สารสกัดจากใบกระเพราผีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของหญ้าแห้วหมู

นางสาวศิริกันยา ตรีประสิทธิ์ผล

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม สหสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2544
ISBN 974-03-0859-7
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

THE EFFECT OF EXTRACTS FROM *Hyptis suaveolens* Poit . LEAVES ON GROWTH OF *Cyperus rotundus* Linn.

MISS Sirigunya Trepasitpon

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Environmental Science
Inter –department of Environmental Science
Graduate School
Chulalongkorn University
Academic Year 2001

ISBN 974–03–0859-7

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สารสกัดจากใบกระเพราผีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแห้วหมู
โดย	นางสาวศิริกันยา ตรีประสิทธิ์ผล
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	นางชอุ่ม เปรมัษเฐียร

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา กีระนันทน์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิพัฒน์ พัฒนผลไพบูลย์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(นางชอุ่ม เปรมัษเฐียร)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมเกียรติ ปิยะธีรธิติวรกุล)

..... กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สมใจ เพ็งปรีชา)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศิริกันยา ตรีประสิทธิ์ผล : (สารสกัดจากใบกระเพราผีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแห้วหมู
THE EFFECT OF EXTRACTS FROM *Hyptis suaveolens Poit.* LEAVES ON GROWTH OF *Cyperus rotundus Linn.*) อ. ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม, อ. ที่ปรึกษาร่วม : นางชอุ่ม เปรมัษเฐียร , 89 หน้า. ISBN 974-03-0859-7.

ได้ทดสอบฤทธิ์ทางอัลลิโลพาธิของสารสกัดใบกระเพราผีต่อการเจริญเติบโตของแห้วหมู พบว่าสารสกัดใบกระเพราผีในเอทานอลความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง มากกว่า 1.00 กรัม สามารถลดการเจริญเติบโตของแห้วหมูได้ และที่ความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 กรัม สามารถยับยั้งความงอกได้ 54.25% น้ำหนักแห้งและความยาวต้นลดลง 77.30% และ 61.01% ตามลำดับ เมื่อทดสอบสารสกัดใบกระเพราผีด้วยตัวทำละลายเฮกเซน คลอโรฟอร์มและเอทานอล พบว่าสารสกัดในเฮกเซนมีฤทธิ์ทางอัลลิโลพาธิสูงสุด นำสารสกัดใบกระเพราผีมาแยกด้วยวิธีควิกคอลัมน์โครมาโตกราฟีด้วยตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ 100% เฮกเซน, 50% เฮกเซนในคลอโรฟอร์ม, 100% คลอโรฟอร์ม และ 10% เอทานอลในคลอโรฟอร์ม พบว่าสารสกัดเฮกเซนเริ่มต้นมีฤทธิ์ทางอัลลิโลพาธิดีที่สุด จึงทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดใบกระเพราผีในเฮกเซนกับสารกำจัดวัชพืชอิมาเซทาไพร์ในดิน พบว่าสารสกัดกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม มีประสิทธิภาพในการควบคุมแห้วหมูก่อนงอกและแห้วหมูที่งอกแล้วใกล้เคียงกับอิมาเซทาไพร์ 90%

การทดสอบผลทางอัลลิโลพาธิของกระเพราผีต่อเมล็ดผัก พบว่าสารสกัดกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดคะน้า ถั่วเขียว แตงกวาและฟักทองได้ 100% แต่ยับยั้งการงอกของเมล็ดผักบุ้งได้เพียง 47.17%

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สหสาขาวิชา วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ปีการศึกษา 2544 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

##4289701320 :MAJOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

KEY WORD : *Hyptis suaveolens* Poit. / *Cyperus rotundus* Linn. / HERBICIDES

SIRIGUNYA TREPASITPON : THE EFFECT OF EXTRACTS FROM *Hyptis suaveolens* Poit . LEAVES ON GROWTH OF *Cyperus rotundus Linn.* THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. AMORN PETSOM, Ph.D. CHAUM PREMASTHIRA, 89 pp, ISBN 974-03-0859-7

The allelopathic effect of *Hyptis suaveolens* Poit extract on the growth of *Cyperus rotundus* L. was investigated. It was found that more than 1.00 gram of crude ethanol extract could reduce the growth of *C. rotundus*. At 2.00 gram dry weight equivalent of *H. suaveolens*, it inhibited 54.25% germination of *C. rotundus* and reduction of dry weight and stem length by 77.30% and 61.01%, respectively. When crude hexane, crude chloroform and crude ethanol extracts were tested, it was found that crude hexane extract had the highest allelopathic property. The crude hexane extract, was separated by Quick Column Chromatography using 4 solvents which were 100% hexane, 50% hexane in chloroform, 100% chloroform and 10% ethanol in chloroform. It was found that the original crude hexane extract had the best allelopathic effect. The effectiveness of *H. Suaveolens* extract was compared with Imazethapyr in soil. It was found that 10.00 gram dry weight equivalent of *H. suaveolens* extract had similar activity to that of 90% recommended usage of Imazethapyr in pre-emergent and post-emergent tests. The effect on allelopathic effect of *H. suaveolens* on vegetable seeds was investigated and found that 1.00 gram dry weight equivalent of *H. suaveolens* could inhibit 100% germination of *Brassica alboglabra* Bailey, *Vigra radiata* L., *Cucumis sativus* L. and *Cucurbita moschata* Poir. but only 47.17% on *Ipamora reptans* Poir.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Inter –department	Environmental Science	Student 's signature ……..
Field of study	Environmental Science	Advisor's signature .....…...
Acedemic year	2001	Co- Advisor's signature .....…….

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อมร เพชรสม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์และนางชอุ่ม เปรมัษเฐียร นักวิชาการระดับ 8 กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วมและคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ให้คำแนะนำและข้อคิดต่างๆในการวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์

นอกจากนี้ขอขอบคุณบริษัท BASF ที่อนุเคราะห์สารเคมี Imazethapyr และบริษัทอีสเอเชียติก (EAC) ที่กรุณาให้สารเคมี Polyoxyethelene sorbitan monoleate (Tween 80) รวมทั้งบัณฑิตวิทยาที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัย

ท้ายที่สุดผู้เขียนขอรำลึกถึงบิดา มารดา ที่มีส่วนเป็นอย่างยิ่งในการเสร็จสมบูรณ์ของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ด้วย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

บทที่ หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญภาพ ..... ฐ

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 7

1.3 ขอบเขตของการวิจัย 7

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 7

1.5 วิธีการดำเนินการวิจัยอย่างย่อ 7

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิดและทฤษฎี 12

2.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 24

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย 28

3.2 สารเคมีที่ใช้ 28

3.3 พืชที่ใช้ทดลอง 29

3.4 เทคนิคต่างๆที่ใช้ในการทดลอง 29

3.5 วิธีทำการทดลอง 30

1. ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 30

1.1 ทดสอบเบื้องต้นผลทางอัลลิโลพาธิของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อแห้วหมู 30

1.2 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกะเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 31

2. ทดสอบชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดกระเพราผี 32

2.1 สกัดวิธีที่ 1 32

2.2 สกัดวิธีที่ 2 33

3. หา fraction ที่มีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูมากที่สุด 34

4. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ 35

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

4.1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น pre-emergent ระหว่างสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน 36

4.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ระหว่างสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ 37

4.2.1 ทดสอบความสามารถในการเป็น Early post –emergent ของกระเพราผี 37

4.2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ระหว่างสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน 38

5. ทดสอบสารสกัดจากใบกระเพราผีที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืช 39

6. ทดสอบทางสถิติ 40

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการทดลอง 42

4.2 อภิปรายผล 65

4.3 วิเคราะห์ปัจจัย 75

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย 78

5.2 ข้อจำกัดของการวิจัย 80

5.3 ข้อเสนอแนะ 80

รายการอ้างอิง 82

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

ภาคผนวก 87

ประวัติผู้เขียน 89

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง หน้า

1 ระดับความเป็นพิษและค่า LD_{50} ของสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ 16

2 ค่า LD_{50} ของ Imazethapyr ที่เข้าสู่ร่างกายโดยวิธีต่างๆ 18

3 องค์ประกอบทางเคมีที่พบในกระเพราผี 24

4 หลักการในการประเมินความสามารถในการยับยั้งการงอกของแห้วหมู 38

5 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 42

6 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 44

7 ผลการทดสอบตัวทำละลายโดยวิธีการสกัดวิธีที่ 1 ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 47

8 ผลการทดสอบตัวทำละลายโดยวิธีการสกัดวิธีที่ 2 ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 48

9 ผลการสังเกตด้วยสายตาของการทดสอบผลของชนิดของตัวทำละลายโดยวิธีสกัดวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 50

10 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีที่แยก fraction ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 52

11 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีที่แยก fraction ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูโดยการสังเกต 54

12 ผลการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Pre-emergent ของสารสกัดกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน 57

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง หน้า

13 สารสกัดจากใบกระเพราผีต่อการยับยั้งการงอกของแห้วหมูแบบ Early Post-emergent 59

14 ผลการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent 61

15 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืช 63

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ หน้า

1 ลักษณะของกระเพราผี 6

2 แผนภาพขั้นตอนการวิจัยอย่างย่อ 11

3 โครงสร้างทางเคมีของสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์บางชนิด 15

4 โครงสร้างของ Imazethapyr 17

5 สารประกอบที่พบในกระเพราผี 26

6 แผนภาพวิธีการสกัดกระเพราผีวิธีที่ 1 32

7 แผนภาพวิธีการสกัดกระเพราผีวิธีที่ 2 34

8 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 46

9 ผลของตัวทำละลายที่ใช้สกัดกระเพราผีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู โดยวิธีสกัดวิธีที่ 2 51

10 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีที่แยก fraction ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 55

11 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น pre-emergent ของสารสกัดจากกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน 58

12 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ของสารสกัดจาก กระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน 62

13 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืช 64

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพประกอบ หน้า

14 กราฟวิเคราะห์ผลของความเข้มข้นของกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 66

15 กราฟเปรียบเทียบผลของตัวทำละลายและวิธีที่ใช้สกัดกระเพราผีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 69

16 กราฟแสดงผลของสารสกัดกระเพราผีใน fraction ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู 70

17 กราฟเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น pre-emergent ของสารสกัดจากกระเพราผีและ Imazethapyr 72

18 กราฟเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ของสารสกัดจากกระเพราผีและ Imazethapyr 74

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัญหาทางการเกษตรในประเทศไทย ที่ทำให้ผลผลิตทางการเกษตรลดลง คือ แมลง โรคพืช และวัชพืช ซึ่งวัชพืชเป็นหนึ่งในปัญหาที่สำคัญ เนื่องจากวัชพืชจะพบร่วมกับการปลูกพืชทุกครั้ง วัชพืชจะแก่งแย่งน้ำและอาหารของพืชปลูก ทำให้ผลผลิตทางการเกษตรลดลง ดังนั้นการควบคุมกำจัดวัชพืชจึงเป็นสิ่งจำเป็น ซึ่งการแก้ปัญหาวัชพืชในปัจจุบันมีทั้งการควบคุมโดยใช้สารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์และการควบคุมโดยไม่ใช้สารกำจัดวัชพืช การควบคุมโดยใช้สารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ เป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากประหยัดแรงงาน สะดวกและรวดเร็ว แต่การใช้สารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ ซึ่งเป็นสารที่มีความเป็นพิษ เมื่อใช้อย่างไม่ถูกวิธี อาจทำให้เกิดอันตรายต่อเกษตรกรผู้ใช้ และเมื่อใช้สารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์เป็นระยะเวลานาน ทำให้เกิดปัญหาการปนเปื้อนและตกค้างในระบบนิเวศ เกิดการสะสมของสารกำจัดวัชพืชในสิ่งแวดล้อมสู่ห่วงโซ่อาหาร ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศ และยังชักนำให้วัชพืชเกิดความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช ส่วนการกำจัดวัชพืชโดยไม่ใช้สารเคมีมีหลายวิธี แต่ละวิธีมีความเหมาะสมในแต่ละสภาพและพื้นที่ทำการเกษตรแตกต่างกัน วิธีการป้องกันกำจัดที่ปฏิบัติกัน (พรชัย, 2540) มีดังนี้

1.การป้องกันกำจัดโดยใช้วิธีกล (mechanical control) เช่น การใช้แรงงานคนและสัตว์ การใช้ไฟเผา การใช้วัสดุคลุมดิน ทำให้วัชพืชบางชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตหรืองอกได้ วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย แต่ใช้เวลาและแรงงานมาก จึงไม่เหมาะสมกับพื้นที่การเกษตรขนาดใหญ่

2.การป้องกันกำจัดโดยใช้วิธีเขตกรรม (cultrue weed control) เป็นการปฏิบัติในแปลงปลูกพืช เพื่อลดปัญหาการแก่งแย่งแข่งขันของวัชพืชทางอ้อม เช่น การทดน้ำ การปลูกพืชหมุนเวียน การปลูกพืชแซมและการจัดการเกี่ยวกับการใส่ปุ๋ย

3. การป้องกันกำจัดโดยชีววิธี (biological weed control) เป็นวิธีการที่นำสิ่งมีชีวิตต่างๆมาจัดการวัชพืชในแปลงปลูกพืช สิ่งมีชีวิตในสภาพธรรมธรรมชาติ หรือจากการดัดแปลงของมนุษย์ สามารถนำมาเป็นประโยชน์ในการควบคุมวัชพืชก็คือ แมลง โรค และสัตว์ ซึ่ง

สิ่งมีชีวิตเหล่านี้อาจอาศัยวัชพืชเป็นอาหาร เช่น การนำผีเสื้อแคกตัส (*Cactoblastic cactorum*) มาควบคุมวัชพืชพวกกระบองเพชร common prickly (*Pountia inermis*) การนำแมลงชนิดต่างๆ เช่น มวนปีกใส (*Telonomemia cactorum*) มาควบคุมวัชพืชผกากรอง (*Lantana* spp.) การนำเชื้อโรคมาควบคุมวัชพืช เช่น การนำเชื้อราพวก *Alternaria causclalcidae* มาควบคุมวัชพืชพวกฝอยทอง (*Cuscula* spp.)

4. การใช้สารได้จากพืช (allelochemical substances) มาควบคุมวัชพืช เนื่องจากพืชจะสร้างสารขึ้นมากเพื่อปกป้องตนเองโดยการปล่อยสารเคมีนั้นเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของพืช แมลง หรือจุลินทรีย์ชนิดอื่น ซึ่งปรากฏการณ์นี้ว่าอัลลิโลพาธิ (allelopathy) มีงานวิจัยจำนวนมากที่แสดงให้เห็นว่าพืชชนิดหนึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นได้ เช่น สารสกัดจากรากต้นข้าวอ่อน (*Oryza sativa* L) ยับยั้งการเจริญเติบโตของเมล็ด alfalfa (*Medicago sativa* L.), cress (*Lepidium sativum* L.) และเมล็ดผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L.) โดยประสิทธิภาพที่ยับยั้งได้สูงสุดมากกว่า 60% (Ino, 2001) ซึ่งการใช้สารที่ได้จาก ธรรมชาติเป็นวิธีที่มีความปลอดภัยสูง ไม่มีผลตกค้างและไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม

5.การป้องกันกำจัดโดยวิธีการผสมผสาน (integrated weed control) เป็นการนำเอาวิธีการกำจัดวัชพืชแบบต่างๆดังกล่าวมาแล้ว มาใช้ร่วมกันเพื่อลดปัญหาวัชพืช เนื่องจากแต่ละวิธีมีข้อดีข้อเสียและข้อจำกัดแตกต่างกัน ดังนั้นการใช้วิธีการกำจัดแบบหลายๆแบบร่วมกัน จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่ทำให้เกิดความปลอดภัย ลดต้นทุน และมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

เนื่องจากการควบคุมวัชพืชโดยใช้สารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์บางครั้งอาจมีความเป็นพิษเป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม ดังนั้นการทำการเกษตรโดยใช้สารกำจัด วัชพืชสังเคราะห์ให้น้อยที่สุด จะเป็นผลดีทั้งต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ซึ่งทางเลือกที่น่าสนใจทางหนึ่ง คือ การใช้สารกำจัดวัชพืชที่ได้จากพืช เพื่อลดปริมาณการสะสมของสารกำจัดวัชพืชในสิ่งแวดล้อมและเป็นการทำการเกษตรแบบยั่งยืน

อัลลิโลพาธิ (Allelopathy) เป็นคำมาจากภาษากรีก แปลว่าความเป็นพิษหรือผลเสียซึ่งกันและกัน (Molish, 1937) ได้นิยามคำนี้ว่า ปฏิกิริยาทางชีวเคมีระหว่างพืชและ จุลินทรีย์ทุกชนิด ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลทางด้านบวกหรือลบก็ได้ (Rizvi, 1991) ได้นิยาม allelopathy หมายถึงผลกระทบทางลบที่เกิดขึ้นต่อพืช จุลินทรีย์ ที่ได้รับสารที่พืชผลิตออกมาทั้งทางตรงและทางอ้อม

แนวคิดที่ว่าพืชสามารถปล่อยสารเคมีบางชนิดเพื่อยับยั้งการเจริญของพืชชนิดอื่น เกิดขึ้นเมื่อ DeCabdolle (1832 อ้างโดย Rice, 1984) ได้สังเกตเห็นว่าเมื่อทำการเกษตรแบบพืชหมุนเวียน ต้น thistles (*Cirsium arvense* (L.) scop) เป็นพิษต่อต้นโอ๊ต (*Avena sativa* Linn.) ต้น *Centaurea Scabiosa* เป็นพิษต่อต้นป่านลินิน (*Linum usitatissimum* L.) และต้นข้าวไรน์ (*Lolium perenne* L.) เป็นพิษต่อต้นข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ทำให้เกิดการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารที่พืชปล่อยออกมา (allelochemical) เป็นจำนวนมาก ทั้งผลทาง อัลลิโลพาธิของพืชชั้นสูงด้วยกัน ผลทางอัลลิโลพาธิของพืชชั้นสูงต่อจุลินทรีย์ (Arsenault, 2001) พบว่าวัชพืช 6 ชนิด คือ หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crusfalli* (L.) Beauv.), corn spurrey (*Spergula arvensis* L.), ซ่อนกลิ่นฝรั่ง (*Sonchus* sp.), Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* L.), lamb's-quarters (*Chenopodium album* L.) และ quack grass (*Agropyron repens* (L.)

