วารสารผลิตกรรมการเกษตร
JOURNAL OF AGRICULTURAL PRODUCTION
MJU

ว. ผลิตกรรมการเกษตร 2(1):55-65
J. Agri. Prod.

การแยกกลุ่มสารอัลลีโลพาธิกจากใบอ้อยและฤทธิ์ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตต่อหญ้าข้าวนกและผักโขม

Allelopathic Isolation of Sugarcane Leaf Extract and Inhibitory Activity of Germination and Growth on Barnyard Grass and Slender Amaranth

ธนัชสัณห์ พูนไพบูลย์พิพัฒน์* และ ชนากานต์ พูนธนากิจ

Thanatchasanha Poonpaiboonpipattana* and Chanakarn Poonthanakit

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand, 65000

* Corresponding author: thanatchasanhap@nu.ac.th

Abstract

Sugarcane leaf is a by-product after sugarcane harvesting. Previous reports indicated that the leaves content some substances inhibiting test plants. This study aimed to partially isolate allelopathic compounds of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) leaf and its inhibitory activity of germination and seedling growth against barnyard grass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) and slender amaranth (*Amaranthus viridis* L.). Dry leaf was extracted by the four times of 50% aqueous-ethanol giving crude yield by 1.4% w/w. The aqueous-ethanol crude (original crude: OR) was partially isolated fractions by acid-base technique giving acidic fraction (AE), neutral fraction (NE) and aqueous fraction (AQ). The fractions were assayed against germination and seedling growth of test species by petri-test method under laboratory condition. The concentrations of 1,250, 2,500, 5,000 and 10,000 ppm were investigated, and distilled water was used as control. The inhibitory activity was significance depending on fractions and concentrations. AE fraction showed the most inhibition on germination and seedling growth of slender amaranth and barnyard grass followed by NE and OR, while AQ did not display the inhibitory effect of these

concentrations. The inhibitory effect increased with increasing concentration. Slender amaranth was more susceptible to the fractions than barnyard grass. These results indicated that sugarcane contained growth inhibitory substances lead for further identification of allelochemicals and development into natural herbicides for sustainable agriculture.
Keywords: Allelopathic, Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.), Herbicidal activity

บทคัดย่อ

ใบอ้อยเป็นวัสดุเหลือทางการเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวอ้อย ในใบอ้อยเคยมีรายงานพบสารยับยั้งในใบอ้อย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกกลุ่มสารอัลลีโลพาธิกจากใบอ้อย และทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตต่อหญ้าข้าวนกและผักโขม สกัดใบอ้อยแห้งด้วยน้ำผสมเอทานอล 50% จำนวน 4 รอบ ได้สารสกัดหยาบชั้นเอทานอล (OR) ที่มีน้ำหนักประมาณ 1.4% โดยน้ำหนักใบแห้ง แยกกลุ่มสารสกัดหยาบชั้นเอทานอลด้วยเทคนิคกรดเบส ได้ชั้นสารที่เป็นกรด (AE) ชั้นสารเป็นกลาง (NE) และชั้นสารละลายน้ำ (AQ) ทดสอบฤทธิ์ของสารในแต่ละชั้นด้วยวิธีการทดสอบในจานทดลองภายใต้ห้องปฏิบัติการ ความเข้มข้นที่ใช้ในการทดสอบคือ 1,250 2,500 5,000 และ 10,000 ppm โดยมีน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม ผลการทดลองพบว่า ฤทธิ์การยับยั้งของสารสกัดหยาบขึ้นอยู่กับชั้นสารและความเข้มข้น ชั้นสาร AE แสดงฤทธิ์ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าสองชนิดมากสุด รองลงมาคือ ชั้น NE และ OR สำหรับชั้น AQ ที่ระดับความเข้มข้นเหล่านี้ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งพืชทดสอบ ความเข้มข้นที่สูงขึ้นทำให้ฤทธิ์การยับยั้งของชั้นสารมากขึ้น ผักโขมเป็นชนิดพืชที่มีความอ่อนแอต่อสารสกัดหยาบมากกว่าหญ้าข้าวนก ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าในใบอ้อยมีสารประกอบสำคัญที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชทดสอบ ซึ่งจะเป็นข้อมูลสำคัญในการแยกและวิเคราะห์สารออกฤทธิ์สำคัญหรือนำสารสกัดเหล่านี้ไปประยุกต์เพื่อกำจัดวัชพืชในระบบเกษตรยั่งยืนต่อไปในอนาคต
คำสำคัญ: อัลลีโลพาธิก อ้อย ฤทธิ์กำจัดวัชพืช

