*., 2015; du Jadin, 2015; Khan *et al*., 2009; Xu and Leskovar, 2015)

1) ลดความเครียดเนื่องจากการขาดน้ำ ในกรณีที่พืชมีความเครียดเนื่องจากการขาดน้ำ พืชจะพยายามใช้กลไกการปรับออสโมซิส (osmotic adjustment) โดยเพิ่มสารปกป้องสภาพออสโมซิส (osmoprotectant) อันเป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กทำหน้าที่ในการรักษาสมดุลของน้ำและแรงดันออสโมซิสภายในเซลล์ ทำให้เซลล์รากสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพดินที่มีความชื้นต่ำได้ กลไกในการสะสมสารปกป้องสภาพออสโมซิสมี 2 แบบคือ การสังเคราะห์สารนั้นขึ้นเอง (osmoprotectant synthesis) และดูดสารปกป้องสภาพออสโมซิสจากดินเข้าสู่เซลล์ (osmoprotectant uptake) สารปกป้องสภาพออสโมซิส ได้แก่ น้ำตาลและอนุพันธ์ของน้ำตาล กรดอะมิโนและอนุพันธ์ของกรดอะมิโน สารปกป้องสภาพออสโมซิสที่สำคัญได้แก่ กลีเซอรอล (glycerol) ซูโครส (sucrose) ทรีฮาโลส (trehalose) โพรลีน (proline) และบีเทน (betaine) หรือไกลซีนบีเทน (glycine-betaine) สารสกัดจากวัชพืชทะเลมีไกลซีนบีเทนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งหากเซลล์รากพืชดูดเข้าไปสะสมก็เป็นสารปกป้องสภาพออสโมซิสที่เป็นประโยชน์ต่อเซลล์ราก

2) ลดความเครียดเนื่องจากความเค็ม หญ้าเค็นตักกีบลูกราส (*Poa pratensis* L. cv. Plush) ซึ่งปลูกในดินที่มีค่าการนำไฟฟ้า 0.15 ซีเม็น/เมตร เมื่อได้รับสารสกัดจากวัชพืชทะเล ช่วยให้การเจริญเติบโตของส่วนเหนือดินดีขึ้น เนื่องจากเนื้อเยื่อพืชมีการสะสมโซเดียมต่ำกว่า เมื่อเทียบกับต้นหญ้าที่ไม่ได้รับสารดังกล่าว

3) ความเครียดจากความหนาวเย็น ผลการศึกษาความทนทานต่อความเครียดจากความหนาวเย็น (freezing temperature stress) ของอุ่น แสดงว่าหลังจากให้สารสกัดจาก *Ascophyllum nodosum* ทางใบแล้ว 9 วัน ศักย์ออสโมซิส (osmotic potential) ของใบที่ได้รับสารสกัดมีค่าลดลง คือ วัดค่าศักย์ออสโมซิสได้ -1.57 เมกาพาสคาล ส่วนใบจากตำรับควบคุมมีค่า -1.51 เมกาพาสคาล

4) ความต้านทานต่อโรค การฉีดพ่นด้วยสารสกัดจากสาหร่ายสีน้ำตาล *Ascophyllum nodosum* ความเข้มข้น 0.5% ช่วยให้อาการโรคของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Alternaria solani* และ *Xanthomonas campestris* ลดลง ขณะเดียวกัน กิจกรรมของเอนไซม์ในเนื้อเยื่อพืชที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรค (phenylalanine ammonia lyase, polyphenoloxidase, peroxidase.chitinase, glucanase) ก็สูงขึ้นและมีปริมาณสารฟีนอลสูงขึ้นด้วย (Ali *et al*., 2016)

4.6.3 ผลต่อเอนไซม์และคลอโรฟิลล์

สารสกัดจากวัชพืชทะเลมีผลกระทบต่อเอนไซม์และคลอโรฟิลล์ ดังนี้

1) ผลต่อการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมหลายส่วน เช่น การใช้ประโยชน์ไนโตรเจน (glutamine synthetase) ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (glutathione reductase) การสังเคราะห์ไกลซีนบีเทนซึ่งเป็นสารออสโมไลต์ (betaine aldehyde dehydrogenase) ทำให้พืชมีโปรตีนที่ละลายได้มากขึ้น เพิ่มความสามารถในการควบคุมอนุมูลอิสระ และปรับออสโมซิสในภาวะที่มีความเครียดจากการขาดน้ำ (Fan *et al*., 2013)

