บทความวิจัย

ผลของสารสกัดจากใบยอป่า (*Morinda elliptica* (Hook. f.) Ridl.) ต่อการงอกของเมล็ด

จารุวรรณ แซ่เอง และ ภาคภูมิ พระประเสริฐ*

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลอัลลีโลพาธีของสารสกัดหยาบจากใบยอป่าที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเมทานอล (50, 80, และ 95 เปอร์เซ็นต์ v/v) ต่อการงอกของเมล็ดถั่วเขียว (*Vigna radiata L.*) และข้าว (*Oryza sativa* L.) พบว่าได้สารสกัดหยาบเข้มข้น 41, 39, 29 และ 22 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สารสกัดจากใบยอป่าที่สกัดด้วยน้ำกลั่นมีผลต่อการงอกของเมล็ดถั่วเขียวและข้าวมากที่สุด โดยมีผลให้เมล็ดมีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงเป็น 81 และ 66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อศึกษาถึงผลของสารสกัดต่อความยาวยอดของเมล็ดถั่วเขียว พบว่า สารสกัดด้วยเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ มีผลยับยั้งความยาวยอดได้ดีที่สุดคือ 73 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์มีผลยับยั้งความยาวรากของเมล็ดถั่วเขียวมากที่สุดโดยมีผลยับยั้ง 76 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม สำหรับการศึกษาถึงผลของสารสกัดต่อการเจริญของยอดและรากของต้นกล้าข้าว พบว่า สกัดด้วยเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของยอดและรากได้ดีที่สุด คิดเป็น 94 และ 95 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมตามลำดับ ($P \leq 0.05$).

คำสำคัญ: ยอป่า อัลลีโลพาธี การงอกของเมล็ด

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี 20131

*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: phakpoom@buu.ac.th

Effect of Crude Extract from Leaf of *Morinda elliptica* (Hook. f.) Ridl. on Seed Germination

Jaruwan Saeang and Phakpoom Phraprasert*

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the allelopathic effect of crude extract from leaves of *Morinda elliptica* (Hook. f.) Ridl. on seed germination and seedling growth of rice (*Oryza sativa* L.) and mungbean (*Vigna radiata* L.). The *M. elliptica* leaves were extracted by various solvents including water and aqueous methanol (50%, 80%, and 95% v/v) which afforded the crude extracts at the concentrations of 41, 39, 29, and 22 g/L, respectively. The results indicated that seed germination of mungbean and rice treated by water extract were reduced to 81 and 66% when compared to the control. Seedling growth (root and shoot length) of rice and mungbean were reduced after treated by the aqueous methanol extracts. Shoot length of mungbean seedling was significantly inhibited for 73% of control after treated by the 50% aqueous methanol extract and roots length treated by the 80% aqueous methanol extract was significantly inhibited for 76% of control. The study to the effect of extracts on rice shoot and root growths showed that 50% aqueous methanol extract was significantly inhibited for 94% and 95% respectively, when compared to the control ($P \leq 0.05$).

Keywords: *Morinda elliptica* (Hook. F.) Ridl., allelopathy, seed germinatione

Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131

*corresponding author, e-mail: phakpoom@buu.ac.th

บทนำ

ปัจจุบันมีการใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชกันอย่างแพร่หลายและใช้ในปริมาณมาก เพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร แต่การใช้สารเคมีเหล่านี้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ส่งผลให้เกษตรกรและผู้บริโภคได้รับความเสี่ยงจากความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชเหล่านั้น นอกจากนั้นแล้วสารเหล่านี้มีการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมและมีผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ อย่างหลากหลาย [1-2] จึงได้มีความพยายามในการศึกษาค้นหาสารจากธรรมชาติที่น่าจะมีความปลอดภัยกว่า ซึ่งสามารถช่วยลดปัญหาที่ส่งผลต่อเกษตรกรผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมได้ [3] ทั้งนี้มีการศึกษาพบว่า พืชบางชนิดสามารถสร้างและปลดปล่อยสารเคมีบางชนิดออกสู่สิ่งแวดล้อมและมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชข้างเคียง ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า อัลลีโลพาธี (allelopathy) [4] การศึกษาถึงผลของสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดวัชพืชและพืชปลูกแสดงให้เห็นว่าพืชชนิดต่าง ๆ สามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของพืชอื่นได้ ภาคภูมิ และวรัญญา [5] ศึกษาผลของสารสกัดจากใบผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaerth.) ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำ เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเฮกเซนต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืช 6 ชนิด คือ ผักแครด ถั่วผี หญ้าเจ้าชู้ ต้อยติ่ง คะน้า และข้าว พบว่า สารสกัดจากใบผักแครดด้วยเอทานอลและน้ำสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชชนิดที่ศึกษาได้ ส่วนสารสกัดด้วยเฮกเซนไม่สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดได้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดที่นำมาศึกษาน่าจะเป็นสารกลุ่มที่มีขั้ว ดังนั้นเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วจึงไม่สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดได้ กนกพร และคณะ [6] ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีของยอดชะอม โดยทำการสกัดสารด้วยน้ำและเมทานอล ที่ระดับความเข้มข้น 6.25, 12.5 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของถั่วผีและหญ้าข้าวนก พบว่า สารสกัดหยาบด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีผลต่อการยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนกมากกว่าสารสกัดจากเมทานอล ส่วนด้านการเจริญเติบโตนั้นสารสกัดด้วยน้ำมีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตในขณะที่เมทานอลมีผลต่อการยับยั้ง ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายต่างชนิดกันมีผลต่อการสกัดสารได้ต่างกันจึงมีผลต่อการงอกและการเจริญต่างกัน นอกจากนี้ Alrababah และคณะ [7] พบว่าสารสกัดจาก *Pinus halepensis* และ *Quercus coccifera* สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดข้าวบาร์เลย์ได้ โดยมีผลให้เมล็ดตาย 31 และ 23 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับและ Bich และ Kato-Noguchi [8] ได้รายงานผลของสารสกัดจากแหนเป็ด (*Lemna minor* L.) และ จอก (*Pistia stratiotes* L.) ว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเมล็ดพืชทดสอบได้แก่ อัลฟัลฟา (*Medicago sativa* L.) เทียนแดง (*Lepidium sativum* L.) ผักกาด (*Lactuca sativa* L.) หญ้าปล้อง (*Echinochlo acrus-galli* (L). Beauv.) หญ้าตีนกา (*Digitaria sanguinalis* L.) หญ้าข้าวนก (*Echinochlo acolonum* (L.) Link.) หญ้าไรน์ (*Lolium multiforum* L.) และ ทิโมธี (timothy) (*Phleum pratense* L.)

