

การกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโดยการแช่เมล็ดและฉีดพ่นทางใบด้วยกรดอะมิโนปลาทะเล Stimulation Seedling Growth in Rice by Seed Priming and Foliar Application with Fish Amino Acid

นันทิยา พนมจันทร^{1*} และ จุรีภรณ์ สุขแก้ว¹
Nantiya Panomjan^{1*} and Jureporn Sukkaew¹

¹ สาขาวิชาพืชศาสตร์ คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

¹ Department of Plant Science, Faculty of Technology and Community Development, Thaksin University, Phatthalung 93210

* Corresponding author: n_numkum@hotmail.com

Received 30 March 2023; Revised 19 June 2023; Accepted 23 June 2023

บทคัดย่อ

การฉีดพ่นกรดอะมิโนทางใบพืชเป็นวิธีการที่สามารถเพิ่มการดูดซึมได้สูงสุดและลดปัญหาการไหลบ่าหรือการชะล้างธาตุอาหารทางดิน ทำให้มีปริมาณไนโตรเจนเพียงพอต่อพืชสำหรับการผลิตคลอโรฟิลล์เพื่อเพิ่มการเจริญเติบโตและรักษาความแข็งแรงของพืช การวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของวิธีแช่เมล็ดพันธุ์และอัตราฉีดพ่นกรดอะมิโนปลาทะเลทางใบต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวพันธุ์สังข์หยด วางแผนการทดลองแบบสปลิตพล็อต ปัจจัยหลัก คือ การฉีดพ่นทางใบด้วยกรดอะมิโนปลาทะเล (Fish Amino Acid; FAA) ที่ความเข้มข้น 4 อัตรา ได้แก่ 0%, 0.10%, 0.15% และ 0.20% ปัจจัยรอง คือ การแช่เมล็ด 5 กรรมวิธี ได้แก่ ไม่แช่เมล็ด (ควบคุม), แช่เมล็ดในน้ำเปล่า, แช่เมล็ดใน FAA 0.10%, แช่เมล็ดใน FAA 0.15% และ แช่เมล็ดใน FAA 0.20% เก็บข้อมูลการงอก ความแข็งแรง การเจริญเติบโตของต้นกล้า พื้นที่ใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่า การแช่เมล็ดด้วย FAA ก่อนเพาะงอก ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีเปอร์เซ็นต์การงอกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การแช่เมล็ดในน้ำและ FAA อัตรา 0.10% ส่งผลให้การงอกสูงสุดเท่ากับ 99% และ 98 % ตามลำดับ แช่เมล็ดใน FAA 0.10% ส่งผลให้ความแข็งแรงเพิ่มขึ้น มากกว่าการแช่ด้วยน้ำเปล่าตามวิธีของเกษตรกร และเวลาเฉลี่ยในการงอก 3 วัน การแช่เมล็ดใน FAA อัตรา 0.10% ร่วมกับฉีดพ่น FAA ทางใบอัตรา 0.15% ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าทั้งส่วนยอดและราก พื้นที่ใบและปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงของต้นข้าวเพิ่มสูงขึ้น

คำสำคัญ: การยกระดับคุณภาพเมล็ดพันธุ์, การงอกของเมล็ดพันธุ์, ปริมาณคลอโรฟิลล์, ปุ๋ยทางใบ

Abstract

Foliar application with fish amino acids is a method that can maximize uptake and minimize runoff or leaching, providing just enough N to the plant for optimum uptake and the production of chlorophyll to increase plant growth and maintain plant health. The purpose of this research was to study the effect of seed priming method and foliar spraying rate of marine fish amino acids on the growth of Sang Yod rice seedlings. Split plot experiments were planned. The main factor was foliar spraying with Fish Amino Acid (FAA) at four concentrations: 0%, 0.10%, 0.15%, and 0.20%. Secondary factors were seed soaked in 5 treatments, i.e., no priming (control), hydropriming, 0.10% FAA, 0.15% FAA, and 0.20% FAA. Seedling growth, leaf area, and chlorophyll content were recorded. It was found that soaking seeds with FAA before germination in sand at different rates resulted in statistically significant differences in the percentage germination of rice seedlings. Soaking seeds in water and 0.10% FAA resulted in maximum germination of 99% and 98%, respectively, and mean germination time at 3 days. Seed soaking at 0.10% concentration combined with FAA foliar spray at rate 0.15% promotes the growth of seedlings both shoots and roots, increased leaf area and chlorophyll content. As a result, the photosynthetic efficiency of the rice plant was increased.

Keywords: Seed enhancement, seed germination, chlorophyll content, foliar fertilizer

บทนำ

เมล็ดพันธุ์ข้าวเป็นปัจจัยที่สำคัญในกระบวนการผลิตข้าวเพื่อให้ได้ข้าวผลผลิตดีและมีคุณภาพ โดยในประเทศไทยความต้องการเมล็ดพันธุ์ข้าว ประมาณ 1 ล้านตันต่อปี ในขณะที่ภาครัฐสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ได้เพียงประมาณปีละ 100,000 ตันต่อปี เกษตรกรจึงมักใช้วิธีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์จากพันธุ์ข้าวที่มีอยู่เดิมหรือหาซื้อจากแหล่งจำหน่ายในพื้นที่ นอกจากนี้ในปัจจุบันกระบวนการผลิตข้าวมีการใช้สารเคมีปริมาณมากเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าว ได้แก่ สารกำจัดวัชพืช สารกำจัดแมลง สารกำจัดโรคพืช เป็นต้น ซึ่งส่งผลให้มีการสะสมของสารพิษตกค้างในผลผลิตและในพื้นที่ได้ ดังนั้นการหาแนวทางการส่งเสริมการผลิตข้าวที่ดีเพื่อลดการใช้สารเคมีจึงเป็นสิ่งสำคัญ เช่น ในการผลิตข้าว การส่งเสริมให้เกษตรกรใช้เมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพ การเตรียมเมล็ดให้มีความพร้อมในการงอกที่ดี จึงเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่ทำได้โดยการใช้ปุ๋ยและสารเคมีบางชนิด (Siri, 2015) การใช้สารเร่งชีวภาพ (biostimulants) ได้แก่ น้ำหมักชีวภาพ หรือ กรดอะมิโน สามารถช่วยลดการใช้สารเคมี ลดต้นทุนการผลิต เพิ่มผลผลิตเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพ ทั้งนี้ น้ำหมักชีวภาพเป็นสารที่มีประสิทธิภาพคล้ายฮอร์โมนพืช เพื่อเร่งการงอกของราก เร่งการเจริญเติบโตทุกส่วนของต้นข้าว วิธีการโดยนำน้ำสกัดชีวภาพ หรือปุ๋ยน้ำชีวภาพเจือจางแช่เมล็ดพืชก่อนนำไปเพาะกล้า น้ำสกัดชีวภาพสามารถกระตุ้นการงอกของเมล็ดได้ดี (Gioseffi, et al., 2012) การแช่เมล็ดพันธุ์ข้าวด้วยน้ำหมักปลา มีผลทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกเพิ่มสูงขึ้น มีความแข็งแรง และต้นกล้าเจริญเติบโตเพิ่มมากขึ้น (Priyanka et al., 2019)

