ผลของสารสกัดจากใบแมงลักต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน และหญ้าขจรจบดอกเหลือง

Effects of Crude Extract from *Ocimum canum* Sims Leaf on Germination and Seedling Growth of *Amaranthus tricolor* and *Pennisetum setosum* L.

บุญรอด ชาติยานนท์ [1]

บทคัดย่อ

การทดสอบผลของสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และ เมทานอล ระดับความเข้มข้น 10,000 20,000 และ 40,000 ppm ในสารละลาย 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทวีน 80 ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน และหญ้าขจรจบดอกเหลือง พบว่าสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน และหญ้าขจรจบดอกเหลืองได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสารที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลให้ผลในการยับยั้งรุนแรงที่สุด โดยเฉพาะระดับความเข้มข้น 40,000 ppm ทำให้เมล็ดหญ้าขจรจบดอกเหลืองถูกยับยั้งการงอกอย่างสมบูรณ์ เมื่อนำสารที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอล มาทำการแยกสารโดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี่ สามารถแยกสารได้จำนวน 4 ส่วน และนำสารสกัดที่แยกได้ทั้ง 4 ส่วนระดับความเข้มข้น 10,000 20,000 และ 40,000 ppm ในสารละลาย 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทวีน 80 มาทดสอบผลกับเมล็ดผักโขมสวน และหญ้าขจรจบดอกเหลือง ปรากฏว่า สารสกัดที่แยกได้ส่วนที่ 4 ให้ผลในการยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบทั้ง 2 ชนิดได้มากที่สุด การเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดมีผลให้ศักยภาพของสารสกัดในการยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบทั้ง 2 ชนิดเพิ่มมากขึ้น

คำสำคัญ : อัลลีโลพาที สารสกัด ใบแมงลัก การงอก และการเจริญเติบโต

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ 10110

Abstract

The effects of crude extracts from the dry leaves of *Ocimum canum* Sims which was sequentially extracted by using three organic solvents : hexane, chloroform and methanol on germination and seedling growth of *Amaranthus tricolor* and *Pennisetum setosum* L. was investigated. Each crude extract was dissolved in 0.5% Tween 80 solution at the concentrations of 10,000 20,000 and 40,000 ppm The results showed that the methanol extracts significantly Inhibited seed germination and seedling growth of *Amaranthus tricolor* and *Pennisetum setosum* L.

The inhibitory effect of the extract increased when the higher concentrations were applied. The methanol extract was separated into 4fractions by column chromatography and each fraction was diluted to 10,000, 20,000 and 40,000 ppm in 0.5% Tween 80 solution. The results showed that the fraction four had the highest effect in inhibition seed germination and seedling growth of *Amaranthus tricolor* and *Pennisetum setosum* L. Increasing the concentration of the extract to 40,000 ppm resulted to higher potential in inhibiting seed germination and seedling growth of *Amaranthus tricolor* and *Pennisetum setosum* L.

Keywords : Allelopathy crude extract *Ocimum canum* Sims leaf germination and seedling growth