อย่างไรก็ตามมีการศึกษาทางพฤกษเคมีของยอป่า (*Morinda elliptica* (Hook. f.) Ridl) พบว่ามีสารสำคัญคือสารกลุ่มแอนทราควิโนน (anthraquinones) [9] อิลิดอยล์กลูโคไซด์ (iridoids glucoside) [10] และมีรายงานการพบสารประกอบกลุ่มกรดฟีนอลิค (phenolic acids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ในพืชสกุล *Morinda* [11] ซึ่งมีรายงานด้วยว่าสารกลุ่มต่าง ๆ ดังกล่าวมีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีเช่นกัน [12-13] รวมทั้งจากรายงานต่าง ๆ พบว่า สารสกัดที่มีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดส่วนใหญ่เป็นสารที่มีขั้ว ดังนั้น

จึงได้ทำการทดลองโดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันสองชนิด คือ น้ำและเมทานอลและเพื่อเป็นการศึกษาถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบยอป่าในการยับยั้งการงอกและเจริญของเมล็ด จึงได้ทำการศึกษาในเมล็ดพืชทดสอบที่เป็นตัวแทนของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ ได้แก่ ข้าว (*Oryza sativa* L.) และถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.) ตามลำดับ ซึ่งการทดลองนี้เป็นการทดสอบในเบื้องต้นที่จะแสดงประสิทธิภาพของสารสกัดต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า และเพื่อเป็นข้อมูลในการศึกษาเชิงลึกต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ตัวอย่างพืชทดสอบที่ใช้ในการทดลอง

เก็บตัวอย่างใบยอป่า (*M. elliptica* (Hook. f.) Ridl.) จากอำเภอย่านตาขาว จังหวัดตรังและเมล็ดพืชทดสอบ ได้แก่ ข้าว (*O. sativa* L.) พันธุ์พิษณุโลก 2 ซึ่งได้รับอนุเคราะห์จากศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าว จังหวัดสุราษฎร์ธานี และถั่วเขียว (*V. radiata* L.) จากเมล็ดถั่วเขียวบรรจุถุงตราไร่ทิพย์

การเตรียมสารสกัด

นำใบยอป่ามาล้างทำความสะอาดและผึ่งให้แห้ง นำมาตัดเป็นท่อน ๆ จากนั้นใส่ลงไปในเครื่องบดอาหาร บดให้ละเอียดจะได้ผงหยาบ นำผงหยาบที่ได้ 160 กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ ได้แก่ น้ำกลั่น เมทานอลที่ความเข้มข้น 50, 80 และ 95 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ปริมาตรอย่างละ 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 8 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.1) เพื่อแยกส่วนกากและสารสกัด จากนั้นปิเปตสารสกัดหยาบ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานแก้วที่มีกระดาษกรองรองพื้น วางทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 3 วัน ในตู้ดูดควัน เพื่อให้ตัวทำละลายระเหยออกจนหมด หลังจากนั้นนำไปใส่ในเดซิเคเตอร์ที่มีซิลิกาเจลเพื่อดูดความชื้นเป็นเวลา 1 วัน นำไปชั่งเพื่อหาปริมาณสารที่สกัดได้ โดยทำการทดลอง 4 ซ้ำ พบว่า การใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายสามารถสกัดสารได้ 0.41±0.02 กรัม/10 มิลลิลิตร หรือคิดเป็นสารสกัดหยาบที่สกัดได้ด้วยน้ำ 41 กรัมต่อลิตร การใช้เมทานอลความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เป็นตัวทำละลายสามารถสกัดสารจากยอป่าได้ 0.39±0.00 กรัม/10 มิลลิลิตร หรือคิดเป็นสารสกัดหยาบ 39 กรัมต่อลิตร การใช้เมทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เป็นตัวทำละลายสามารถสกัดสารจากยอป่าได้ 0.29± 0.01 กรัม/10 มิลลิลิตร หรือคิดเป็นสารสกัดหยาบ 29 กรัมต่อลิตร และการใช้เมทานอลความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เป็นตัวทำละลายสามารถสกัดสารจากยอป่าได้ 0.22 ± 0.01 กรัม/10 มิลลิลิตร หรือคิดเป็นสารสกัดหยาบ 22 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำจานแก้วที่มีสารสกัดที่ได้ทำการระเหยตัวทำละลายออกจนหมดนี้ไปใช้ในการทดลองต่อไป