คำนำ

ใบพืชเป็นแหล่งกระบวนการเมตาบอลิซึมในการสร้างอาหารและพลังงานให้กับตัวพืชเอง สารประกอบจากกระบวนการทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นมีทั้งสารปฐมภูมิ (primary metabolites) และสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) สารประกอบปฐมภูมิมีบทบาทหลักในกระบวนการพัฒนาการและเจริญเติบโตของพืช เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน เป็นต้น ขณะที่สารประกอบทุติยภูมิมีบทบาททางอ้อมในกระบวนการต่างๆ ของพืช เช่น การป้องกันตัวเองจากอันตรายต่างๆ เพื่อต่อสู้ให้ตัวเองอยู่รอดในสิ่งแวดล้อม พืชบางชนิดสามารถสร้างสารทุติยภูมิขึ้นมาและสารเหล่านั้นได้ถูกสะสมในเซลล์พืช บางครั้งสารเหล่านั้นถูกพืชขับออกมาสู่สิ่งแวดล้อมและส่งผลยับยั้งหรือส่งเสริมพัฒนาและการเจริญเติบโตของพืชอื่นๆ ที่ได้รับสารนั้น

เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า อัลลีโลพาธี (allelopathy) สารเหล่านั้นถูกเรียกว่า อัลลีโลเคมิคอล (allelochemicals) สารอัลลีโลพาธิกคอมพาวด์ (allelopathic compounds) หรือเรียกสั้นๆ ว่าสารอัลลีโลพาธิก (allelopathics) สารอัลลีโลพาธิกหลายชนิดมีคุณสมบัติที่คล้ายคลึงกับสารกำจัดวัชพืชที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ ด้วยคุณสมบัตินี้เองที่ทำให้สารอัลลีโลพาธิกจากพืชจึงได้รับความสนใจศึกษาเพื่อพัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืชจากสารสกัดธรรมชาติ เนื่องจากสารสกัดจากพืชส่วนใหญ่สามารถย่อยสลายได้ง่ายในธรรมชาติ มีความปลอดภัยต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมมากกว่าสารสังเคราะห์ (Tesio and Ferrero, 2010) ปัจจุบันมีรายงานสารอัลลีโลพาธิกจากพืชมากมายหลายชนิดไม่ว่าจะมาจากพืชปลูก วัชพืช พืชสมุนไพรต่างๆ อย่างไรก็ตามการพัฒนาสารเหล่านั้นเป็นสารกำจัดวัชพืชมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ปริมาณพืชที่นำมาสกัดนั้นมีน้อยเมื่อเทียบกับปริมาณของสารที่จะใช้ทำให้ยากต่อการพัฒนาสารสกัดเหล่านั้นในเชิงพาณิชย์ ด้วยเหตุผลนี้จึงมีแนวคิดการใช้ของเหลือทางการเกษตรที่มีอยู่มากมายและไม่มีมูลค่ามาใช้ประโยชน์ เช่น ฟางข้าวและใบอ้อย ที่มีอยู่มากมายในแต่ละปี เกษตรกรส่วนใหญ่นิยมเผาทำลายวัสดุดังกล่าวก่อนหรือหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อความสะดวกในการเตรียมดินหรือปฏิบัติงานอื่นๆ ในแปลง อ้อยเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญ ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกอ้อยประมาณ 11.5 ล้านไร่ มีอ้อยสดเข้าหีบในโรงงานประมาณ 135.8 ล้านต้นต่อปี ได้น้ำตาลทรายดิบประมาณ 14 ล้านตัน (สำนักงานอ้อยและน้ำตาลทราย, 2562) ในการปลูกอ้อยแต่ละครั้งสามารถไว้ตอได้นานหลายปี มีรายงานว่าซากของใบอ้อยที่ร่วงหล่นลงดินสามารถย่อยสลายจากจุลินทรีย์ในธรรมชาติและปลดปล่อยสารพิษออกมาเรียกปรากฏการณ์นี้ว่า autotoxicity (Sampietro, 2006; Sampietro *et al*., 2007b) ธนัชสัณห์ และคณะ (2563) รายงานว่าสารสกัดจากใบอ้อย 16 สายพันธุ์สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหอมได้ ในใบอ้อยพบสาร 2,4-dihydroxy-1, 4-benzoxazin-3-one (DIBOA) and benzoxazolin-2-one (BOA) (Singh *et al*., 2003b) และยังพบสาร ferulic, syringic และ vanillic acids (Sampietro *et al*., 2007a) (Gomes *et al*., 2016) พบสาร palmitic, linoleic, stearic and 8,11,14-docosatrienoic fatty acids ซึ่งเป็นสารในกลุ่ม cinnamic และ benzoic acids ซึ่งได้จากแยกกลุ่มสาร (fraction) ของสารสกัดหยาบชั้น dichloromethane จากใบอ้อย ในประเทศไทยอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกอย่างมากประมาณ 80% ของประเทศไทย

แนวคิดการประยุกต์ใช้สารสกัดหยาบเพื่อควบคุมวัชพืช Rani *et al*. (2006) ทำการทดลองฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากใบของ *Breynia retusa* (Dennst.) Alston บนวัชพืช *Calotropis gigantea* (R.Br.), *Parthenium hysterophorus* (L), *Dathura metal* (L) และ *Tridax procumbens* (L) ซึ่งพบว่าสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์เป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทสัมผัสตาย (contact herbicide) โดยมีผลทำให้ใบของวัชพืชไหม้และเหี่ยว ในขณะเดียวกัน สารสกัดไม่มีผลกระทบต่อข้าวและข้าวฟ่าง นอกจากนี้ มีรายงานของ Wichittrakarn *et al*. (2018) ที่ทำการแยกกลุ่มสารสกัดหยาบเอทานอลจากใบดาวเรืองด้วยวิธี acid-base partition แยกกลุ่มสารได้ชั้น hydrolyze, ชั้นน้ำ (aqueous fraction: AQ), ชั้น neutral compound extract (NE) และ ชั้น acidic compound extract (AE)