ธุรกิจอาหารทะเลมีอัตราการขยายตัวต่อปีคิดเป็นร้อยละ 56.50 ส่งผลให้มีเศษเหลือ ได้แก่ หัวปลาจากกระบวนการแปรรูปมากขึ้นตามไปด้วย ซึ่งเศษเหลือเหล่านี้มีมูลค่าต่ำ หากมีการจัดการที่ไม่ดีพอจะก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม เพราะเกิดการเน่าเสียง่ายเนื่องจากโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนมากโรงงานแปรรูปขนาดใหญ่จะจำหน่ายให้โรงงานผลิตอาหารสัตว์ในราคาถูก แต่ผู้ประกอบการแปรรูปขนาดเล็กจะทิ้งเศษเหลือเหล่านี้ร่วมกับขยะอื่น ๆ (Shahidi et al., 1995) เนื่องจากเศษเหลือเหล่านี้ประกอบด้วยโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นในปริมาณสูง ปัจจุบันมีการใช้ปุ๋ยกรดอะมิโนเพิ่มสูงขึ้น 8% โดยปี 2019 มีอัตราการเติมโตเพิ่มขึ้น 7.98% ในยุโรปมีอัตราการเจริญเติบโตมีการใช้ปุ๋ยกรดอะมิโนสูงเพิ่มขึ้นถึง 42% เนื่องจากการส่งเสริมและขับเคลื่อนเรื่องของการผลิตฟาร์มแบบอินทรีย์มากขึ้นในประเทศที่พัฒนาแล้ว โดยพบว่า แนวโน้มในทุกทวีปและภูมิภาคของโลกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น จากปี 2020 ถึง 2027 (Yuan et al., 2013) กรดอะมิโนเป็นหนึ่งในสารอินทรีย์ที่ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช (Priyanka et al., 2019) โดยมีกรดอะมิโนจำนวน 6 ชนิด ที่มีบทบาทหน้าที่กระตุ้นกระบวนการงอกของเมล็ด คือ Aspartic acid (Asp), Glutamic acid (Glu), Lysine (Lys), Methionine (Met), Phenylalanine (Phe) และ Threonine (Thr) และ Tyrosine (Tyr) (Paleckiene et al., 2007) ซึ่งในผลิตภัณฑ์กรดอะมิโนปลาทะเล (Fish amino acid; FAA) ของบริษัทปลาณีต ฟาร์ม จำกัด มีถึง 17 ชนิด และมีกรดอะมิโนทั้ง 6 ชนิด ที่มีบทบาทต่อกระบวนการงอกครบถ้วน การฉีดพ่นกรดอะมิโนทางใบพืช (Foliar application) เป็นวิธีการที่สามารถเพิ่มการดูดซึมน้ำได้สูงสุดและลดปัญหาการไหลบ่าหรือการชะล้างธาตุอาหารทางดิน ทำให้มีปริมาณไนโตรเจนเพียงพอต่อพืชสำหรับการผลิตคลอโรฟิลล์เพื่อเพื่อการเจริญเติบโต (Weinert et al., 2014) เพิ่มประสิทธิภาพการใช้ธาตุอาหารและความเป็นประโยชน์แก่พืชได้สูงสุด 70-80% ใช้ในปริมาณที่น้อย สามารถลดค่าใช้จ่ายและลดการสูญเสียปริมาณธาตุอาหารของพืช (Aung and Flick, 1980) การฉีดพ่นกรดอะมิโนทางใบที่ความเข้มข้น 1.0% สามารถช่วยทำให้อัตราการเจริญเติบโตของต้นข้าวสูง (Priyanka et al., 2019) การใช้ FAA ในอัตรา 1 มิลลิลิตร สามารถเพิ่มความสูงของต้นข้าวได้ 5.5% จำนวนหน่อเฉลี่ยเท่ากับ 14 หน่อ และสามารถช่วยให้ต้นข้าวดูดธาตุไนโตรเจนไปสะสมและใช้ในใบข้าวได้ถึง 9.6% (Jumar et al., 2021) นอกจากการฉีดพ่นกรดอะมิโนทางใบร่วมกับกรดอะมิโนไข่ 1.0% จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตทำให้ผลผลิตข้าวสูงถึง 4,763 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ทำให้ผลผลิตข้าวเพิ่มขึ้นถึง 23% (Priyanka et al., 2019) ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาผลของการแช่เมล็ดพันธุ์และการฉีดพ่นทางใบด้วยกรดอะมิโนต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวในอัตราส่วนการใช้ที่เหมาะสมเพื่อเป็นข้อมูลประกอบการแนะนำสำหรับการใช้แก่เกษตรกรและเป็นข้อมูลสำหรับผู้ประกอบการในการวิจัยและพัฒนาด้านคุณภาพของกรดอะมิโนปลาทะเลที่มีปริมาณธาตุอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตแก่พืชชนิดต่าง ๆ ตรงความต้องการของพืชและดูไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

1. ตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข้าว

การทดลองนี้ศึกษาในตัวอย่างเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยด โดยนำตัวอย่างเมล็ดข้าวเปลือกที่ผ่านการเก็บเกี่ยว ลดความชื้นให้เหลือ 14% และเก็บรักษาไว้ 30 วัน ทำความสะอาด และสุ่มตัวอย่างนำมาทดสอบ 1 กิโลกรัม แบ่งตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ทดสอบด้วยเครื่องแบ่งตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ (Mechanical seed divider)

2. อัตราการฉีดพ่น วิธีการแช่เมล็ด และการปลูกต้นกล้าข้าว

2.1 วางแผนการทดลองแบบ Split plot in Completely Randomized Design ทำจำนวน 3 ซ้ำ กำหนดให้ ปัจจัยหลัก (Main plot) คือ การฉีดพ่นทางใบ (Foliar spray) จำนวน 4 อัตรา โดยกำหนดอัตราการใช้กรดอะมิโนปลาทะเล (Fish amino acid; FAA) จำนวน 4 อัตราความเข้มข้น ได้แก่ 0, 1.0 (0.10% FAA), 1.5 (0.15% FAA) และ 2.0 (0.20% FAA) มิลลิลิตร FAA ต่อหน้า 1

ลิตร โดยอัตราที่บริษัทแนะนำให้ใช้คือ 1.5 มิลลิลิตรต่อน้ำ 1 ลิตร (0.15% FAA) ปัจจัยรอง (subplots) คือ การแช่เมล็ดพันธุ์ (Seed soaking) จำนวน 5 กรรมวิธี ได้แก่ 1) ไม่แช่เมล็ด (ควบคุม) (Non-primed; control) 2) แช่เมล็ดในน้ำกลั่น (Hydropriming) 3) แช่เมล็ดในกรดอะมิโนเข้มข้น 0.10% (Biostimulant priming 0.10% FAA) 4) แช่เมล็ดในกรดอะมิโนเข้มข้น 0.15% (Biostimulant priming 0.15% FAA) และ 5) แช่เมล็ดในกรดอะมิโนเข้มข้น 0.20% FAA (Biostimulant priming 0.20% FAA)