Beauv.) กระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย Bacillus, Arthrobacter, Stenotrophomonas, Acinetobacter และ Pseudomonas ที่พบมากในมันฝรั่ง Dayan, (2001) รายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากต้นปอแก้ว (*Hibiscus cannabinus*) มีพิษต่อต้นผักกาดหอมและต้น bentgrass (*Agrostis tenuis* Sibth) และยังมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อรา *Colletotrichum fragariae, Colletotrichum gloeosporioides* และ *Colletotrichum accutatum* งานวิจัยของ Ferenczy (1956 อ้างโดย Rice, 1984) รายงานว่าสารสกัดจากเมล็ดพืชและผลไม้ของพืชชั้นสูงจำนวนมากมีสารจำพวกสารฆ่าเชื้อแบคทีเรียและสารฆ่าเชื้อรา ซึ่งการค้นพบสาร allelochemical หลายชนิดเป็นแรงจูงใจทำให้เกิดการวิจัยหาสาร allelochemical เพื่อใช้ในการเกษตร มีการศึกษาวิจัยทั้งผลกระทบของพืชปลูกต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชปลูก พืชปลูกต่อการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช วัชพืชต่อการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช เช่น สารสกัดจากหญ้าเบอมิวด้า [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] ต้น tall fescue (*Festuca arundinacea Shreb*. cv. Kentucky 31) วัชพืช redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus* L.) และใบของต้นอีฟนิ่งพริมโรส (*Oenothera: laciniata* Hill) ยับยั้งการเจริญเติบโตของต้น pecan (*Carya illinoinensis Wangenh*. C. Koch) ประมาณ 20% (Carroll, 2001) การศึกษาของ Chaves, (2001) พบว่าสารสกัดจากต้น *Cistus ladanifer* L. มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของกาบใบและความยาวรากของต้น *Rumex crispus*

ปัจจุบันงานวิจัยเกี่ยวกับอัลลิโลพาธียังมีอย่างต่อเนื่อง เช่น (Kobaisy, 2001) รายงานว่า สารสกัดจากต้นปอแก้ว ยับยั้งการงอกของต้นผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L.) และสารสกัดจากใบ mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC.) ยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหอม และพบว่าสารที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการออกฤทธิ์ คือ L-tryptophan (Nakano, 2001) ซึ่งสารเคมีที่ค้นพบจากงานวิจัยทางอัลลิโลพาธิ จะเป็นต้นแบบในการผลิตสารกำจัดวัชพืชที่มี ประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น

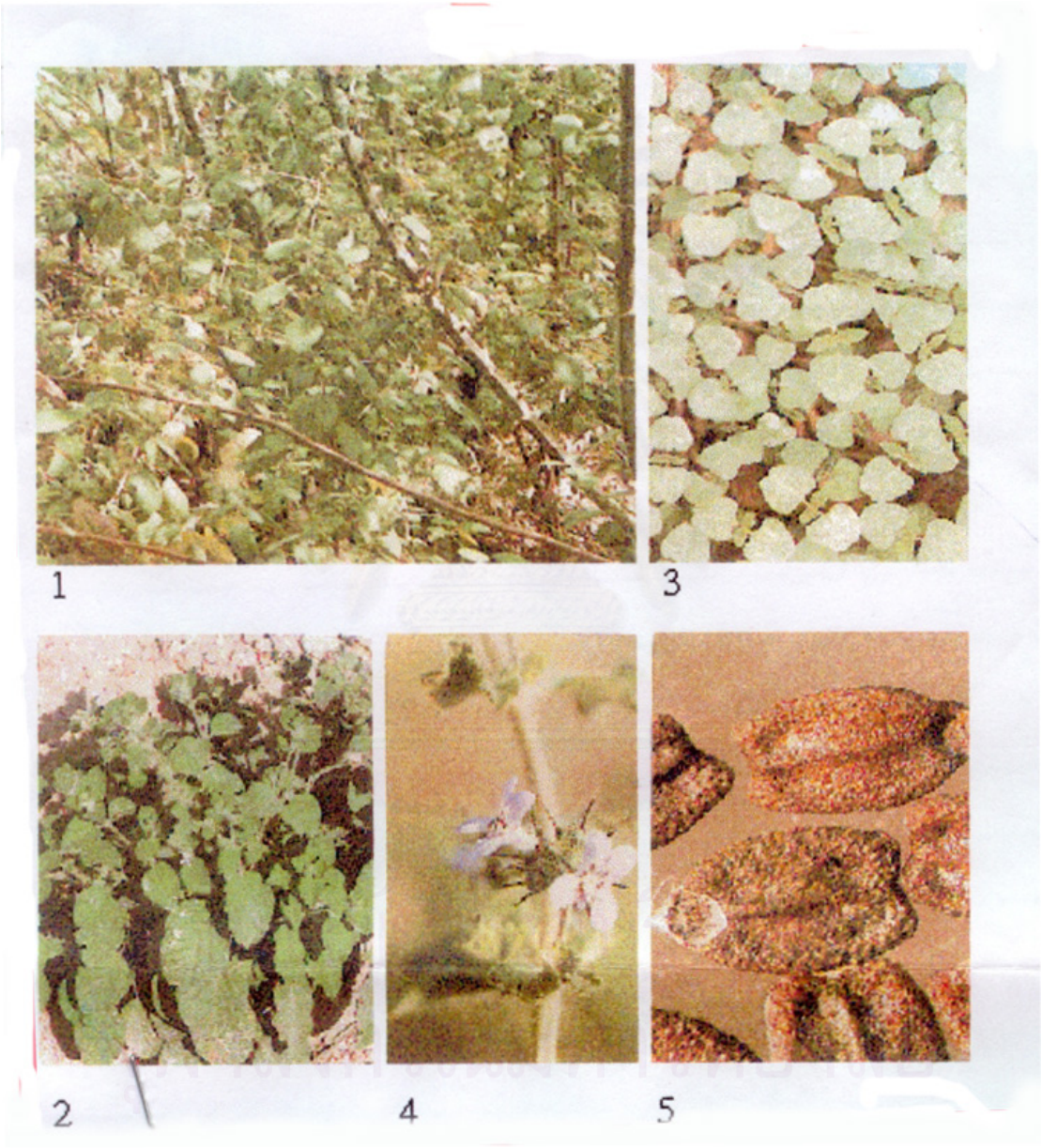
วัชพืชมีมากมายหลายชนิดและขยายพันธุ์ได้เร็ว จึงทำให้เกิดความเสียหายต่อการเกษตรเป็นอย่างมาก ดังนั้นการนำวัชพืชมาใช้ในการควบคุมวัชพืชจึงเป็นวิธีที่ไม่ต้องลงทุนในการซื้อวัตถุดิบและยังช่วยกำจัดวัชพืชชนิดนั้นด้วย ทำให้มีต้นทุนในการผลิตต่ำ มีงานวิจัยจำนวนมากที่ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากวัชพืชหลายชนิดสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชที่เป็นศัตรูสำคัญในการเกษตร เช่น สารสกัดจากผักปอดนา (*Sphenoclea zeylanica* Geartn.) ด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของรากและต้นข้าว (ชฎาพร, 2535) สารสกัดจากใบสดของแคฝรั่ง (*Glirocidia maculate*) ด้วยน้ำ มีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพริกหยวก (*Capsicum annum* Linn.) และตีนตุ๊กแก (*Tridax procumbens* Linn.) ส่วนใบแห้งของแคฝรั่งนำมาคลุกดิน 4% โดยน้ำหนัก/น้ำหนัก แล้วนำไปโปรยบริเวณผิวดินพบว่าสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของตีนตุ๊กแกและกระเพราผี (*Hyptis suaveolens* Poit.) ได้แต่ในทางตรงข้ามจะสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นอ่อนของมะเขือเทศ มะเขือยาว (*Solanurm melongena* Linn.) และหญ้าพันงู (*Achyranthes aspera* Linn.) (ศิริพร, 2535) ข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor Moench*.) และข้าวโพด (*Zea mays* L.) สามารถควบคุมวัชพืชหญ้าแม่มด (*Striga asiatica (L.) O.Kuntze*) และต้น cowpea (*Vigna catjung* Walp.) ในแปลงปลูกฝ้าย (*Gossypium* spp.) และถั่วเหลือง (*Glycine max* L. Merr.) ได้ (Chittapur, 2001)

กระเพราผี กระเพราป่า เป็นวัชพืชชนิดหนึ่งที่พบมากทางภาคตะวันออก เฉียงเหนือของไทย มีชื่อภาษาอังกฤษ คือ Wild spikenard ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Hyptis sauveolens* Poit. เป็นพืชในตระกูล Labiatae เป็นไม้ตระกูลเดียวกับกระเพรา โหระพา สะระแหน่ ลักษณะของกระเพราผี เป็นไม้พุ่มสูงประมาณ 50 –150 เซนติเมตร ตามลำต้นและใบมีขนอย่างชัดเจน มีกลิ่นฉุน ขอบใบเป็นจักแหลมคล้ายฟันเลื่อย ใบออกตามข้อเป็นคู่ๆ ดอกมีสีม่วงและมีจำนวนกลีบ 5 กลีบ ช่อดอกออกตามซอกก้านใบกับลำต้นและในช่อหนึ่งๆมีดอก 4-5 ดอก เมล็ดมีสีดำ พบมากในบริเวณดินปนทราย เป็นวัชพืชที่กำเนิดในอเมริกาเขตร้อน ปัจจุบัน แพร่กระจายทั่วไปในแถบประเทศร้อน กระเพราผีมักพบในสภาพธรรมชาติขึ้นเป็นกลุ่มใหญ่ ไม่มีพืชชนิดอื่นขึ้นแทรก หรือขึ้นแทรกน้อย กระเพราผียังไม่ค่อยพบว่ามีแมลงหรือโรคพืช ซึ่งลักษณะเหล่านี้ทำให้สันนิษฐานได้ว่า กระเพราผีอาจมีสาร allelochemical ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชอื่น นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบกระเพราผีมีฤทธิ์ต้านเชื้อรา และมีฤทธิ์ทาง allelopathy ในการยับยั้งการเจริญ เติบโตของต้นข้าว (กฤตาภร, 2534) Premasthira และ Zungsontiporn, (1992) รายงานว่าสารสกัดจากใบแก่ของกระเพราผีมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวอย่างรุนแรง

กระเพราผีมีประโยชน์ทางยา ใช้เป็นยาแก้ปวดท้อง ท้องขึ้น จุกเสียด แก้อาเจียน บรรเทาอาการไอ ถ้าใช้ปรุงเป็นผงใช้เฉพาะใบ ถ้าใช้ปรุงเป็นยาต้มใช้ทั้งลำต้น รากและใบ ลักษณะของกระเพราผีแสดงในภาพที่ 1

กระเพราผีเป็นวัชพืชที่แพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว ขึ้นได้ในดินทุกสภาพและมีสารที่เป็นพิษต่อการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นๆ ดังนั้นจึงเป็นวัชพืชที่น่าสนใจนำมาศึกษาเพื่อใช้ในการควบคุมวัชพืช

แห้วหมูจัดเป็นวัชพืชร้ายแรง (Noxious weed) ชนิดหนึ่งในประเทศไทย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Cyperus rotundus* Linn. ชื่ออื่นๆ ได้แก่ หญ้ากกดอกขาว(กรุงเทพ) หญ้าขนหมู(พายัพ) หญ้าก๊ดหมู สลาบกัดหมู(ลำพูน) ลักษณะของแห้วหมูเล็กมีต้นสูงประมาณ 10 – 60 เซนติเมตร มีเหง้าใต้ดินและไหลยาว ใบเป็นมันเรียบ เส้นกลางใบด้านหลังเป็นสัน ด้านหน้าใบเป็นร่อง กาบใบหุ้มโคนต้นสีม่วง ช่อดอกยาวประมาณ 1 –3 เซนติเมตร มีสีม่วงอม น้ำตาล เป็นวัชพืชหลายฤดู แห้วหมูขยายพันธุ์ด้วยเหง้าใต้ดินและด้วยเมล็ด จึงพบแห้วหมูขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วและเป็นวัชพืชที่ มีความทนทานและปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมได้ดี แม้จะอยู่ในสภาพที่ไม่เหมาะสม มีความสามารถในการแก่งแย่งแข่งขันสูง อีกทั้งยากต่อการควบคุมกำจัด ดังนั้นจึงเลือกแห้วหมูมาใช้เป็นพืชทดสอบผลทางอัลลิโลพาธิของกระเพราผี เพื่อนำสารสกัดจากกระเพราผีมาพัฒนาใช้ในการควบคุมวัชพืชแห้วหมู หรือควบคุมวัชพืชอื่นๆที่มีความ ต้านทานต่อสารสกัดจากกระเพราผีน้อยกว่าแห้วหมู



1. ถิ่นที่อยู่

2. ต้นกระเพราผี

3. ต้นอ่อน 4. ดอกโตเต็มวัย

5. เมล็ด

ภาพที่ 1 แสดงลักษณะของกระเพราผี (เจ เอฟ แมกซ์เวล, 2537)

1.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหา fraction ของสารในใบกระเพราผีที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ แห้วหมูได้ดีที่สุด
2. เพื่อศึกษาผลทางอัลลิโลพาธิของกระเพราผีต่อเหง้าแห้วหมู

1.2 ขอบเขตของการวิจัย

ทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดจากกระเพราผีที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู นำสารสกัดที่มีผลทางอัลลิโลพาธิสูงสุดมาแยก fraction เพื่อหา fraction ที่ดีที่สุดในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู และ เปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างสารสกัดจากกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ต่อแห้วหมูในกระถาง

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบกระเพราผีในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชแห้วหมู

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

1.ทดสอบสารสกัดจากใบกระเพราผีที่สกัดด้วยเอทานอลที่อัตราความเข้มข้นต่างๆว่ามีผลต่อการการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของเหง้าแห้วหมูอย่างไร

ทดสอบประสิทธิภาพของกระเพราผีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้สารสกัดความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้งของกระเพราผี 0.00 0.25 0.50 1.00 2.00

และ 4.00 กรัม ทำการทดลองในจานเลี้ยงเชื้อ ให้แสงธรรมชาติ จำนวน 7 วัน วัดผลการทดลองโดยนับจำนวนและวัดความยาวต้นที่งอกบนเหง้าแห้วหมู พร้อมทั้งชั่ง น้ำหนักแห้งของต้นแห้วหมู

2. ทดสอบชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดกระเพราผี

สกัดใบกระเพราผีแห้งด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วแตกต่างกันโดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วแตกต่างกัน 3 ชนิด คือ ตัวทำละลายที่มีขั้วสูง เอทานอล ตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลาง คลอโรฟอร์ม และตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ เฮกเซน เพื่อแยกสารที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกันออกมา การแยกมี 2 วิธี

วิธีที่ 1 สกัดใบกระเพราผีด้วยเอทานอล นำสารสกัดในเอทานอลที่ได้มาสกัดแยกต่อด้วยคลอโรฟอร์มและเฮกเซน

วิธีที่ 2 สกัดใบกระเพราผีด้วยเฮกเซน นำใบกระเพราผีที่สกัดด้วยเฮกเซนแล้วมาสกัดต่อด้วยคลอโรฟอร์ม และนำใบกระเพราผีที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์มแล้วมาสกัดต่อด้วย เอทานอล

สารที่สกัดจากจากทั้ง 2 วิธี นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูในจานเลี้ยงเชื้อ ให้แสงธรรมชาติ จำนวน 7 วัน เลือกตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพสูงสุดนำไปแยก fraction ต่อไป

3. หา fraction ที่มีผลการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของเหง้าแห้วหมูมากที่สุด

นำสารสกัดในตัวทำละลายที่มีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตมากที่สุดมาแยกโดยใช้วิธี Quick Column Chromatography เพื่อแยกสารที่มีขั้วแตกต่างกันออกจากกันอย่างคร่าวๆ นำ fraction ที่แยกได้ไปทดสอบด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatography เพื่อหา fraction ที่มีองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกัน จากนั้นนำ fraction ที่มีองค์ประกอบทางเคมีไม่เหมือนกันไปทดสอบการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูในจานเลี้ยงเชื้อ ให้แสงธรรมชาติ จำนวน 7 วัน fraction ที่สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของ แห้วหมูมากที่สุด ให้นำไปเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์และทดสอบผลทางอัลลิโลพาธิต่อเมล็ดพืช

4.ทดสอบประสิทธิภาพของสารที่แยกได้จากกระเพราผีเปรียบเทียบกับสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญเติบโตของแห้วหมู

การทดลองแบ่งเป็น 2 การทดลอง ตามลักษณะการออกฤทธิ์ของสารกำจัด วัชพืช คือ แบบออกฤทธิ์ก่อนวัชพืชงอก (pre –emergent herbicides) และ แบบออกฤทธิ์หลัง วัชพืชงอก (post – emergent herbicides)

4.1การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพแบบออกฤทธิ์ก่อนวัชพืชงอก (pre-emergent herbicides) ระหว่างสารสกัดจากกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ Imazethapyr ซึ่งเป็น

สารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญเติบโตของแห้วหมูได้ดี เลือกเหง้าแห้วหมูที่แข็งแรง นำไปปลูกในดิน การทดลองแบ่งเป็น 2 ชุด

ชุดที่ 1 พ่นสารสกัดจากกระเพราผีความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้งของ กระเพราผี 1.00 2.00 4.00 5.00 และ 10.00 กรัมตามลำดับ

ชุดที่ 2 พ่นสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ Imazethapyr ที่ 50% 75% และ 90% ของอัตราแนะนำ (อัตราแนะนำ 20 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารออกฤทธิ์ต่อไร่)

นำการทดลองทั้ง 2 ชุด ให้แสงธรรมชาติเป็นระยะเวลา 7 วัน เก็บผลการทดลองโดยวัดจำนวนและความยาวของต้นที่งอกบนเหง้าแห้วหมู พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักแห้งของต้นแห้วหมู

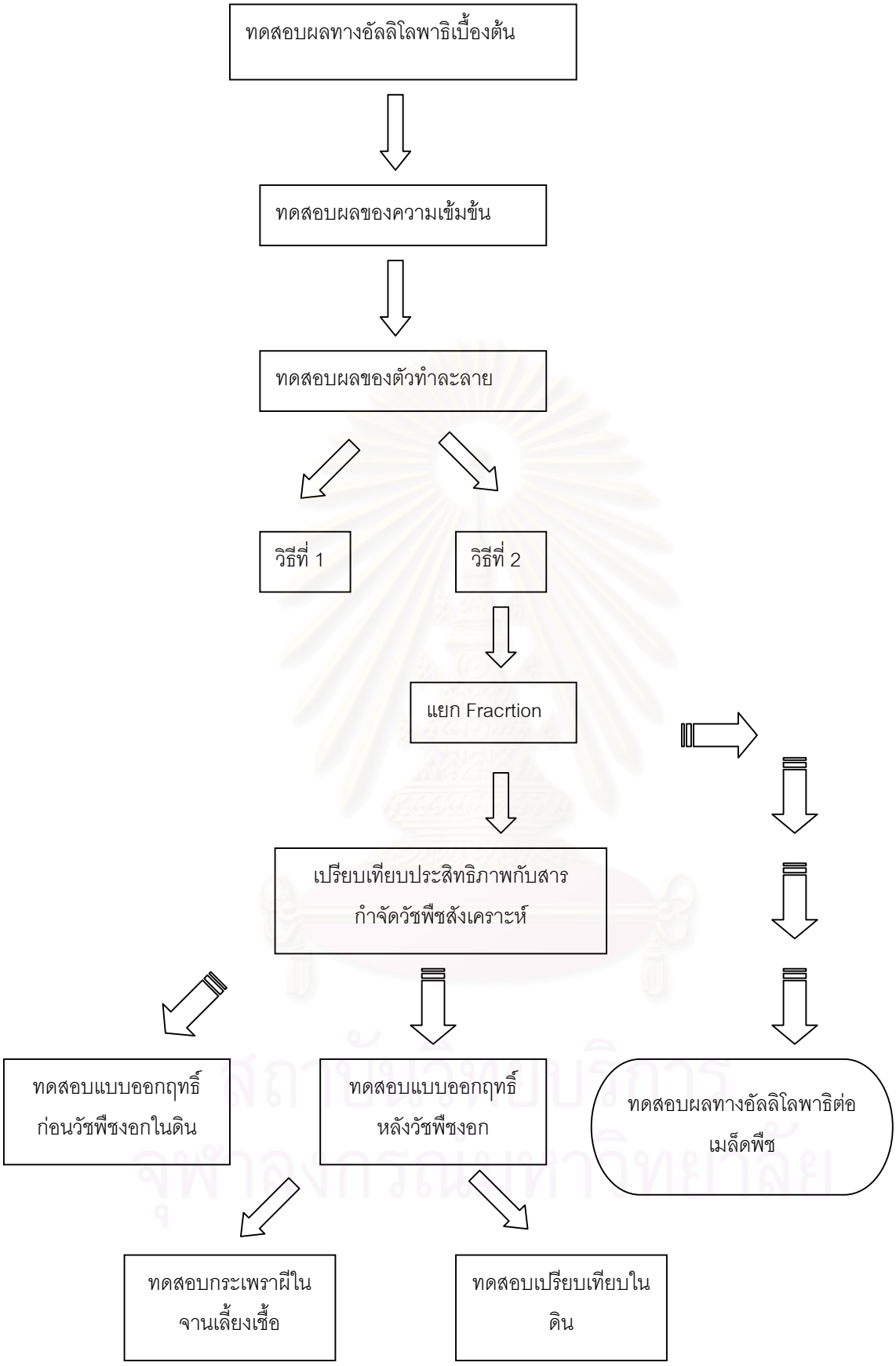
4.2การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพแบบออกฤทธิ์หลังวัชพืชงอก (post-emergent herbicides) ระหว่างสารสกัดจากกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ Imazethapyr แบ่งการทดลองเป็น 2 ชุดคือ