2) ผลต่อการเพิ่มปริมาณสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งช่วยให้พืชปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Battacharyya *et al*., 2015)

3) ผลต่อการเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ เนื่องจากการสังเคราะห์คลอไรฟิลล์ใหม่และชะลอการสลายของคลอโรฟิลล์เก่า อันเป็นผลจากกิจกรรมของไซโตไคนินจากสารสกัดของวัชพืชทะเล และผลของสารบางชนิดที่มีในสารสกัดดังกล่าว ต่อกิจกรรมของไซโตไคนินที่มีอยู่ในพืช ที่ร่วมกันกระตุ้นการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Jannin *et al*., 2013; Rayorath *et al*., 2008; Stirk *et al*., 2014; Wally *et al*., 2013) ส่วนการใช้สารสกัดจาก *Ascophyllum nodosum* ความเข้มข้นต่ำทางใบแก่มะเขือเทศ ช่วยเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ ซึ่งคาดว่าบีเทนในสารสกัดนี้ช่วยส่งเสริมการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Khan *et al*., 2009)

4.6.4 ส่งเสริมการติดผล

การออกผลเว้นปี (alternate bearing) ของไม้ผล อาจเกิดจากการได้รับธาตุอาหารไม่สมดุล การใช้ปุ๋ยอย่างเพียงพอร่วมกับการใช้ฮอร์โมน 3 ชนิด คือ ออกซิน จิบเบอเรลลิน และไซโตไคนิน ช่วยแก้ปัญหาดังกล่าว สำหรับแอปเปิ้ลพันธุ์ฟูจิ สามารถแก้ไขปัญหาการออกผลเว้นปี ด้วยการใช้สารสกัดจากสาหร่าย *Ascophyllum nodosum* (Spinelli *et al*., 2009)

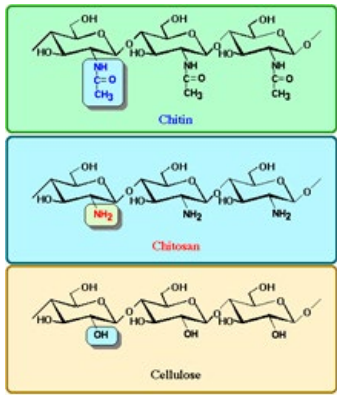
5. ไคโตซาน (chitosan)

ข้อนี้จะอธิบายโครงสร้างไคโตซาน และการใช้ไคโตซานในการผลิตพืช

5.1 องค์ประกอบทางเคมีของไคโตซาน

ไคโตซานเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ได้มาจากการเปลี่ยนแปลงของไคติน (chitin) โครงสร้างพื้นฐานของไคตินและไคโตซานคล้ายกับเซลลูโลส กล่าวคือ เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์เส้นตรงของกลูโคสหรือมีกลูโคสเป็นหน่วยย่อย ส่วนไคตินและไคโตซานมีอนุพันธ์ของกลูโคสเป็นหน่วยย่อย (ภาพที่ 7) องค์ประกอบไคตินและไคโตซาน (กมลศิริ, 2559) มีดังนี้

1) ไคติน คือสารอินทรีย์ที่เกิดในธรรมชาติ เป็นผลึกที่แข็งแรง พบในเปลือกกุ้งและปู กับอยู่ในแกนแข็งปลาหมึก เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำและละลายยากในกรดอินทรีย์ ไคตินเป็นโพลีเมอร์ที่มีลักษณะสายยาว หน่วยย่อยที่มาต่อกันได้สายยาวนี้คืออนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสซึ่งมีชื่อว่า N-acetyl glucosamine



ภาพที่ 7 โครงสร้างของไคติน (chitin) ไคโตซาน (chitosan) และเซลลูโลส (cellulose)
ที่มา: http://guru.sanook.com/2511