2.2 วิธีการแช่เมล็ดพันธุ์ นำเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์สังข์หยด ที่ผ่านการลดความชื้นเหลือ 14% จำนวน 500 เมล็ด ล้างทำความสะอาดด้วยสารละลาย NaOCl 2.63% (สารฟอกขาวเจือจาง 1:1 ด้วยน้ำปราศจากเชื้อ) เป็นเวลา 30 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ก่อนนำไปแช่เมล็ดในแต่ละกรรมวิธี เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำเมล็ดมาบ่มโดยเทเมล็ดลงบนกระดาษเพาะขึ้นและห่อบ่มไว้เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

2.3 วิธีการปลูกต้นกล้าข้าว นำต้นกล้าที่ผ่านการแช่เมล็ด (ตัวอย่างเมล็ดตามแผนการทดลองข้อ 2.1) แต่ละวิธีใส่ในฟองน้ำ แล้วปลูกในสารละลายบรรจุในกล่องพลาสติก ขนาด 30 × 20 × 15 เซนติเมตร บรรจุ 4 ลิตร กล่องละ 5 เมล็ดตามวิธีการแช่เช่น จำนวนทั้งหมด 20 กล่อง สำหรับแบ่งดำเนินการฉีดพ่นตามแผนการทดลอง 5 กรรมวิธี ๆ ละ 4 กล่อง เตรียมสารละลายสำหรับการปลูกข้าวตามคำแนะนำของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (Yoshida *et al.*, 1976) ดังนี้ 1 mM (NH₄)₂SO₄, 1 mM NaH₂PO₄, 1 mM KCl, 1 mM Ca(NO₃)₂, 2 mM Na₂SiO₃·9H₂O, 1 mM MgSO₄·7H₂O, 10 μM H₃BO₃, 1 μM ZnSO₄·7H₂O, 0.5 μM MnSO₄·H₂O, 0.1 μM CuSO₄·5H₂O, 0.05 μM (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O และ 20 μM FeNa-EDTA ปรับ pH ของสารละลายให้คงไว้ที่ 6.6 ± 0.2 นำตัวอย่างเมล็ดข้าวที่ผ่านการแช่เมล็ดด้วยวิธีต่าง ๆ (1-5) และทำการฉีดพ่นทางใบ (Foliar spray) ด้วยกรดอะมิโนปลาทะเล (Fish amino acid; FAA) 4 อัตราความเข้มข้น A; ไม่ฉีดพ่น FAA ทางใบ (No foliar spray), B; ฉีดพ่น 0.10% FAA ทางใบ, C; ฉีดพ่น 0.15% FAA ทางใบ และ D; ฉีดพ่น 0.20% FAA ทางใบ (Figure 1) ทำการฉีดพ่นทุกสัปดาห์เป็นระยะเวลาทั้งหมด 6 สัปดาห์ เก็บข้อมูลการเจริญเติบโตของต้นกล้า ทุกสัปดาห์ ได้แก่ ความสูงยอด และ ความยาวราก ส่วนข้อมูลน้ำหนักสดและแห้งส่วนยอด น้ำหนักสดและแห้งส่วนราก พื้นที่ใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์ เก็บข้อมูลเฉพาะสัปดาห์ที่ 6

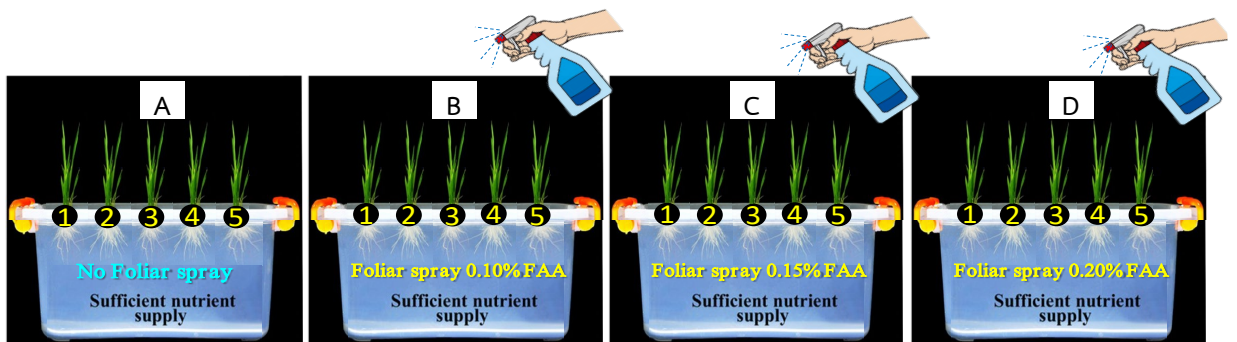


Figure 1 Planted rice seedling in sufficient nutrient supply solution. Paddy seed samples soaked 5 methods; ❶ Non-primed (control), ❷ Hydropriming, ❸ Biostimulant priming 0.10% FAA, ❹ Biostimulant priming 0.15% FAA and ❺ Biostimulant priming 0.20% FAA. After that foliar spray application with fish amino acid (FAA) 4 concentration rates; A. No foliar spray, B. Foliar spray 0.10% FAA, C; Foliar spray 0.15% FAA, and D. Foliar spray 0.20% FAA.

3. การทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์และบันทึกข้อมูล

3.1 ความงอกของเมล็ดพันธุ์ โดยการเพาะเมล็ดข้าวละ 100 เมล็ด ในกระดาษเพาะ ด้วยวิธีมาตรฐานแบบ Between of Paper ตรวจนับต้นกล้าปกติครั้งที่ 5 วันหลังเพาะ และตรวจนับต้นกล้าปกติครั้งที่สองที่ 14 วันหลังเพาะ บันทึกจำนวนต้นกล้าปกติทั้งหมดรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์ (ISTA, 2011)

3.2 ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

3.2.1 ดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ (Germination index, GI) โดยทดสอบเช่นเดียวกับความงอกมาตรฐาน แต่ในการประเมินผลการวัดดัชนีการงอกนั้น ต้องตรวจนับต้นกล้าที่งอกปกติทุกวัน จนสิ้นสุดระยะเวลาที่กำหนด คำนวณดัชนีการงอกจากสูตร ดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ = ผลบวกของ [จำนวนต้นกล้าที่งอกปกติ/ จำนวนวันหลังเพาะ]

3.2.2 เวลาเฉลี่ยในการงอก (Mean germination time; MGT)

MGT = $\Sigma (n.T) / \Sigma n$ โดยที่ n คือ จำนวนต้นอ่อนปกติในแต่ละวัน

T คือ จำนวนวันที่เมล็ดงอกเป็นต้นอ่อนปกติ (Ellis and Roberts, 1980)

3.2.3 ดัชนีความเร็วในการงอก (Seed of germination index) การวัดดัชนีความเร็วในการงอกของเมล็ด โดยเฉพาะเมล็ดพันธุ์เช่นเดียวกันกับการทดสอบความงอกมาตรฐาน ใช้เมล็ดพันธุ์จำนวน 50 เมล็ดต่อม้วน จำนวน 4 ซ้ำ ประเมินความงอกทุกวัน จากวันประเมินผลความงอกครั้งแรกเมื่ออายุ 5 วัน จนถึงครั้งสุดท้ายเมื่ออายุ 10 วัน นับจำนวนต้นกล้าปกติที่งอกในแต่ละวัน นำไปคำนวณดัชนีความเร็วในการงอก (Speed of germination index; SGI) ตามวิธีการของ ISTA (2011) โดยใช้สูตร