ศึกษาผลของสารสกัดจากพืชต่อการงอกและการเติบโตของเมล็ดข้าว และถั่วเขียว

นำจานแก้วที่มีสารสกัดที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ และได้ระเหยตัวทำละลายออกจนหมดแล้วมาเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำเมล็ดพืชทดสอบคือ ข้าว และถั่วเขียว จำนวน 25 เมล็ดใส่ลงในจานแก้ว ทำการทดลอง 4 ซ้ำ วางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นทำการนับจำนวนเมล็ดที่งอก (เมล็ดที่งอก หมายถึง เมล็ดที่มีแรดิเคิล (radicle) งอกออกมามีความยาวไม่ต่ำกว่า 1 มิลลิเมตร) วัดความยาวยอดโดยวัดตั้งแต่บริเวณโคนของต้นกล้าถึงบริเวณปลายยอด และวัดความยาวรากของต้นกล้าถั่วเขียวจากโคนต้นถึงปลายของรากแก้ว วัดความยาวของรากต้นกล้าข้าว

โดยการวัดจากโคนต้นถึงความยาวรากฝอยที่ยาวที่สุด ทั้งนี้ทำการวัดความยาวยอดและรากจากต้นกล้าทั้งหมดที่งอกในแต่ละชุดทดลอง นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม [14] ดังสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวยอดหรือราก} = 100 - \frac{LT \times 100}{LC}$$

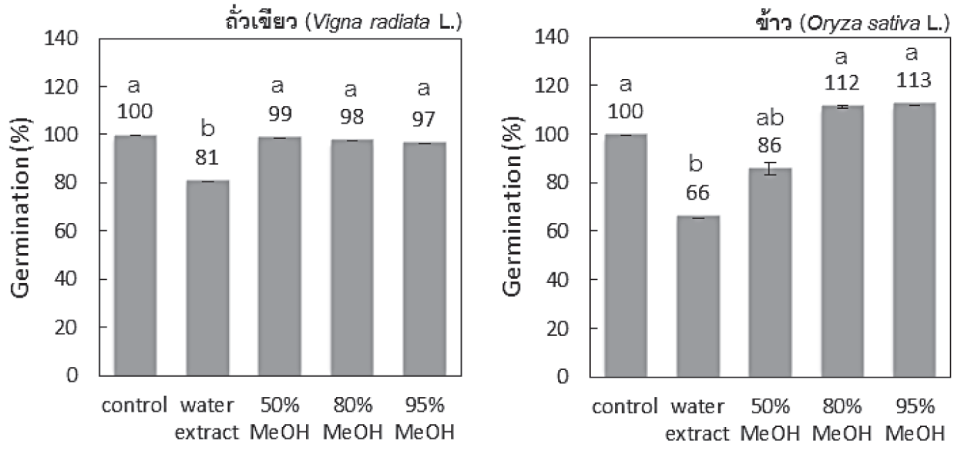
โดยให้ LC = ความยาวยอดหรือรากเฉลี่ยของพืชในชุดควบคุม
LT = ความยาวยอดหรือรากของพืชที่ได้รับสารสกัด

นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance หรือ ANOVA) และหาความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธี Tukeys- Kramer Method (Tukey's HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลอง

ผลของสารสกัดจากใบยอป่าต่อเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด

จากการทดสอบผลของสารสกัดจากใบยอป่าที่สกัดด้วยน้ำกลั่น และเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (50, 80 และ 95 เปอร์เซ็นต์ (v/v)) ซึ่งมีความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ได้เป็น 41, 39, 29 และ 22 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยทำการทดสอบกับเมล็ดถั่วเขียวและเมล็ดข้าว พบว่า สารสกัดจากใบยอป่าที่สกัดด้วยน้ำกลั่น มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดถั่วเขียวและเมล็ดข้าวได้ดีที่สุดโดยมีการงอกลดลงเป็น 81 และ 66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ส่วนสารสกัดด้วยเมทานอลทุกความเข้มข้นมีผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดถั่วเขียวลดลงได้เพียงเล็กน้อยโดยมีการงอกลดลงเป็น 99 98 และ 97 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม สำหรับเมล็ดข้าวที่ได้รับสารสกัดด้วยเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์มีการงอกลดลงเป็น 86 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม แต่หากสกัดด้วยเมทานอล 80 และ 95 เปอร์เซ็นต์มีผลให้การงอกเพิ่มขึ้นเป็น 112 และ 113 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมตามลำดับ และเมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ พบว่าสารสกัดจากใบยอป่ามีผลต่อการงอกของเมล็ดถั่วเขียวและเมล็ดข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ภาพที่ 1)