โดยพบว่าชั้น hydrolyze มีฤทธิ์ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกสูงสุด นอกจากนี้ยังรายงานว่ากลไกการทำลายพืชของสารชั้น hydrolyze สามารถยับยั้งการแบ่งเซลล์แบบไมโตซีส (mitosis) ของปลายรากหอมได้

การสกัดสารสำคัญจากพืชนิยมใช้สารละลายอินทรีย์โดยเฉพาะกลุ่มแอลกอฮอล์ เช่น เมทานอล (methanol) เป็นสารที่มีความนิยมนำมาสกัด แต่อย่างไรก็ตามเมทานอลเองมีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมสูงกว่าเอทานอล (ethanol) (Poonpaiboonpipat *et al*., 2011) และมีต้นทุนในการผลิตวัตถุดิบสูงกว่าเอทานอล ดังนั้นปัจจุบันจึงมีความนิยมใช้เอทานอลในการสกัดสารจากพืชมากกว่าเมทานอล อย่างไรก็ตามเอทานอลเป็นสารที่มีขั้วปานกลางจึงไม่สามารถละลายสารที่มีขั้วสูงในเซลล์พืชได้ จึงนิยมผสมเอทานอลกับน้ำซึ่งมีขั้วปานกลางเพื่อที่จะสามารถสกัดสารสำคัญจากพืชได้มากกว่าการใช้เอทานอลหรือน้ำเพียงอย่างเดียว (Spigno *et al*., 2007) Poonpaiboonpipat *et al*. (2011) รายงานว่า การใช้ ethanol 50% สกัดสารอัลลีโลพาธีกจากใบมะลิลาซ้อนสามารถให้น้ำหนักรวมของสารสกัดหยาบมากสุด รองลงมาคือ เอทานอล 25% เอทานอล 75% น้ำอย่างเดียว และเอทานอล 100% ในขณะที่ ธนัชสัณห์ (2562) รายงานว่า การใช้เอทานอลผสมน้ำ 50% สามารถสกัดสารสกัดหยาบจากใบแก้ว (*Murraya paniculata* (L.) Jack) ได้มากกว่าเอทานอล 25% เอทานอล 25% น้ำอย่างเดียว และเอทานอล 100% ตามลำดับ

ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อสกัดสารสำคัญจากใบอ้อยด้วยเอทานอล 50% แยกกลุ่มสารสำคัญด้วยวิธี acid-base partitioning และการทดสอบฤทธิ์กำจัดวัชพืชของกลุ่มสารต่างๆ ต่อหญ้าข้าวนกและผักโขม ในระดับห้องปฏิบัติการ

อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมใบอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 โดยเก็บใบอ้อยที่เป็นใบสดอายุอ้อย 12 เดือนหลังปลูก ที่มีความสมบูรณ์แข็งแรงไม่มีโรค เป็นใบที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ไม่เอาส่วนกาบใบ จากแปลงอ้อย ตำบลบ่อทอง อำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก ช่วงเวลาที่เก็บเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2561 นำมาผึ่งลมให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นนำไปตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ประมาณ 1-2 เซนติเมตร จำนวน 1 กิโลกรัม สกัดด้วยเอทานอล 50% ในอัตราส่วนพืช 250 กรัม ต่อเอทานอล 3,500 มิลลิลิตร โดยบรรจุใส่โหลแก้วขนาด 5 ลิตร ปิดฝาโหลแก้วพอหลวม แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบางสำลีและกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) ได้เป็นสารสกัดชั้นตั้งต้นหรือสารสกัดหยาบชั้นเอทานอล (OR) นำกากที่ได้จากการสกัดไปสกัดต่อด้วยเอทานอล 50% อีกเป็นจำนวน 4 รอบ ทำการชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบในแต่ละรอบไว้ และนำมาสกัดหยาบชั้น OR มาแยกกลุ่มสารด้วยวิธี acid-base partitioning มีขั้นตอนดังแสดงใน Figure 1 โดยนำสารสกัดหยาบทั้ง 4 รอบ มารวมกันและละลายด้วยน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดไฮโดรคลอริกลงในสารละลายจนกว่ามีค่ากรดด่างประมาณ 2-3 นำสารละลายทำปฏิกิริยากับเอทิลอะซีเตท 500 มิลลิลิตร เกิดการแยกชั้นระหว่างน้ำ (AQ) และเอทิลอะซีเตทชั้น AQ นำไปปรับค่ากรดด่างให้เป็นกลาง และนำไประเหยน้ำออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ

ส่วนชั้นเอทิลอะซีเตทนำไปทำปฏิกิริยากับโซเดียมไบคาบอเนต 500 มิลลิลิตร เกิดการแยกชั้นด่างและเอทิลอะซีเตท นำชั้นเอทิลอะซีเตทไประเหยออกได้สารสกัดหยาบชั้น NE ส่วนชั้นด่างนำไปทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริกจนค่ากรดด่างเท่ากับ 2-3 และนำไปทำปฏิกิริยากับเอทิลอะซีเตท 500 มิลลิลิตร เกิดการแยกชั้นระหว่างน้ำกับเอทิลอะซีเตท นำชั้นเอทิลอะซีเตทไประเหยสุญญากาศจนได้สารสกัดหยาบชั้น AE สารสกัดทั้ง 4 ชั้น ได้แก่ OR, AQ, NE, AE เก็บไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 10-14 องศาเซลเซียส

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) 4 ซ้ำ การทดสอบสารสกัดแต่ละชั้นให้มีความเข้มข้น 1,250 2,500 5,000 และ 10,000 ppm (w/v) และมีน้ำกลั่นเป็นกรรมวิธีควบคุม โดยชั้น OR ละลายด้วยเอทานอล 50% ชั้น AQ ละลายด้วยน้ำ ชั้น AE และ NE ละลายด้วยเอทิลอะซีเตท นำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นใส่ในจานทดลองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่มีกระดาษเพาะรองอยู่ 2 แผ่น ปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยจนแห้ง ใส่น้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ลงในจานทดลอง วางเมล็ดหญ้าข้าวนกหรือผักโขม 20 เมล็ด ต่อจานทดลอง ปิดฝาจานทดลองและพันด้วยพาราฟิล์ม และนำไปวางไว้ห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิห้องที่มีช่วงกลางวัน 24-26 องศาเซลเซียส (เปิดแอร์) กลางคืน 30-32 องศาเซลเซียส (ปิดแอร์) และมีแสงจากหลอดไฟนีออน 12 ชั่วโมง ไม่มีแสง 12 ชั่วโมงเป็นเวลา 7 วัน บันทึกการงอก ความยาวต้น และความยาวราก ที่ 7 วันหลังเพาะเมล็ด