ดัชนีความเร็วในการงอก (SGI) = ผลรวมของ [จำนวนต้นกล้าปกติแต่ละวันที่ตรวจนับ/จำนวนวันหลังเพาะที่ตรวจนับ]

3.2.4 อัตราการเจริญของต้นกล้า (Seedling growth rate test) ทำการเพาะเมล็ด 20 เมล็ด จำนวน 4 ซ้ำ ในกระดาษเพาะโดยวางเมล็ดให้เป็นแถวตามความยาวของกระดาษเพาะ จัดวางให้ปลายรากและยอดจะเจริญไปทางเดียวกัน วางม้วนกระดาษเพาะเอียงประมาณ 45 องศา โดยไม่ต้องให้แสง เมื่อครบกำหนด 5-7 วัน วัดความยาวส่วนที่งอกเป็นรากและลำต้นของต้นกล้า และนับจำนวนต้นปกติ แยกเฉพาะต้นกล้าปกติ ตัดส่วนของรากและลำต้นของต้นกล้า อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วชั่งน้ำหนักแห้ง มีหน่วยเท่ากับ มิลลิกรัมต่อต้น โดยใช้สูตร (ISTA, 2011)

อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า = (น้ำหนักแห้งของยอดอ่อนและรากอ่อน/ จำนวนหลังเพาะที่ตรวจนับ)

3.2.5 การเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยการนำเมล็ดพันธุ์ไปเพาะในที่มืด ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการประเมินความงอกแล้วคัดเลือกเฉพาะต้นกล้าปกติมาวัดความยาวของลำต้น รายงานผลเป็นความยาวลำต้นเฉลี่ย และทำการวัดความยาวรากรายงานผลเป็นความยาวรากเฉลี่ย (ISTA, 2011)

3.3 อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า วัดจากค่าความสูง ความยาวราก และพื้นที่ใบ ทำการวัดทุกวันที่ 7, 14, 21, 28, 35 และ 42 วัน หลังย้ายปลูก และนำต้นกล้าที่อายุ 42 วันหลังย้ายปลูก ทำการแยกส่วนต้นและราก นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการชั่งน้ำหนักแห้ง และคำนวณหาอัตรา Shoot/Root ratio (ISTA, 2011) ส่วนการวัดพื้นที่ใบทำการวัดพื้นที่ใบต้นข้าวด้วยเครื่องวัดพื้นที่ใบแบบไม่ทำลายใบ (Leaf area meter, Licor 3100A, Lincoln, NE, USA) วัดทุกต้น ต้นละ 3 ใบ คือ ใบที่ 1, 2 และ 3 ใบละ 3 จุด หาค่าเฉลี่ยและบันทึกผลการวัด

3.4 ปริมาณคลอโรฟิลล์ ทำการดูดสารละลาย *N,N*-dimethylformamide (DMF) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง สำหรับทำ blank และ หลอดที่ใส่ตัวอย่างใบที่เจาะและชั่งน้ำหนักเรียบร้อยแล้ว จากนั้นนำหลอดทดลองไปเก็บในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนกว่าสีเขียวของตัวอย่างจะละลายออกมาหมด สังเกตจากแผ่นเนื้อเยื่อมีสีเขียวลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับใบข้าวก่อนทำการสกัด เทสารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ควิวเวต นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480, 647 และ 664 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนแสง กดปุ่มการดูดกลืนแสง 2 ครั้ง นำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ จากสูตรของ Wellburn (1994) ดังนี้ Chlorophyll (12 A664–3.11 A647), Chlorophyll b=(20.78 A647–4.88 A664), Total chlorophyll = Chlorophyll a + Chlorophyll b และคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์ตามสูตรของ Wellburn (1994) ดังนี้ $Cx+c = (1000 A480 - 1.12 Chl a - 34.07 Chl b) / 245$ (เมื่อ $Cx+c = \text{Total carotenoids} = \text{xanthophylls} + \text{carotenoids}$) คำนวณ 2 ครั้ง หาค่าเฉลี่ยเป็น 1 ค่า สำหรับ 1 เนื้อเยื่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่คำนวณได้อยู่ในหน่วยต่าง ๆ ได้แก่ มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักสด มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักแห้ง มิลลิกรัมต่อตารางเมตร หรือ มิลลิกรัมต่อตารางเซนติเมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับว่าตัวอย่างของเราที่นำมาใช้ในการสกัดนั้นชั่งเป็นน้ำหนัก (น้ำหนักสด หรือ น้ำหนักแห้ง) หรือ เจาะเป็นพื้นที่ (ตารางเซนติเมตร) (Dharmaraj, 2019)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

คำนวณหาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD) และความแปรปรวนของตัวอย่างด้วยค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (% CV) ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistix 8 (Statistix 8.0 software, Analytical Software, Tallahassee, FL, USA) และเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของแต่ละลักษณะโดยหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)

ผลการทดลอง

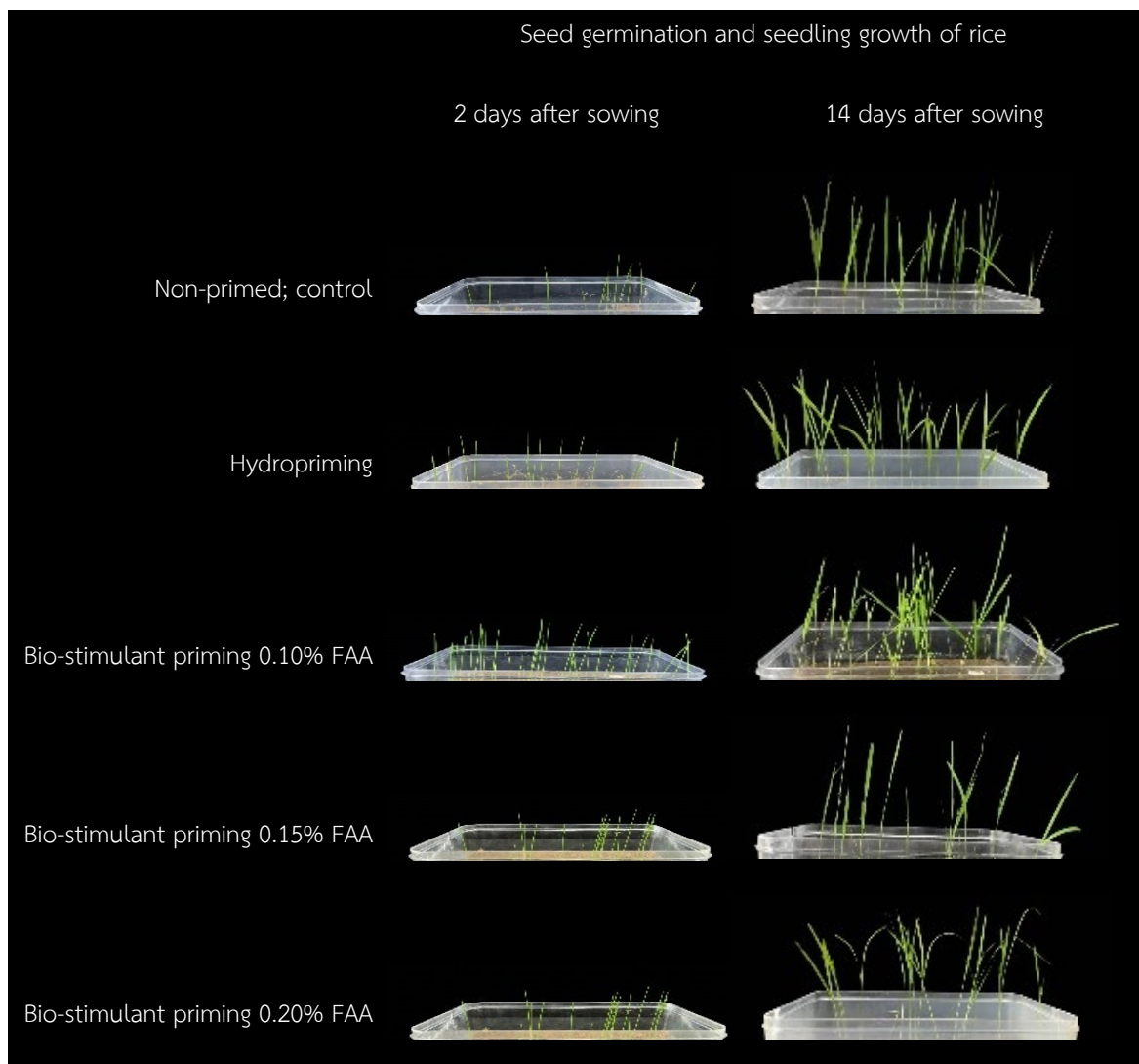
1. ผลของอัตราการใช้กรดอะมิโนแช่เมล็ดพันธุ์ต่อการงอกและความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว

จากผลการศึกษา พบว่า การแช่เมล็ดพันธุ์ก่อนการเพาะงอก (น้ำ หรือ กรดอะมิโน) ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวสูงกว่าการไม่แช่เมล็ด แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การแช่เมล็ดข้าวด้วยกรดอะมิโนที่ระดับ 0.10% ส่งผลให้เมล็ดข้าวมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด (98%) ไม่แตกต่างกับการแช่เมล็ดด้วยน้ำเปล่า (99%) แต่มากกว่าไม่แช่เมล็ดเลย (42%) และการแช่ด้วยกรดอะมิโน ที่ระดับ 0.10% มีแนวโน้มส่งผลให้ดัชนีความเร็วในการงอกเพิ่มขึ้น และใช้เวลาในการงอกเพียง 3 วัน ยังพบว่าการแช่เมล็ดข้าวด้วยกรดอะมิโนส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีความแข็งแรงมากกว่าการไม่แช่เมล็ดและแช่ด้วยน้ำเปล่า แม้ว่าดัชนีความงอกและค่าเฉลี่ยเวลาในการงอกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีแนวโน้มค่าดัชนีความเร็วในการงอกเพิ่มสูงขึ้นหากมีการแช่เมล็ดด้วยกรดอะมิโนที่ระดับ 0.10% และ 0.15% เท่ากับ 85 และ 88 ตามลำดับ แต่หากแช่ที่ระดับ 0.20% ส่งผลให้ดัชนีความเร็วในการงอกลดลงเหลือเพียง 71 (Table 1)

Table 1 Effects of biostimulant fish amino acid (FAA) priming on seed germination, speed of germination index and mean germination time of rice seedling in between paper

Treatment	Germination (%)	Speed of germination index	Mean germination time (day)
Non-primed (control)	56 c	46	4
Hydropriming	99 a	80	3
0.10% FAA	98 a	85	3
0.15% FAA	88 b	88	4
0.20% FAA	85 b	71	4
Mean	85	74	4
CV (%)	22.96	41.47	52.68
LSD _{0.05}	10.33	42.35	2.79

^{1/} Different letters were significantly different by Least Significant Difference (LSD) at $P \leq 0.05$

**Figure 2** Seed germination and seedling growth of rice after soaked seed priming methods.

2. ผลของวิธีการแช่เมล็ดและอัตราการฉีดพ่นกรดอะมิโนทางใบต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว

ผลจากการศึกษา พบว่า เมล็ดข้าวที่ผ่านการแช่เมล็ดระยะเพาะกล้าร่วมกับการฉีดพ่นกรดอะมิโนที่อัตราต่าง ๆ ในระยะต้นกล้าข้าว 14 วัน หลังเพาะงอก ส่งผลให้ความยาวยอด ความยาวราก และปริมาณคลอโรฟิลล์รวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อัตราการฉีดพ่นกรดอะมิโนทางใบที่ความเข้มข้น 0.20% ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีความยาวยอด ความยาวราก และปริมาณคลอโรฟิลล์รวมสูงสุดเท่ากับ 22.00 เซนติเมตร, 10.45 เซนติเมตร และ 13.98 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ อัตราการฉีดพ่นกรดอะมิโนทางใบที่

แตกต่างกันในต้นกล้าข้าวไม่ส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีพื้นที่ใบแตกต่างกันแต่อย่างใด โดยเฉลี่ยพื้นที่ใบข้าวเท่ากับ 14.32 ตารางเซนติเมตร แต่หากพิจารณาจากการแช่เมล็ดด้วยกรดอะมิโนพบว่าส่งผลให้ความยาวราก พื้นที่ใบ และปริมาณคลอโรฟิลล์รวมเพิ่มสูงสุดเมื่อแช่ด้วยกรด อะมิโนที่อัตราความเข้มข้นเท่ากับ 0.15% นอกจากนี้ยังพบว่า การแช่เมล็ดพันธุ์ที่อัตราความเข้มข้น 0.15% และ 0.20% ก่อนการเพาะกล้าส่งผลให้ต้นกล้ามีการเจริญเติบโตและมีพื้นที่ใบสูงสุดและมากกว่าการแช่กรดอะมิโนที่อัตราความเข้มข้น 0.10%, แช่เมล็ดด้วยน้ำ และไม่แช่เมล็ดพันธุ์เลย (Table 2) นอกจากนี้ ยังพบว่า การแช่เมล็ดระยะเพาะกล้าส่งผลให้การเจริญเติบโตด้านน้ำหนักสด และแห้งของยอดและรากต้นกล้าข้าวแตกต่างกัน โดยการแช่กรดอะมิโนที่อัตราความเข้มข้น 0.15% ส่งผลให้น้ำหนักสดราก น้ำหนักสดยอด และน้ำหนักแห้งรากสูงสุด เท่ากับ 31.83, 25.08 และ 1.58 มิลลิกรัม ตามลำดับ (Table 3) การแช่เมล็ดพันธุ์และการฉีดพ่นทางใบด้วยกรดอะมิโนปลาทะเลส่งผลให้การงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีความสัมพันธ์ (r^2) ในทิศทางบวกต่อความยาวราก ($P < 0.05$) และน้ำหนักสดราก ($P < 0.01$) โดยการแช่เมล็ดพันธุ์และการฉีดพ่นทางใบด้วยกรดอะมิโนปลาทะเลมีผลต่อความยาวรากของต้นกล้าข้าวเพียงเล็กน้อย ค่า $r^2 = 0.32$ แต่มีผลต่อน้ำหนักสดรากของต้นกล้าข้าวค่อนข้างมาก ค่า $r^2 = 0.68$ (Table 4) โดยการแช่เมล็ดพันธุ์และการฉีดพ่นทางใบด้วยกรดอะมิโนปลาทะเลช่วยกระตุ้นกระบวนการงอกและส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากฝอย หรือรากขนของข้าวในระยะต้นกล้ามากกว่าความยาวของรากจึงทำให้น้ำหนักสดของรากเพิ่มสูงขึ้น (Figure 3)