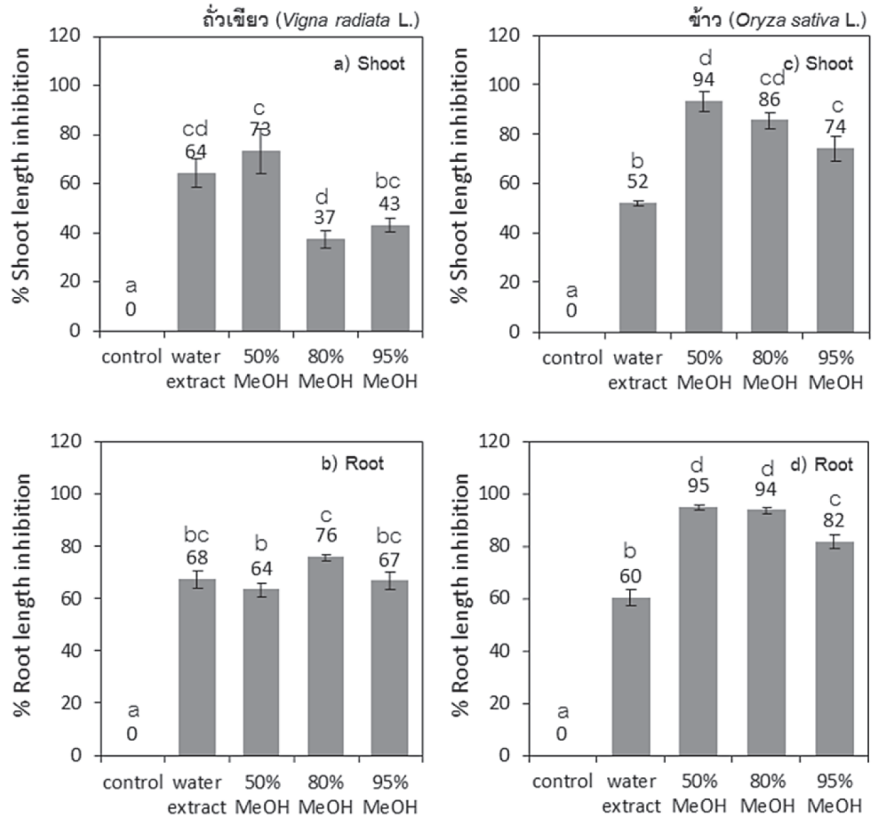


ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดถั่วเขียวและเมล็ดข้าวที่ได้รับสารสกัดจากใบยอป่า ที่สกัดด้วยน้ำกลั่นและเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (50, 80 และ 95 เปอร์เซ็นต์ (v/v)) ซึ่งมีความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเป็น 41, 39, 29 และ 22 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยเมล็ดได้รับสารสกัดเป็นเวลา 7 วัน (แถบความคลาดเคลื่อนบนกราฟแสดงค่า ±SE; ตัวอักษร abc บนกราฟแสดงความแตกต่างของข้อมูลที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Tukeys-Kramer Method (Tukey's HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

ผลของสารสกัดจากใบยอป่าต่อการเจริญเติบโตของยอดและราก

เมื่อทำการวัดความยาวยอด ความยาวรากของเมล็ดถั่วเขียวและข้าวที่ได้รับสารสกัดจากใบยอป่านำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งโดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า สารสกัดจากใบยอป่าสกัดด้วยน้ำกลั่นที่มีความเข้มข้น 41 กรัมต่อลิตร มีผลยับยั้งความยาวยอดและความยาวรากของต้นกล้าถั่วเขียวและข้าว โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวยอดของถั่วเขียวเป็น 64 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 2a) สำหรับต้นกล้าข้าวถูกยับยั้งความยาวยอด 52 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 2c) จากการศึกษาการยับยั้งความยาวรากถั่วเขียวและข้าวที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำกลั่น พบว่า มีผลต่อเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวรากอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยมีผลยับยั้งความยาวรากของถั่วเขียว 68 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 2b) และยับยั้งความยาวรากของเมล็ดข้าว 60 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 2d) ส่วนสารสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลความเข้มข้นต่าง ๆ (50 80 และ 95 เปอร์เซ็นต์ (v/v)) ซึ่งมีความเข้มข้น 39, 29 และ 22 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สามารถยับยั้งความยาวยอดและความยาวรากของเมล็ดถั่วเขียวและเมล็ดข้าวได้ โดยความยาวยอดของเมล็ดถั่วเขียวที่ได้รับสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (50, 80 และ 95 เปอร์เซ็นต์ (v/v)) ยับยั้งความยาวยอด 79, 37 และ 43 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ (ภาพที่ 2a) สำหรับเมล็ดข้าวที่ได้รับสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้สารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 39, 29 และ 22 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีความยาวยอดลดลงมากกว่าถั่วเขียวโดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง 94, 86 และ 74 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ สำหรับความยาวรากของเมล็ดถั่วเขียวที่ได้รับสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ได้สารสกัดหยาบความเข้มข้น 39, 29 และ 22 กรัมต่อลิตร มีการยับยั้ง