2) ไคโตซาน เป็นโพลีเมอร์ของหน่วยย่อยที่ชื่อว่ากลูโคซามีน (glucosamine) ดังภาพที่ 7 และต้องมีหน่วยย่อยนี้มากกว่า 60% ขึ้นไป จึงเรียกว่าไคโตซาน การเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ทำให้ไคตินเป็นไคโตซาน คือ การลดลงของหมู่แอซีติล ใน N-acetyl glucosamine กลายเป็นกลูโคซามีน เรียกปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงนี้ว่าการลดหมู่แอซีติล หรือ deacetylation เมื่อมีการลดลงของ N-acetyl glucosamine แต่ละหน่วย กลูโคซามีนก็เพิ่มขึ้นทีละหน่วยเช่นเดียวกัน การเปลี่ยนแปลงจากไคตินเป็นไคโตซานดังกล่าว ทำให้ไคโตซานละลายในกรดอินทรีย์ เนื่องจากในสารละลายที่เป็นกรด หมู่อะมิโนของกลูโคซามีนในไคโตซาน รับโปรตอนจากกรดมาเพิ่ม แล้วเปลี่ยนหมู่อะมิโนจากที่ไม่มีประจุ ($-NH_2$) เป็นหมู่อะมิโนที่มีประจุบวก ($-NH_3^+$) ซึ่งช่วยในการละลาย ดังนั้นไคโตซานจึงละลายได้ดีในกรดอินทรีย์ เช่น กรดแอซิติกและกรดแลคติก การที่หมู่อะมิโนของกลูโคซามีนแต่ละหน่วยมีประจุบวกนี้เองทำให้ไคโตซานเป็นสารประกอบที่มีประจุบวกมาก (polycationic compound)

ผลิตภัณฑ์ไคซานมีโครงสร้าง 2 แบบ ผสมกัน คือ (1) พอลิเมอร์ มีโครงสร้างที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยจำนวนมากต่อกันเป็นเส้นยาว และ (2) โอลิโกเมอร์ คำนี้มาจาก oligo-แปลว่า "a few" + -mer แปลว่า "parts" จึงหมายถึงโมเลกุลที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยจำนวนน้อย โดยผลิตภัณฑ์ไคโตซานแต่ละชนิดมีส่วนผสมของพอลิเมอร์และโอลิโกเมอร์ในสัดส่วนที่ต่างกัน

5.2 บทบาทของไคซานต่อการเจริญเติบโตของพืช

เนื่องจากไคโตซานเป็นสารประกอบที่มีประจุบวกมาก จึงสามารถจับกับชีวโมเลกุลต่างๆ ในเซลล์ได้ เช่น ดีเอ็นเอ (DNA) เยื่อหุ้มเซลล์และองค์ประกอบบางส่วนของผนังเซลล์ นอกจากนั้น ยังจับกับตัวรับ (receptors) ของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการกระตุ้นให้พืชมีความต้านทานต่อสภาพแวดล้อม เช่นเดียวกับการกระตุ้นของอีลิซิเตอร์ (elicitors) แต่ไคโตซานเข้าจับกับตัวรับอื่นและใช้วิถีการส่งสัญญาณที่แตกต่างออกไปจากอีลิซิเตอร์ แล้วกระตุ้นให้พืชมีการตอบสนองและปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (du Jadin, 2015)

ผลของไคโตซานต่อพืชมี 3 ด้าน คือ

1) คุณภาพด้านโภชนาการของพืชดีขึ้น เนื่องจากพืชสะสมสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolyte) บางชนิด ซึ่งมีผลดีต่อสุขภาพของมนุษย์

2) ช่วยให้พืชทนต่อโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา

3) ช่วยให้พืชทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่มีชีวิต เช่น ความเครียดที่เกิดจากความแห้งแล้ง (drought stress) ความเค็มของดิน (salinity stress) และความหนาวเย็นของอากาศ (cold stress) กลไกส่วนหนึ่งมาจากบทบาทในการควบคุมการปิดปากใบ ทำให้พืชสูญเสียน้ำจากการคายน้ำลดลง คล้ายกับผลของกรดแอบซิสิกต่อการปิดปากใบ