Table 2 Effect of seed priming methods and foliar fish amino acid (FAA) spray rate on length of shoot and root, leaf area index, and total chlorophyll content

Treatment	Length (cm)		Leaf area index (cm ²)	Total chlorophyll content (mg/g)
	Shoot	Root		
<i>Foliar FAA Rate; FFR</i>				
0 % FAA	20.07 ± 3.93 ^{b 1/}	9.61 ± 1.77 ^{ab}	14.97 ± 2.59	5.78 ± 7.64 ^b
0.10 % FAA	19.04 ± 3.13 ^b	8.12 ± 1.28 ^b	14.65 ± 1.86	9.96 ± 7.68 ^{ab}
0.15 % FAA	21.07 ± 3.79 ^{ab}	9.40 ± 1.94 ^{ab}	13.84 ± 2.46	15.20 ± 8.34 ^a
0.20 % FAA	22.00 ± 2.80 ^a	10.46 ± 1.40 ^a	13.87 ± 3.13	13.98 ± 11.02 ^a
<i>Seed Priming; SP</i>				
Non-primed (control)	19.66 ± 3.23	9.13 ± 1.78 ^{ab}	13.46 ± 2.13 ^b	7.91 ± 9.49 ^b
Hydropriming	20.53 ± 4.89	8.39 ± 1.74 ^b	13.28 ± 1.74 ^b	8.67 ± 7.92 ^b
0.10% FAA	20.86 ± 3.82	9.61 ± 1.93 ^{ab}	13.23 ± 1.90 ^b	11.41 ± 7.30 ^{ab}
0.15% FAA	20.72 ± 2.79	9.68 ± 1.80 ^a	15.82 ± 2.83 ^a	17.89 ± 12.54 ^a
0.20% FAA	20.94 ± 3.04	10.18 ± 1.44 ^a	15.87 ± 2.61 ^a	10.28 ± 5.92 ^b
Mean	20.55 ± 3.49	9.40 ± 1.68	14.32 ± 2.36	11.23 ± 8.65
LSD _{0.05} FFR	2.07	1.75	2.51	6.30
LSD _{0.05} SP	3.03	1.25	1.66	7.58
LSD _{0.05} FFR*SP	6.06	2.07	3.31	15.16

^{1/} Different letters were significantly different by Least Significant Difference (LSD) at $P < 0.05$

Table 3 Effect of seed priming methods and foliar fish amino acid (FAA) spray rate on length of shoot and root, leaf area index, and total chlorophyll content

Treatment	Fresh Weight (mg)		Dry Weight (mg)	
	Root	Shoot	Root	Shoot
Foliar FAA Rate; FFR				
0 % FAA	27.47 ± 9.22	17.93 ± 6.05	1.13 ± 0.52	6.47 ± 1.77
0.10 % FAA	25.20 ± 8.95	20.73 ± 7.61	1.20 ± 0.41	6.53 ± 2.90
0.15 % FAA	26.07 ± 12.40	21.40 ± 11.20	1.20 ± 0.41	7.13 ± 2.10
0.20 % FAA	28.93 ± 15.42	23.80 ± 11.68	1.33 ± 0.72	5.87 ± 2.72
Seed Priming; SP				
Non-primed (control)	22.42 ± 8.44 b	14.25 ± 5.36 c	1.00 ± 0.00 b	5.42 ± 3.18
Hydropriming	25.42 ± 13.41 ab	17.75 ± 6.48 bc	1.08 ± 0.19 b	6.42 ± 1.98
0.10% FAA	27.58 ± 10.27 ab	23.25 ± 9.54 ab	1.38 ± 0.28 ab	7.33 ± 2.27
0.15% FAA	31.83 ± 15.15 a	25.08 ± 12.54 a	1.58 ± 0.79 a	6.00 ± 2.23
0.20% FAA	27.33 ± 9.03 ab	24.50 ± 7.74 a	1.33 ± 0.65 ab	7.33 ± 1.83
Mean	26.92 ± 11.26	20.97 ± 8.33	1.22 ± 0.38	6.50 ± 2.30
LSD _{0.05} FFR	9.47	8.06	3.71	2.02
LSD _{0.05} SS	8.49	6.49	4.52	2.03
LSD _{0.05} FFR*SS	16.99	12.99	9.05	4.05

^{1/} Different letters were significantly different by Least Significant Difference (LSD) at P < 0.05

Table 4 Correlation coefficient of seed priming methods and foliar fish amino acid (FAA) spray rate on root length, shoot length, leaf area, total chlorophyll, root fresh weight, shoot fresh weight, root dry weight and shoot dry weight

Correlations (r^2)	RL	SL	LA	TC	RFW	SFW	RDW	SDW
Root length; RL	1.000	-0.334	0.150	0.204	0.206	0.318*	0.082	0.229
Shoot length; SL		1.000	-0.230	-0.175	0.100	0.090	0.016	-0.209
Leaf area index; LA			1.000	0.097	0.120	0.181	-0.138	0.159
Total Chlorophyll; TC				1.000	0.182	0.144	-0.010	-0.034
Root fresh weight; RFW					1.000	0.683**	-0.102	0.122
Shoot fresh weight; SFW						1.000	-0.050	0.316*
Root dry weight; RDW							1.000	-0.225
Shoot dry weight; SDW								1.000