ความยาวรากเป็น 64, 76 และ 67 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ สำหรับเมล็ดข้าวที่ได้รับสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลได้สารสกัดหยาบความเข้มข้น 39, 29 และ 22 กรัมต่อลิตร ถูกยับยั้งความยาวราก 95, 94 และ 82 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ และเมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ พบว่า สารสกัดจากใบยอป่ามีผลต่อการยับยั้งความยาวยอดและความยาวรากของเมล็ดข้าวและถั่วเขียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวยอดและความยาวรากของถั่วเขียวและข้าวที่ได้รับสารสกัดด้วยน้ำและ เมทานอล (50, 80 และ 95 เปอร์เซ็นต์ (v/v)) ของใบยอป่า ซึ่งมีความเข้มข้นของสารสกัดหยาบเป็น 41, 39, 29 และ 22 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เป็นเวลา 7 วัน เทียบกับชุดควบคุม (แถบความคลาดเคลื่อนบนกราฟแสดง ค่า ±SE; ตัวอักษร abc บนกราฟแสดงความแตกต่างของข้อมูลที่วิเคราะห์ด้วยวิธี Tukeys- Kramer Method (Tukey's HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

a) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวยอดของถั่วเขียว b) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวรากของถั่วเขียว และ c) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวยอดของข้าว d) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวรากของข้าว

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาผลทางอัลลีโลพาธีของสารสกัดใบยอป่า โดยใช้น้ำกลั่น และเมทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นตัวทำละลายในการสกัดสาร ได้สารสกัดหยาบที่มีความเข้มข้น 41, 39, 29 และ 22 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ พบว่า สารสกัดด้วยน้ำกลั่น มีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดถั่วเขียว และเมล็ดข้าวได้มากกว่าสารสกัดจากเมทานอล แสดงให้เห็นว่า ตัวทำละลายต่างชนิดกัน มีความสามารถในการสกัดสารอัลลีโลพาธีแต่ละชนิดได้ต่างกัน เนื่องจากสารแต่ละชนิดมีสภาพขั้วและคุณสมบัติต่างกันรวมทั้งยังมีผลในการสกัดสารอัลลีโลพาธีได้ปริมาณมากน้อยแตกต่างกันด้วย [15] ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ กนกพร และคณะ [6] ที่ทำการสกัดสารจากชะอมด้วยน้ำและเมทานอล พบว่า สารสกัดด้วยน้ำที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีผลยับยั้งการงอกของหญ้าข้าวนกมากกว่าสารสกัดจากเมทานอล ทั้งนี้มีรายงานการสกัดสารจากใบของผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaerth.) ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำ เอทานอล เฮกเซน พบว่า สารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการงอกได้ดีกว่าการใช้เฮกเซนซึ่งไม่มีขั้ว [5] ดังนั้นจากการทดลองนี้ซึ่งใช้น้ำและเมทานอลเป็นตัวทำละลาย โดยที่น้ำมีสภาพขั้วมากกว่าเมทานอล ดังนั้นเป็นไปได้ว่าสารที่มีศักยภาพในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชน่าจะเป็นสารกลุ่มที่มีขั้วที่สามารถละลายในน้ำได้ดีกว่าในเมทานอล อย่างไรก็ตามจากสมมติฐานนี้ยังต้องการการพิสูจน์ต่อไป เช่น การทำแยกสารที่สกัดได้โดยวิธีคอลัมน์โครมาโตกราฟี ซึ่ง Kato-Noguchi และคณะ [16] ได้ทำการสกัดสารจากใบของ *Pinus densiflora* ด้วยเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำไปแยกโดยวิธีโครมาโตกราฟีโดยใช้ตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วต่างกัน และพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีเป็นสารที่มีขั้ว คือ 9α,13β-epidioxyabeit-8(14)en-18-oic acid

การศึกษาการเจริญเติบโตของต้นกล้าโดยการวัดความยาวรากและความยาวยอดและนำไปหาเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวยอดและรากเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า เมล็ดถั่วเขียวที่ใช้เป็นตัวแทนของพืชใบเลี้ยงคู่ที่นำมาทดสอบจะมีความทนทานต่อสารสกัดจากใบยอป่ามากกว่าข้าว และยังพบว่ารากของพืชทดสอบมีความไวต่อสารสกัดมากกว่ายอด โดยสังเกตจากการที่รากถูกยับยั้งได้ดีกว่ายอด สอดคล้องกับการศึกษาของ Purohit และ Pandya [17] ได้ศึกษาโดยการนำสารสกัดจากใบกะเพรา (*Ocimum sanctum* L.) และใบครามป่า (*Tephrosia purpurea* (L.) Pers.) ที่สกัดด้วยน้ำที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (15 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (w/v)) และนำมาทดสอบกับเมล็ดพืชตระกูลถั่ว ได้แก่ Phaseolus radiate (L.) Wilczek, *P. unguiculata* (L.) Walp, *Cajianus cajan* L., *Cicer arietinum* L., *P. mungo* (L.), *P. aconitifolius* Jacq. และเมล็ดวัชพืช ได้แก่หญ้าพะช้อเงี้ยว (*Dichanthium annulatum* L.) หญ้ารังนก (*Chloris barbata* L.) ตำแยแมว (*Acalypha indica* L.) ผักโขมหนาม (*Amaranthus spinosus* L.) พบว่า สารสกัดใบครามป่า 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) สามารถยับยั้งการงอกของพืชตระกูลถั่วและเมล็ดวัชพืชได้ทั้งหมดโดยสามารถยับยั้งเมล็ดวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยวได้ดีกว่าเมล็ดวัชพืชใบเลี้ยงคู่ และยิ่งความเข้มข้นเพิ่มขึ้นก็สามารถยับยั้งได้มากขึ้น แต่สารสกัดจากใบกะเพราที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (w/v) สามารถยับยั้งการงอกของ *C. arietinum* L. ได้เท่านั้น ทั้งนี้การที่สารสกัดหรือสารเคมีต่าง ๆ มีผลต่อเมล็ดพืชและวัชพืชได้ต่างกันอาจขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ชนิดพืช โครงสร้างของเมล็ด อาหารสะสมในเมล็ด ปริมาณน้ำและสารสกัดที่สามารถเข้าสู่เมล็ด และเมแทบอลิซึมภายในเมล็ด [18-19] เป็นต้น