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

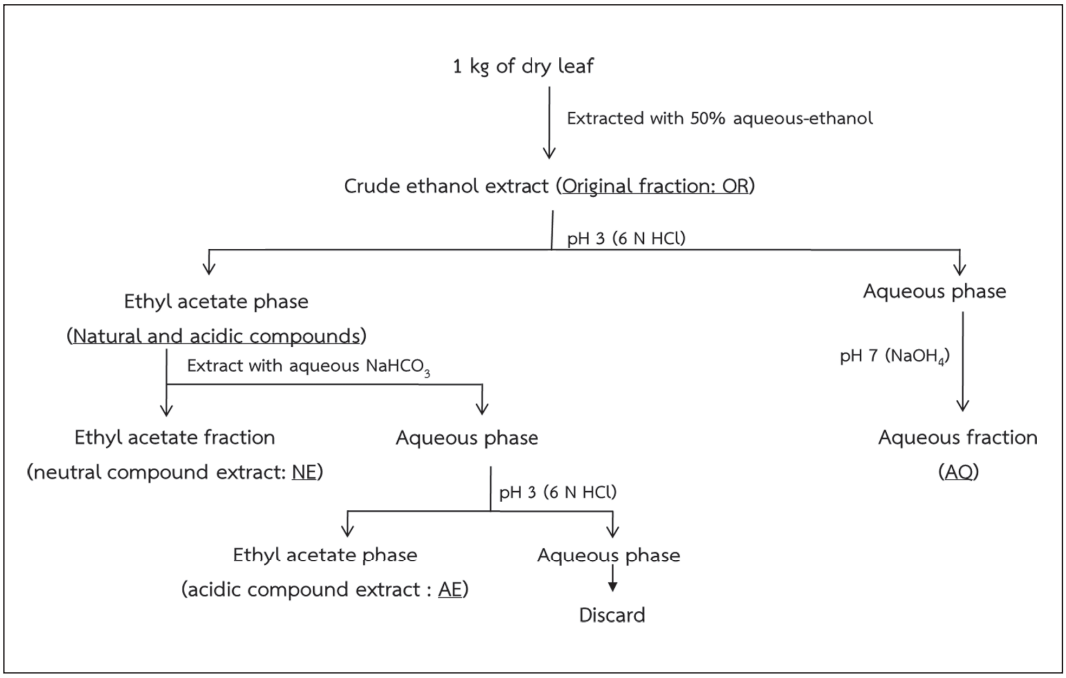

Figure 1 Methodology of acid-base partition

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ปริมาณของสารสกัดหยาบ

ปริมาณน้ำหนักของสารสกัดหยาบเอทานอล 50% ในแต่ละรอบของการสกัดพบว่า ในปริมาณใบอ้อยแห้ง 1 กิโลกรัม สกัดได้สารสกัดหยาบรวมทั้งสี่รอบประมาณ 141 กรัม คิดเป็น 1.4% ของน้ำหนักใบแห้ง สารสกัดหยาบรอบแรกได้ประมาณ 70 กรัม รอบที่สองได้ 40 กรัม รอบที่สามได้ 22 กรัม และรอบที่ 4 ได้ 9 กรัม ตามลำดับ (Figure 2 (a)) เมื่อนำสารสกัดหยาบทั้ง 4 รอบมารวมกันและทำการแยกกลุ่มสารด้วยวิธี acid-base partitioning พบว่า ในน้ำหนักของสารสกัดหยาบชั้น OR หรือสารสกัดหยาบเอทานอล 50% ได้ส่วนของสารที่ละลายด้วยน้ำ (aqueous fraction: AQ) ประมาณ 69% และได้สารสกัดหยาบชั้น neutral fraction (NE) ประมาณ 24.79% ส่วนชั้น acidic fraction (AE) ได้ประมาณ 5.67% (Figure 2 (b)) ปริมาณสารสกัดหยาบจากใบอ้อยมีความแตกต่างกันกับรายงานของปริมาณสารสกัดหยาบจากใบพืชอื่น ๆ เช่น ในใบเสลดพังพอน (*Barleria lupulina* Lindl.) มีสารสกัดหยาบชั้นเอทานอล (OR) 23% แยกชั้น AQ ได้ 80% ชั้น NE 11% และ AE 8% ตามลำดับ (Poonpaiboonpipat, 2017) นอกจากนี้ Poonpaiboonpipat and Jumpathong (2019) ได้รายงานว่า ปริมาณของสารสกัดหยาบเอทานอล 70% จากใบพืช 19 ชนิด จาก *Anomianthus dulcis* (Dunal) J.Sinclair, *Goniothalamus calvicarpa*, *Mitrephora keithii* Ridl, *Mitrephora wangii* Hu, *Orophea polycarpa* A.DC., *Elephantopus scaber* L., *Pachyptera hymenaea* (DC.) A. Gentry, *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz, *Agapetes lobbii* C.B. Clarke, *Cinnamomum loureiroi* Nees, *Cinnamomum porrectum* Kosterm, *Magnolia cathcarii* (Hook.f. & Thornson) Noot, *Magnolia citrate* (Noot. & Chaoermglin), *Michelia floribunda* Fin. et Gagnep, *Manglietia garrettii* Cralb, *Magnolia henryi*, *Ficus microcarpa* L.f. var. *crassifolia* sheeh Liao, *Zingiber zerumbet* (L.) Smith. และ *Hedychium coronarium* J.Koenig ซึ่งพบว่าปริมาณสารสกัดหยาบของพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน อยู่ระหว่าง 2.95-25.79 % ของน้ำหนักใบแห้ง

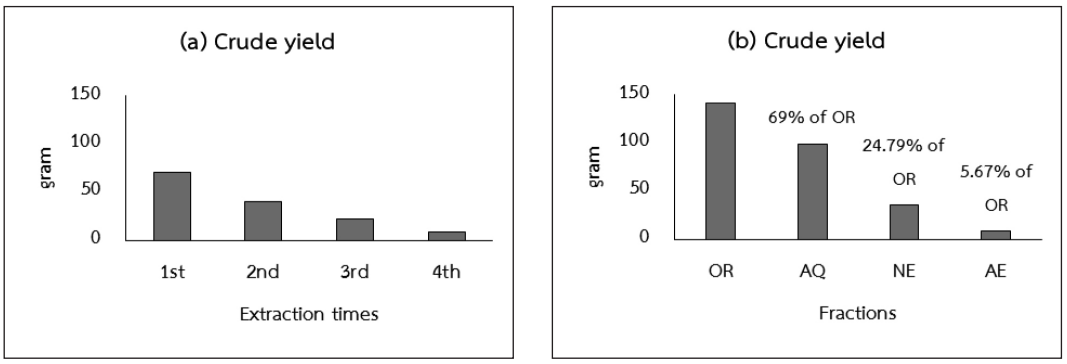

Figure 2 Amount crude yield of aqueous-ethanol extract in extraction times (a), crude yield of each fractions (b)

ผลของกลุ่มสารสำคัญต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

ผลต่อหญ้าข้าวนก พบว่า สารสกัดหยาบทุกกลุ่ม (OR, AQ, NE, AE) มีการงอกของเมล็ดไม่แตกต่างกันกับวิธีควบคุมคือน้ำกลั่น (Figure 3 (a)) ผลต่อความยาวต้นกล้าหญ้าข้าวนก พบว่า สารชั้น AQ และ OR ทุกความเข้มข้น มีความยาวต้นไม่แตกต่างกันกับวิธีควบคุม สารกลุ่ม AE ที่ความเข้มข้น 2,500 5,000 และ 10,000 ppm มีความยาวต้นกล้าน้อยกว่าวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนชั้น NE พบว่า ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm มีความยาวต้นน้อยกว่าวิธีควบคุม (Figure 3 (b)) ขณะที่ผลต่อความยาวราก พบว่า สารชั้น OR และ AQ ทุกความเข้มข้นมีความยาวรากที่มากกว่าวิธีควบคุม ส่วนชั้น AE และ NE ที่ความเข้มข้น 10,000 ppm มีความยาวรากน้อยกว่าวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (Figure 3 (c))