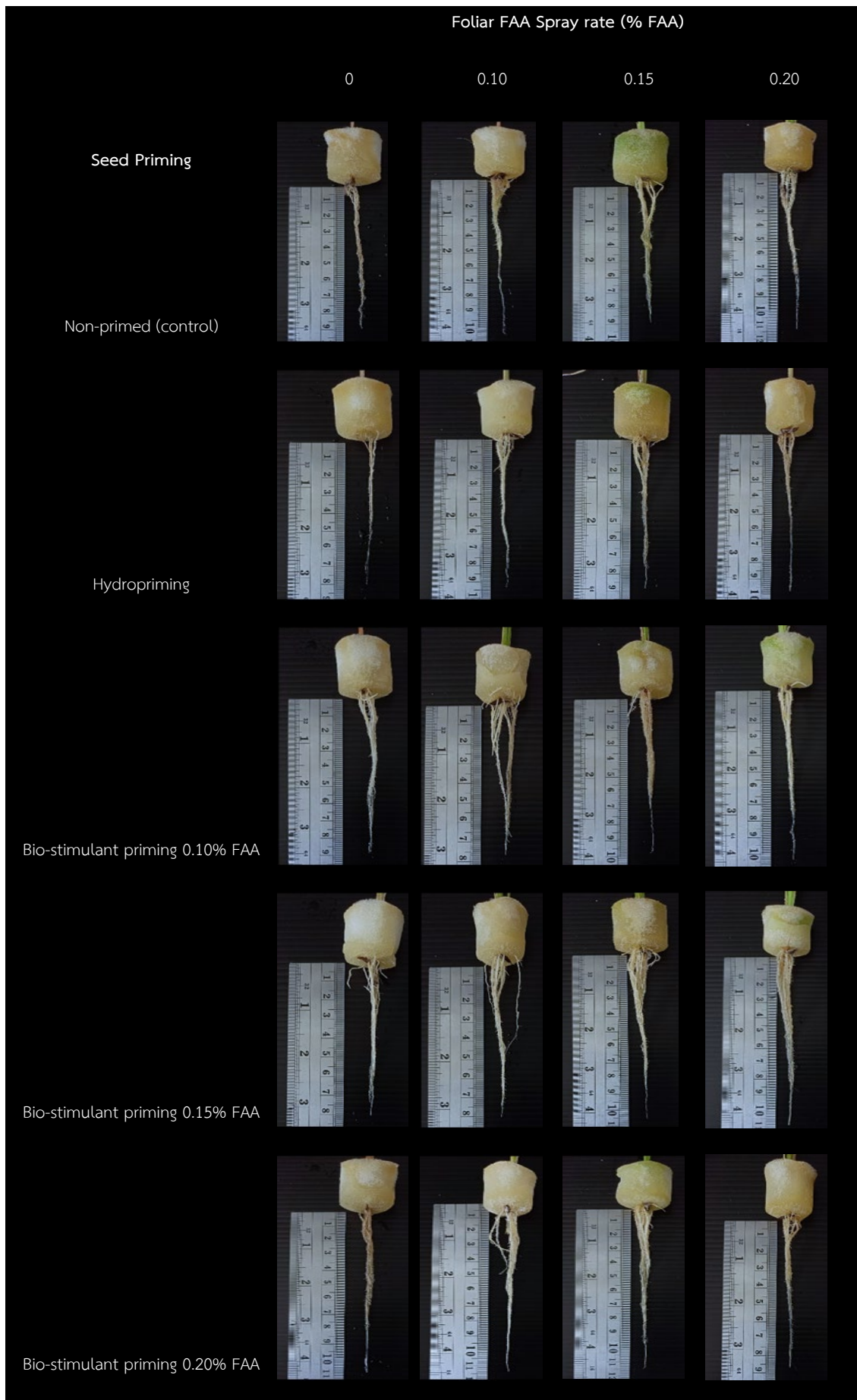


Figure 3 Rice root length and quantity at 6 weeks after foliar FAA spraying at a different rate.

วิจารณ์

1. ผลของอัตราการใช้กรดอะมิโนแชนะลิตพันธ์ต่อการงอกและความแข็งแรงของต้นกล้าข้าว

การแช่เมล็ดด้วยกรดอะมิโนก่อนการเพาะส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีเปอร์เซ็นต์การงอก ความแข็งแรงของเมล็ด พื้นที่ใบและปริมาณคลอโรฟิลล์ในต้นกล้าข้าวเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากกรดอะมิโนปลาทะเลเป็นสารเร่งทางชีวภาพสามารถดูดซึมได้ง่ายทางรากพืชและทางใบ (Nacry *et al.*, 2013; Stiegler *et al.*, 2013) มีความสามารถในการเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนของพืชและกระตุ้นการสังเคราะห์ด้วยแสงและการเจริญเติบโตของพืช (Parrado *et al.*, 2008) ซึ่งส่งผลต่อเมตาบอลิซึมของคาร์บอนและไนโตรเจน กิจกรรมที่คล้ายฮอร์โมนออกซินและจิบเบอเรลลินซึ่งมาจากกรดอะมิโนและ เปปไทด์ (Schiavon *et al.*, 2008) โดยกรดอะมิโนและเปปไทด์รวมอยู่ในโปรตีนไฮโดรไลเสตซึ่งมีต้นกำเนิดจากพืชหรือสัตว์ เกิดขึ้นจากการผลิตโดยสารเคมีหรือการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ของซากพืชหรือสัตว์ (Ertani *et al.*, 2009; Ertani *et al.*, 2013)

2. ผลของการแช่เมล็ดพันธ์และการฉีดพ่นทางใบด้วยกรดอะมิโนปลาทะเลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าว

การฉีดพ่นกรดอะมิโนทางใบสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าทั้งส่วนยอดและราก เช่นเดียวกับการทดลองของ Subbarao และคณะ (2015) รายงานว่า ต้นกล้าข้าวที่ปลูกบนอาหาร CleriGel-protein hydrolysate ทำให้ความยาวของรากและหน่อเพิ่มขึ้น ซึ่งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสต ให้ความยาวรากมากขึ้น 1.3 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับทรีตเมนต์ควบคุม ต้นกล้าข้าวมีความยาวยอดและรากเพิ่มขึ้นสูงสุด ที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสต สูงถึง 0.6% สอดคล้องกับ Gioseffi และคณะ (2012) ได้พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของโปรตีนไฮโดรไลเสต 0.4% ส่งผลต่อพื้นที่ใบของต้นกล้าถั่วลิสงเพิ่มสูงขึ้น 30% นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตทางดินที่ระดับความเข้มข้น 0.8% ส่งผลต่อให้ต้นกล้าถั่วลิสงเพิ่มปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มสูงขึ้น ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงได้ 35.1% โดยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาเปปไทด์และกรดอะมิโนหลายตัวทำหน้าที่กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช เช่น โกลซีน และ กลูตามีน ช่วยเพิ่มผลผลิต ปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ใบ และปริมาณวิตามินซีในผักสลัดที่ปลูกในดินและทำการฉีดพ่นทางใบ (Naroozlo *et al.*, 2019) ไฮโดรไลเสตโปรตีนจากปลาเป็นส่วนผสมของโอลิโกเปปไทด์ โพลีเปปไทด์ และอะมิโนกรดที่สามารถฉีดพ่นทางใบหรือฉีดลงในดินใกล้กับรากของพืช (Colla *et al.*, 2015) นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มคุณสมบัติของดิน เช่น การหายใจ โปรตีนไฮโดรไลเสตทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นการเจริญเติบโตของดินจุลินทรีย์ที่สามารถใช้ประโยชน์เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนได้ง่าย โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นสารประกอบเชิงซ้อนและคีเลตที่สามารถจับกับของธาตุอาหารหลักและรองในดิน เช่น Fe ทำให้พืชดูดไปใช้ได้เพิ่มขึ้น (Trevisan *et al.*, 2019) สารเร่งชีวภาพ (คอลลาเจนไฮโดรไลเสตโปรตีน) ช่วยในการเพิ่มน้ำหนักแห้งของทั้งรากและอัตรารส่วนระหว่างยอดและราก ช่วยสร้างและจำลองลำดับ mRNA ในรากของข้าวโพด (Trevisan *et al.*, 2017) เพิ่มขึ้นของน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง พื้นที่ใบ และปริมาณไนโตรเจนของแตงกวาที่อายุ 2 สัปดาห์ (Wilson *et al.*, 2017) และต้นกล้าข้าวโพดภายใต้สภาพเครียด ได้แก่ การขาดออกซิเจน ขาดเกลือ และสารอาหาร (Trevisan *et al.*, 2017; Trevisan *et al.*, 2019)