6. สรุปบทบาทของสารเร่งเชิงชีวภาพ

จากรายละเอียดที่กล่าวมาทั้งหมดอาจสรุปบทบาทของสารเร่งเชิงชีวภาพได้ 4 ประการ คือ

1) ธรรมชาติของสารเร่งเชิงชีวภาพมีลักษณะที่แตกต่างกันมาก (1) มีองค์ประกอบของสารหลักเพียงอย่างเดียว (เช่น glycine betaine) และ (2) มีสารหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ เช่น สารสกัดจากวัชพืชทะเล

2) บทบาทของสารต่อกระบวนการทางสรีระของพืชแตกต่างกัน เริ่มจากบทบาทต่อกลไกระดับเซลล์ กระบวนการทางสรีระ การเจริญเติบโต และผลผลิต (ตารางที่ 6)

3) เมื่อประมวลจากการทดลองใช้สารเร่งเชิงชีวภาพกับพืช สรุปผลที่ตรงกันว่า ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ธาตุอาหารและทำให้ให้พืชทนต่อความเครียดจากสภาพแวดล้อม

4) หากใช้อย่างเหมาะสม อาจช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพผลผลิตบางประการ

ตารางที่ 6 ผลของสารเร่งเชิงชีวภาพจากระดับเซลล์จนถึงการเจริญเติบโตและผลผลิตพืช

ระดับ	กรดฮิวมิก	สารสกัดจากวัชพืชทะเล	โปรตีนไฮโดรไลเสต	ไกลซีน บีเทน
กลไกระดับเซลล์ (ผลต่อองค์ประกอบของเซลล์และกระบวนการในเซลล์)	กระตุ้นกิจกรรมการสูบโปรตอนของเอนไซม์ ATPase ที่เยื่อหุ้มเซลล์ ช่วยให้โครงสร้างของผนังเซลล์คลายตัว รากจึงยาวขึ้นจากการยืดของเซลล์ราก	กระตุ้นการทำงานของยีนที่ควบคุมการสร้างโปรตีนพาหะสำหรับการดูดจุลธาตุ (เช่น ทองแดง เหล็ก และสังกะสี)	ลดผลกระทบจากดินเค็ม โดยกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนิลอาลานีน-แอมโมเนียไลแอส และส่งเสริมการสังเคราะห์สารฟลาโวนอยด์	ปกป้องระบบแสง 2 ของกระบวนการสังเคราะห์แสง ไม่ให้เป็นอันตรายจากความเครียดเนื่องจากความเค็มจากของดิน
บทบาททางสรีระ (ผลต่อกระบวนการต่างๆ ในพืชทั้งต้น)	รากมีขนาดยาวขึ้น เพิ่มพื้นที่ผิวและมวลของราก	รากดูดจุลธาตุและเคลื่อนย้ายสู่ส่วนเหนือดินได้มากขึ้น	สารฟลาโวนอยด์ช่วยลดอันตรายจากการออกซิเดชัน และลดผลกระทบจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต	พืชที่มีความเครียดเมื่ออยู่ในดินเค็มปานกลางจะมีการสังเคราะห์แสงดีขึ้น
ผลต่อพืช	รากดูดน้ำและธาตุอาหารได้มากขึ้น	พืชได้รับจุลธาตุจากวัสดุปลูกมากขึ้น	พืชทนต่อความเครียดอันเกิดจากความเค็มของดิน พืชที่ปลูกในดินเค็มน้อยหรือปานกลางให้ผลผลิตดีขึ้น	พืชทนต่อความเครียดอันเกิดจากความเค็มของดิน
ผลด้านเศรษฐกิจ (ด้านปริมาณผลผลิตและคุณภาพผลผลิต)	เพิ่มผลผลิตพืชและเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ย	พืชที่สะสมจุลธาตุในส่วนเหนือดินมากขึ้น มีคุณค่าทางโภชนาการดี	พืชที่ปลูกในดินเค็มน้อยหรือปานกลางให้ผลผลิตดีขึ้น	พืชที่ปลูกในดินเค็มปานกลางให้ผลผลิตดีขึ้น

ที่มา: Halpern *et al.* (2015)

7. บรรณานุกรม

กมลศิริ พันธนียะ. 2559. ไคติน-ไคโตซาน สืบค้นจาก http://www.nicaonline.com/articles9/site/ เมื่อวันที่ 22 กุมภาพันธ์ 2559

ยงยุทธ โอสถสภา. 2558. ธาตุอาหารพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

ยงยุทธ โอสถสภา อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และ ชวลิต ฮงประยูร. 2556. ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร.