4.2.1 ทดสอบความสามารถในการเป็น Early post - emergent herbicide ของสารสกัดจากกระเพราผี โดยในจานเพาะเชื้อ เพาะแห้วหมูไว้ในจานเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 7 วัน นำเหง้าแห้วหมูที่เพาะไว้มาทดสอบโดยใส่สารสารสกัดจากกระเพราผีความ เข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 และ 4.00 กรัม ในจานเลี้ยงเชื้อ ให้แสงธรรมชาติ เพาะต่อไปอีก 7 วัน วัดผลการทดลองโดยนับจำนวนเหง้าแห้วหมูที่ยังมีชีวิต

4.2.2 การทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพแบบ Early post-emergent ทำในดินโดยการเพาะแห้วหมูไว้ในดินเป็นระยะเวลา 7 วัน นำเหง้าแห้วหมูที่เพาะไว้ไปทดสอบโดยพ่นสารสกัดจากใบกระเพราผีความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 2.00 4.00 5.00 และ 10.00 กรัมตามลำดับ และสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ Imazethapyr 50% 75% และ 90% ที่อัตราแนะนำตามลำดับ เพาะต่อไปโดยให้แสงธรรมชาติเป็นระยะเวลา 10 วัน เก็บผลการทดลองโดยวัดจำนวนและความยาวของต้นแห้วหมู น้ำหนักแห้งของต้นแห้วหมู

5.การทดสอบผลทางอัลลิโลพาธิของสารสกัดจากใบกระเพราผีที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืช คือ เมล็ดผักบุ้ง เมล็ดคะน้า เมล็ดถั่วเขียว เมล็ด แตงกวาและเมล็ดฟักทอง ใส่สารสกัดจากใบกระเพราผีความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัมในจานเลี้ยงเชื้อ เป็นระยะเวลา 5 วัน

6. วิเคราะห์ผลที่ได้ด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test เพื่อทดสอบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช แผนภาพแสดง ขั้นตอนการวิจัยแสดงในภาพที่ 2



<u>ภาพที่ 2</u> แผนภาพแสดงขั้นตอนการวิจัยอย่างย่อ

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิดและทฤษฎี

ความหมายและประเภทของสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์

วัชพืชได้ก่อให้เกิดปัญหาและความเสียหายต่อพืชเพาะปลูกและทางด้านอื่นหลายประการ วิธีที่เกษตรกรนิยมใช้ในการควบคุมวัชพืช คือ การใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชหรือยาฆ่าหญ้า (herbicides) สารเคมีกำจัดวัชพืช มีความหมายว่า สารเคมีชนิดใดก็ตามที่ใช้เพื่อฆ่าทำลายหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชไม่ว่าเป็นในขณะที่งอกขึ้นมาแล้ว หรือยังเป็นเมล็ดอยู่ หรือส่วนต่างๆที่ขยายพันธุ์ได้ในดิน (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2540)

สารเคมีกำจัดวัชพืช สามารถจัดแบ่งตามลักษณะการใช้ได้ 3 ประเภทใหญ่ ๆ (พรชัย, 2540) คือ

1. สารเคมีกำจัดวัชพืชที่ใช้ก่อนปลูกพืช (pre- planting herbicides) เป็นสารเคมีที่ใช้เพื่อทำลายต้นวัชพืชก่อนปลูกพืช เช่น ไกลโฟเสท (gyflosate) พาราควอท (paraquat)

2. สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ก่อนวัชพืชงอก (pre-emergent herbicides) คือ สารเคมีที่ใช้พ่นก่อนที่วัชพืชจะงอกโผล่ขึ้นจากดิน โดยที่พืชปลูกจะงอกแล้วหรือยังไม่งอกก็ได้ เช่น ไดยูรอน (diuron) เมโทลาคลอร์ (metolachlor)

3. สารเคมีที่ใช้กำจัดวัชพืชหลังวัชพืชงอก (post –emergent herbicides) คือ สารเคมีกำจัดวัชพืชที่ใช้พ่นเพื่อฆ่าวัชพืชที่งอกแล้ว การใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชพวกนี้จะต้องมีลักษณะการเลือกทำลายเป็นพิเศษหากใช้พ่นในขณะที่พืชปลูกงอก เช่น โบรมาซีล (bromacil) อัสซูแลม (asulam)

สารเคมีกำจัดวัชพืช จัดแบ่งตามโครงสร้างทางเคมีได้ดังนี้ (Rice,1984)

1. สารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน เป็นสารจำพวกคาร์บอกซิลิกแบบโซ่ตรง (aliphatic carboxylic acid) สารกำจัดวัชพืชในกลุ่มนี้มีจำนวนไม่มากนัก เช่น trichloroacetic acid

2. สารประกอบฟีนอล สารประกอบในกลุ่มนี้ประกอบด้วยฟีนอลและอนุพันธ์ของฟีนอล เช่น dimoseb (DNBP) และสารประกอบฟีนอกซี (phenoxys or phenoxy-carboxylic acid) เช่น 2,4- D (2,4- dichlorophenoxyacetic acid) MCPA (4- Chloro-2-2-methylphenoxyacetic acid)

3. อนุพันธ์ของ benzene สารประกอบในกลุ่มนี้ประกอบด้วย benzoic acid เช่น dicamba และสารประกอบ phthalic acid เช่น tetraphthalic acid

4. สารประกอบ aniline และ dinitroanilines สารประกอบในกลุ่มนี้มีความเป็นพิษต่ำ โดยเฉพาะ trifluralin และ nitralin ซึ่งในทางปฏิบัติถือว่าไม่เป็นพิษ

5.สารประกอบ benzonitriles เป็นอนุพันธ์ของ benzene ที่มีกลุ่มสารสำคัญคือ nitriles ตัวอย่างสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มนี้ ได้แก่ bromoxynil และ ioxynil ใช้กำจัดวัชพืชใบกว้างที่มีความทนทานต่อ 2,4-D

6. สารประกอบ triazine เป็นสารประกอบ benzene ที่มีอะตอมไนโตรเจนแทนที่คาร์บอน 3 ตำแหน่งในวง benzene สารประกอบในกลุ่มนี้ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการสังเคราะห์แสงและการแบ่งเซลของพืช สารกำจัดวัชพืชในกลุ่มนี้มีจำนวนมาก เช่น simazine cyanazine และ metribuzin

7. กลุ่มสารประกอบยูเรีย (ureas or substituted urea) ยูเรียเป็นสารประกอบที่มีกลุ่มสารสำคัญเป็นหมู่คาร์บอนิลต่อกับกลุ่มอะมิโน 2 กลุ่ม สารกำจัดวัชพืชที่เป็นอนุพันธ์ของยูเรีย จะแทนที่ไฮโดรเจนของหมู่อะมิโนด้านเดียวหรือทั้งสองด้าน ตัวอย่างสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มนี้ คือ diuron และ linuron

8. สารประกอบ carbamate สารประกอบในกลุ่มนี้ประกอบด้วย carbamate ซึ่งมีหมู่อะมิโนต่อกับหมู่คาร์บอนิล เช่น asulam, carbamic acid และสารประกอบ thiocarbamates ที่มีอะตอมของกำมะถันต่อกับหมู่คาร์บอนิลอีกข้างหนึ่ง เช่น thiobencarb

9. สารประกอบ amide สารกำจัดวัชพืชในกลุ่มนี้มีเป็นจำนวนมาก และมีหลายชนิดที่ใช้กันโดยทั่วไป เช่น butachlor, metolachlor และ diphenamid

10. สารประกอบในกลุ่มอื่นๆ สารกำจัดวัชพืชมีมากมายหลายชนิด จึงไม่สามารถแยกทุกกลุ่มได้อย่างละเอียด ซึ่งสารกำจัดวัชพืชที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ bromacil เป็นสารจำพวก uracil และ paraquat เป็นสารจำพวก bipyridyliums

กลไกการออกฤทธิ์ของสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์

สารกำจัดวัชพืชออกฤทธิ์โดยการยับยั้งขบวนการทางเมตาโบลิซึมแตกต่างกัน คือ (รังสิต, 2531)

1. พวกที่ยับยั้งการสังเคราะห์แสง โดยสารเหล่านี้จะขัดขวางการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน ตัวอย่างสารกำจัดวัชพืชในกลุ่มนี้ คือ paraquat, benzonitrile, phenols

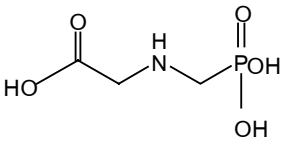
2. พวกที่ยับยั้งการหายใจ โดยขัดขวางการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน หรือยับยั้งการส่งผ่านพลังงาน phenols, benzonitriles

3. พวกที่ยับยั้งการสร้างโปรตีนและกรดอะมิโน เช่น phenoxys, carbamic acid, glyphosate

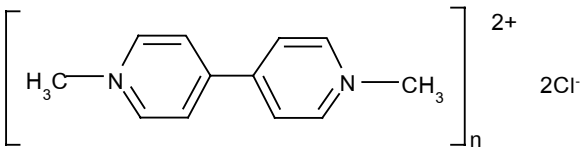
4. พวกที่ทำให้การแบ่งเซลหรือทำให้การเจริญของเซลผิดปกติ เช่น anilide, carbamic acid

ตัวอย่างของสารกำจัดวัชพืช (รังสิต, 2531) แสดงในภาพที่ 3

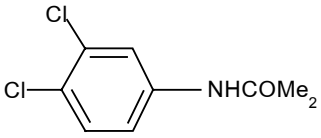
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



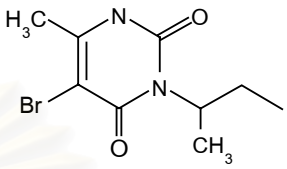
glyphosate



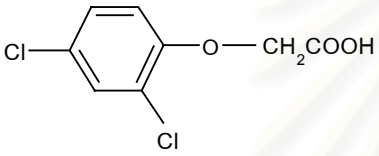
paraquat



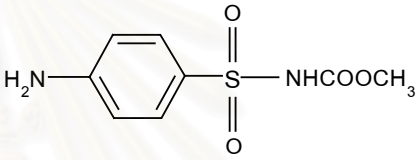
diuron



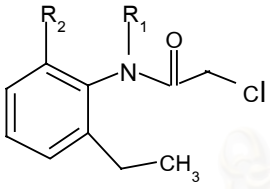
bromacil



2,4-D (dichlorophenoxyacetic acid)

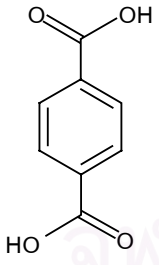


asulam

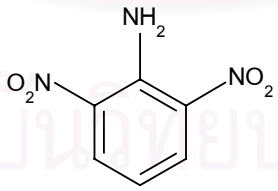


metolachlor R_1 = $CH(CH_3)CH_2OCH_3$, R_2 = CH_3

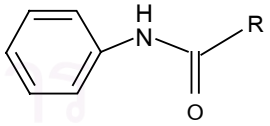
Butachlor R_1 = $CH_2O(CH_2)_3CH_3$, R_2 = CH_2CH_3



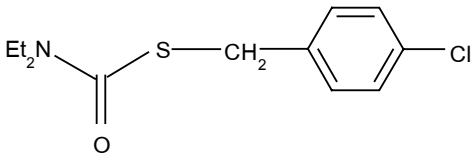
tretraphthalic acid



2,6 -dintroaniline



anilide



thiobencarb

ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์บางชนิด

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์

สารกำจัดวัชพืช มีความเป็นพิษเช่นเดียวกับสารเคมีทั่วไป การวัดความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืช จะใช้ค่า LD_{50} หมายถึง ปริมาณสารที่ทำให้สัตว์ทดลองตาย 50% มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมของสารต่อน้ำหนักตัวของสัตว์หนึ่งกิโลกรัม ระดับความเป็นพิษและตัวอย่างของสารกำจัดวัชพืช (พรชัย, 2540) แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระดับความเป็นพิษและค่า LD_{50} ของสารกำจัดวัชพืช

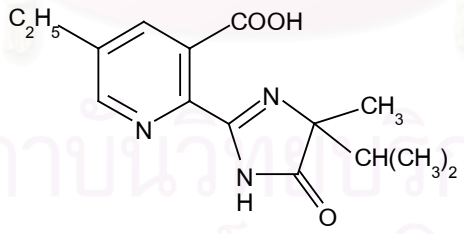
ระดับความเป็นพิษ	LD_{50} (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อมนุษย์น้ำหนัก 60 กิโลกรัม	ตัวอย่าง
เป็นพิษอย่างรุนแรง	ต่ำกว่า 5	น้อยกว่า 7 หยด	-
เป็นพิษมาก	5 –49	7 หยด ถึง 1 ช้อนขา	ไดเฟนนามิด
เป็นพิษปานกลาง	50 –499	1 ช้อนชา ถึง 1 ออนซ์	พาราควอท
เป็นพิษเล็กน้อย	500 –4999	1 ออนซ์ ถึง 1 ไพน์	ไดยูรอน บิวทาคลอร์
เกือบไม่เป็นพิษ	5000 –14,999	1 ไพน์ ถึง 1 ควอท	โบรมาซิล
ไม่เป็นพิษ	15,000 และมากกว่า	มากกว่า 1 ควอท	-

การใช้สารกำจัดวัชพืชทางการเกษตรก่อให้เกิดผลกระทบสิ่งแวดล้อมและสิ่งมีชีวิตหลายประการ เมื่อพิจารณาผลกระทบต่อระบบนิเวศ การใช้สารกำจัดวัชพืชในการเกษตรและสาธารณสุข ทำให้สารกำจัดวัชพืชตกค้างในดิน อากาศ แหล่งน้ำ เมื่อเกิดการสะสมมากขึ้นดิน อากาศและแหล่งน้ำจึงเกิดมลพิษ นอกจากนี้สารพิษเหล่านี้ยังเกิดการสะสมในสิ่งมีชีวิตทางห่วงโซ่อาหาร ทำให้สิ่งมีชีวิตเกิดความผิดปกติทางสรีระ พฤติกรรม เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตที่อาศัยในบริเวณนั้นและบริเวณใกล้เคียง สิ่งมีชีวิตอาจถูกทำลายจนลดปริมาณลง หรืออาจสูญพันธุ์ได้

สารกำจัดวัชพืชได้ก่อให้เกิดปัญหาสำคัญในปัจจุบันอีกประการหนึ่ง คือ ปัญหาการต้านทานสารกำจัดวัชพืช ส่งผลให้การใช้ปริมาณสารกำจัดวัชพืชมากขึ้นหรือต้องใช้สารกำจัดวัชพืชที่มีความเป็นพิษมากขึ้น ทำให้เกิดการสะสมและอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น

สารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ที่ใช้ในการทดลองและความเป็นพิษ

ในการทดลองนี้ เลือกสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ที่ใช้กำจัดแห้วหมู มีชื่อสามัญ Imazethapyr ชื่อการค้า persuit ชื่อทางเคมี 2 –[4,5 –dihyro –4–methyl–4-(1-metyllethyl)–5–oxo–1H–imidazol–2–yl] เป็นสารจำพวก imidazolinone สูตรเคมี $C_{15}H_{19}N_3O_3$ น้ำหนักโมเลกุล 289.34 รหัสการค้า AC 263,499 ผู้ผลิตในประเทศไทย คือ บริษัทไซอานามิด เป็นสารเคมีกำจัดวัชพืชประเภท pre-emergent herbicides ใช้กำจัดก่อนวัชพืชงอก และ เป็น Early post –emergent herbicides ใช้กำจัดหลังวัชพืชงอกไม่เกิน 10 วัน Imazethapyr ออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างกรดอะมิโน isoleucine, leucine และ valine โดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ acetohydroxy acid synthase หรือ AHAS half life ของ Imazethapyr 126 วัน ระยะเวลาตกค้างในดิน 2 –8 เดือน อัตราการใช้ของ Imazethapyr ในไร่ถั่วเหลือง คือ 400 ลูกบาศก์เซนติเมตร ผสมกับน้ำ 80 ลิตร ต่อไร่ (ไซอานามิด, 2538) โครงสร้างของ Imazethapyr แสดงในภาพที่ 4



Imazethapyr

ภาพที่ 4 โครงสร้างของ Imazethapyr

ความเป็นพิษของ Imazethapyr ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (ไซอานามิด, 2538) แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า LD_{50} ของ Imazethapyr ที่เข้าสู่ร่างกายโดยวิธีต่างๆ

ทางที่สารเข้าสู่ร่างกาย	LD_{50} (mg/kg)
ปาก	> 5000
ผิวหนัง	> 5000
ความระคายเคืองผิวหนัง	ไม่ระคายเคือง
ความระคายเคืองตา	ไม่ระคายเคือง

เนื่องจากวัชพืชเป็นอุปสรรคในการพัฒนาการเกษตรทั้งทางตรงและทางอ้อม จึงมีความจำเป็นที่จะต้องลดการสูญเสียอันเนื่องมาจากวัชพืชให้เหลือน้อยที่สุดหรือหมดไป ซึ่งมีการแนะนำวิธีการควบคุมและกำจัดวัชพืชโดยเริ่มตั้งแต่วิธีการพื้นบ้าน จนกระทั่งวิทยากรสมัยใหม่ คือ การใช้ประโยชน์จากวิชานิเวศน์วิทยาของวัชพืช และการใช้สารเคมีกำจัดวัชพืช เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่นๆ สารเคมีกำจัดวัชพืชมีประสิทธิภาพสูงกว่า อีกทั้งยังหาง่ายไม่เหมือนแรงงานคนซึ่งนับว่าหายากและอัตราค่าจ้างสูง จึงทำให้ปริมาณสารกำจัดวัชพืชที่สูงขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งสารเคมีกำจัดวัชพืชเป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นจากผลพลอยได้จากกิจการอุตสาหกรรมใหญ่เหมือนกับสารเคมีปราบศัตรูพืชชนิดอื่นๆ ย่อมจะมีอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมได้ถ้าการใช้ขาดความระมัดระวัง และมีการใช้แพร่หลายมากขึ้นทั้งทางตรงในการพัฒนาการเกษตรสำหรับการปลูกพืชต่างๆ ส่วนในทางอ้อมก็มีการใช้ในในการชลประทาน เขื่อนเก็บน้ำ ทางหลวง แหล่งเพาะพันธุ์ปลา การใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชก่อให้เกิดปัญหาการสะสมสารพิษในสิ่งแวดล้อม ผู้ใช้จะต้องรู้จักวิธีการใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชที่ถูกต้องเหมาะสม หรือใช้ให้มีปริมาณน้อยที่สุด ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับสารที่พืชปล่อยออกมา (allelochemical) จึงนับเป็นทางเลือกหนึ่งจะช่วยลดปัญหาการสะสมสารกำจัดวัชพืชในสิ่งแวดล้อม ซึ่งสารเหล่านี้จะทำปฏิกิริยากับพืชชนิดอื่นๆ เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า อัลลิโลพาธิ (allelopathy) การสร้างสารเหล่านี้เป็นกลไกป้องกันตัวตามธรรมชาติของพืชชนิดนั้นๆ เพื่อทำให้ต้นไม้ชนิดนั้นๆ สามารถเติบโตได้อย่างเต็มที่ ผลทางอัลลิโลพาธิจะชัดเจนมากขึ้นเมื่อพืชอยู่ในสภาวะที่มีความเครียดทางสิ่งแวดล้อมสูง เช่น ความแห้งแล้ง การวิจัยเกี่ยวกับสาร allelochemical ที่ใช้ในทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก ซึ่งได้มีการแบ่งชนิดและโครงสร้างของสาร allelochemical ดังนี้ (Rizvi, 1991)