จากการทดลองพบว่า สารสกัดใบยอป่าด้วยน้ำและเมทานอลมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของถั่วเขียวและข้าว และน่าสังเกตว่าในกรณีของข้าวที่ได้รับสารสกัดด้วยเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้ดีกว่า และเมื่อความเข้มข้นของเมทานอลลดลงความสามารถในการยับยั้งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้าน่าจะถูกสกัดได้ดีด้วย เมทานอลความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าสารที่ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตเป็นสารคนละชนิดกัน ซึ่งหากต้องการการยับยั้งที่ครอบคลุมทั้งฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญของต้นกล้าควรสกัดสารด้วยน้ำและเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ (v/v) จากนั้นจึงนำสารสกัดทั้งสองส่วนมาผสมกันก่อนนำไปใช้ อย่างไรก็ตามยังต้องมีการทดลองเพื่อสนับสนุนแนวคิดนี้ต่อไป

ในการเจริญเติบโตของยอดและรากนั้นพืชจำเป็นต้องมีการแบ่งเซลล์ซึ่งมีรายงานว่าการที่สารสกัดต่าง ๆ มีผลในการลดการเจริญเติบโตนั้นอาจเป็นผลมาจากความสามารถในการยับยั้งกระบวนการแบ่งเซลล์ ซึ่ง Abdul Raoof และ Siddiqui [20] พบว่าสาร Parthenin ที่สกัดจาก *Parthenium hysterophorus* โดยทดสอบกับ *Vicia faba* L. ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (100, 200, 300 และ 400 μM) เป็นเวลา 8 ชั่วโมง พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นมีผลให้การงอกและการเจริญเติบโตของยอดและรากลดลง โดยเมล็ดที่ได้รับ Parthenin มีเซลล์ที่อยู่ในระหว่างการแบ่งเซลล์แบบไมโทซิสน้อยกว่าชุดควบคุม รวมทั้งยังพบด้วยว่าในเซลล์ที่กำลังมีการแบ่งนิวเคลียสนั้นมีความผิดปกติของโครโมโซม และส่งผลให้เกิดความผิดปกติของเซลล์ และ Yan และคณะ [21] พบว่า สารอัลลีโลเคมิคอลจาก *Artemisia annua* ได้แก่ artemisinin มีผลให้ mitotic index ของเมล็ดผักกาด (*Lactuca sativa*) ลดลง จึงมีผลให้ความยาวยอดและรากลดลง รวมทั้งยังพบด้วยว่า สารดังกล่าวมีผลต่อความมีชีวิตของเซลล์รากของผักกาดด้วย และรายงานของกนกพร และคณะ [6] พบว่าสารสกัดจากยอดชะอมที่สกัดด้วยน้ำและเมทานอลที่ระดับความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25 และ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดมีผลต่อการเจริญเติบโตและการแบ่งเซลล์ปลายรากหอมใหญ่เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยพบความผิดปกติของโครโมโซมในระยะต่าง ๆ ของการแบ่งเซลล์ ได้แก่ เกิดลักษณะการขดตัวของโครมาตินในระยะโพรเฟสผิดปกติ การขดแน่นของโครโมโซมในระยะเมทาเฟสและแอนาเฟส โครโมโซมไม่จัดเรียงตัวบริเวณกลางเซลล์ในระยะเมทาเฟสกลุ่มของโครโมโซม 2 กลุ่มไม่จัดเรียงอยู่ในแนวเดียวกัน และโครโมโซมในระยะแอนาเฟสเคลื่อนที่เข้าสู่ขั้วเซลล์ช้ากว่าปกติ จากความผิดปกติเหล่านี้จึงทำให้รากหอมใหญ่มีการเจริญเติบโตลดลง ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่าการที่สารสกัดจากใบยอป่ามีผลต่อความยาวยอดและรากของเมล็ดพืชทดสอบ อาจเป็นผลมาจากสารสกัดไปมีผลต่อกระบวนการแบ่งเซลล์ของพืชทดสอบ

ในการเจริญเติบโตของเมล็ดนั้นยังขึ้นกับกระบวนการอื่น ๆ ด้วย เช่น การดูดและลำเลียงน้ำ การหายใจ และกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง เป็นต้น ซึ่ง Das และคณะ [22] ศึกษาผลอัลลีโลพาธีจากใบพืช 7 ชนิดได้แก่ *Acacia auriculiformis, Anacardium occidentable, Albizia lebbeck, Eucalyptus citriodora, Emblica officinalis, Shorea robusta,* และ *Tectona grandis* โดยนำมาสกัดด้วยน้ำและนำไปทดสอบกับเมล็ด *C. arietinum* พบว่า *E. citriodora* และ *S. robusta* มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ด ความยาวยอด ความยาวราก น้ำหนักสดและแห้งลดลง เมื่อวิเคราะห์ทางด้านชีวเคมี ได้แก่ น้ำตาลคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และ แคโรทีนอยด์ลดลง ซึ่งเป็นผลให้ต้นกล้ามีการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง และยังพบด้วยว่ามีการสะสมโพรลีน (proline) เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุด

ควบคุมซึ่งการตอบสนองดังกล่าวเป็นการตอบสนองเพื่อเพิ่มการดูดน้ำของพืช ซึ่งการสะสมโพรลีน เป็นดัชนีหนึ่งที่ชี้ให้เห็นว่าต้นกล้ากำลังเกิดภาวะเครียดเนื่องจากการขาดน้ำ [23] ทั้งนี้น้ำเป็นปัจจัยสำคัญมากที่สุดปัจจัยหนึ่งในการเจริญเติบโตของเซลล์พืช [24] และจากการศึกษาของ Mushtaq และคณะ [25] พบว่า สาร L-3,4-dihydroxyphenylalanine ซึ่งพบได้ในพืชหลายชนิด เช่น *Alysicarpus rugosus, Bauhinia purpurea, Phanera vahlii* มีผลทำให้เมล็ดแตงกวามีความยาวรากลดลง รวมทั้งมีผลต่อ NADH dehydrogenase ในไมโทคอนเดรียซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในกระบวนการหายใจ โดยมีกิจกรรมลดลง 48 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมเมื่อได้รับ L-3,4-dihydroxyphenylalanine 0.5 mM และส่งผลให้ความมีชีวิตของเซลล์ลดลงด้วยเช่นกัน

สารสกัดจากใบยอป่าที่สกัดด้วยน้ำสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดถั่วเขียวและเมล็ดข้าวได้ดีที่สุด โดยพบว่า สามารถยับยั้งการงอกของข้าวได้ดีกว่าถั่วเขียว และสารสกัดทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของยอดและรากของเมล็ดข้าวและถั่วเขียวได้ โดยสามารถยับยั้งความยาวยอดถั่วเขียวได้ดีเมื่อใช้สารสกัดจากยอป่าที่สกัดด้วยเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนรากถั่วเขียวถูกยับยั้งได้ดีเมื่อได้รับสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดข้าวเมื่อใช้สารสกัดจากใบยอป่าที่สกัดด้วยเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งความยาวยอดและความยาวรากของเมล็ดข้าวได้มากที่สุด ทั้งนี้พบว่าสามารถยับยั้งรากได้ดีกว่ายอดรวมทั้งข้อมูลที่ได้ แสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ต่อการงอกดังกล่าว น่าจะเป็นสารประเภทมีขั้วที่ละลายในน้ำได้ดีกว่าในเมทานอล ส่วนสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้าควรจะสกัดได้ด้วยตัวทำละลายผสมของเมทานอลและน้ำมากกว่าการสกัดด้วยน้ำเพียงอย่างเดียว อย่างไรก็ตามยังต้องมีการศึกษาถึงกลไกการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบของต้นกล้าต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพาที่ได้อนุเคราะห์ทุนอุดหนุนประจำปีงบประมาณ 2556 ขอขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าว จังหวัดสุราษฎร์ธานี ที่ได้อนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวพันธุ์พิษณุโลกเพื่อใช้เป็นตัวอย่างในการวิจัย และขอขอบคุณ นายสุรศักดิ์ ยี่หลัก ผู้อำนวยการโรงเรียนย่านตาขาวรัฐชนูปถัมภ์ และกลุ่มสาระการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ที่ได้สนับสนุนการทำวิจัยตลอดมา

เอกสารอ้างอิง

1. Zahm, S. H., Weisenburger, D. D., Babbitt, P. A., Saal, R. C., Vaught, J. B., Cantor, K. P., and Blair, A. 1990. A Case-Control Study of Non-Hodgkin's Lymphoma and the Herbicide 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) in Eastern Nebraska. *Epidemiology.* 1(5): 349-356.
2. Risco, C., Lopez-Vizcaino, R., Saez, C., Yustres, A., Canizares, P., Navarro, V., and Rodrigo, M. A. 2016. Remediation of Soils Polluted With 2,4-D By Electrokinetic Soil Flushing With Facing Rows of Electrodes: A Case Study in a Pilot Plant. *Chemical Engineering Journal.* 285: 128-136.
3. Batish, D. R., Singh, H. P., and Kohil, R. K. 2001. Allelopathy as a Toolfor Subtainable Weed Management. In: the Proceeding of the 18th Asian-Pacific Weed Science Conference May 28-June 2. China. Beijing. pp. 168-173.