สรุป

การแช่เมล็ดด้วยกรดอะมิโนก่อนการเพาะงอกส่งผลให้ต้นกล้าข้าวมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงขึ้น และมีความแข็งแรงเพิ่มมากขึ้นมากกว่าการแช่ด้วยน้ำเปล่าตามวิธีการทั่วไปของเกษตรกร ส่วนอัตราการใช้กรดอะมิโนสำหรับแช่เมล็ดสามารถใช้ได้ตั้งแต่ 0.10-0.20% แต่อัตราที่แนะนำสำหรับต้นกล้าข้าวคือที่ระดับความเข้มข้นต่ำ คือ 0.10% ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกสูง และมีความแข็งแรงสูงใช้เวลาในการงอกเพียง 3 วัน การฉีดพ่นกรดอะมิโนทางใบร่วมด้วยสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าทั้งส่วนยอดและรากโดยอัตราการฉีดพ่นกรดอะมิโนทางใบที่เหมาะสมสำหรับต้นกล้าข้าวคือ ที่ระดับความเข้มข้น 0.15% และควรมีการแช่เมล็ดพันธ์ก่อนเพาะกล้าข้าวด้วยกรดอะมิโนที่ระดับความเข้มข้น 0.10% จะช่วยส่งผลให้พื้นที่ใบและปริมาณคลอโรฟิลล์ในต้นกล้าข้าวเพิ่มสูงขึ้นที่ช่วยสำหรับการสังเคราะห์แสงเพิ่มสูงขึ้น การแช่เมล็ดพันธ์และการฉีดพ่นทางใบด้วยกรดอะมิโนปลาทะเลมีความสัมพันธ์ในทิศทางบวกต่อความยาวรากและน้ำหนักสดราก ส่งผลให้ต้นข้าวในระยะต้นกล้ามีความยาวรากเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยแต่กลับมีผลค่อนข้างมากต่อน้ำหนักสดของรากโดยช่วยกระตุ้นการงอกและส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากฝอย หรือรากขนของข้าวให้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นจากปกติ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยโครงการวิจัยเงินรายได้ มหาวิทยาลัยทักษิณ กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ประเภททุนเร่งรัด (Quick Win) ขับเคลื่อนการพัฒนาเศรษฐกิจ BCG มหาวิทยาลัยทักษิณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565

เอกสารอ้างอิง

- Aung, L.H. and Flick, G.J. 1980. The influence of fish solubles on growth and fruiting of tomato. Horticultural Science 15: 32-33.
- Colla, G., Nardi, S., Cardarelli, M., Ertani, A., Lucini, L., Canaguier, R. and Roupshael, Y. 2015. Protein hydrolysates as biostimulants in horticulture. Scientia Horticulturae 196: 28–29.
- Dharmantivedya, S. 2019. Pigment Extraction from plant leaves for plant physiology studies. Naresoan Agricultural Journal 16: 73-81.
- Ellis, R.H. and Roberts, E.H. 1980. Improved equations for the prediction of seed longevity. Annals of Botany 45: 13–30.
- Ertani, A., Pizzeghello, D., Altissimo, A. and Nardi, S. 2013. Use of meat hydrolyzate derived from tanning residues as plant biostimulant for hydroponically grown maize. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 176: 287-296.
- Ertani, A., Cavani, L., Pizzeghello, D., Brandellero, E., Altissimo, A., Ciavatta, C. and Nardi, S. 2009. Biostimulant activity of two protein hydrolysates in the growth and nitrogen metabolism of maize seedlings. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 172: 237-244.
- Gioseffi, E., de Neergaard, A. and Schjoerring, J.K. 2012. Interactions between uptake of amino acids and inorganic nitrogen in wheat plants. Biogeosciences 9: 1509-1518.
- ISTA. 2011. International Rules of Seed Testing. Bassersdorf: International Seed Testing Association, Switzerland.
- Jumar, R., Saputra, A., and Jannah, S.R. 2021. Effect of fish amino acid application on growth and N-uptake in plants rice using the system of rice intensification method. Tropical Wetland Journal 7: 25-30.
- Narozlo, Y.A., Souri, K.M. and Mojtaba, D. 2019. Stimulation effects of foliar applied glycine and glutamine amino acids on lettuce growth. Open Agriculture 4: 164.
- Nacry, P., Bouguyon, E. and Gojon, A. 2013. Nitrogen acquisition by roots: physiological and developmental mechanisms ensuring plant adaptation to a fluctuating resource. Plant and Soil 370: 1-29.
- Paleckiene, R., Sviklas, A. and Šlinksiene, R. 2007. Physicochemical properties of a microelement fertilizer with amino acids. Russian Journal of Applied Chemistry 80: 352–357.
- Parrado, J., Bautista, J., Romero, E.F., Garcí-a-Martí-nez, A.M., Friaza, V. and Tejada, M. 2008. Production of a carob enzymatic extract: Potential use as a biofertilizer. Bioresource Technology 99: 2312-2318.
- Priyanka, B., Ramesh, T., Rathika, S. and Balasubramian, P. 2019. Foliar application of fish amino acid and egg amino acid to Improve the physiological parameters of rice. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 8: 3005-3009.
- Schiavon, M., Ertani, A. and 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. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56: 11800-11808.
- Shahidi, F., Han, X.Q. and Synowiecki, J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from capelin (*Mallotus villosus*). Food Chemistry 53: 285-293.
- Siri, B. 2015. Seed Conditioning and Seed Enhancements. Khon Kaen: Department of Plant Science and Agricultural Resource, Khon Kaen University.
- Stiegler, J.C., Richardson, M.D., Karcher, D.E., Roberts, T.L. and Norman, R.J. 2013. Foliar absorption of various inorganic and organic nitrogen sources by creeping bentgrass. Crop Science 52: 1148-1152.
- Subbarao, S.B., Hussain, I.S.A. and Ganesh, P.T. 2015. Bio stimulant activity of protein hydrolysate: influence on plant growth and yield. Journal of Plant Science and Research 2: 125.
- Trevisan, S., Manoli, A., Ravazzolo, L., Franceschi, C. and Quaggiotti, S. 2017. mRNA-Sequencing analysis reveals transcriptional changes in root of maize seedlings treated with two increasing concentrations of a new biostimulant. Journal of Agricultural and Food Chemistry 65: 9956–9969.
- Trevisan, S., Manoli, A. and Quaggiotti, S. 2019. A novel biostimulant, belonging to protein hydrolysates, mitigates abiotic stress effects on maize seedlings grown in hydroponics. Agronomy 9: 28.
- Weinert, E.J., Miller, S.A., Ikeda, D.M., Chang, K.S., McGinn, J.M. and DuPonte, M.W. 2014. Natural Farming: Fish Amino Acid. Sustainable Agriculture, SA-12. Hawai'i: University of Hawai'i, College of Tropical Agriculture and Human Resources.
- Welburn, A.R. 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. Journal of Plant Physiology 144: 307-313.
- Wilson, H.T., Xu, K. and Taylor, A.G. 2015. Transcriptome analysis of gelatin seed treatment as a biostimulant of cucumber plant growth. The Scientific World Journal 2015: 391234. <https://doi.org/10.1155/2015/391234>
- Yoshida, S., Forno, D.A., Cock, J.H. and Gomez, K.A. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice, 3rd ed. Manila: International Rice Research Institutes, Philippines.
- Yuan, L., Wu, L., Yang, C. and Lv, Q. 2013. Effects of iron and zinc foliar applications on rice plants and their grain accumulation and grain nutritional quality. Journal of the Science of Food and Agriculture 93: 254-261.