1. สารประกอบอินทรีย์ที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน (simple water soluble organic acid) เป็นสารจำพวกแอลกอฮอล์แบบโซ่ตรง (alipatic alcohol) อัลดีไฮด์หรือคีโตนแบบโซ่ตรง (alipatic aldehydes or ketone) เช่น malic acid และ citric acid พบในผลไม้ในปริมาณมากพอที่จะยับยั้งการงอกของเมล็ดได้ ต้นมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* Linn.) ต้นมะเขือเทศ (*Lycopersicon exculentum* Mill.) และรากแครอทปล่อยสาร acetaldehyde acetone และ ethanol

2. กรดอะโรมาติก (aromatic acids) สารประกอบในกลุ่มนี้ประกอบด้วย phenolic acids, benzoic acid และอนุพันธ์ของกรดอะโรมาติก เช่น สารประกอบ p-hydroxybenzoic และ vanillic acid เป็นสารพวก phenolic acids ที่มักพบในข้าว (*Oryza sativa* L.) และพืชตระกูลหญ้าหลายชนิด ซึ่งยับยั้งการงอกของเมล็ดแตงกวา (*Cucumis sativus* L.) ได้และสารเหล่านี้อาจเป็นกุญแจสำคัญของสาร allelopathy ในพืชตระกูลหญ้า สารประกอบ chlorogenic acid และ isochlorogenic acid ในต้นทานตะวัน สารประกอบ caffeic, protocatechuic ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ benzoic acid ในต้น *Festuca arundinacea* (Klejdus, 2000)

3. น้ำตาลแลคโตนไม่อิ่มตัว (simple unsaturated lactones) เช่น parasobic acid จากผลของ *Sorbus aucuparaia* L. สารประกอบ aglycone ของ ranunculin จากพืชในตระกูล Ranunculaceae ยับยั้งการงอกของเมล็ดพืชและการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหลายชนิด สารฆ่าเชื้อโรค (anitbiotics) ที่เป็นที่รู้จักดี คือ patulin และ penicillic acid

4. คูมาริน (coumarins) สารพวก coumarin สามารถยับยั้งการงอกได้ดี พบในพืชตระกูลถั่วและธัญญพืช เช่น สาร p-coumaric acid ในต้นข้าว (*Oryza sativa* L.) ซึ่งยับยั้งการงอกและการเจริญของเมล็ดหญ้าข้าวนกได้ (Ahn, 2001) และเป็นสารชนิดเดียวกันกับที่พบในเมล็ด *Festuca arundinacea* (Klejdus, 2000)

5. ควิโนน (quinones) สารประกอบในกลุ่มนี้ประกอบด้วย naphthoquinones antraquinones และ quinones ที่มีโครงสร้างซับซ้อน เช่น juglone หรือ 5- hydroxynapthoquinone พบในวอลนัท (*Juglans nigra* L.) และมีความเป็นพิษอย่างมากต่อมะเขือเทศ พบอนุพันธ์ของ naphthones ในใบของต้นทานตะวัน (*Helianthus annuus*) พืชชั้นสูงหลายชนิดผลิตสารประกอบ antraquinones ซึ่งมีฤทธิ์ในการฆ่าจุลินทรีย์

6. ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สารประกอบฟลาโวนอยด์มีความหลากหลายสูงมาก และมักพบในเมล็ดพืช เช่น flavonol ในเมล็ดของพืชตระกูลถั่ว ยับยั้งการเจริญเติบโต

ของไรโซเบียม (*Rhizobium*) สาร phlurizin ในรากแอปเปิ้ล (*Pyrus malus* Borkl) เป็นพิษต่อต้นอ่อนของแอปเปิ้ล โดยยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกแทนต้นเดิมในแปลงแอปเปิ้ล

7. แทนนิน (tannins) ยับยั้งการเจริญเติบโตและการตรึงไนโตรเจนของแบคทีเรียในพืชหลายชนิด สารประกอบแทนนินมักพบในพืชใบเลี้ยงคู่ และเกิดไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ได้ง่าย กลายเป็นอนุพันธ์ของ gallic acid หรือ hexaoxypiphenic acid เช่น สารประกอบ gallic acid ยับยั้งการงอกของเมล็ด *Carpinus betulus* และเมล็ด *Arctostaphylos glandulosa*

8. อัลคาลอยด์ (alkaloids) ยับยั้งการงอกของเมล็ดอย่างรุนแรง เช่น picloram ยับยั้งการงอกของเมล็ดยาสูบ (*Nicotiana tabacum* L.) สาร caffeine, codein cocaine, atropine ในพืชจำพวกฝิ่น สารประกอบ fusaric acid จากจุลินทรีย์ fusarium ทำลายต้นมะเขือเทศและต้นฝ้าย

9. เทอร์ปีนอยด์ (terpenoids) เทอร์ปีนอยด์มักพบในรูปของสารประกอบ monoterpenoids ในน้ำมันหอมระเหยของพืชชั้นสูง เช่น camphene, cineole ในใบกระเพราผี (*Hyptis suaveolensis* Poit) และเมล็ดข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ยับยั้งการเจริญของราก สารจำพวก sesquiterpenoids หลายชนิด พบในต้น *Petasites japonicus* (Goto, 2001)

วิธีการปล่อยสาร allelochemical ของพืชสู่สิ่งแวดล้อม

สาร allelochemical สามารถปล่อยออกมาได้จากหลายส่วนของพืช ทั้งลำต้น ใบ ราก ดอก ผล และเมล็ด ซึ่งมักจะพบสารเหล่านี้ในใบมากที่สุดและมีพบน้อยที่สุดในราก Rizvi, (1991) ได้แบ่งวิธีการปล่อยสาร allelochemical ของพืชสู่ธรรมชาติ ดังนี้

1.การระเหย (volatilization) เช่น ไอระเหยจากต้นแอปเปิ้ลยับยั้งการเจริญเติบโตของมันฝรั่ง ต้นยูคาลิปตัสผลิตสาร terpenes ที่ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืชหลายชนิด สารระเหยง่ายจากใบมะเขือเทศ ใบมันเทศและรากแครอทยับยั้งการเจริญของพืชหลายชนิดในห้องทดลอง วิธีการปล่อยสารโดยการระเหยนี้ มักพบในระบบนิเวศที่ค่อนข้างแห้งแล้ง

2.การชะล้างของฝน (leaching) การชะล้างสาร allelochemical เกิดได้ทั้งจากการชะล้างใบสดของพืช และการชะล้างรากพืชและซากพืชในดิน สาร allelochemical ที่ปลดปล่อยสู่ธรรมชาติโดยวิธีนี้ จะต้องมีคุณสมบัติที่ละลายน้ำได้ดี เช่น phenoic acids ตัวอย่างพืชที่ปลดปล่อยสารโดยวิธีนี้ คือ ต้น *Artemisia annual* ต้นวอลนัท ต้นเบญจมาศ (*Crysanthemum morifolium*)

3.ปลดปล่อยจากราก (exduation from roots) สารที่ถูกปล่อยออกมานี้อาจเปลี่ยนแปลงโดยจุลินทรีย์หรือปฏิกิริยาทางเคมีในดิน ทำให้สารนั้นมีพิษมากขึ้นหรือน้อยลงก็ได้ พืชที่ปลดปล่อยสารโดยวิธีนี้มีทั้งพืชปลูกและวัชพืช เช่น ข้าวสาลี ต้นโอ๊ก ข้าวโพด และต้นทานตะวัน (*Helianthus annuus*)

4. การย่อยสลายของพืช (decay of plant material) การย่อยสลายของพืชโดยจุลินทรีย์อาจทำให้สาร allelochemical เปลี่ยนเป็นสารที่มีความเป็นพิษมากขึ้นหรือน้อยลงก็ได้ สารที่ละลายน้ำได้น้อย เช่น สารประกอบกลุ่ม flavonoids ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่มีพิษรุนแรง จะถูกปลดปล่อยโดยการย่อยสลาย ตัวอย่างพืชที่ปลดปล่อยสารโดยวิธีนี้คือ ข้าวโพด ข้าวสาลี ต้นโอ๊ก ข้าวฟ่าง ต้นทานตะวัน และต้น *Brassica nigra*

กลไกการออกฤทธิ์ของสาร allelochemical

สาร allelochemical มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชโดยมีผลยับยั้งขบวนการหรือปฏิกิริยาต่าง ๆของพืช หลายลักษณะ (Rizvi, 1991) **ได้แก่**

1. **ยับยั้งการแบ่งเซลล์และการยืดตัวของเซลล์ โดยสาร allelochemical เหล่านี้จะยับยั้งการแบ่งตัวแบบ mitosis ซึ่งเป็นกระบวนการเพิ่มจำนวนเซลล์ของพืช เช่น coumarin และ parasorbic acid จะทำลายเส้นใย spindle ของหัวหอม ทำให้ไม่สามารถแบ่งเซลล์ได้ cinnamic acid ทำให้การแบ่งเซลล์ช้าลง เช่นเดียวกับสารสกัดจากต้น *Phleum pratense* ซึ่งมีสาร scopoletin**

2. ปฏิกิริยาเกี่ยวกับฮอร์โมนของพืช สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

- **พวกที่ยับยั้งการทำงานของฮอร์โมน indoleacetic acid (IAA) เป็นสารประกอบประเภท polyphenol เช่น scopoletin จะยับยั้งการปฏิกิริยา decarboxyation**

ของ IAA เช่นเดียวกับ ferulic acid และ sinapic acid ทำให้ IAA ไม่สามารถทำงานได้

- พวกที่กระตุ้นการทำงานของฮอร์โมน indoleacetic acid (IAA) เช่น phlorizine และสารจำพวก flavonoid

3. ลดการดูดซึมธาตุอาหารของพืช เช่น ต้นบีทจะปล่อยสารบางชนิดลงในดิน ทำให้พืชอื่นๆไม่สามารถดูดซึมธาตุสังกะสีได้ เช่นเดียวกับพืชจำพวกถั่วที่ลดปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในดิน แต่ในวัชพืชหลายชนิดจะดูดซึมธาตุอาหารเป็นจำนวนมากเพื่อเก็บสำรองเอาไว้

4. ลดการสังเคราะห์แสงของพืช เช่น สาร scopoletin ในต้นทานตะวัน ยาสูบ และผักโหม (*Dicliptera chinensis* Nees) จะลดอัตราการสังเคราะห์แสงของพืชที่อยู่บริเวณใกล้เคียง สารในกลุ่ม quinones หลายชนิดยับยั้งการสังเคราะห์แสงโดยการทำลายคลอโรพลาสในพืช

5.ลดการหายใจของพืช สารในกลุ่ม phenolic มีผลต่อการทำงานของไมโตรคอนเดรีย ทำให้การส่งผ่านอิเลคตรอนไปยังออกซิเจนในขบวนการหายใจช้าลง เช่น ผลผลิตของต้นข้าวไรย์ (*Secale cereale* L.) มีผลต่อการหายใจของใบและรากของพืชอื่น (Kraus, 2001) สารสกัดจากต้น *Cedrela salvadorensis* พบสารประกอบ limonoid จำนวนมาก ซึ่งออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการหายใจของเมล็ดพืชบางชนิด

6. ลดการสังเคราะห์โปรตีนและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของไขมัน เช่น มันฝรั่ง ผลิตสารพิษที่มีผลต่อต้นแอปเปิ้ลอ่อน ทำให้ปริมาณโปรตีนในต้นแอปเปิ้ลลดลง แต่ปริมาณอัลบูมินสูงขึ้น เช่นเดียวกับสาร ferulic acids และ cinnamic acid สารประกอบพวก quinones ทำให้โคเอนไซม์เอไม่สามารถทำงานได้ ปริมาณไขมันจึงลดลง การลดปริมาณของโปรตีนและไขมัน ส่งผลต่อการสร้างเซลล์ เอนไซม์ DNA และ RNA ของพืช

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสาร allelochemical ที่พืชปล่อยออกมา

มีปัจจัยจำนวนมากที่เกี่ยวข้องกับปริมาณสาร allelochemical ที่พืชหลั่งออกมา ปัจจัยที่มีผลดังต่อไปนี้ (Rizvi,1991)

1. คุณภาพและปริมาณของแสง ปริมาณแสงอัลตราไวโอเล็ต แสงอินฟราเรด ความเข้มของแสง และความยาวของวันมีผลต่อการสังเคราะห์สาร เช่น ความเข้มของแสงอัลตราไวโอเล็ตและแสงในช่วงที่ตามองเห็นมีผลต่อปริมาณ chlorogenic acid และ isochlorogenic acid ที่ผลิตจากต้นทานตะวัน สารประกอบ ferulic และ p-coumaric acid ในมันฝรั่งเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากเมื่อให้แสงที่ความยาวคลื่นในช่วงสีแดง ต้น *Mentha piperita* ผลิตสารพวก monoterpene เพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากในวันที่มีช่วงวันยาว

2. การขาดแคลนธาตุอาหาร การขาดแคลนธาตุอาหารที่จำเป็นของพืช ทำให้พืชปล่อยสาร allelochemical ออกสู่สิ่งแวดล้อมมากขึ้น โดยปริมาณสาร allelochemical ที่ถูกปล่อยออกมา นอกจากจะขึ้นกับชนิดของพืชแล้ว ยังขึ้นกับชนิดของธาตุอาหารที่พืชนั้นขาดแคลนด้วย เช่น ทานตะวันในบริเวณที่ขาดแคลนธาตุโบรอน พบสาร caffeic acid และ chlorogenic acids มากถึงสิบเท่าของทานตะวันที่อยู่ในบริเวณที่ไม่ขาดแคลนธาตุโบรอน และในบริเวณที่ขาดแคลนธาตุไนโตรเจน ต้นยาสูบมีสารประกอบ scopolin เกือบห้าเท่าของยาสูบที่ไม่ขาดแคลนธาตุไนโตรเจน

3.การขาดแคลนน้ำ การขาดแคลนน้ำเป็นปัจจัยที่มีผลอย่างยิ่งต่อปริมาณสาร allelochemical เนื่องจากการขาดแคลนน้ำ ทำให้พืชเกิดความเครียดอย่างรุนแรง เช่น ต้นทานตะวันที่อยู่ในสภาพที่แห้งแล้งปล่อยสาร chlorogenic acid และ isochlorogenic acid มากกว่าต้นทานตะวันในสภาพปกติ

4. อุณหภูมิ ปริมาณสาร allelochemical ที่เปลี่ยนแปลงจากอุณหภูมิ นอกจากจะขึ้นกับอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงแล้วยังขึ้นกับชนิดของต้นไม้ด้วย เช่น ต้นโอ๊ตผลิตสาร scopoletin ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมากกว่าที่อุณหภูมิ 19 องศาเซลเซียสห้าเท่าครึ่ง แต่ยาสูบที่ปลูกที่อุณหภูมิ 8-9 องศาเซลเซียส มีปริมาณสาร chlorogenic acid ในใบและลำต้นมากกว่าที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียสประมาณ 3 เท่า

5. ปริมาณสาร allelochemical และสารพิษที่พืชนั้นได้รับ โดยสารเหล่านี้จะเพิ่มความเครียดต่อพืชที่ได้รับ เช่น การใช้สารเคมีกำจัดวัชพืช 2,4–D ทำให้ต้นยาสูบสะสมสาร scopolin ในใบมากถึง 31 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับต้นยาสูบที่ไม่ได้รับสารกำจัดวัชพืช และเมื่อต้นยาสูบได้รับสาร allelochemical จากเมล็ดทานตะวัน ต้นยาสูบตอบสนองโดยการสร้าง scopolin เพิ่มขึ้น 1.5 เท่าของสภาวะปกติ

6. อายุของพืช ตามปกติแล้วพืชที่มีอายุมากจะมีปริมาณสาร allelochemical มากขึ้นด้วย เช่น ใบยาสูบมีปริมาณ chlorogenic acid สูงขึ้นเมื่อใบยาสูบมีอายุมากขึ้น

2.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเพราผีจำนวนพอสมควร คือ

ปาริชาติ, (2534) ได้สกัดสารจากใบกระเพราผี เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของกระเพราผีต่อเชื้อรา แมลง และปลา พบว่าสารสกัดใบกระเพราผีด้วย 95% เอทานอลมีฤทธิ์ต่อต้านการเจริญของเชื้อรา *Pythium ultimum* และ *Rhizocotonia solani*

Premasthira and Zungsontiporn, (1992) ได้สกัดสารจากต้นกระเพราผีเพื่อศึกษาผลทางชีวภาพต่อต้นข้าว พบว่าสารที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลจากใบกระเพราผียับยั้งการเจริญของรากและกาบใบของต้นข้าวอย่างรุนแรง โดยสารสกัดเทียบเท่าน้ำหนักสดของกระเพราผี 1.5 กรัม ยับยั้งการเจริญของข้าวได้ 100%

Jaenson and Palsson, (1999) ใช้ควันที่ได้จากการเผาของต้นกระเพราผีในการไล่ยุง ผลการทดลองแสดงว่าควันของต้นกระเพราผีสามารถไล่ยุงได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสามารถไล่ยุงได้ถึง 85.4 %

การศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีของกระเพราผีสรุปได้ ดังแสดงได้ตารางที่ 3 และรูปที่ 5

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 แสดงองค์ประกอบทางเคมีจากกระเพราผี

ส่วนของพืช	สารที่พบ	หนังสืออ้างอิง
-	Suaveolic acids (1), Suaveolo (2)	Manchand, 1974
ราก	β-Stiosterol (3), Oleanolic acid (4) α-Peitoboykinolic acid (5)	Misara, 1981

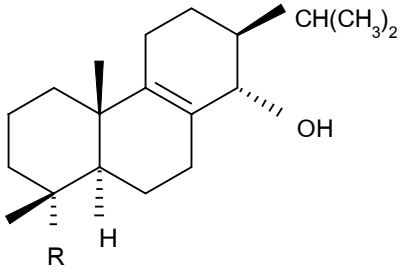
ราก	3β -hydroxylup –12-en-28-oic acid (6) α-amyrin (7) และ β -amyrin (8)	Misara,1983

ตารางที่ 3 (ต่อ)

ส่วนของพืช	สารที่พบ	หนังสืออ้างอิง
ราก	Heptacosanone, Ursolic acid (9) Sitosterol - β-D-glucoside, Betulinic acid (10), 3β -Hydroxylup-20(29)-en-27-oic acid (11),3β-Acotoxylup-20(29)-en-27-oic acid (12), Methyl -3β-hydroxylup-20(29)-en-27-oate (13)	Misara,1983
ส่วนเหนือดิน	Urs-12-en-3β -ol-29-oic acid (14) 3-Oxo-urs-12-en-29-29-oic acid (15)	Ghosh,1984
ยางที่แยกจากเปลือกหุ้มเมล็ด	L-fucose, D-xylose, D-mannose, D-galactose, D-glucuronic acid	Gowda,1984
ส่วนเหนือดิน	Hyptadienic acid (16), Hyptadienic acid acetate (17), Methyl hypadienate (18) Acetyl methyl methyl hyptadienate (19) 1,19α-dihydroxy-urs-2(3),12-dien-28-oic acid	Prakasa,1990
ใบ	Essential oils รวม 56 ชนิด องค์ประกอบหลักเป็น 1,8 –cineole (20), sabinene (21)	Ahmed,1994
ทั้งต้น	Essential oils รวม 23 ชนิด พบใหม่ β -Caryophyllene (22), α - Copaene (23)	Peerzada,1997

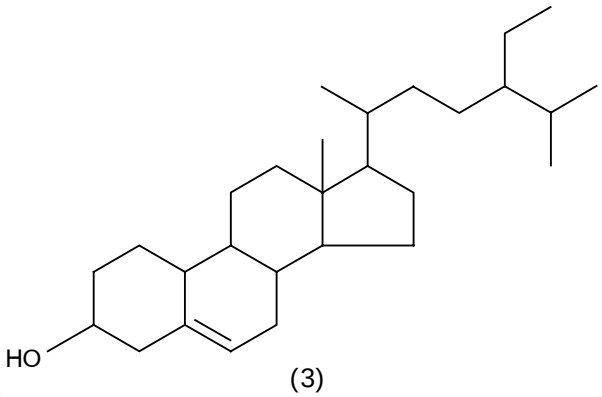
	α - Phellandrene (24)	