บทนำ

วัชพืช จัดเป็นศัตรูพืชที่สำคัญในระบบการเพาะปลูกพืช โดยจะพบวัชพืชร่วมกับการปลูกพืชทุกครั้งไม่ว่าจะปลูกพืชชนิดใด และฤดูกาลใด วัชพืชจะแย่งน้ำและอาหารของพืชปลูก ส่งผลทำให้ผลผลิตของพืชปลูกลดลง การควบคุมวัชพืชในปัจจุบันนิยมใช้สารกำจัดวัชพืช เนื่องจากมีข้อดีคือใช้งานง่าย สะดวก รวดเร็ว ประหยัดแรงงาน และสามารถเห็นผลได้อย่างรวดเร็ว (พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2540 : 25) ขณะเดียวกันการใช้สารกำจัดวัชพืชอาจก่อให้เกิดความเป็นพิษ เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อม รวมทั้งการปนเปื้อนของสารพิษในผลผลิตพืช หากเกษตรกรมีการใช้สารกำจัดวัชพืชไม่ถูกต้องตามคำแนะนำ ดังนั้นการใช้สารกำจัดวัชพืชให้น้อยที่สุด จะเป็นผลดีต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม ซึ่งทางเลือกที่น่าสนใจทางหนึ่ง คือการใช้สารที่ได้จากพืชธรรมชาติในการจัดการวัชพืชแบบยั่งยืน(sustainable weed management) ในธรรมชาติพบว่ามีพืชชนิดต่างๆ ทั้งพืชปลูก และวัชพืชจะมีความสัมพันธ์ทางด้านชีวเคมีต่อกัน โดยพืชสามารถผลิตสารเคมีขึ้นมา ส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) และปลดปล่อยสารเหล่านั้นออกสู่สภาพแวดล้อมไปมีผลกระทบทั้งทางด้านการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชที่ขึ้นอยู่ข้างเคียง หรือสิ่งมีชีวิตอื่นๆ โดยเรียกปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นว่า อัลลีโลพาที (allelopathy) และเรียกสารเคมีที่ปลดปล่อยออกมาสู่สภาพแวดล้อมว่า สารอัลลีโลพาที (allelochemicals หรือ allelopathic substances) (Rice. 1984 : อัดสำเนา; Putnam. 1985 : อัดสำเนา) จากการศึกษาทดลองเบื้องต้นของผู้วิจัย ได้นำพืชในวงศ์ Lamiaceae จำนวน 5 ชนิด

ได้แก่ กระเพรา (*Ocimum sanctum* L.) โหระพา (*Ocimum basilicum* L.) แมงลัก (*Ocimum canum* Sims.) ยี่หร่า (*Ocimun gratissimum* L.) และสะระแหน่ (*Mentha cordifolia* Opiz.) มาศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ พบว่าสารสกัดจากใบแมงลักแห้ง มีศักยภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบได้ดีที่สุด ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ดำเนินการทดลองต่อโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดสารและการแยกสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบจากใบแมงลักแห้ง ผลการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้น และอาจเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมวัชพืชโดยตรง หรืออาจใช้เป็นต้นแบบในการสังเคราะห์สารและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สารกำจัดวัชพืชชนิดใหม่ ที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อมน้อยลง

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 การศึกษาเปรียบเทียบ ตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม (Organic solvent) ในการสกัดสารจากใบแมงลักแห้ง โดยวิธี Sequential extraction

การเตรียมสารสกัด

เก็บใบแมงลักจากเรือนทดลองปลูกพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มาทำความสะอาดด้วยน้ำ และผึ่งให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นนำใบพืชอบให้แห้งในตู้อบแห้งโดยใช้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 72 ชั่วโมง นำใบแมงลักแห้งมาบดละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า เสร็จแล้วนำใบแมงลักบดละเอียดมาใส่ในขวดแก้ว ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน(Hexane) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) และเมทานอล (Methanol) (แยกสกัดแต่ละขวดด้วยตัวทำละลายต่างกัน) โดยใช้ผงใบแมงลักแห้ง 10 กรัมต่อตัวทำละลายอินทรีย์ 100 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ 72 ชั่วโมง (ตามวิธีการของ วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ และคณะ. 2544 : 1–6) กรองสารสกัดด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรองเบอร์1 หลังจากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator ยี่ห้อ Buchi รุ่น–114 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนกระทั่งสารสกัดแห้ง

การทดสอบผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบ

นำสารสกัดจากใบแมงลักที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล มาชั่งน้ำหนัก และเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตามที่กำหนด คือ 10,000 20,000 และ 40,000 ppm ในสารละลาย 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทวีน (Tween) 80 (จากการทดสอบสารละลาย 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทวีน 80 กับเมล็ดผักโขมสวน พบว่าสารละลาย 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทวีน 80 ไม่มีความเป็นพิษต่อการงอกและการเจริญเติบโตต้นกล้าผักโขมสวน) นำสารสกัดความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมได้ และน้ำกลั่น(ตัวควบคุม) ใส่ลงในจานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ซึ่งรองพื้นจานทดลองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด นำเมล็ดพืชทดสอบจำนวน 2 ชนิด คือ ผักโขมสวน (*Amaranthus tricolor*) และหญ้าขจรจบดอกเหลือง (*Pennisetum setosum* L.) ใส่ลงในจานทดลองจำนวน 20 เมล็ดต่อจาน ปิดฝาครอบจานทดลอง และวางจานทดลองไว้ในชั้นเพาะเลี้ยง

โดยให้แสงสว่างด้วยหลอด Philips TLD ฟลูออเรสเซนส์ ชนิด Daylight ความเข้ม 3,800 ลักซ์ 13 ชั่วโมงต่อวัน วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ สังเกตและบันทึกการงอกของเมล็ดและอาการผิดปกติต่างๆทุกวันเป็นเวลา 7 วัน โดยการกำหนดให้เมล็ดที่มี radicle แทงออกมาจากเปลือกหุ้มเมล็ดอย่างน้อย 2 มิลลิเมตร ถือว่าเป็นเมล็ดงอก(ตามวิธีการของ Egley. (1974 : 537) จากนั้นวัดความยาวราก และลำต้นของต้นกล้าที่ 7 วันหลังจากเริ่มทำการเพาะเมล็ด นำข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธีการ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ในระดับความเชื่อมั่นที่ 95 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 การแยกสารจากใบแมงลักแห้งด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี่ (Column Chromatography)

นำสารสกัดจากใบแมงลักที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล มาทำให้แห้งโดยผสมกับซิลิกาเจล (silica gel ในอัตราส่วน 1:2 (สารสกัดหยาบเมทานอล ต่อ ซิลิกาเจล) นำมาแยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี่ ทำการชะสารด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมโดยเรียงลำดับความมีขั้วน้อยไปหาขั้วมากได้แก่ Hexane : Ethyl acetate (100:0, 95:5, 90:10, 80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80, 10:90, และ 0:100 ตามลำดับ) Ethyl acetate : Methanol (100:0, 95:5, 90:10, 85:15, 80:20, 75:25 และ 0:100 ตามลำดับ) เก็บสารละลายที่ถูกชะออกมาและรวมสารที่เหมือนกันไว้ด้วยกัน ตรวจสอบโดยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟี่ (Thin Layer Chromatography (TLC) สามารถแยกสารได้ทั้งสิ้น 4 ส่วน(fraction) นำสารที่แยกได้ทั้ง 4 ส่วน มาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator ยี่ห้อ Buchi รุ่น – 114 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

การทดสอบผลต่อการงอกและกาเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบ

นำสารสกัดที่แยกได้ทั้ง 4 ส่วนมาชั่งน้ำหนัก และเจือจางให้มีความเข้มข้นตามที่กำหนด คือ 10,000 20,000 และ 40,000 ppm ในสารละลาย 0.5 เปอร์เซ็นต์ ทวีน 80 นำสารสกัดความเข้มข้นต่างๆที่เตรียมได้รวมทั้งน้ำกลั่น(ตัวควบคุม) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ซึ่งรองพื้นจานทดลองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด นำเมล็ดพืชทดสอบ จำนวน 2 ชนิด คือ ผักโขมสวน และหญ้าขจรจบดอกเหลือง ใส่ลงในจานทดลองจำนวน 20 เมล็ดต่อจาน ปิดฝาครอบจานทดลองและวางจานทดลองไว้ในชั้นเพาะเลี้ยง โดยให้แสงสว่างด้วยหลอด Philips TLD ฟลูออเรสเซนส์ ชนิด Daylight ความเข้ม 3,800 ลักซ์ 13 ชั่วโมงต่อวัน