Akinci, S., Buyukkeskin, T., Eroglu, A. Erdogan. B.G. 2009. The effect of humic acid on nutrient composition in broad bean (*Vicia faba* L.) roots. Notulae Scientia Biologicae. 1(1):81-87. (Available online at www.notulaebiologicae.ro)

Ali, N., Ramkissoon, A., Ramsubhag, A., Jayaraj. J. 2016. *Ascophyllum* extract application causes reduction of disease levels in field tomatoes grown in a tropical environment. Crop Protection 83: 67-75

Anisimov, M.M., Skriptsova, A. V., Chaikina, E. L., Klykov, A. G. 2013a. Effect of water extracts of seaweeds on the growth of seedling roots of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). IJRRAS 16 (2): 282-287.

Anisimov, M.M., Chaikina, E.L., Klykov, A.G. Rasskazov, V.A. 2013b. Effect of seaweeds extracts on the growth of seedling roots of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) is depended on the season of algae collection. Agric. Sci. Dev. 2(8): 67-75.

Arancon, N.Q., Edwards, C.A., Lee, S., Byrne, R., 2006. Effects of humic acids from vermicomposts on plant growth. Eur.J. Soil Biol. 42: 565-569.

Ayuso, M., Hernandez, T., Garcia, C., Pascual, J.A., 1996. Stimulation of barley growth and nutrient absorption by humic substances originating from various organic materials. Bioresour. Technol. 57: 251-257.

Battacharyya, D., Babgohari, M. Z., Rathor, P. 2015. Seaweed extracts as biostimulants in horticulture. Scien. Hort. 196: 39-48.

Brady, N.C. and R.R. Weil. 2004. Elementary of the Nature and Properties of Soils. Pearson Prentice Hall. New Jersey.

Canellas, L.P., Olivares, F.L., Okorokova-Façanha, A.L., Façanha, A.R., 2002. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, and plasma membrane H^+-ATPase activity in maize roots. Plant Physiol. 130: 1951-1957.

Canellas, L.P., Piccolo, A., Dobbss, L.B., Spaccini, R., Olivares, F.L., Zandonadi, D.B., Façanha, A.R., 2010. Chemical composition and bioactivity properties of size fractions separated from a vermicompost humic acid. Chemosphere 78: 457-466.

Canellas, L.P., Teixeira Junior, L.R.L., Dobbss, L.B., Silva, C.A., Medici, L.O., Zandonadi, D.B., Façanha, A.R., 2008. Humic acids cross interactions with root and organic acids. Ann. Appl. Biol. 153: 157-166.

Canellas, L.P. Olivares,F.L. Okorokova-Facanha, A.L and. Facanha. A.R 2002. Humic acids isolated from earthworm compost enhance root elongation, lateral root emergence, plasma membrane H^+-ATPase activity in maze roots. Plant Physiol. 130(4): 1951-1957.

Cavagnaro, T.R., 2008. The role of arbuscular mycorrhizas in improving plant zinc nutrition under low soil zinc concentrations: a review. Plant Soil 304: 315-325.

Celik, H., Katkat, A.V., As¸ık, B.B., Turan, M.A., 2011. Effect of foliar-applied humic acid to dry

weight and mineral nutrient uptake of maize under calcareous soil conditions. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 42: 29-38.

Cesco, S., Romheld, V., Varanini, Z., Pinton, R., 2000. Solubilization of iron by water extractable humic substances. J. Plant Nutr. Soil Sci. 163: 285-290.

Chen, Y., Clapp, C.E., Magen, H., 2004. Mechanisms of plant growth stimulation by humic substances: the role of organo-iron complexes. Soil Sci. Plant Nutr. 50: 1089-1095.

Curie, C., Cassin, G., Couch, D., Divol, F., Higuchi, K., Le Jean, M., Misson, J., Schikora, A., Czernic, P., Mari, S., 2009. Metal movement within the plant: contribution of nicotianamine and yellow stripe 1-like transporters. Ann. Bot. Lond. 103: 1-11.