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

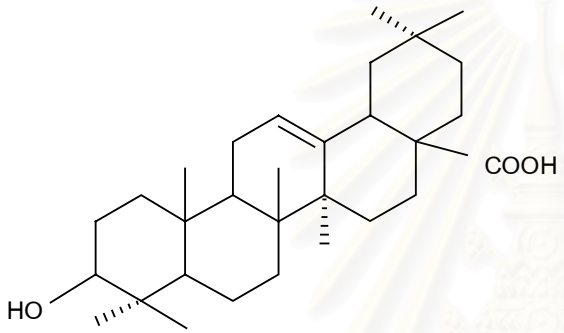


(1) R = CO_2H

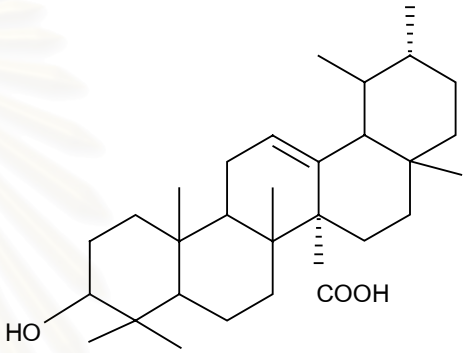
(2) R = CH_2OH



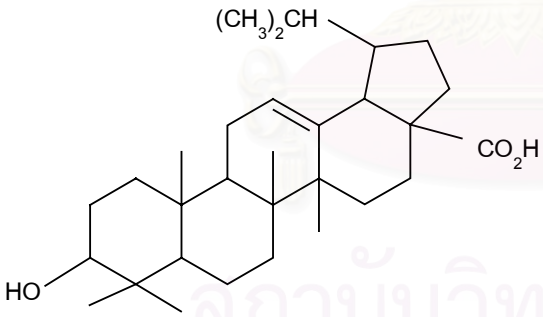
(3)



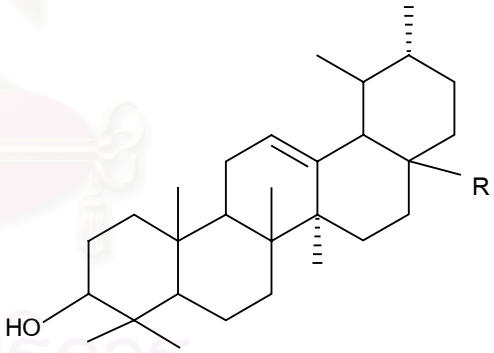
(4)



(5)

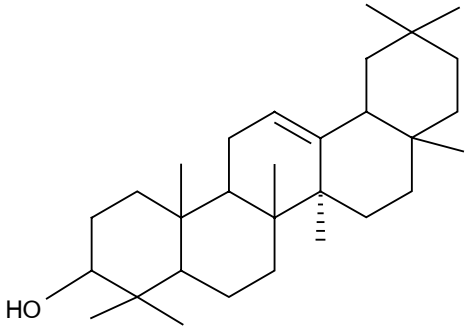


(6)

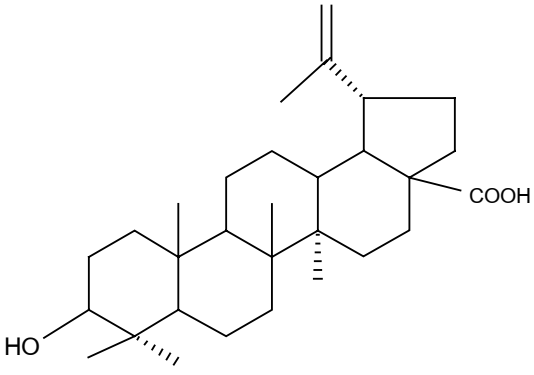


(7) R = CH_3

(9) R = COOH



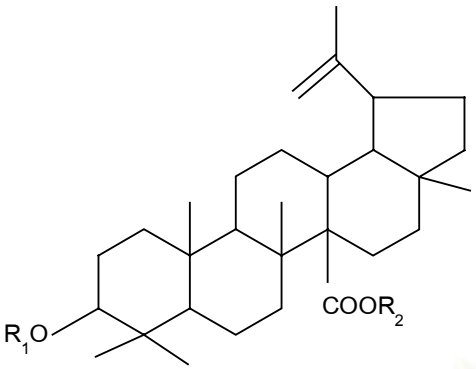
(8)



(10)

ภาพที่ 5 สารประกอบที่พบในกระเพราผี

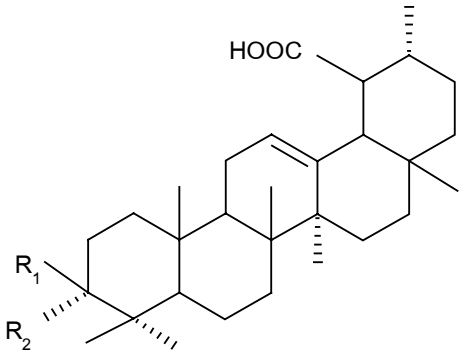
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



(11) $R_1 = R_2 = H$

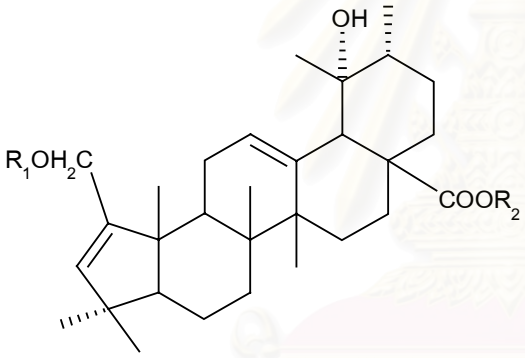
(12) $R_1 = Ac$, $R_2 = H$

(13) $R_1 = H$, $R_2 = CH_3$



(14) $R_1 = OH$, $R_2 = H$

(15) $R_1 = R_2 = O$

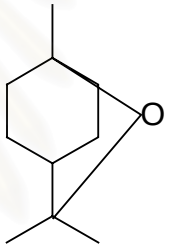


(16) $R_1 = H$, $R_2 = H$

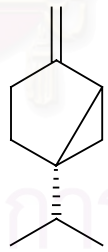
(17) $R_1 = Ac$, $R_2 = H$

(18) $R_1 = H$, $R_2 = CH_3$

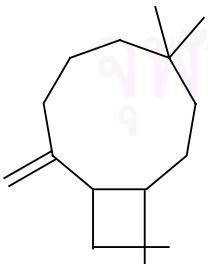
(19) $R_1 = Ac$, $R_2 = CH_3$



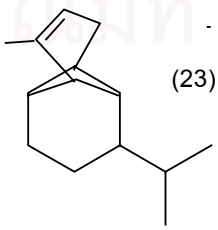
(20)



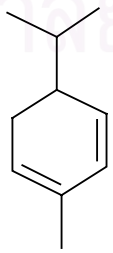
(21)



(22)



(23)



(24)

ภาพที่ 5 (ต่อ)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary vacum evaporator)
2. กรวยบุชเนอร์ (Buchner funnel)
3. เครื่องดูดอากาศ (Suction pump)
4. ขวดกรองดูด (Suction flask)
5. จานเลี้ยงเชื้อ (Petri disk)

3.2 สารเคมีที่ใช้

1. สารกำจัดวัชพืช Persuit 5%
2. ตัวทำละลาย ตัวทำละลายที่ใช้ได้แก่ เอทานอล คลอโรฟอร์ม เฮกเซน
3. ตัวดูดซับ ใช้ซิลิกาเจล 7734 type 60 (70 –230 mesh)
4. ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟีใช้ซิลิกาเจลเคลือบบนแผ่น
5. ไอโอดีน
6. Polyoxyethylene sorbitan monooleate (Tween 80) และ Sorbitan monooleate (Span 80)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 พืชที่ใช้ทดลอง

1. ใบกระเพราผี (*Hyptis suaveolens* Poit leaves) เก็บจากอำเภอแก่งคอย สระบุรี ในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2542

2. เหง้าของวัชพืชแห้วหมู เก็บจากสวนในบริเวณจังหวัดระยอง

3.4 เทคนิคต่าง ๆที่ใช้ในการทดลอง

1. ควิกคอลัมน์โครมาโตกราฟี (Quick Column Chromatography)

วิธีนี้ใช้ในการแยกสารเป็นกลุ่มใหญ่ๆก่อนตามความมีขั้วของสารเพื่อความ รวดเร็ว แล้วจึงนำสารกลุ่มใหญ่นั้นไปแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ยิ่งขึ้นด้วยวิธีที่เหมาะสมต่อไป

วิธีเตรียม ใช้สารที่ต้องการแยกคลุกกับซิลิเจลให้ร่วน ใส่ในกรวยบุชเนอร์ที่มีกระดาษกรองรองอยู่และต่อกับเครื่องกรองดูด (suction pump) วางกระดาษกรองบนสารเพื่อป้องกันการกระเด็นของสารระหว่างชะด้วยตัวทำละลาย จากนั้นชะด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม เก็บตัวทำละลายที่ชะได้ซึ่งจะมีความเป็นขั้วแตกต่างกันกับชนิดของตัวทำละลายที่ชะ

2. ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี (Thin –layer Chromatography)

ใช้ขวดแก้วสะอาดที่มีฝาปิดขนาดพอเหมาะที่จะใส่โครมาโตเพลทได้ เติมตัวทำละลายให้สูงประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ ½ ชั่วโมง เพื่อให้ขวดอิ่มตัวให้ไอของตัวทำละลาย

ใช้หลอด cappillary tube ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางไม่เกิน 0.05 เซนติเมตร แต้มสารที่ต้องการทดสอบลงบนโครมาโตเพลท โดยให้จุดเริ่มต้นเริ่มต้นห่างจากขอบล่างประมาณ 0.5 เซนติเมตร ด้านบนขีด solvent front ที่ต้องการไว้ ปล่อยให้จุดของสารละลายที่แต้มแห้งสนิท แล้วจึงนำไปแช่ในตัวทำละลาย

จุ่มโครมาโตเพลทที่แต้มสารเรียบร้อยแล้วลงในขวดแก้วที่อิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลายที่ทำการทดลอง ปิดฝาทิ้งไว้ให้ตัวทำละลายซึมขึ้นไปจนถึงขีด solvent front จึงนำโครมาโตเพลทออกจากขวดแก้ว ปล่อยให้ตัวทำละลายระเหยจนแห้ง นำไปตรวจตำแหน่งของสารโดยใช้ไอโอดีน

3 การเตรียมอิมัลชั่นของสารสกัดจากพืช

เป็นวิธีที่ใช้ในการเตรียมสารที่ละลายได้ดีในน้ำมัน ให้สามารถละลายน้ำได้ในรูปของอิมัลชั่นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 - 60 นาโนเมตร เพื่อให้สามารถนำสารนั้นมาใช้ประโยชน์ได้สะดวกขึ้น เช่น การพ่น ซึ่งสะดวกกว่าการใช้ในรูปของน้ำมันโดยตรง

วิธีการเตรียมโดยการนำสารที่ต้องการและ emulsifier ที่ละลายในชั้นน้ำมันละลายลงในน้ำมัน จากนั้นละลายสารที่ละลายในน้ำลงในชั้นน้ำ อุ่นให้ร้อนทั้งชั้นน้ำและน้ำมันจนได้อุณหภูมิประมาณ 70 – 80 องศาเซลเซียส โดยให้ชั้นน้ำมีอุณหภูมิสูงกว่าชั้นน้ำมันประมาณ 2 –3 องศาเซลเซียส ค่อยๆเติมน้ำลงไปพร้อมทั้งคนอย่างสม่ำเสมอจนเย็น

4. วิธีเตรียมเหง้าแห้วหมูและเมล็ดพืชที่นำมาทดสอบผลทางอัลลิโลพาธิ

แห้วหมู นำเหง้าแห้วหมูล้างทำความสะอาด ตัดรากและต้นแห้วหมูออกให้หมด แช่น้ำไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง นำมาชั่งเพื่อให้ได้น้ำหนักใกล้เคียงกันในแต่ละชุด

เมล็ดพืชที่นำมาทดสอบผลทางอัลลิโลพาธิ คือ เมล็ดผักบุ้ง เมล็ดผักคะน้า เมล็ดถั่วเขียว เมล็ดแตงกวา และเมล็ดฟักทอง นำมาแช่น้ำไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง เลือกเฉพาะเมล็ดที่ดูเต่งและสมบูรณ์เพื่อนำมาใช้ในการทดสอบ

3.5 วิธีทำการทดลอง

1. ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

1.1 ทดสอบเบื้องต้นผลทางอัลลิโลพาธิของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อแห้วหมู

1.1.1 เตรียมสารสกัดจากกระเพราผี โดยตากใบกระเพราผีให้แห้งโดยวิธี air dried จากนั้นนำใบกระเพราผีแห้งน้ำหนัก 732.4 กรัม มาสกัดแช่ในเอทานอล 3400 cm^3 ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์ กรองกากออก ลดปริมาตรด้วยด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศและปรับปริมาตรจนได้ปริมาตร 1760 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยใช้กระบอกตวงเป็นอุปกรณ์วัดปริมาตร จะได้สารสกัดจากใบกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัมโดยใช้เอทานอล 2.40 ลูกบาศก์เซนติเมตร

1.1.2 นำสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักใบกระเพราผีแห้ง 3.00 กรัม (สารสกัด 7.20 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษกรองอยู่ ชุดควบคุมใส่เอทานอล 7.20 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปล่อยให้แห้ง ชั่งน้ำหนักแห้วหมูที่เตรียมไว้ 20 เหง้าให้มีน้ำหนักใกล้เคียงกัน แล้วเพาะลงจานเลี้ยงเชื้อ เติมน้ำกลั่น 5.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้แสงธรรมชาติตั้งแต่เวลา 8.00 -10.30 น. ทุกวัน จนครบ 7 วัน เก็บผลการทดลองที่ได้โดยวัดการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแห้วหมูที่งอกออกมา โดยวัดตั้งแต่จุดที่ เริ่มต้นงอกจากเหง้าจนถึงปลายต้นที่ยาวที่สุด นับจำนวนต้นที่งอกบนเหง้าแห้วหมู หาน้ำหนักแห้งที่เปลี่ยนแปลงจากรากและต้นอ่อนที่เกิดขึ้น และสังเกตลักษณะที่เปลี่ยนแปลงด้วยสายตา ทำ 6 ซ้ำ เปรียบเทียบกับเหง้าแห้วหมูที่ไม่ได้ใส่สารสกัดจากกระเพราผี

1.2 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกะเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

ใส่สารสกัดกระเพราผีในเอทานอลลงในจานเลี้ยงเชื้อความเข้มข้นเทียบเท่า น้ำหนักแห้งกระเพราผีต่างๆกัน ตามชุดการทดลองต่อไปนี้

1. เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 0.00 กรัม (ชุดควบคุม) ใส่เอทานอล 9.60 cm^3
2. เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 0.25 กรัม ใส่สารสกัด 0.60 cm^3
3. เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 0.50 กรัม ใส่สารสกัด 1.20 cm^3
4. เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม ใส่สารสกัด 2.40 cm^3
5. เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 กรัม ใส่สารสกัด 4.80 cm^3
6. เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 4.00 กรัม ใส่สารสกัด 9.60 cm^3

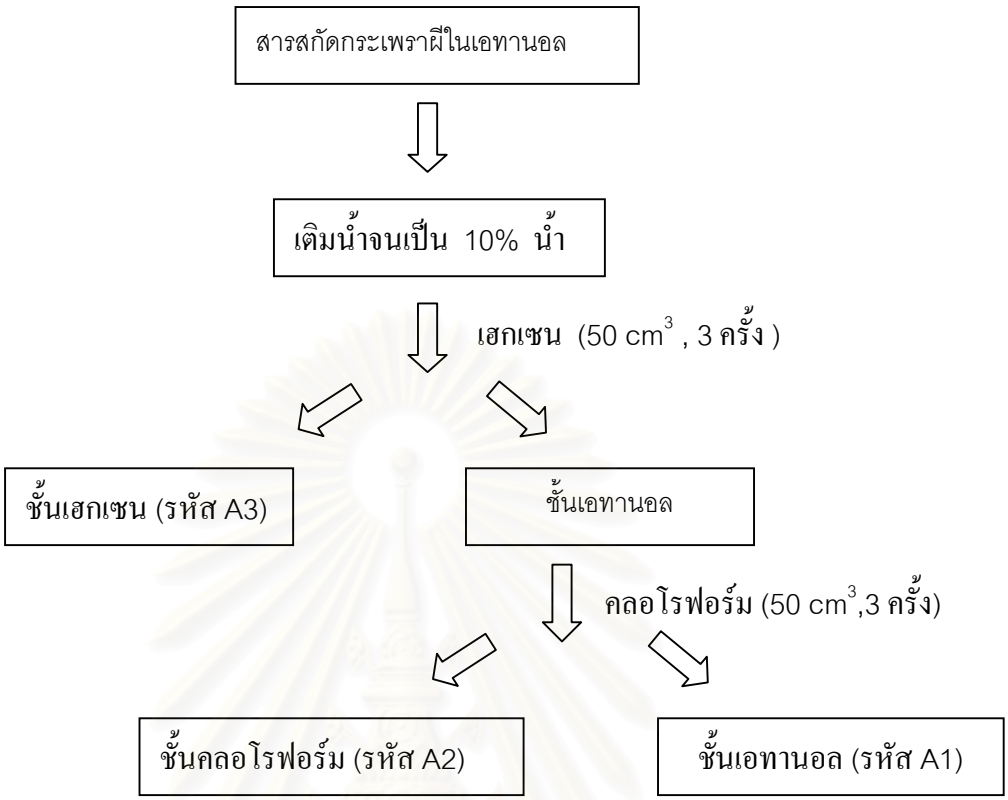
ปล่อยให้แห้ง เพาะแห้วหมู 20 เหง้าที่ชั่งแล้วลงไป เติมน้ำกลั่น 5.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้แสงธรรมชาติตั้งแต่เวลา 8.00 -10.30 น. ทุกวัน จนครบ 7 วัน เก็บผลการทดลองที่ได้โดยวัดการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแห้วหมูที่งอกออกมา นับจำนวนต้นที่งอกบนเหง้าแห้วหมู และชั่งน้ำหนักแห้งของต้นและราก เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พร้อมทั้งสังเกตความเปลี่ยนแปลงด้วยสายตา ทำ 6 ซ้ำ

2. ทดสอบชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดกระเพราผี

แบ่งการทดลองเป็น 2 วิธี ดังนี้

2.1 สกัดวิธีที่ 1

นำสารสกัดของกระเพราผีในเอทานอลจำนวน 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำมาเติมน้ำจนได้ 10% น้ำ จากนั้นนำมาสกัดแยกขั้วในกรวยแยกด้วยเฮกเซน ครั้งละ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 3 ครั้ง สกัดครั้งละ 10 นาที และตั้งทิ้งไว้ให้เกิดสมดุล 10 นาที นำสารในส่วนเอทานอลไปแยกต่อในกรวยแยกด้วยคลอโรฟอร์ม เช่นเดียวกับเฮกเซน ส่วนที่เหลือจะเป็นสารในชั้นเอทานอล ปรับปริมาตรของสารที่สกัดได้ทั้ง 3 ชนิดให้เป็น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ด้วยขวดวัดปริมาตร จะได้สารสกัดในชั้นเฮกเซน คลอโรฟอร์มและเอทานอล ตามลำดับ สามารถแสดงได้ด้วยภาพที่ 6