การวางแผนการทดลอง และการบันทึกผลการทดลองใช้วิธีเดียวกับการทดลองที่ 1

การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (Inhibition Percentage, IP)

$$IP = \frac{C - T}{C} \times 100$$

C = การงอกของเมล็ด หรือความยาวต้นกล้า ของตัวควบคุม

T = การงอกของเมล็ด หรือความยาวต้นกล้า ที่ได้รับสารจากใบแมงลักคาอัตราส่วนความเข้มข้นต่างๆ

ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 การศึกษาเปรียบเทียบตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสม (Organic solvent) ในการสกัดสารจากใบแมงลักแห้ง โดยวิธี Sequential extraction ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบ 2 ชนิดได้แก่ ผักโขมสวน และหญ้าขจรจบดอกเหลือง

1.1 ผลของสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิดต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน

จากการเพาะเมล็ดในสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น(ตัวควบคุม) เป็นเวลา 7 วันปรากฏว่า เมล็ดผักโขมสวนที่เพาะในสารที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดทุกระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับตัวควบคุม (ตารางที่ 1) สารที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอล มีศักยภาพในการยับยั้งการงอกของเมล็ดได้ดีที่สุด โดยเมล็ดมีการงอกเพียง 8.33–31.66 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ สารที่ได้จากการสกัดด้วยคลอโรฟอร์มเมล็ดมีการงอก 13.33–45.00 เปอร์เซ็นต์ และสารที่ได้จากการสกัดด้วยเฮกเซน เมล็ดมีการงอก 28.33–73.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดส่งผลให้เมล็ดถูกยับยั้งการงอกเพิ่มมากขึ้น

สำหรับการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน หลังเพาะเมล็ด 7 วัน พบว่าต้นกล้าที่เพาะในสารที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวนได้ โดยเฉพาะสารที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลที่ระดับความเข้มข้น 40,000 ppm ต้นกล้ามีความยาวส่วนลำต้นและส่วนรากเพียง 1.01 และ0.63 เซนติเมตรตามลำดับ (ตารางที่ 1) รองลงมาได้แก่สารที่ได้จากการสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ตามลำดับ การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้มากขึ้น ส่งผลให้การเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวนถูกยับยั้งเพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 1 ผลของสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน

ระดับความเข้มข้น (ppm)	การงอก[1/] (เปอร์เซ็นต์)	ความยาวต้น[1/] (ซม.)	ความยาวราก[1/] (ซม.)
Distilled water	91.66 a	4.66 a	4.23 a
Hexane 10000	73.33 b	4.06 ab	3.96 a
Hexane 20000	45.00 c	3.33 bc	3.93 a
Hexane 40000	28.33 cd	2.33 cde	2.43 b
Chloroform 10000	45.00 c	3.16 bc	2.23 bc

ตารางที่ 1 ผลของสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน (ต่อ)

ระดับความเข้มข้น (ppm)	การงอก[1/] (เปอร์เซ็นต์)	ความยาวต้น[1/] (ซม.)	ความยาวราก[1/] (ซม.)
Chloroform 20000	28.33 cd	2.63 cd	1.43 bcd
Chloroform 40000	13.33 de	1.50 def	1.30 cd
Methanol 10000	31.66 c	1.90 def	2.53 b
Methanol 20000	31.66 c	1.46 ef	1.50 bcd
Methanol 40000	8.33 e	1.0 f	0.63 d

[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ย (แนวตั้ง) ที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p = 0.05)

1.2 ผลของสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิดต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลือง

การทดสอบผลการงอกของเมล็ดหญ้าขจรจบดอกเหลืองที่ได้รับสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดทุกระดับความเข้มข้น เปรียบเทียบกับเมล็ดที่เพาะในน้ำกลั่น พบว่าการงอกของเมล็ดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) สารที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดได้ดีที่สุด ที่ระดับความเข้มข้น 10,000–20,000 ppm เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอก 41.66 และ26.66 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 40,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าขจรจบดอกเหลืองได้อย่างสมบูรณ์