ผลต่อผักโขม พบว่า สารสกัดชั้น AQ ที่ความเข้มข้น 1,250 และ 2,500 ppm การงอกของเมล็ดผักโขมไม่แตกต่างกับวิธีควบคุม ขณะที่ความเข้มข้น 5,000 และ 10,000 ppm ทำให้การงอกลดลง สารสกัดชั้น AE ทุกความเข้มข้นสามารถยับยั้งการงอกของผักโขมได้ 100% ส่วนสารสกัดชั้น OR และ NE ทุกความเข้มข้นทำให้การงอกลดลง เมื่อความเข้มข้นเพิ่มสูงขึ้นทำให้การงอกลดลงมากขึ้น (Figure 4 (a)) ผลต่อความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าผักโขม พบว่า สารสกัดชั้น AQ ที่ความเข้มข้น 1,250-5,000 ppm ความยาวต้นและความยาวรากของต้นกล้าไม่แตกต่างกันกับควบคุม ส่วนที่ความเข้มข้น 10,000 ppm ความยาวต้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ สารสกัดหยาบชั้น OR และ NE ที่ความเข้มข้น 2,500-10,000 ppm ความยาวต้นน้อยกว่าวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่ความเข้มข้นที่สูงขึ้นทำให้ความยาวลดลงมากขึ้น ส่วนสารสกัดชั้น AE ทุกความเข้มข้นไม่มีความยาวต้นและความยาวราก เนื่องจากถูกยับยั้งการงอกโดยสมบูรณ์ (Figure 4 (b) และ (c))

การแยกกลุ่มสารสำคัญจากพืชมีหลากหลายวิธี การใช้เทคนิค acid-base partitioning เป็นการใช้เทคนิคการทำปฏิกิริยาของสารสำคัญในพืชกับกรดและเบสเพื่อให้สารสำคัญเปลี่ยนโครงสร้างให้อยู่ในรูปไม่ละลายน้ำ และใช้สารละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่ำและแยกชั้นกับน้ำเป็นตัวนำพาสารสำคัญเหล่านั้นออกมา กลุ่มสารสำคัญที่ได้ออกมาจากการใช้เทคนิค ได้แก่ สารสกัดหยาบชั้นน้ำ (AQ) สารสกัดหยาบชั้นที่มีคุณสมบัติเป็นกลาง (NE) และสารสกัดหยาบชั้นที่มีคุณสมบัติเป็นกรด (AE) (พัชนี และคณะ, 2551) ผลการทดลองนี้พบว่าสารสกัดจากใบอ้อยชั้น AE สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าข้าวนกและผักโขมสูงกว่าสารสกัดชั้น NE และ AQ สอดคล้องกับผลของสารสกัดหยาบชั้น AE จากพุทธชาติก้านแดง (*Jasminum officinale* Linn.f.var. *grandiforum* (L.) Kob.) (พัชนี และคณะ, 2551), หญ้าแฝก (*Vetiveria* spp.) (Laosinwattana *et al*., 2007) ดาวเรือง (Wichittrakarn *et al*., 2018) แต่แตกต่างกันกับสารสกัดจากเสลดพังพอนที่พบว่า ชั้น NE มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบสูงกว่าชั้น AE และ AQ

นอกจากนี้ผลการทดลองยังพบว่า ผักโขมมีความอ่อนแอต่อสารสกัดหยาบจากใบอ้อยกว่าหญ้าข้าวนก ผักโขมเป็นวัชพืชใบเลี้ยงคู่ ในขณะที่หญ้าข้าวนกเป็นวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ความอ่อนแอของพืชต่างชนิดกันต่อสารอัลลีโลพาธิกถูกรายงานในสารสกัดจากประยงค์ที่หญ้าข้าวนกมีความอ่อนแอ

มากกว่าถั่วผี (*Phaseolous lathyloides* L.) ทั้งนี้ Pangnakorn and Poonpaiboonpipattana (2013) ได้สันนิษฐานไว้ว่า ความอ่อนแอของวัชพืชต่อสารอัลลีโลพาธิกส่วนหนึ่งมาจากขนาดของเมล็ดวัชพืช ซึ่งโดยส่วนใหญ่เมล็ดวัชพืชขนาดเล็กความอ่อนแอต่อสารอัลลีโลพาธิกมากกว่าเมล็ดวัชพืชขนาดใหญ่ นอกจากนี้ผู้ประพันธ์บทความวิจัยได้ตั้งสมมติว่าอาจเกิดจากลักษณะทางชีววิทยาของการงอกเมล็ดวัชพืชของพืชใบเลี้ยงคู่และพืชใบเลี้ยงเดี่ยวที่มีความแตกต่างกัน พืชใบเลี้ยงคู่มีการงอกแบบ epigeal ซึ่งรากอ่อนของพืชที่มีการงอกแบบนี้มีโอกาสสัมผัสสารอัลลีโลพาธิกมากกว่าการงอกแบบ hypogeal ของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว

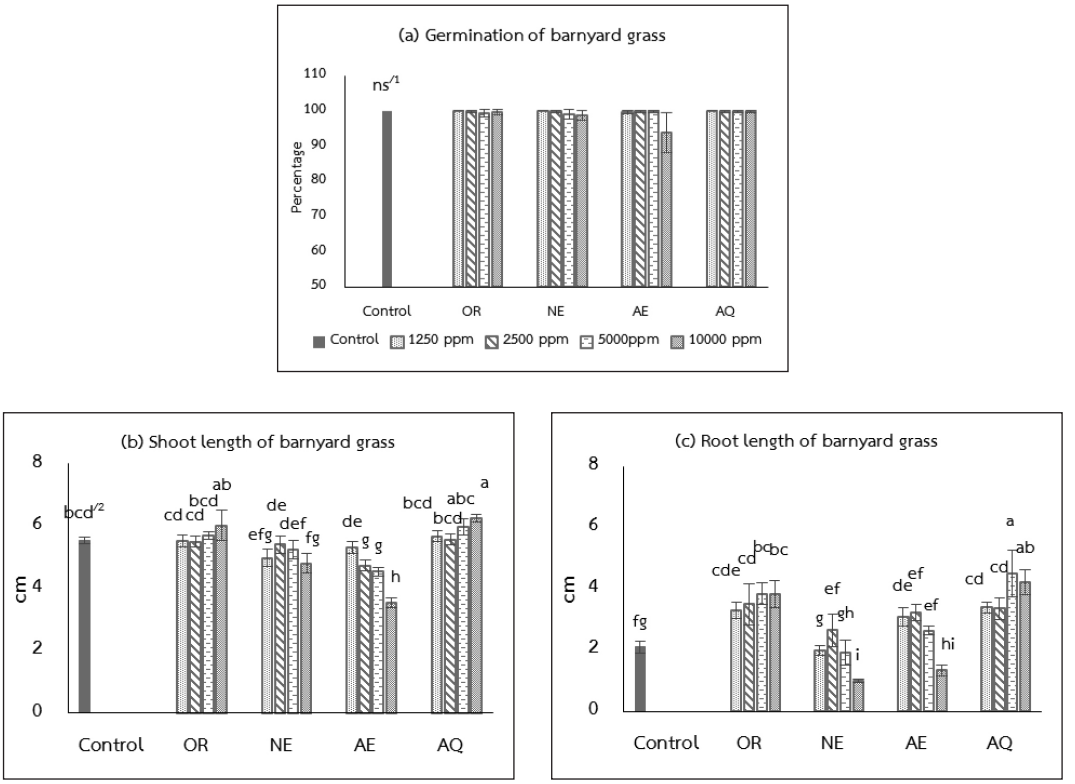

Figure 3 Effects of different fractions with various concentrations of sugarcane leaf extract on germination (a), shoot length (b) and root length (c) of barnyard grass

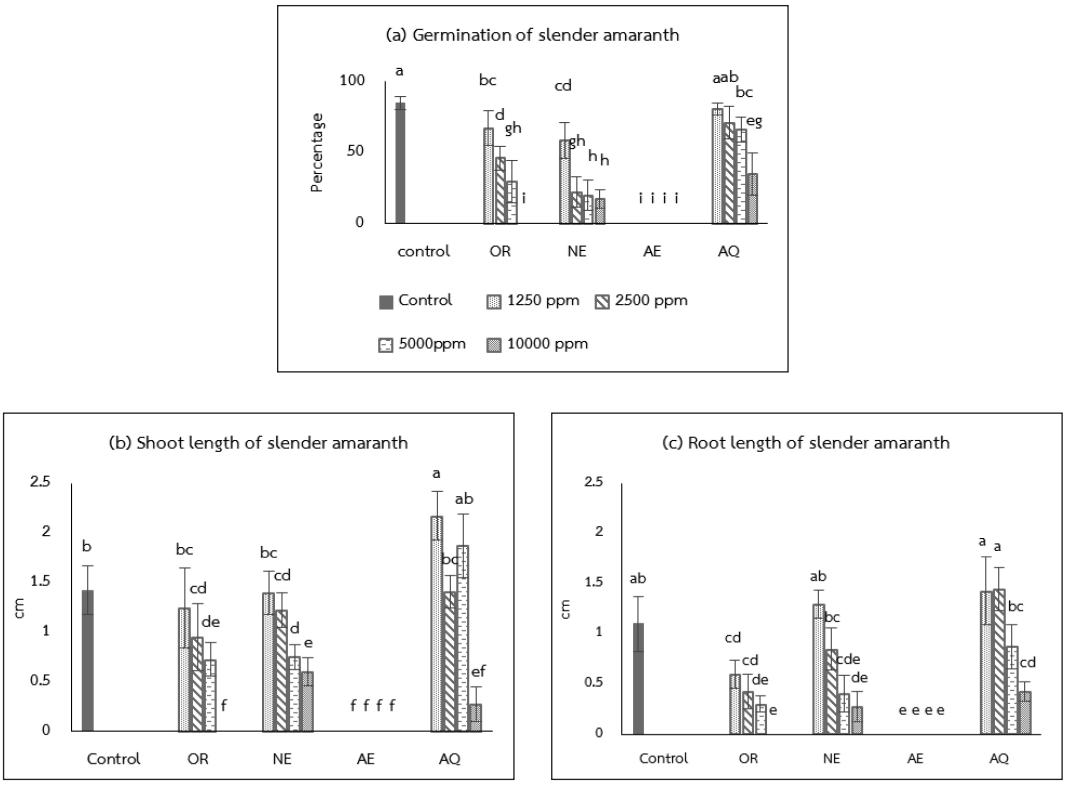

Figure 4 Effects of different fractions with various concentrations of sugarcane leaf extract on germination (a), shoot length (b) and root length (c) of slender amaranth