Delgado, A., Madrid, A., Kassem, S., Andreu, L., del Carmen del Campillo, M., 2002. Phosphorus fertilizer recovery from calcareous soils amended with humic and fulvic acids. Plant Soil 245: 277-286.

Demir, N., Dural, B., Yildirim, K., 2006. Effect of seaweed suspensions on seed germination of tomato, pepper and aubergine. J. Biol. Sci. 6: 1130-1133.

Ertani, A., Cavani, L., Pizzeghello, D., Brandellero, E., Altissimo, A., Ciavatta, C., Nardi, S., 2009. Biostimulant activity of two protein hydrolyzates in the growth and nitrogen metabolism of maize seedlings. J. Plant Nutr. Soil Sci. 172: 237-244.

Fan, D., Hodges, D.M., Critchley, A.T., Prithiviraj, B., 2013. A commercial extract of brown macroalga (*Ascophyllum nodosum*) affects yield and the nutritional quality of spinach in vitro. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 44: 1873-1884.

García-Martínez, A.M., Díaz, A., Tejada, M., Bautista, J., Rodríguez, B., Santa María, C., Revilla, E., Parrado, J., 2010. Enzymatic production of an organic soil biostimulant from wheat-condensed distiller soluble: effects on soil biochemistry and biodiversity. Proc. Biochem. 45: 1127-1133.

Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A.H., Hadadzadeh, H., Jafari, M., 2012. Synthesis of Iron amino acid chelates and evaluation of their efficacy as iron source and growth stimulator for tomato in nutrient solution culture. Plant Growth Regul. 31: 498-508.

Halpern, M., Bar-Taly, A., Ofek, M., Minz, D., Mullerx, T., Yermiyah, U. 2015. The use of biostimulants for enhancing nutrient uptake. Adv. Agron. 130: 141-174.

Hartwigsen, J.A., Evans, M.R. 2000. Humic acid seed and substrate treatments promote seedling development. HortScience. 35 (7): 1231-1233.

du Jardin, P., 2012. The Science of Biostimulants: A Bibliographic Analysis. (Final report for EU). Contract 30-CEO455515/00-96. p.37.

du Jadin, P. 2015. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. Scientia Horticulturae. 196: 3-14.

Jannin, L., Arkoun, M., Etienne, P., Laîné, P., Goux, D., Garnica, M., Fuentes, M.,Francisco, S.S., Baigorri, R., Cruz, F., 2013. *Brassica napus* growth is promoted by *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. seaweed extract: microarray analysis and physiological characterization of N, C, and S metabolisms. J. Plant Growth Regul. 32: 31-52

Jayaraman, J., Norrie, J., Punja, Z.K., 2011 Commercial extract from the brown seaweed *Ascophyllum nodosum* reduces

fungal diseases in greenhouse cucumber. J. Appl. Phycol. 23: 353-361.

Jie, M., Raza, W., Xu, Y.C., Shen, Q.R., 2008. Preparation and optimization of amino acid chelated micronutrient fertilizer by hydrolyzation of chicken waste feathers and the effects on growth of rice. J. Plant Nutr. 31: 571-582.

Khan, W., Rayirath, U.P., Subramanian, S., Jithesh, M.N., Rayorath, P., Hodges, D.M., Critchley, A.T., Craigie, J.S., Norrie, J., Prithiviraj, B., 2009. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. Plant Growth Regul. 28: 386-399.

Kumar, G., Sahoo, D., 2011. Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. Pusa Gold. J. Appl. Phycol. 23: 251-255.

Kuwada, K., Wamocho, L.S., Utamura, M., Matsushita, I., Ishii, T., 2006. Effect of red and green algal extracts on hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungi, and on mycorrhizal development and growth of papaya and passionfruit. Agron. J. 98: 1340-1344.

Lee, Y.S., Bartlett, R.J., 1976. Stimulation of plant growth by humic substances. Soil Sci. Am. J. 40: 876-879.

Liu, C., Cooper, R.J. Bowman. D.C. 1998. Humic acid application affects photosynthesis, root development, and nutrient content of creeping bentgrass. HortScience. 33 (6): 1023-1025.