ต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลืองที่เพาะในสารที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอล ระดับความเข้มข้น 40,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวส่วนลำต้น และความยาวส่วนรากได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 10,000 และ 20,000 ppm ต้นกล้ามีความยาวส่วนลำต้น และความยาวส่วนราก 2.76–1.23 และ 1.53 – 1.13 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ในขณะที่สารที่ได้จากการสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม ระดับความเข้มข้น 10,000–40,000 ppm ต้นกล้ามีความยาวส่วนลำต้น 3.70–1.40เซนติเมตร และมีความยาวส่วนราก 2.66–1.60 เซนติเมตร สำหรับสารสกัดจากเฮกเซนทุกระดับความเข้มข้นต้นกล้ามีความยาวส่วนลำต้น 4.50–2.50 เซนติเมตร และมีความยาวส่วนราก 3.50–2.06 เซนติเมตร ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ผลของสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลือง

ระดับความเข้มข้น (ppm)	การงอก[1/] (เปอร์เซ็นต์)	ความยาวต้น[1/] (ซม.)	ความยาวราก[1/] (ซม.)
Distilled water	91.66 a	4.83 a	3.83 a
Hexane 10000	61.66 b	4.50 ab	3.50 ab
Hexane 20000	46.66 bc	3.76 b	3.06 ab
Hexane 40000	35.00 cde	2.50 c	2.06 cd
Chloroform 10000	46.66 bc	3.70 b	2.66 bc
Chloroform 20000	46.66 bc	2.70 c	2.03 cd
Chloroform 40000	21.66 e	1.40 d	1.80 cd
Methanol 10000	41.66 cd	2.76 c	1.53 d
Methanol 20000	26.66 de	1.23 d	1.13 d
Methanol 40000	0.00 f	0.00 e	0.00 e

[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ย (แนวตั้ง) ที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p = 0.05)

การทดลองที่ 2 การแยกสารจากใบแมงลักแห้งด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี่

จากการนำสารที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลไปแยกสารด้วยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี่ทำการชะสารด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมโดยเรียงลำดับความมีขั้วน้อยไปหาขั้วมากได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต(Ethyl acetate) และเมทานอล เก็บสารละลายที่ถูกชะออกมาโดยรวมสารละลายที่เหมือนกัน ตรวจสอบโดยวิธีทินแลเยอร์โครมาโตกราฟี่ (TLC) สามารถแยกสารละลายได้ 4 ส่วน นำสารที่แยกได้ทั้ง 4 ส่วนไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวนและหญ้าขจรจบดอกเหลือง

2.1 ผลของสารสกัดจากใบแมงลักด้วยเมทานอลที่แยกได้จำนวน 4 ส่วน ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน

การใช้สารสกัดด้วยเมทานอลจากใบแมงลักแห้งที่แยกได้ ทั้ง 4 ส่วนระดับความเข้มข้น 10,000 20,000 และ40,000 ppm เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น(ตัวควบคุม) พบว่า สารสกัดด้วยเมทานอลที่แยกได้ทั้ง 4 ส่วน สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมสวนได้ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่เพาะในน้ำกลั่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 3) โดยสารที่แยกได้ในส่วนที่ 4 มีศักยภาพในการยับยั้งการงอกของเมล็ดดีที่สุด การใช้สารสกัดที่แยกได้ส่วนที่ 4 ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm เมล็ดมีการงอก 11.66 เปอร์เซ็นต์ และระดับความเข้มข้น 20,000 ppm เมล็ดมีการงอกได้เพียง 1.66 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ระดับความเข้มข้น 40,000 ppm สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักโขมสวนอย่างสมบูรณ์ รองลงมาคือสารสกัดที่แยกได้ส่วนที่ 3 ,2 และส่วนที่ 1 ตามลำดับ