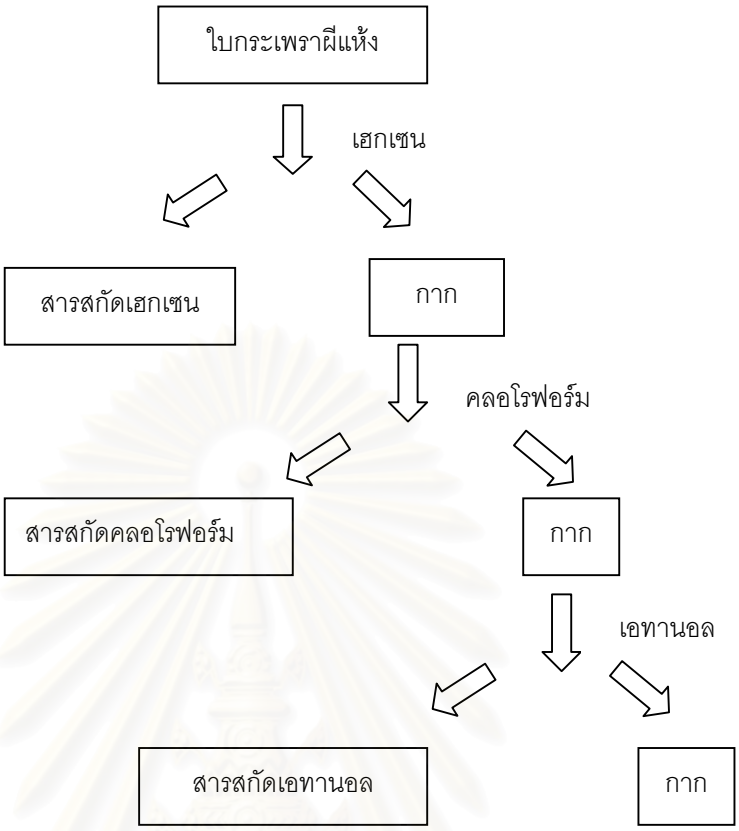


ภาพที่ 6 แผนภาพวิธีการสกัดกระเพราผีวิธีที่ 1

นำสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด (A1, A2, A3) ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้งกระเพราผี 1.00 กรัม (2.40 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ชุดควบคุมของเอทานอล คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ใส่ตัวทำละลายปริมาตร 2.40 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปล่อยให้แห้ง เพาะแห้วหมู 20 เหง้าที่ชั่งแล้วลงไป เติมน้ำกลั่น 5.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้แสงธรรมชาติตั้งแต่เวลา 8.00 -10.30 น. ทุกวัน จนครบ 7 วัน เก็บผลการทดลองที่ได้โดยวัดการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแห้วหมูที่งอกออกมา นับจำนวนต้นที่งอกบนเหง้าแห้วหมู และชั่งน้ำหนักแห้งของต้นและราก เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พร้อมทั้งสังเกตความเปลี่ยนแปลงด้วยสายตา ทำ 6 ซ้ำ

2.2 สกัดวิธีที่ 2

นำใบกระเพราผีแห้งจำนวน 352 กรัม สกัดด้วยเฮกเซน 1700 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 3 ครั้ง ครั้งละ 3 วัน จะได้สารสกัดในชั้นเฮกเซน นำใบกระเพราผีมา สกัดต่อด้วยคลอโรฟอร์ม และเอทานอลตามลำดับ โดยสกัดครั้งละ 3 วัน จำนวน 3 ครั้ง จะได้สารสกัดในชั้นคลอโรฟอร์ม และสารสกัดในชั้นเอทานอลตามลำดับ ปรับปริมาตรสารที่สกัดให้มีปริมาตร 845 ลูกบาศก์เซนติเมตร ด้วยกระบอกตวง จะได้ความเข้มข้นกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม ต่อตัวทำละลาย 2.40 ลูกบาศก์เซนติเมตร วิธีสกัดแสดงในภาพที่ 7



ภาพที่ 7 แผนภาพวิธีการสกัดกระเพราผีวิธีที่ 2

นำสารสกัดกระเพราผีในเอทานอล คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ในจานเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม (2.40 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ชุดควบคุมของ เอทานอล คลอโรฟอร์ม และเฮกเซน ใส่ตัวทำละลายปริมาตร 2.40 ลูกบาศก์เซนติเมตร ปล่อยให้แห้ง เพาะแห้วหมู 20 เหง้าที่ชั่งแล้วลงไป เติมน้ำกลั่น 5.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้แสงธรรมชาติตั้งแต่เวลา 8.00 -10.30 น. ทุกวัน จนครบ 7 วัน เก็บผลการทดลองที่ได้โดยวัดการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแห้วหมูที่งอกออกมา นับจำนวนต้นที่งอกบนเหง้าแห้วหมู และชั่ง น้ำหนักแห้งของต้นและราก เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พร้อมทั้งสังเกตความเปลี่ยนแปลงด้วยสายตา ทำ 6 ซ้ำ

3. หา fraction ที่มีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูมากที่สุด

นำสารสกัดของกระเพราผีในชั้นเฮกเซนที่สกัดด้วยวิธีที่ 2 มาระเหยแห้ง แยกโดยใช้วิธีโครมาโตกราฟีแบบรวดเร็ว (Quick Column Chromatography) โดยการนำสารสกัดใน เฮกเซน จำนวน 5.00 กรัม มาคลุกกับซิลิกาเจลให้เข้ากันใส่ลงในกรวยบุชเนอร์ ปิดหน้า ซิลิกาเจลด้วยกระดาษกรอง จากนั้นชะซิลิกาเจลด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วต่างกันจากต่ำไปสูงดังนี้คือ 100% hexane (รหัส H1), 50% hexane ใน chloroform 50% (รหัส H2) chloroform 100% (รหัส H3) และ ethanol 10% ใน chloroform 90% (รหัส H4) ครั้งละ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร จำนวน 4 ครั้ง ปรับปริมาตรของสารที่ชะได้แต่ละขั้นด้วยตัวทำละลายที่ใช้ชะให้มีปริมาตร 250 ลูกบาศก์เซนติเมตร ด้วยขวดวัดปริมาตร จะได้ความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนัก

แห้งกระเพราผี 1.00 กรัมใช้ตัวทำละลาย 2.40 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำแต่ละ fraction ที่ได้มาทดสอบด้วยวิธี Thin Layer Chromatography เพื่อรวม fraction ที่มีองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกัน

เมื่อทำการทดสอบโดยใช้วิธี Thin Layer Chromatography พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดใบกระเพราผีในตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิดไม่เหมือนกัน จึงนำสารสกัดจากตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด (รหัส H1 – H4) มารวมกันเป็นรหัส H5 และนำสารสกัดในเฮกเซน (crude hexane) ที่ยังไม่ได้นำมาแยกมาทดสอบเปรียบเทียบเป็นรหัส H6 นำสารสกัดจากกระเพราผีทั้ง 6 ชนิด ไปทดสอบผลการยับยั้งการงอกและการเจริญของแห้วหมู โดยใส่สารสกัดความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม (2.40 ลูกบาศก์เซนติเมตร) ลงในจานเลี้ยงเชื้อ ปล่อยให้แห้ง เพาะแห้วหมู 20 เหง้าที่ชั่งแล้วลงไป เติมน้ำกลั่น 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้แสงธรรมชาติตั้งแต่เวลา 8.00 -10.30 น. ทุกวัน จนครบ 7 วัน เก็บผลการทดลองที่ได้โดยวัดการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแห้วหมูที่งอกออกมา นับจำนวนต้นที่งอกบนเหง้าแห้วหมู และชั่ง น้ำหนักแห้งของต้นและราก เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พร้อมทั้งสังเกตความเปลี่ยนแปลงด้วยสายตา ทำ 6 ซ้ำ

4. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์

การทดสอบแยกเป็น 2 ชุด ตามลักษณะการใช้สารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ คือ แบบ pre – emergent ใช้กำจัดวัชพืชก่อนวัชพืชงอก และ post –emergent ใช้กำจัดหลังวัชพืชงอก โดยเลือกใช้สารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ Imazethapyr (ชื่อการค้า persuit) ซึ่งเป็นสารกำจัด วัชพืชประเภท pre-emergent และ early post- emergent (ใช้กำจัดหลังจากวัชพืชงอกแล้วไม่เกิน 10 วัน) เนื่องจากกระเพราผีที่ใช้ไม่ละลายในน้ำ ดังนั้นจึงเตรียมเป็น emulsion ชนิด น้ำมันละลายในน้ำ หรือ oil in water (O/W) เพื่อให้สามารถนำมาฉีดพ่นแห้วหมูได้ โดยใช้ span 80 และ tween 80 เป็น Emulsifier วิธีการเตรียม Emulsion ของกระเพราผีและวิธีการเตรียม Imazethapyr แสดงในภาคผนวก Emulsion ของสารสกัดจากกระเพราผีที่เตรียมเรียบร้อยแล้วนำมาทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพ pre-emergent และ Early post –emergent (เฉพาะการทดลองในดิน) โดยกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม ใช้ Emulsion 1.20 ลูกบาศก์เซนติเมตร

4.1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น pre-emergent ระหว่างสารสกัดจากใบ กระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ ในดิน

เพาะเหง้าแห้วหมูเอาไว้ก่อน 2 วันเพื่อให้ต้นอ่อนงอกออกมาเล็กน้อย ชั่งเหง้า แห้วหมูจำนวน 10 เหง้า ให้มีน้ำหนักใกล้เคียงกัน นำไปเพาะในดินในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 4.50 เซนติเมตร ลึก 4 เซนติเมตร จำนวน 1 วัน รดด้วยน้ำกลั่น 25.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นพ่นสารสกัดจากกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ด้วยอัตราที่กำหนด ดังนี้

1. Emulsion ที่ไม่ได้ใส่กระเพราผีปริมาตรเท่ากับ Emulsion ของกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม ปริมาตร 12.00 cm^3

2. Emulsion ของกระเพราผี เท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม ปริมาตร 1.20 cm^3

3. Emulsion ของกระเพราผี เท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 กรัม ปริมาตร 2.40 cm^3

4. Emulsion ของกระเพราผี เท่าน้ำหนักแห้ง 4.00 กรัม ปริมาตร 4.80 cm^3

5. Emulsion ของกระเพราผี เท่าน้ำหนักแห้ง 5.00 กรัม ปริมาตร 6.00 cm^3

6. Emulsion ของกระเพราผี เท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม ปริมาตร 12.00 cm^3

7. Imazethapyr 50% ของอัตราแนะนำ (2.50 ml/lit) ปริมาตร 0.32 cm^3

8. Imazethapyr 75% ของอัตราแนะนำ (3.75 ml/lit) ปริมาตร 0.32 cm^3

9. Imazethapyr 90% ของอัตราแนะนำ (4.50 ml/lit) ปริมาตร 0.32 cm^3

* อัตราความเข้มข้นแนะนำของ Imazethapyr = 400 ลูกบาศก์เซนติเมตร / ไร่ ผสมกับน้ำ 80 ลิตร

ให้แสงธรรมชาติตั้งแต่เวลา 8.00 -10.30 น. ทุกวัน จนครบ 7 วัน เก็บผลการทดลองที่ได้โดยวัดการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแห้วหมูที่งอกออกมา นับจำนวนต้นที่งอกบนเหง้าแห้วหมู และชั่งน้ำหนักแห้งของต้นและราก เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พร้อมทั้งสังเกตความเปลี่ยนแปลงด้วยสายตา ทำ 6 ซ้ำ

4.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ของสารสกัดจาก กระเพราผี และสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์

การทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post –emergent แบ่งเป็น 2 วิธี เนื่องจากการทดลองที่ผ่านมายังไม่มีการทดสอบสารสกัดจากกระเพราผีในรูปแบบ post –emergent เลย การทดลองในวิธีที่ 1 ซึ่งทดสอบในจานเลี้ยงเชื้อ จึงเป็นการทดสอบเบื้องต้นถึงประสิทธิภาพของกระเพราผีในการเป็น Early post- emergent herbicides

4.2.1 ทดสอบความสามารถในการเป็น Early post- emergent ของกระเพราผี

นำสารสกัดจากใบกระเพราผีในเฮกเซนหรือ crude hexane (เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม ปริมาตร 2.40 ลูกบาศก์เซนติเมตร) เพาะแห้วหมูที่ชั่งแล้วชุดละ 20 เหง้า เพาะในจานเลี้ยงเชื้อ 7 วัน จากนั้นเตรียมชุดการทดลองในจานเลี้ยงเชื้อต่อไปนี้

- เฮกเซน ปริมาตร 4.80 cm^3
- สารสกัดกระเพราผีในเฮกเซน เท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 กรัม ปริมาตร 4.80 cm^3
- สารสกัดกระเพราผีในเฮกเซน เท่าน้ำหนักแห้ง 4.00 กรัม ปริมาตร 9.60 cm^3

รอให้แห้ง เติมน้ำกลั่น 5.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้แสงธรรมชาติตั้งแต่เวลา 8.00 - 10.30 น. ทุกวัน จนครบ 7 วัน ทำ 6 ซ้ำ ประเมินผลการทดลองโดยนำค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความงอกมาประเมินความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเหง้าแห้วหมู หลักการในการประเมินแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 หลักการในการประเมินความสามารถในการยับยั้งการงอกของแห้วหมู

ความสามารถในการยับยั้ง	% การตายของเหง้าแห้วหมู
ไม่ตาย	0 – 10
ตายน้อย	10 – 30
ตายปานกลาง	30 – 50
ตายมาก	50 –70
ตายเกือบหมด	70 – 90
ตายหมด	> 90

4.2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ของสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน

นำเหง้าแห้วหมูที่ชั่งน้ำหนักแล้ว 10 เหง้า เพาะลงในกระถางพลาสติกขนาด เส้นผ่านศูนย์กลาง 4.5 เซนติเมตร ลึก 4 เซนติเมตร ในดินเป็นระยะเวลา 7 วัน รดด้วย น้ำกลั่น 25.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร จากนั้นพ่นสารสกัดจากกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ด้วยอัตราที่กำหนด ดังนี้

1. Emulsion ที่ไม่ได้ใส่กระเพราผีปริมาตรเท่ากับ Emulsion ของกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม ปริมาตร 12.00 cm^3

2. Emulsion ของกระเพราผี เท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม ปริมาตร 1.20 cm^3

3. Emulsion ของกระเพราผี เท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 กรัม ปริมาตร 2.40 cm^3

4. Emulsion ของกระเพราผี เท่าน้ำหนักแห้ง 4.00 กรัม ปริมาตร 4.80 cm^3

5. Emulsion ของกระเพราผี เท่าน้ำหนักแห้ง 5.00 กรัม ปริมาตร 6.00 cm^3

6. Emulsion ของกระเพราผี เท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม ปริมาตร 12.00 cm^3

7. Imazethapyr 50% ของอัตราแนะนำ (2.50 ml/lit) ปริมาตร 0.32 cm^3

8. Imazethapyr 75% ของอัตราแนะนำ (3.75 ml/lit) ปริมาตร 0.32 cm^3

9. Imazethapyr 90% ของอัตราแนะนำ (4.50 ml/lit) ปริมาตร 0.32 cm^3

ให้แสงธรรมชาติตั้งแต่เวลา 8.00 -10.30 น. ทุกวัน จนครบ 10 วัน เก็บผลการทดลองที่ได้โดยวัดการเจริญเติบโตของต้นอ่อนแห้วหมูที่งอกออกมา นับจำนวนต้นที่งอกบนเหง้าแห้วหมู และชั่งน้ำหนักแห้งของต้นและราก เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พร้อมทั้งสังเกตความเปลี่ยนแปลงด้วยสายตา ทำ 9 ซ้ำ

5. ทดสอบสารสกัดจากใบกระเพราผีที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืช

โดยทำการทดสอบกับเมล็ดพืช ต่อไปนี้

- ผักบุ้ง (*Ipamora reptans* Poir)
- คะน้า (*Brassica alboglabra* Bailey)
- ถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) wieczek)
- แตงกวา (*Cucumis sativus* L.)
- ฟักทอง (*Cucurbita moschata* (Duch.) Poir)

ใส่สารสกัดจากกระเพราผีในเฮกเซนหรือ crude hexane ความเข้มข้นเทียบเท่า น้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม ใส่ลงในจานเลี้ยงเชื้อ รอให้แห้ง เพาะเมล็ดพืชที่เตรียมไว้ คะน้าใช้ 50 เมล็ด ผักบุ้ง แตงกวา และถั่วเขียวมีเมล็ดขนาดใหญ่ใช้ 20 เมล็ดต่อชุด ฟักทองใช้เมล็ด 10 เมล็ดต่อชุด ใส่น้ำกลั่น 5.00 ลูกบาศก์เซนติเมตร ให้แสงธรรมชาติตั้งแต่เวลา 8.00-10.30 น. ทุกวัน จนครบ 5 วัน เก็บผลการทดลองที่ได้โดยนับจำนวนเมล็ดที่งอก วัดความยาวต้นและความยาวรากของเมล็ดพืช เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พร้อม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทั้งสังเกตความเปลี่ยนแปลงด้วยสายตา ทำ 6 ซ้ำ เรียกชุดที่ใส่สารสกัดจากกระเพราผีว่า Test และชุดที่ไม่ใส่สารสกัดจากกระเพราผีว่า Control

6. วิเคราะห์ผลทางสถิติ

โดยนำค่าที่ทดลองได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้วิธี Duncan multiple range Test เพื่อทดสอบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญในการยับยั้งการงอกและการเจริญของพืชที่ได้รับสาร

การวิเคราะห์เลือกใช้วิธี Duncan เนื่องจากลักษณะข้อมูลมีหลายกลุ่มตัวอย่าง แต่แบ่งโดยใช้ปัจจัยเพียงปัจจัยเดียว เนื่องจากวิธี Duncan เป็นการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (ANOVA) แบบพาราเมตริก ซึ่งข้อมูลจะต้องมีลักษณะดังต่อไปนี้

1.ข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ ทำการวิเคราะห์โดยใช้ Kolmogorov –Smirnov Test และ Spapiro –Wilk ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้สมมติฐานต่อไปนี้ คือ

H_0 : ข้อมูลที่นำมาทดสอบแต่ละกลุ่มมีการแจกแจงปกติ

H_1 : ข้อมูลที่นำมาทดสอบแต่ละกลุ่มมีการแจกแจง**ไม่ใช่**แบบปกติ

ถ้าค่าที่คำนวณได้ (ค่าความน่าจะเป็นหรือ sig) มากกว่าค่า α 0.05 ยอมรับ สมมติฐานแสดงว่าลักษณะข้อมูลมีการแจกแจงแบบปกติ

2. การกระจายของข้อมูลปกติ ทำการวิเคราะห์โดยใช้ Lavene Statistic เพื่อทดสอบการกระจายของข้อมูลแต่ละกลุ่มในรูปของความแปรปรวนว่าแต่ละกลุ่มมีความเหมือนกันหรือไม่ ภายใต้สมมติฐานดังนี้

H_0 : ข้อมูลที่นำมาทดสอบแต่ละกลุ่มมีการกระจาย**ไม่**แตกต่างกัน

H_1 : ข้อมูลที่นำมาทดสอบแต่ละกลุ่มมีการกระจายแตกต่างกัน

การตัดสินใจ ถ้าค่าที่คำนวณได้ (sig) มากกว่าหรือเท่ากับ α 0.05 ยอมรับ สมมติฐานแสดงว่าลักษณะข้อมูลมีการกระจายไม่แตกต่างกัน

นำข้อมูลที่มีคุณสมบัติที่สามารถใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียวได้ไปวิเคราะห์ข้อมูล ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ ANOVA แบบพาราเมตริก ทางเดียว เพื่อหาว่าชุดข้อมูลแต่ละชุดมีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันหรือไม่ การทดสอบมีสมมติฐานดังนี้

H_0 : ข้อมูลที่นำมาทดสอบแต่ละกลุ่มมีค่าเฉลี่ย**ไม่**แตกต่างกัน

H_1 : ข้อมูลที่นำมาทดสอบแต่ละกลุ่มมีค่าเฉลี่ยแตกต่างกัน

ถ้าค่าที่คำนวณได้ (sig) มากกว่าหรือเท่ากับ α 0.05 ยอมรับสมมติฐาน หมายความว่า ข้อมูลไม่มีความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ย

ถ้าค่าที่คำนวณได้ (sig) น้อยกว่า α 0.05 ปฏิเสธสมมติฐาน หมายความว่า ข้อมูลมีความแตกต่างกันของค่าเฉลี่ยอย่างน้อย 1 คู่