Loureiro, R.R., Reis, R.P., Berrogain, F.D., Critchley, A.T., 2012. Extract powder from the brownalga *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis (AMPEP): a “vaccine-like” effect on *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex PC Silva. J. Appl. Phycol. 23: 427-432.

Maini, P., 2006. The experience of the first biostimulant, based on amino acids and peptides: a short retrospective review on the laboratory researches and the practical results. Fertil.Agrorum 1: 29-43.

Michalak.I., L. Tuhy and K. Chojnacka. 2015. Seaweed extract by microwave assisted extraction as plant growth biostimulant. Open Chemistry. 13(1): online http://www.degruyter.com/view/.

Mora, V., E. Bacaicoa, A.M. Zamarreno, E. Aguirre, M. Garnica, M. Fuentes, and J.M. Garcia-Mina. 2010. Action of humic acid on promotion of cucumber shoot growth involves nitrate-related changes associated with root-to-shoot distribution of cytokinins, polyamines and mineral nutrients. J. Plant Physiol. 167 (8): 633-642.

Mora, V., Baigorri, R., Bacaicoa, E. Zamarreno, A.M., Garcia-Mina. J.M. 2012. The humic acid-induced changes in the root concentration of nitric oxide, IAA and ethylene do not explain the changes in root architecture caused by humic acid in cucumber. Environ. Experi. Bot. 76: 24-32.

Morard, P., Eyheraguibel, B. Morard M. Silvestre. J. 2011. Direct effects of humic-like substance on growth, water, and mineral nutrition of various species. J. Plant Nutri. 34: 46-59.

Muscolo, A., Bovalo, F., Gionfriddo, F., Nardi, S., 1999. Earthworm humic matter produces auxin-like effects on *Daucus carota* cell growth and nitrate metabolism. Soil Biol. Biochem. 31: 1303-1311.

Muscolo, A., Sidari, M., Attin_a, E., Francioso, O., Tugnoli, V., Nardi, S., 2007. Biological activity of humic substances is related to

their chemical structure. Soil Sci. Am. J. 71, 75-85.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Gessa, C., Ferrarese, L., Trainotti, L., Casadoro, G., 2000. A low molecular weight humic fraction on nitrate uptake and protein synthesis in maize seedlings. Soil Biol. Biochem. 32: 415-419.

Nardi, S., Pizzeghello, D., Muscolo, A., Vianello. A. 2002. Physiological effects of humic substances on higher plants. Soil Biol. and Biochem. 34: 1527-1536.

Piccolo, A., 2002. The supra molecular structure of humic substances: a novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. Adv. Agron. 75: 57-134.

Quaggiotti, S., Ruperti, B., Pizzeghello, D., Francioso, O., Tugnoli, V., Nardi, S., 2004. Effect of low molecular size humic substances on nitrate uptake and expression of genes involved in nitrate transport in maize (*Zea mays* L.). J. Exp. Bot. 55: 803-813.

Rayorath, P., Narayanan, J.M., Farid, A., Khan, W., Palanisamy, R., Hankins, S.,Critchley, A.T., Prithiviraj, B., 2008. Rapid bioassays to evaluate the plant growth promoting activity of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. using a model plant, *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. J Appl. Phycol. 20: 423-429.

RodrÍguez-Lucena, P., Hernandez-Apaolaza, L., Lucena, J.J., 2010. Comparison of iron chelates and complexes supplied as foliar sprays and in nutrient solution to correct iron chlorosis of soybean. J. Plant Nutr. Soil Sci. 173: 120-126.

Sanchez-Sanchez, A., Juarez, M., Sanchez-Andreu, J., Jorda, J., Bermudez, D., 2005. Use of humic substances and amino acids to enhance iron availability for tomato plants from applications of the chelate FeEDDHA. J. Plant Nutr. 28: 1877-1886.

Sanchez-Sanchez, A., Sanchez-Andreu, J., Juarez, M., Jorda, J., Bermudez, D., 2006. Improvement of iron uptake in table grape by addition of humic substances. J. Plant Nutr. 29: 259-272.