สำหรับผลการทดสอบต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน พบว่าสารสกัดที่แยกได้ทั้ง 4 ส่วนทุกระดับความเข้มข้น สามารถยับยั้งความยาวส่วนลำต้น และความยาวส่วนราก ของต้นกล้าผักโขมสวนได้ โดยสารสกัดที่แยกได้ส่วนที่ 4 สามารถยับยั้งความยาวส่วนลำต้น และความยาวส่วนรากได้มากที่สุด โดยที่ระดับความเข้มข้น 20,000 ppm ต้นกล้ามีความยาวส่วนลำต้นเพียง 0.40 เซนติเมตร และความยาวส่วนราก 0.36 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 40,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวส่วนลำต้นและส่วนรากได้อย่างสมบูรณ์ (ตารางที่ 3)

2.2 ผลของสารสกัดจากใบแมงลักด้วยเมทานอลที่แยกได้จำนวน 4 ส่วน ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลือง

การทดสอบผลของสารที่แยกได้ทั้ง 4 ส่วน ที่ระดับความเข้มข้น 10,000 20,000 และ 40,000 ppm พบว่าสารที่แยกได้ส่วนที่ 4 สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าขจรจบดอกเหลืองได้ดีที่สุด โดยที่ระดับความเข้มข้น 20,000 และ 40,000 ppm ส่งผลให้เมล็ดหญ้าขจรจบดอกเหลืองถูกยับยั้งการงอกอย่างสมบูรณ์(ตารางที่ 4) รองลงมาคือ สารสกัดที่แยกได้ส่วนที่ 3, 2 และส่วนที่ 1 ตามลำดับ

ผลต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลือง พบว่า สารสกัดที่แยกได้ทั้ง 4 ส่วน สามารถยับยั้งความยาวส่วนลำต้น และส่วนรากได้แตกต่างกัน (ตารางที่ 4) โดยสารสกัดที่แยกได้ส่วนที่ 4 ระดับความเข้มข้น 20,000 และ40,000 ppm สามารถยับยั้งความยาวส่วนลำต้นและความยาวส่วนรากได้อย่างสมบูรณ์ และที่ระดับความเข้มข้น 10,000 ppm ต้นกล้ามีความยาวส่วนลำต้นเพียง 1.23 เซนติเมตร และความยาวส่วนราก 0.83 เซนติเมตร ในขณะที่ สารสกัดที่แยกได้

ส่วนที่ 3 ทุกระดับความเข้มข้นต้นกล้ามีความยาวส่วนลำต้น 0.70–1.93 เซนติเมตร และมีความยาวส่วนราก 0.16–1.60 เซนติเมตร ส่วนสารที่แยกได้ชั้นที่ 2 ต้นกล้ามีความยาวส่วนลำต้น 1.33–2.80 เซนติเมตร และมีความยาวส่วนราก 1.20–1.90 เซนติเมตร สำหรับสารที่แยกได้ชั้นที่ 1 ต้นกล้ามีความยาวส่วนลำต้น 1.80–3.76 เซนติเมตร และมีความยาวส่วนราก 1.76–3.46 เซนติเมตร

ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยเมทานอลจำนวน 4 ส่วน(fraction) ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน

ระดับความเข้มข้น (ppm)	การงอก[1/] (เปอร์เซ็นต์)	ความยาวต้น[1/] (ซม.)	ความยาวราก[1/] (ซม.)
Distilled water	91.66 a	4.36 a	4.00 a
fraction 1			
1000			
2000	63.33 b	3.86 ab	2.83 b
4000	53.33 bc	2.90 bcd	2.36 bc
fraction 2	41.66 cd	2.10 de	1.30 e
1000			
2000	55.00 bc	3.43 abc	2.20 bcd
4000	43.33 cd	2.26 d	1.53 de
fraction 3	36.66 d	2.10 de	1.73 cde
1000			
2000	31.66 de	2.50 cd	1.73 cde
4000	23.33 ef	1.93 de	1.43 de
fraction 4	15.00 f	1.20 ef	1.03 ef
1000			
2000	11.66 fg	2.76 cd	1.43 de
4000	1.66 g	0.40 fg	0.36 fg
	0.00 g	0.00 g	0.00 g