4. Rizvi, S. J. H., and Rizvi, V. 1992. Allelopathy Basic and Applied Aspects. London. Chapman & Hall.
5. ภาคภูมิ พระประเสริฐ และวรัญญา นามนาเมือง. 2548. ผลของสารสกัดจากใบของผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaerth.) ด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา.* 10(1-2): 68-75.
6. กนกพร ช้างเสวก, จำรูญ เล้าสินวัฒนา, และมณฑินี ธีรารักษ์. 2553. ศักยภาพของสารสกัดจากชะอมในการยับยั้งการงอก การเจริญเติบโต และการแบ่งเซลล์ของพืชทดสอบ. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.* 28(2): 65-73.
7. Alrababah, M. A., Tadros, M. J., Samarah, N. H., and Ghosheh, H. 2009. Allelopathic Effects of *Pinus halepensis and Quercus coccifera* on the Germination of Mediterranean Crop Seeds. *New Forests*. 38: 261–272.
8. Bich, T. T. N. and Kato-Noguchi, H. 2012. Allelopathic Potential of Two Aquatic Plants, Duckweed (*Lemna minor L.*) and Water Lettuce (*Pistia stratiotes L.*), on Terrestrial Plant Species. *Aquatic Botany.* 103: 30-36.
9. Ismail, N. H., Ali, A. M., Aimi, N., Kitajima, M., Takayama, H., and Lajis, N. H. 1997. Antraquinones From *Morinda elliptica. Phytochemistry.* 45(8): 1723-1725.
10. Noiarsa, P., Ruchirawat, S., Otsuka, H., and Kanchanapoom, T. 2006. A New Iridoidglucoside from the Thai Medicinal Plant, *Morinda elliptica Rid. Journal of Natural Medicine.* 60: 322–324.
11. Deshmukh, S. R., Wadegaonkar, V. P., Bhagat, R. P., and Wadegaonkar, P. A. 2011. Tissue Specific Expression of Anthraquinones, Flavonoids and Phenolics in Leaf, Fruit and Root Suspension Cultures of Indian Mulberry (*Morinda citrifola L.*). *Plant Omics Journal.* 4(1): 6-13.
12. Rice, E. L. 1984. Allelopathy. (2nded.). Orlando. USA. Academic Press.
13. Pungitore, C. R., Ayub, M. J., García, M., Borkowski, E. J., Sosa, M. E., Ciuffo, G., Giordano, O. S., and Tonn, C. E. 2004. Iridoids as Allelochemicals and DNA Polymerase Inhibitors. *Journal of Natural Products.* 67(3): 357-361.
14. Chung, I. M., Kim, K. H., Ahn, J. K., Lee, S. B., Kim, S. H., and Hahn, S. J. 2003. Comparision of Allelopathic Potential of Rice Leaves Straw and Hull Extract on Barnyardgrass. *Agronomy Journal.* 95: 1063-1070.
15. Rajesh Kannan, V. R., Sumathi, C. S., Balasubramanian, V., and Ramesh, N. 2009. Elementary Chemical Profiling and Antifungal Properties of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nuts. *Botany Research International.* 2(4): 253-259.
16. Kato-Noguchi, H., Fushimi, Y., and Shigemori, H. 2008. An Allelopathic Substance in Red Pine Needles (*Pinus densiflora*). *Journal of Plant Physiology.* 166: 442-446.

17. Purohit, S., and Pandya, N. 2013. Allelopathic Activity of *Ociumum sanctum* L. and *Tephrosia purpurea* (L.) Pers. Leaf Extracts on Few Common Legumes and Weeds. *International Journal of Research in Plant Science.* 3(1): 5-9.
18. Santiago da Costa, D., Barbosa, R. M., and Eustáquio de Sá, M. 2013. Weed Management and Its Relation to Yield and Seed Physiological Potential in Common Bean Cultivars. *Pesquisa Agropecuária Tropical.* 43(2): 147-154. Available from URL: http://www.scielo.br/pdf/pat/v43n2/v43n2a10.pdf
19 Cheng, F., and Cheng, Z. 2015. Research Progress on the Use of Plant Allelopathy in Agriculture and the Physiological and Ecological Mechanisms of Allelopathy. *Frontiers in Plant Science.* Available from URL: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4647110/pdf/fpls-06-01020.pdf)
20. Abdul Raoof, K. M., and Siddiqui, M. B. 2013. Allelotoxic Effect of Parthenin on Cytomorphology of Broad Bean (*Vicia faba* L.). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences.* 12: 143-146.
21. Yan, Z. Q., Wang, D. D., Ding, L., Cui, H. Y., Jin, H., Yang, J. S., and Qin, B. 2015. Mechanism of Artemisinin Phytotoxicity Action: Induction of Reactive Oxygen Species and Cell Death in Lettuce Seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry.* 88: 53-59.
22. Das, C. R., Mondal, N. K., Aditya, P., Datta, J. K., Banerjee, A., and Das, K. 2012. Allelopathic Potentialities of Leachates of Leaf Litter of Some Selected Tree Species on Gram Seeds under Laboratory Conditions. *Asian Journal of Experimental Biological Science.* 3(1): 59-65.
23. Cvikrova, M., Gemperlova, L., Martincova, O., and Vankova, R. 2013. Effect of Drought and Combined Drought and Heat Stress on Polyamine Metabolism in Proline-Over-Producing Tobacco Plants. *Plant Physiology and Biochemistry.* 73: 7-15.
24. ภาคภูมิ พระประเสริฐ. 2548. สรีรวิทยาของพืช. กรุงเทพฯ. โอเดียนสโตร์.
25. Mushtaq, M. N., Sunohara, Y., and Matsumoto, H. 2013. Allelochemical I-DOPA Induces Quinoprotein Adducts and Inhibits NADH dehydrogenase Activity and Root Growth of Cucumber. *Plant Physiology and Biochemistry.* 70: 374-378.

ได้รับบทความวันที่ 26 พฤษภาคม 2559
ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 24 สิงหาคม 2559