สรุปผลการทดลอง

สารสกัดหยาบจากใบอ้อยด้วยเอทานอล 50% ผสมน้ำกลั่น ให้ปริมาณสารสกัดหยาบ 1.4% เมื่อแยกกลุ่มสารด้วยเทคนิคกรดเบส พบว่าชั้นสารที่เป็นกรด (AE) มีฤทธิ์ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าข้าวนกและผักโขมมากกว่าชั้นที่เป็นกลาง (NE) และชั้นน้ำ (AQ) และพบว่าผักโขมมีความอ่อนแอต่อสารสกัดหยาบกว่าหญ้าข้าวนก ผลการทดลองจะเป็นข้อมูลในการนำสกัดหยาบไปพัฒนาต่อเป็นสารกำจัดวัชพืชในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

ธนัชสัณห์ พูนไพบูลย์พิพัฒน์. 2562. ผลของความเข้มข้นที่แตกต่างกันของเอทานอลต่อการสกัดสารสกัดหยาบและฤทธิ์ทางอัลลิโลพาธีของใบแก้ว. วารสารเกษตรนเรศวร 16(1): 1-6.

ธนัชสัณห์ พูนไพบูลย์พิพัฒน์ อนุพงศ์ วงค์ตามี สุรศักดิ์ ทองม่วง และ ขนิษฐา สานุ่ม. 2563. ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบอ้อย 16 สายพันธุ์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหอม. วารสารเกษตรนเรศวร 17(1): 1-10.

พัชนี เจริญยิ่ง จำรูญ เล้าสินวัฒนา และ วิรัตน์ ภูวิวัฒน์. 2551. การแยกสารอัลลีโลพาธีจากใบพุทธชาติก้านแดง. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร 39(3) พิเศษ: 492-495.

Gomes, A.C.C., A.K.C. Gomes, D.P.D. Magalhães, D.F. Buss, N.K. Simas, R.M. Kuster. 2016. In vitro phytotoxic activity of *Saccharum officinarum* leaves on lettuce and weed *Calopogonium mucunoides*. Allelopathy Journal 39(2): 177-190.

Laosinwattana, C., W. Phuwiwat and P. Charoenying. 2007. Assessment of allelopathic potential of Vetivergrass (*Vetiveria* spp.) ecotypes. Allelopathy Journal 19(2): 469-478.

Pangnakorn, U. and T. Poonpaiboonpipattana. 2013. Allelopathic Potential of Orange Jessamine (*Murraya paniculata* L.) against Weeds. Journal of Agricultural Science and Technology A 3(10): 790-796.

Poonpaiboonpipat, T. 2017. Allelopathic effect of *Barleria lupulina Lindl*. on germination and seedling growth of pigweed and barnyard grass. Naresuan University Journal: Science and Technology 25(4): 44-50.

Poonpaiboonpipat, T. and J. Jumpathong. 2019. Evaluating Herbicidal Potential of Aqueous-Ethanol Extracts of Local Plant Species against *Echinochloa crus-galli* and *Raphanus sativus*. International Journal of Agriculture and biology 21(3): 648-652.

Poonpaiboonpipat, T., M. Teerarak, W. Phuwiwat, P. Charoenying and C. Laosinwattana. 2011. Allelopathic effects of Arabian jasmine (*Jasminum sambac* Ait.) and preliminary test estimation in its natural herbicide activity. Journal of Agricultural Technology 7: 1073-1085.

Rani, P.U., S.D. Sudheer and P. Devanand. 2006. Herbicidal potential of *Breynia retusa* leaf extract on *Calotropis gigantea*, *Parthenium hysterophorus*, *Datura metal* and *Tridax procumbens*. Allelopathy Journal 17(1): 65-79.

Sampietro, D.A. 2006. Sugarcane: Soil sickness and autotoxicity. Allelopathy Journal 17(1): 33-41.

Sampietro, D.A., M.A. Sgariglia, J.R. Soberon and M.A. Vattuone. 2007. Effects of sugarcane straw allelochemicals on growth and physiology of crops and weeds. Allelopathy Journal 19(2): 351-360.

Singh, P., A. Suman and A.K. Shrivastava. 2003. Isolation and identification of allelochemicals from sugarcane leaves. Allelopathy Journal 12(1): 71-79.

Spigno, G., L. Tramelli and D.M.D Faveri. 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of graph marc

phenolics. Journal of Food Engineering 81: 200-208.

Tesio, F. and A. Ferrero. 2010. Allelopathy, a chance for sustainable weed management. International Journal of Sustainable Development and World Ecology 17(5): 377-389.

Wichittrakarn, P., M. Teerarak, P. Charoenying and C. Laosinwattana. 2018. Effects of natural herbicide from *Tagetes erecta* on *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. Allelopathy Journal 43(1): 17-30.