Schiavon, M., Ertani, A., Nardi, S., 2008. Effects of an alfalfa protein hydrolysate on the gene expression and activity of enzymes of the tricarboxylic acid (TCA) cycle and nitrogen metabolism in *Zea mays* L. J. Agric. Food Chem. 56: 11800-11808.

Schmidt, W., Santi, S., Pinton, R., Varanini, Z., 2007. Water-extractable humic substances alter root development and epidermal cell pattern in *Arabidopsis*. Plant Soil 300: 259-267.

Spinelli, F., Fiori, G., Noferini, M., Sprocatti, M., Costa, G., 2009. Perspectives on the use of a seaweed extract to moderate the negative effects of alternate bearing in apple trees. J. Hortic. Sci. Biotechnol. 84: 131-137.

Spinelli, F., Fiori, G., Noferini, M., Sprocatti, M., Costa, G., 2010. A novel type of seaweed extract as a natural alternative to the use of iron chelates in strawberry production. Sci. Hortic. Amst. 125: 263-269.

Stirk, W., Tarkowská, D., Ture˘cová, V., Strnad, M., Staden, J., 2014. Abscisic acid, gibberellins and brassinosteroids in Kelpak, a commercial seaweed extract made from *Ecklonia maxima*. J. Appl. Phycol. 26: 561-567.

Sutton, R., Sposito, G., 2005. Molecular structure in soil humic substances: the new view. Environ. Sci. Technol. 39: 9009-9015.

Tan, K.H. 2003. Humic Matter in Soil and Environment. Marcel Dekker, Inc. New York.

Turan, M., Klose, C., 2004. Seaweed extracts improve copper uptake of grapevine. Acta Agric. Scand. B. 54: 213-220.

Vaccaro, S., Muscolo, A., Pizzeghello, D., Spaccini, R., Piccolo, A., Nardi, S., 2009. Effect of a compost and its water-soluble fractions on key enzymes of nitrogen metabolism in maize seedlings. J. Agric. Food Chem. 57: 11267-11276.

Vranova, V., Rejsek, K., Skene, K.R., Formanek, P., 2011. Non-protein amino acids: plant, soil and ecosystem interactions. Plant Soil 342: 31-48.

Walch-Liu, P., Liu, L.H., Remans, T., Tester, M., Forde, B.G., 2006. Evidence that L-glutamate can act as an exogenous signal to modulate root growth and branching in *Arabidopsis thaliana*. Plant Cell. Physiol. 47: 1045-1057.

Wally, O.S.D., Critchley, A.T., Hiltz, D., Craigie, J.S., Han, X., Zaharia, L.I., Abrams, S.R., Prithiviraj, B., 2013. Regulation of phytohormone biosynthesis and accumulation in *Arabidopsis* following treatment with commercial extract from the marine macroalga *Ascophyllum nodosum*. J. Plant Growth Regul. 32:324-339.

Xu, C., Leskovar, D. I. 2015. Effects of *A. nodosum* seaweed extracts on spinach growth, physiology and nutrition value under drought stress. Scientia Horticulturae 183: 39-47.

Yildirim, E., 2007. Foliar and soil fertilization of humic acid affect productivity and quality of tomato. Acta Agric. Scand. B. 57: 182-186.

Yuan, L., Wu, L., Yang, C., Lv, Q., 2013. Effects of iron and zinc foliar applications on rice plants and their grain accumulation and grain nutritional quality. J. Sci. Food Agric. 93: 254-261.

Zandonadi, D.B., Canellas, L.P., Façanha, A.R., 2007. Indolacetic and humic acids induce lateral root development through a concerted plasmalemma and tonoplast H^+ pumps activation. Planta 225: 1583-1595.

Zandonadi, D.B., Santos, M.P., Dobbss, L.B., Olivares, F.L., Canellas, L.P., Binzel, M.L., Okorokova-Façanha, A., Façanha, A.R., 2010. Nitric oxide mediates humic acids induced root development and plasma membrane H^+-ATPase activation. Planta 231: 1025-1036.

Zhou, Z., Zhou, J., Li, R., Wang, H., Wang, J., 2007. Effect of exogenous amino acids on Cu uptake and translocation in maize seedlings. Plant Soil 292: 105-1