จากนั้นนำข้อมูลมาหาค่าเฉลี่ยโดยวิธีทดสอบพหุคูณแบบ Duncan (Duncan multiple range Test) การทดสอบ Duncan เป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยจากค่าผลต่างของค่าเฉลี่ยที่เรียงลำดับแล้ว โดยวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความงอก จำนวนต้น น้ำหนักแห้งของต้นและรากและความยาวของต้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการทดลอง

1. ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของ แห้วหมู

1.1 ทดสอบเบื้องต้นผลทางอัลลิโลพาธิของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อแห้วหมู

ค่าเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของแห้วหมูแสดงในตารางที่ 5 เรียกชุดการทดลองที่ไม่ใส่สารสกัดจากใบกระเพราผีว่า Control และ ชุดการทดลองที่ใส่สารสกัดจากใบกระเพราผีว่า Test

ตารางที่ 5 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

สภาวะ	ค่าเฉลี่ย (% การยับยั้ง)			
	ความงอก	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนต้น	ความยาวต้น (cm)
Control	84.94 (0.00)	0.1121 (0.00)	30.33 (0.00)	3.27 (0.00)
Test	30.00 (64.68)	0.0200 (82.16)	8.67(71.41)	2.04(37.61)

การทดสอบชุดข้อมูลพบว่ามีลักษณะการแจกแจงแบบปกติ ค่าเฉลี่ยของทั้งจำนวนต้น น้ำหนักแห้งของต้นและราก และ เปอร์เซ็นต์ความงอก มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติระหว่าง Control และ Test การหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งหาได้โดยใช้สูตรต่อไปนี้

% การยับยั้งความงอก = (C –T) x100 / C

เมื่อ C = จำนวนเหง้าแห้วหมูที่งอกเมื่อไม่ใส่สารสกัดจากกระเพราผี

เมื่อ T = จำนวนเหง้าแห้วหมูที่งอกเมื่อใส่สารสกัดจากกระเพราผี

จะได้ว่า % ความงอก = (84.94 –30.00) x 100 /84.94

= 64.68 %

เช่นเดียวกับการคิดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความงอก การคิดเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง น้ำหนักแห้ง พิจารณาจากค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งที่ชั่งได้ การคิดเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจำนวนต้น พิจารณาจากค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่งอกบนเหง้าแห้วหมูต่อจานเลี้ยงเชื้อ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวต้น พิจารณาจากค่าเฉลี่ยความยาวต้นแห้วหมูที่วัดได้

จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากใบกระเพราผีมีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูอย่างชัดเจน ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะที่สังเกตเห็นคือ ชุดการทดลองที่ไม่ได้ใส่สารสกัดจากกระเพราผีจะมีรากมากและมีความสมบูรณ์ของต้นสูง แต่ชุดการทดลองที่ใส่สารสกัดจากกระเพราผีจะไม่มีราก ต้นที่งอกออกมามีใบเหลืองและมีต้นขนาดเล็ก

1.2 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกะเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในตารางที่ 6

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

เทียบเท่าน้ำหนักแห้งของกระเพราผี (กรัม)	ค่าเฉลี่ย (% การยับยั้ง)			
	ความงอก	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนต้น	ความยาวต้น (cm)
0.00	89.87 [a]	0.1339 [a]	27.33 [a]	4.54 [a]
0.25	88.28 [a] (1.77)	0.1358 [a] (-1.42)*	26.00 [a b] (4.87)	3.80 [b] (16.30)
0.50	75.20 [b] (16.32)	0.0805 [b] (39.88)	22.50 [b c] (17.67)	3.13 [b] (31.06)
1.00	68.89 [b] (23.34)	0.0571 [c] (57.36)	21.50 [c d] (21.33)	2.40 [c] (47.14)
2.00	41.12 [c] (54.25)	0.0304 [d] (77.30)	14.83 [e] (45.74)	1.77 [c] (61.01)
4.00	27.50 [d] (69.40)	0.0193 [d] (85.59)	10.00 [f] (63.41)	1.70 [c] (62.56)

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เป็นตัวยกที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยของตัวกลางที่ระดับความเชื่อมั่น 5%

ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากกระเพราผีในเอทานอลที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู พบว่าทั้งเปอร์เซ็นต์ความงอก น้ำหนักแห้งของต้นและราก จำนวนและความยาวต้น มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญ (P น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.05)

เมื่อใส่สารสกัดจากกระเพราผีที่ความเข้มข้นต่ำๆ ที่ความเข้มข้น 0.25 กรัม (ภาพ 8B) แห้วหมูมีการเจริญเติบโตมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับไม่ได้ใส่สารสกัดจากใบกระเพราผี แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัดใบกระเพราผีมากขึ้น จะเกิดการยับยั้งการงอกและการเจริญของแห้วหมูอย่างชัดเจน เห็นได้จาก เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้ง เปอร์เซ็นต์การยับยั้งจำนวนต้น และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความยาวต้น ที่เพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก สอดคล้องกับลักษณะที่สังเกตเห็นกล่าวคือเมื่อใช้กระเพราผีที่ความเข้มข้นเทียบเท่า 0.25 กรัม ต้นจะเจริญเติบโตเป็นอย่างมาก มีต้นสมบูรณ์และมีขนาดใหญ่ แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นมากขึ้นจะทำให้เหง้าแห้วหมูมีจำนวนราก การเจริญเติบโตของต้นอ่อนและความสมบูรณ์ของต้นอ่อนลดลงเป็นลำดับ และเมื่อใส่สารสกัดจากกระเพราผีความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 (ภาพ 8E)

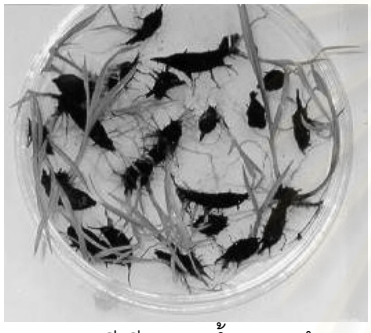
และ 4.00 กรัม (ภาพ 8F) พบว่าเหง้าแห้วหมูไม่มีราก มีจำนวนต้นอ่อนน้อยมากและต้นอ่อนไม่สมบูรณ์

นอกจากนี้ เมื่อใช้ความเข้มข้นของกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 กรัม และ 4.00 กรัม เหง้าแห้วหมูที่ไม่มีการงอก พบว่าเหง้าแห้วหมูนั้นส่วนมากจะตายหรือไม่สามารถเจริญเติบโตได้อีกต่อไป ถึงแม้ว่าจะล้างสารสกัดกระเพราผีออกไปก็ตาม แต่เมื่อใช้สารสกัดจากกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้งต่ำกว่า 2.00 กรัม คือ ที่ความเข้มข้น 0.25 กรัม (ภาพ 8B) 0.50 กรัม (ภาพ 8C) และ 1.00 กรัม (ภาพ 8D) เมื่อล้างสารสกัดกระเพราผีออกจากเหง้าแห้วหมู พบว่าเหง้าแห้วหมูสามารถเจริญเติบโตได้เกือบปกติ หรือปกติ

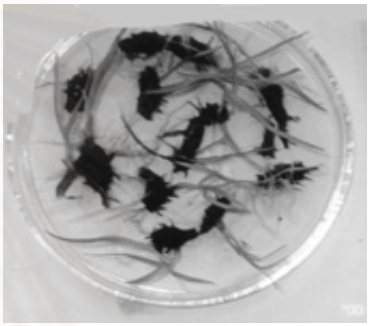
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(A) ไม่ใส่สารสกัดจากใบกระเพราผี

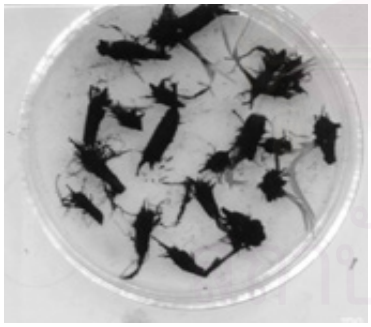
(B) กระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 0.25 กรัม



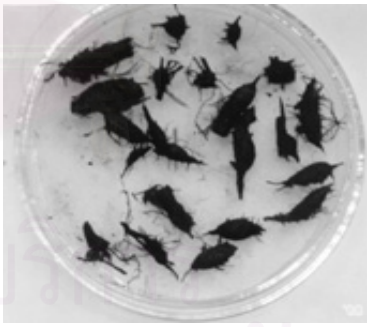
(C) กระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 0.50 กรัม



(D) กระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม



(E) กระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 กรัม



(F) กระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 4.00 กรัม

<u>ภาพที่ 8</u> ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

2. ทดสอบชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดกระเพราผี

แบ่งการทดลองเป็น 2 วิธี ดังนี้

2.1 สกัดวิธีที่ 1

ค่าเฉลี่ยวิเคราะห์ทางสถิติของการทดลองของการสกัดด้วยตัวทำละลายวิธีที่ 1 แสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบตัวทำละลายโดยวิธีการสกัดวิธีที่ 1 ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

ชุดการทดลอง	ค่าเฉลี่ย (% การยับยั้ง)			
	ความงอก	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนต้น	ความยาวต้น (cm)
ชุดควบคุมเอทานอล	82.50 ^{a}	0.1283 ^{a}	33.67 ^{a}	3.20 ^{ab}
สารสกัดในเอทานอล	85.00 ^{a} (-3.03)	0.0950 ^{bc} (25.95)	24.67 ^{a} (26.73)	2.81 ^{ab} (12.19)
ชุดควบคุมคลอโรฟอร์ม	83.75 ^{a}	0.1221 ^{ab}	32.33 ^{a}	3.15 ^{ab}
สารสกัดในคลอโรฟอร์ม	80.00 ^{a} (4.48)	0.0970 ^{abc}(20.56)	24.00 ^{a} (25.77)	2.55 ^{b} (19.05)
ชุดควบคุมเฮกเซน	82.50 ^{a}	0.1137 ^{ab}	30.33 ^{a}	3.45 ^{a}
สารสกัดในเฮกเซน	75.33 ^{a} (8.69)	0.0764 ^{c} (32.81)	25.00 ^{a} (17.57)	2.45 ^{b} (28.99)

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เป็นตัวยกเหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยของตัวกลางที่ระดับความเชื่อมั่น 5%

การวิเคราะห์ทางสถิติแสดงให้เห็นว่า ชุดควบคุมและสารสกัดกระเพราผีไม่มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติ ทั้งเปอร์เซ็นต์ความงอก น้ำหนักของต้นและราก จำนวนและความยาวต้น ดังนั้นวิธีการสกัดวิธีที่ 1 จึงเป็นวิธีที่ไม่เหมาะสมในการแยกสารสกัดจากใบกระเพราผีที่มีประสิทธิภาพ

เนื่องจากวิธีการสกัดวิธีที่ 1 ไม่สามารถสรุปได้ว่า ตัวทำละลายชนิดใดที่มี ประสิทธิภาพสูงสุดในการสกัดสารที่ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู จึงทำการสกัดด้วยวิธีที่ 2

2.2 สกัดวิธีที่ 2

ค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ทางสถิติการทดลองผลของการสกัดด้วยตัวทำละลายวิธีที่ 2 แสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบตัวทำละลายโดยวิธีการสกัดวิธีที่ 2 ต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

ชุดการทดลอง	ค่าเฉลี่ย (% การยับยั้ง)			
	ความงอก	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนต้น	ความยาวต้น (cm)
ชุดควบคุมเอทานอล	83.33 [a]	0.1291 [a]	25.33 [a]	3.59 [a]
สารสกัดในเอทานอล	82.61 [a] (0.86)	0.1234 [a] (4.42)	21.50 [b] (15.12)	3.01 [b] (16.16)
ชุดควบคุมคลอโรฟอร์ม	84.16 [a]	0.1336 [a]	27.67 [a]	3.31 [ab]
สารสกัดคลอโรฟอร์ม	81.73 [a] (2.89)	0.1328 [a] (0.60)	21.00 [b] (24.11)	3.03 [b] (8.46)
ชุดควบคุมเฮกเซน	84.16 [a]	0.1298 [a]	24.00 [a]	3.38 [ab]
สารสกัดเฮกเซน	59.16 [b] (29.71)	0.0620 [b] (52.23)	20.33 [b] (15.29)	2.38 [c] (29.59)

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เป็นตัวยกที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยของตัวกลางที่ระดับความเชื่อมั่น 5%

การทดสอบทางสถิติของผลของตัวทำละลายที่มีต่อการงอกและการเจริญของแห้วหมูในวิธีที่ 2 ทำเช่นเดียวกับวิธีที่ 1 พบว่า ชุดควบคุมทั้ง 3 ชนิดของวิธีที่ 2 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่สารสกัดทั้ง 3 ชนิดของวิธีที่ 2 มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อทดสอบค่าเฉลี่ยทางสถิติของสารสกัดทั้ง 3 ชนิด พบว่าทั้งเปอร์เซ็นต์ความงอก น้ำหนักแห้งของต้นและราก จำนวนต้นและความยาวของต้นมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติกับชุดควบคุม สาร

สกัดในเฮกเซน มีความแตกต่างทางสถิติกับสารสกัดในเอทานอลและคลอโรฟอร์มอย่างชัดเจน ยกเว้นจำนวนต้นซึ่งสารสกัดทั้งสามชนิดไม่มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติ

ผลการเปรียบเทียบทางสถิติระหว่างการสกัดวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 วิธีที่ 2 จะมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งของต้นและรากอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่วิธีที่ 1 ไม่มีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเลย ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าวิธีสกัดวิธีที่ 2 สามารถสกัดสารที่มี ประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นและรากแห้วหมูได้ดีกว่าวิธีสกัดวิธีที่ 1 ซึ่งนอกจากจะเห็นได้จากการพิจารณาทางสถิติแล้วยังสอดคล้องกับการสังเกตด้วยสายตา ซึ่งแสดงในตารางที่ 9 และภาพที่ 9

ลักษณะสำคัญที่พบในสารสกัดของกระเพราผีในเฮกเซนวิธีที่ 2 เท่านั้น คือ แห้วหมูจะไม่มีรากเลย สันนิษฐานได้ว่า สารยับยั้งการงอกของรากมีความเป็นขั้วค่อนข้างต่ำและต้องใช้เวลาในสกัดมากพอสมควร เนื่องจากเมื่อสกัดกระเพราผีด้วยเฮกเซนด้วยวิธีที่ 2 ซึ่งใช้เวลามากกว่าสกัดกระเพราผีในเฮกเซนด้วยวิธีที่ 1 ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของรากแห้วหมูดีขึ้นเป็นอย่างมาก ในขณะที่สารสกัดทั้ง 3 ชนิดที่สกัดด้วยวิธีที่ 1 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของรากได้เพียงเล็กน้อย

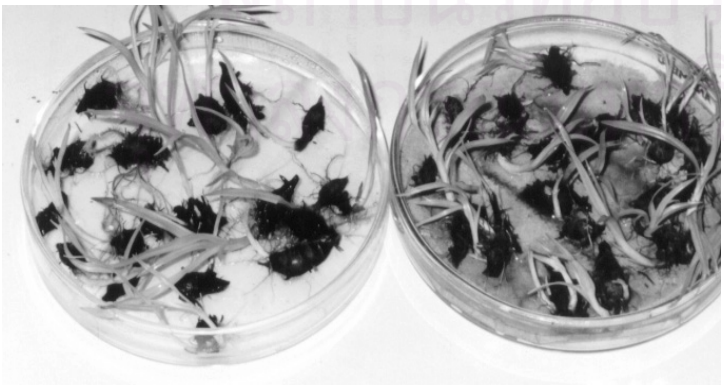
นอกจากนี้การสกัดโดยวิธีที่ 1 ยังเกิดปัญหาทางการทดลอง เนื่องจากการรวมเป็นเนื้อเดียวกันระหว่างเอทานอลและคลอโรฟอร์ม ทำให้การสกัดแยกไม่สามารถทำได้อย่างสมบูรณ์

ตารางที่ 9 ผลการสังเกตด้วยสายตาของการทดสอบผลของชนิดของตัวทำละลายโดยวิธีสกัดวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2

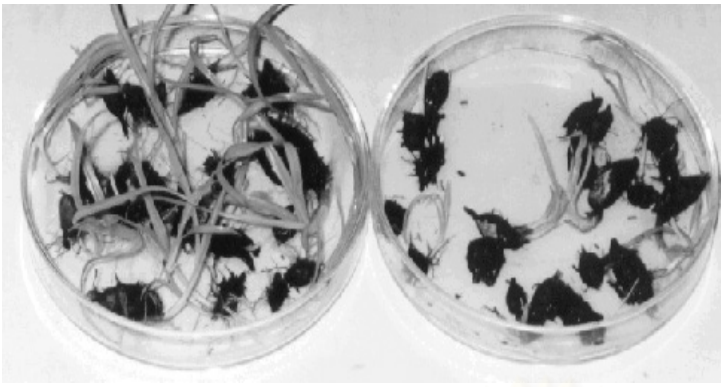
ตัวทำละลาย	ลักษณะที่สังเกตเห็น	
	วิธีที่สกัดวิธีที่ 1	วิธีที่สกัดวิธีที่ 2
ชุดควบคุมเอทานอล (ภาพ 9A)	ต้นสมบูรณ์ รากยาวหนาแน่น	ต้นสมบูรณ์ รากยาวหนาแน่น
สารสกัดเอทานอล (ภาพ 9A)	ใบเหลือง ต้นไม่สมบูรณ์ มีรากน้อย	ต้นสมบูรณ์ รากยาวแต่จำนวนน้อยกว่าชุดควบคุม
ชุดควบคุมคลอโรฟอร์ม (ภาพ 9B)	ต้นสมบูรณ์ รากยาวหนาแน่น	ต้นสมบูรณ์ รากยาวหนาแน่น
สารสกัดคลอโรฟอร์ม (ภาพ 9B)	ใบเหลือง ต้นไม่สมบูรณ์ มีรากน้อย	ต้นสมบูรณ์ รากยาวจำนวนน้อยกว่าชุดควบคุม

ชุดควบคุมเฮกเซน (ภาพ 9C)	ต้นสมบูรณ์ รากยาวหนาแน่น	ต้นสมบูรณ์ รากยาวหนาแน่น
สารสกัดเฮกเซน (ภาพ 9C)	ใบเหลือง ต้นไม่สมบูรณ์ มีรากเล็กน้อย	ต้นมีขนาดเล็ก ไม่แข็งแรง ไม่มีราก

(A) เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุม (ซ้าย) และสารสกัดในเอทานอล (ขวา)



(B) เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุม (ซ้าย) และสารสกัดในคลอโรฟอร์ม (ขวา)



(C) เปรียบเทียบระหว่างชุดควบคุม (ซ้าย) และสารสกัดในเฮกเซน (ขวา)

ภาพที่ 9 ผลของตัวทำละลายที่ใช้สกัดกระเพราผีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูโดย วิธีสกัดวิธีที่ 2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. หา fraction ที่มีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูมากที่สุด

ค่าเฉลี่ยและเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่วิเคราะห์ได้จากการทดลองผลของ fraction แสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีที่แยก fraction ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

ชุดการทดลอง (รหัส)	ค่าเฉลี่ย (% การยับยั้ง)			
	ความงอก	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนต้น	ความยาวต้น (cm)
Control	77.74 [a]	0.1053 [a]	26.00 [a]	2.68 [a] (5.97)
100% hexane (H1)	71.50 [a] (8.03)	0.1025 [a] (2.66)	22.83 [ab] (12.19)	2.52 [a]
50% hexane + 50% chloroform (H2)	73.09 [a] (5.98)	0.0877 [ab] (16.71)	20.80 [ab] (20.00)	2.49 [a] (7.09)
100% chloroform(H3)	77.19 [a] (0.71)	0.0912 [ab] (13.39)	28.00 [a] (-7.69)	2.05 [ab] (23.51)
90% chloroform + 10% ethanol (H4)	67.50 [a] (13.17)	0.0749 [bc] (28.87)	22.00 [ab] (15.38)	2.30 [a] (14.18)
Mix (H5)	69.16 [a] (11.04)	0.0875 [ab] (16.90)	21.83 [ab] (16.04)	2.41 [a] (10.07)
Crude hexane (H6)	56.22 [b] (27.68)	0.0529 [c] (49.76)	16.67 [b] (35.88)	1.66 [b] (38.06)