[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำค่าเฉลี่ย (แนวตั้ง) ที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p = 0.05)

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยเมทานอลจำนวน 4 ส่วน(fraction) ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลือง

ระดับความเข้มข้น (ppm)	**การงอก[1/] (เปอร์เซ็นต์)**	**ความยาวต้น[1/] (ซม.)**	**ความยาวราก[1/] (ซม.)**
Distilled water	90.00 a	4.90 a	4.43 a
fraction 1			
1000			
2000	58.33 b	3.76 b	3.46 b
4000	43.33 c	2.63 c	2.63 c
fraction 2	31.66 de	1.80 de	1.76 d
1000			
2000	38.33 cd	2.80 c	1.90 d
4000	35.00 cd	1.76 de	1.60 de
fraction 3	21.66 ef	1.33 def	1.20 ef
1000			
2000	23.33 ef	1.93 d	1.60 de
4000	16.66 fg	1.06 fg	1.03 f
fraction 4	8.33 gh	0.70 g	0.16 g
1000			
2000	31.66 de	1.23 efg	0.83 f
4000	0.00 h	0.00 h	0.00 g
	0.00 h	0.00 h	0.00 g

[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำค่าเฉลี่ย (แนวตั้ง) ที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p = 0.05)

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากใบแมงลักแห้งด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน และหญ้าขจรจบดอกเหลือง ปรากฏว่า สารสกัดจากใบแมงลักด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบได้ดีที่สุด รองลงมาคือตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาผลของสารสกัดจากใบปรู๋ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของถั่วผี พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลมีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วผีมากที่สุด (ปราณี บุญวัฒน์, 2547) ในขณะที่ ปรารถนา จันทา (2548) ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิดสกัดใบต้อยติ่ง โดยใช้วิธีเดียวกัน แล้วนำไปทดสอบกับเมล็ดพืชทดสอบ 4 ชนิด พบว่าสารสกัดด้วยเมทานอลมีผลยับยั้งต่อการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม และเฮกเซน และ สุรเชษฐ พัฒใส. (2554 : อัดสำเนา) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการละลายของสารอัลลีโลพาทีจากใบหญ้าสาบ *(Praxelis clematidea* (Griseb.) R.M.King & H.Rob) ด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิดได้แก่ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล พบว่าสารสกัดจากใบหญ้าสาบด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบได้ดีที่สุด รองลงมาคือตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ตามลำดับ ในขณะที่ วิรัตน์ ภูวิวัฒน์.(2544) ศึกษาสารสกัดจากใบประยงค์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิดได้แก่ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล พบว่าสารที่ได้จากการสกัดด้วยคลอโรฟอร์มสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าขจรจบดอกเหลืองได้ดีที่สุด รองลงมา คือสารที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอล และเฮกเซน ตามลำดับ Einhellig. (1985 : 161 – 200) กล่าวว่าสารอัลลีโลพาทีประกอบด้วยสารเคมีต่างชนิดกัน แต่ละชนิดมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายต่างกัน แสดงว่าสารอัลลีโลพาทีในพืชต่างชนิดกันอาจละลายได้ดีในตัวทำละลายต่างกัน เช่นสารอัลลีโลพาทีจากพืชบางชนิดสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายเมทานอลแต่ในพืชบางชนิดก็อาจจะละลายได้ดีในตัวทำละลายชนิดอื่นๆ Iqbal; et al., (2003: 657-662.) จากการศึกษา พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวนและหญ้าขจรจบดอกเหลืองจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นสารสกัดที่ใช้เพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับ Ohno et.al. (2000 : 187 – 192) พบว่าผลในการยับยั้งการงอกและความยาวต้นกล้าของ *Sinapis arvensis* จะมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจาก *Trifolium pretense* เพิ่มขึ้น

จากการแยกสารสกัดด้วยเมทานอลจากใบแมงลักแห้งด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟี และนำสารที่แยกได้จำนวน 4 ส่วน มาทดสอบฤทธิ์ของสารในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักโขมสวน และหญ้าขจรจบดอกเหลือง ปรากฏว่าสารสกัดที่แยกได้ส่วนที่ 4 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดที่แยกได้ส่วนที่ 3, ส่วนที่ 2 และส่วนที่ 1 อย่างไรก็ตามแสดงว่าสารสกัดจากใบแมงลักในชั้นเมทานอลมีสารธรรมชาติหลายชนิดที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชเป็นส่วนประกอบอยู่ ซึ่งจากรายงานของ วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ และคณะ.(2545 : 131 – 133) ศึกษาผลของสารสกัดจากใบประยงค์แห้งด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเมทานอล โดยวิธี Sequential

extraction และนำสารที่ได้จากการสกัดด้วยคลอโรฟอร์มมาทำการแยกสารโดยคอลัมน์โครมาโตกราฟี่ และนำสารที่แยกได้จำนวน 3 ส่วนคือ ส่วน A, B และ C ไปทดสอบการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโต ของต้นกล้าหญ้ารังนก(*Chloris barbata* Sw.) พบว่าสารที่แยกได้ทั้ง 3 ส่วนมีผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้ารังนกได้ โดยสารสกัดในส่วน B และ C ให้ผลต่อการยับยั้งรุนแรงกว่าสารสกัดในส่วน A

จากผลการทดลองครั้งนี้แสดงให้ทราบว่าสามารถสกัด และแยกสารจากใบแมงลัก ซึ่งเป็นพืชปลูกได้ดีโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายและมีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชปลูกและวัชพืชได้ ซึ่งต่อไปในอนาคตอาจจะนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในการควบคุมวัชพืช เพื่อลดการใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชได้

เอกสารอ้างอิง

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. (2540). วัชพืชศาสตร์. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์รั้วเขียว.

ปราณี บุญวัฒน์. (2547). การศึกษาศักยภาพของสารสกัดจากใบปรู๋ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของถั่วผี. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 35 (5–6) : 471 – 8.

ปรารถนา จันทา. (2548). การศึกษาผลทางอัลลีโลพาทีในต้อยติ่ง. ปริญญานิพนธ์ มหาวิทยาลัยศรีนคริทรวิโรฒ.(อัดสำเนา).

วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ และคณะ. (2544). ผลของสารสกัดจากใบประยงค์ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าขจรจบดอกเหลือง. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 19 (3) : 1– 6.

วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ และคณะ.(2545). ผลของสารสกัดจากใบประยงค์ในชั้นคลอโรฟอร์มต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้ารังนก. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร. 33 4 – 5 (พิเศษ) : 131 – 3.

สุรเชษฐ พัฒใส. (2554). ผลทางอัลลีโลพาทีจากหญ้าสาบต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชปลูกบางชนิด. ปริญญานิพนธ์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. (อัดสำนา)

Egley, G.H. (1974) Dormancy variations in common purslane seeds. Weed Science. 22 : 535 – 40.

Iqbal, Z. et al. (2003). Allelopathic activity of buckwheat: isolation and characterization of phenolics. *Weed Science*. 51 (5) : 657 – 62.

Putnam, A. R. (1985). Weed Allelopathy. In S. O. Duke(ed.) Weed Physiology Vol. ll : Reproduction and Ecophysiology. CRC Press, Inc. : Florida.

Rice, E.L. (1984). Allelopathy. 2nd ed. Orlando : Academic Press, Inc.

Ohno, T. et.al. (2000). Phytotoxic effects of red clover amended soils on wild mustard seedling growth. Agriculture, Ecosystem & Environment. 78 : 187 –192.

Einhellig, F.A. (1985). Allelopathy – A natural protection allelochemicals. 161 – 200. In Mandava, N.B. editor. Handbook of Natural Pesticides : Methods. Vol. 1 Florida : CRC Press, Inc.