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เป็นตัวยกที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยของตัวกลางที่ระดับความเชื่อมั่น 5%

การทดสอบทางสถิติ พบว่าทั้งเปอร์เซ็นต์ความงอก น้ำหนักแห้งของต้นและราก และจำนวนและความยาวต้นมีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ลักษณะที่สังเกตเห็นในการยับยั้งการงอกและการเจริญของรากแห้วหมู พบว่า fraction 10% ethanol ใน 90% chloroform (รหัส H4; ภาพ 10E) และ crude hexane (รหัส H6; ภาพ 10G) เท่านั้นที่ไม่มีรากเมื่อเปรียบเทียบกับ fraction อื่นๆ คือ 100%

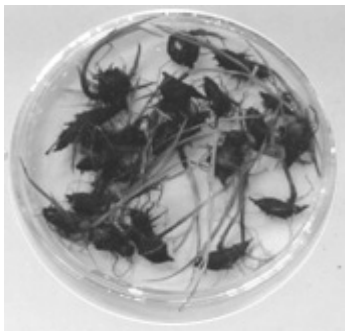
hexane (รหัส H1; ภาพ 10B) 50% hexane ใน chloroform 50% (รหัส H2; ภาพ 10C) chloroform 100% (รหัส H3; ภาพ 10D) และ 10% ethanol ใน chloroform 90% (รหัส H4; ภาพ 10E) แสดงว่าสารที่ออกฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกของรากค่อนข้างมีความเป็นขั้วสูง จึงสามารถละลายได้ดีใน fraction 10% ethanol ใน 90% chloroform นี้ แต่ความเป็นขั้วไม่สูงมากพอที่จะละลายในคลอโรฟอร์มได้ดีในการสกัดด้วยตัวทำละลายในครั้งแรก

ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 10 ตารางที่ 11 และภาพที่ 10 ชี้ให้เห็นว่าสารสกัดจากกระเพราผีที่ยังไม่ได้แยก fraction มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูมากที่สุด (รหัส H6) จึงใช้สารสกัดในเฮกเซนที่ไม่ได้แยก fraction ในการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์และผลในการยับยั้งการงอกของเมล็ดพืช

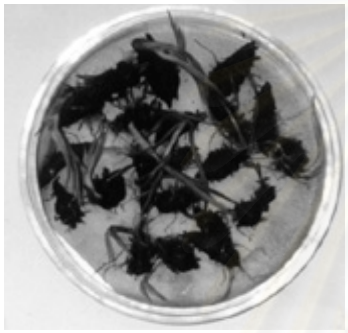
ตารางที่ 11 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีที่แยก fraction ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูโดยการสังเกต

รหัส	ตัวทำละลาย	ลักษณะที่สังเกตเห็น
-	Control	รากมากหนาแน่น ต้นสมบูรณ์
H1	100 % hexane	รากน้อยกว่าชุดควบคุม ต้นสมบูรณ์
H2	50% hexane ใน 50% chloroform	รากน้อยกว่าชุดควบคุม ต้นสมบูรณ์
H3	100 % chloroform	รากมากหนาแน่น ต้นสมบูรณ์
H4	10% ethanol ใน 90% chloroform	ไม่มีราก ต้นแคระแกร็น
H5	ผสม H1 - H4 เข้าด้วยกัน	มีรากน้อยมาก ต้นแคระแกร็น ไม่สมบูรณ์
H6	crude hexane	ไม่มีราก ต้นแคระแกร็น ไม่สมบูรณ์

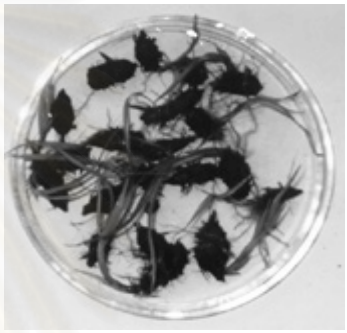
(A) control



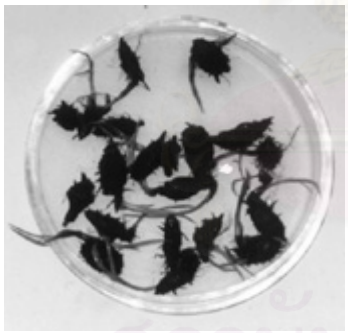
(B) 100% hexane (รหัส H1)



(C) 50% hexane + 50% chloroform (รหัส H2)

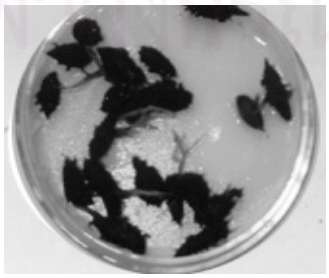


(D) 100% chloroform (รหัส H3)



(E) 90% chloroform+10% ethanol (รหัส H4)

(F) Mix (รหัส H5)



(G) crude hexane (รหัส H6)

ภาพที่ 10 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราที่แยก fraction ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

4.เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์

4.1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น pre-emergent ระหว่างสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน

ค่าเฉลี่ยของผลการทดลองแสดงในตารางที่ 12 ซึ่งผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่ามีความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติทั้งเปอร์เซ็นต์ความงอก จำนวนและความยาวต้น และน้ำหนักแห้งของต้นและราก

เมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การยับยั้งความงอก และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งน้ำหนักแห้ง ประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม จะใกล้เคียงกับประสิทธิภาพของ Imazethapyr ที่ 90% ของอัตราแนะนำ เมื่ออัตราแนะนำให้ใช้ Imazethapyr ในการควบคุมวัชพืชแห้วหมูในไร่ถั่วเหลือง คือ 400 ลูกบาศก์เซนติเมตร / ไร่ ผสมน้ำ 80 ลิตร

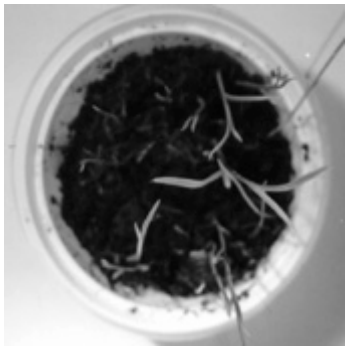
เมื่อใช้ความเข้มข้นของกระเพราผีที่ความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 2.00 และ 4.00 กรัม สารสกัดจะกระตุ้นการเจริญของแห้วหมูแทนที่จะยับยั้งการเจริญ เห็นได้จากเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของน้ำหนักแห้งของต้นและราก มีค่าเป็นลบ แห้วหมูจะเจริญสูงสุดเมื่อใช้ความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 กรัม แต่เมื่อใช้ความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 4.00 กรัม การเจริญของต้นและรากจะเริ่มลดลง และเมื่อความเข้มข้นสูงถึง 5.00 กรัม แห้วหมูจะถูกยับยั้งอย่างเห็นได้ชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับจากการทดลองผลของความเข้มข้นของกระเพราผี พบว่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแห้วหมูเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก เนื่องจากการทดลองในจานเลี้ยงเชื้อ สารสกัดสัมผัสกับรากของแห้วหมูโดยตรง แต่การทดลองที่กระทำในดิน จะต้องใช้สารปริมาณมากจึงจะทำให้สารมีความเข้มข้นมากพอที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของแห้วหมูได้

เมื่อพิจารณาการยับยั้งจำนวนต้น สารสกัดจากใบกระเพราผีมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเป็นอย่างมาก ที่ความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม เปอร์เซ็นต์การยับยั้งต้นสูงถึง 34.00% ในขณะที่ Imazethapyr ที่ 75% และ 90% ของอัตราแนะนำมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต้นเพียง 6.67% และ 3.23% เท่านั้น

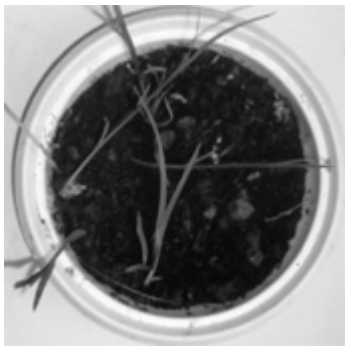
ตารางที่ 12 ผลการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น pre-emergent ของสารสกัดจากกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน

ชุดการทดลอง	ค่าเฉลี่ย (% การยับยั้ง)			
	ความงอก	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนต้น	ความยาวต้น (cm)
ชุดควบคุม (ภาพ 10A)	100.00 [a]	0.1555 [abc]	15.16 [ab]	7.91 [a]
เทียบเท่า 1.00 g (ภาพ 10B)	98.33 [a] (1.67)	0.1829 [ab] (-17.54)	15.83 [a] (-4.42)	8.26 [a] (-4.42)
เทียบเท่า 2.00 g (ภาพ 10C)	98.33 [a] (1.67)	0.2035 [a] (-30.78)	13.67 [ab] (9.83)	8.86 [a] (-12.01)
เทียบเท่า 4.00 g (ภาพ 10D)	96.67 [ab] (3.33)	0.1810 [ab] (18.67)	14.16 [ab] (6.60)	8.46 [a] (-6.95)
เทียบเท่า 5.00 g (ภาพ 10E)	95.00 [ab] (5.00)	0.1300 [bcd] (16.45)	12.33 [bc] (18.67)	5.05 [b] (36.16)
เทียบเท่า 10.00 g (ภาพ 10F)	83.33 [a] (16.67)	0.0930 [cd] (40.23)	10.00 [c] (34.00)	4.06 [bc] (48.67)
Imazethapyr 50% (ภาพ 10G)	93.33 [abc] (6.67)	0.1363 [abcd] (18.47)	16.67 [a] (-9.96)	2.65 [bc] (66.50)
Imazethapyr 75% (ภาพ 10H)	93.33 [abc] (6.67)	0.1045 [cd] (32.84)	16.00 [a] (6.67)	2.43 [c] (69.28)
Imazethapyr 90% (ภาพ 10I)	86.67 [bc] (13.33)	0.0935 [cd] (39.97)	14.67 [ab] (3.23)	2.50 [c] (68.39)

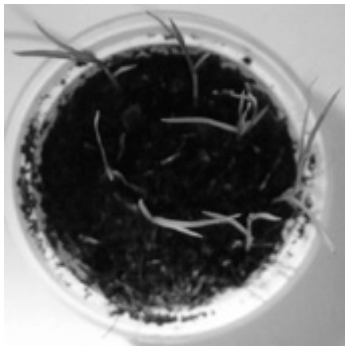
หมายเหตุ ตัวอักษรที่เป็นตัวยกที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยของตัวกลางที่ระดับความเชื่อมั่น 5%



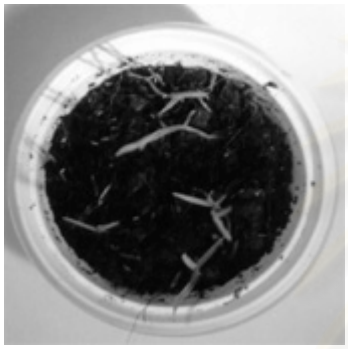
(A) ชุดควบคุม (Control)



(B) กระเพราผี 1.00 กรัม

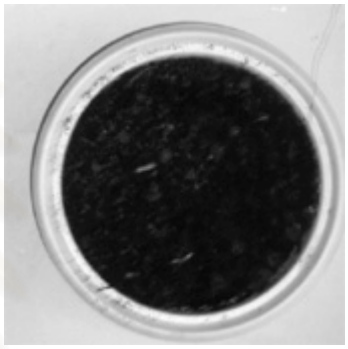


(C) กระเพราผี 2.00 กรัม

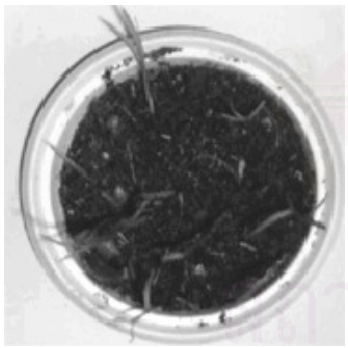


(D) กระเพราผี 4.00 กรัม

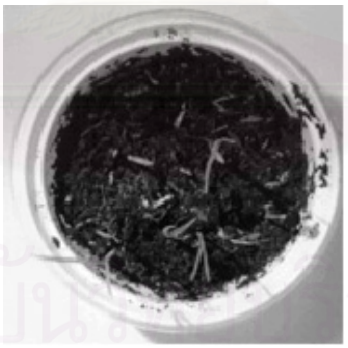
(E) กระเพราผี 5.00 กรัม



(F) กระเพราผี 10.00 กรัม



(G) Imazethapyr 50%



(H) Imazethapyr 75%

(I) Imazethapyr 90%

<u>ภาพที่ 11</u> ภาพเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น pre-emergent ของสารสกัดจากกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน

ลักษณะที่สังเกตเห็นจากการทดสอบเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น pre - emergent ระหว่างสารกำจัดวัชพืชและใบกระเพราผีสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ที่ได้ พบว่าที่ความเข้มข้นของกระเพราผีต่ำๆ แห้วหมูมีต้นสมบูรณ์และมีขนาดใหญ่ แต่เมื่อความเข้มข้นสูงเทียบเท่า น้ำหนักแห้ง 5.00 กรัมความสมบูรณ์ของแห้วหมูลดลงเป็นอย่างมาก และเพื่อใช้สารสกัดจากใบกระเพราผีที่มีความเข้มข้นมากขึ้นอีก (10.00 กรัม) แห้วหมูมีลักษณะ แคระแกร็น ต้นมีขนาดเล็ก ส่วนชุดการทดลองที่ใส่ Imazethapyr แห้วหมูหยุดการเจริญเติบโตอย่างชัดเจนเมื่อใช้ Imazethapyr ที่อัตราแนะนำ 75% และ 90% ส่วนที่อัตราแนะนำที่ 50% แห้วหมูจะเจริญเติบโตอย่างช้าๆ

4.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ของสารสกัดจากกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์

4.2.1 ทดสอบความสามารถในการเป็น Early post- emergent ของกระเพราผี

ค่าเฉลี่ยทางสถิติที่ได้จากการทดลองแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 สารสกัดจากใบกระเพราผีต่อการยับยั้งการงอกของแห้วหมูแบบ Early post-emergent

เทียบเท่ากระเพราผี (กรัม)	ค่าเฉลี่ยต้นที่งอก	% การยับยั้ง	ความสามารถยับยั้ง
Control	18.33	-	-
2.00	12.83	30.01	ปานกลาง
4.00	8.83	51.83	มาก

ค่าเฉลี่ยจำนวนต้นที่งอก เปอร์เซ็นต์การยับยั้งและความสามารถในการยับยั้งแสดงให้เห็นว่าสารสกัดของใบกระเพราผีในเฮกเซน สามารถยับยั้งการเจริญของแห้วหมูที่เจริญแล้วได้ จากการสังเกตพบว่าชุดการทดลองที่ใส่สารสกัดจากใบกระเพราผี แห้วหมูจะไม่สมบูรณ์ มีใบค่อนข้างเหลือง ต้นของเหง้าแห้วหมูจะค่อยๆตายลงไปเรื่อยๆประมาณ 3 วัน หลังจากเริ่มทดลอง เหง้าที่ไม่ตายมีลักษณะต้นไม่สมบูรณ์เป็นอย่างมาก ซึ่งการทดลองนี้ทำให้ทราบใน เบื้องต้นว่าสารสกัดจากใบกระเพราผีสามารถควบคุมเหง้าแห้วหมูที่งอกแล้วได้ดีพอสมควร จึงได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากกระเพราผีเปรียบเทียบกับสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ต่อไป

4.2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ของสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน

ค่าเฉลี่ยทางสถิติของการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ในดิน แสดงในตารางที่ 14

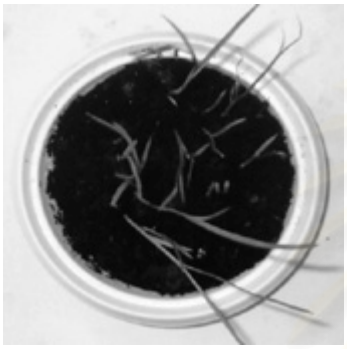
การวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทางสถิติพบว่าเฉพาะน้ำหนักแห้งของต้นและราก และความยาวต้นเท่านั้นที่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อพิจารณาการยับยั้งการงอกและการเจริญของต้นและราก พบว่ามีแนวโน้มคล้ายคลึงกับการทดสอบกับ pre-emergent คือ เมื่อใช้กระเพราผีที่ความเข้มข้นต่ำๆ แห้วหมูมีแนวโน้มที่จะเจริญเติบโตมากขึ้นแทนการถูกยับยั้ง แต่เมื่อความเข้มข้นสูงขึ้นถึงเทียบเท่าน้ำหนักแห้งของกระเพราผี 4.00 กรัม แห้วหมูมีการเจริญน้อยลง

ตารางที่ 14 แสดงผลการยับยั้งของการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ของสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน

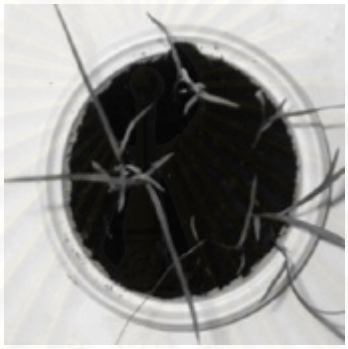
ชุดการทดลอง	ค่าเฉลี่ย (% การยับยั้ง)			
	ความงอก	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	จำนวนต้น	ความยาวต้น (cm)
ชุดควบคุม (ภาพ 11A)	96.67 ^{ab}	0.1598 ^{ab}	13.67 ^{ab}	14.95 ^{a}
เทียบเท่า 1.00 g (ภาพ 11B)	100.00^{a} (-3.44)	0.1696 ^{a} (-6.13)	13.00 ^{ab} (4.90)	14.16 ^{ab} (5.28)
เทียบเท่า 2.00 g (ภาพ11C)	90.00 ^{ab} (6.90)	0.1596 ^{ab} (0.13)	11.67 ^{ab} (14.63)	14.97 ^{a} (-0.13)
เทียบเท่า 4.00 g (ภาพ 11D)	90.00 ^{ab} (6.90)	0.1308 ^{abc} (18.15)	12.67 ^{ab} (7.32)	13.37 ^{ab} (10.57)
เทียบเท่า 5.00 g (ภาพ 11E)	93.33 ^{ab} (3.46)	0.1262 ^{abc} (21.03)	11.33 ^{ab} (17.12)	10.53 ^{c} (29.57)
เทียบเท่า 10.00 g (ภาพ 11 F)	83.33 ^{b} (13.80)	0.1081 ^{bc} (32.35)	10.00 ^{b} (28.65)	10.22 ^{c} (31.64)
Imazethapyr 50% (ภาพ 11G)	93.33 ^{ab} (3.46)	0.1662 ^{a} (-4.01)	14.33 ^{ab} (-4.83)	11.59 ^{bc} (22.47)

Imazethapyr 75% (ภาพ 11H)	93.33 [ab] (3.46)	0.1246 [abc] (22.03)	14.67 [a] (-7.32)	10.00 [c] (33.11)
Imazethapyr 90% (ภาพ 11I)	86.67 [ab] (10.34)	0.0843 [c] (47.25)	10.67 [ab] (21.95)	9.23 [c] (38.26)

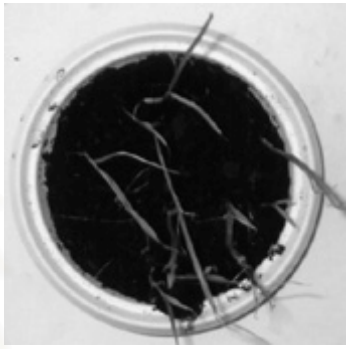
หมายเหตุ ตัวอักษรที่เป็นตัวยกที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าเฉลี่ยของตัวกลางที่ระดับความเชื่อมั่น 5%



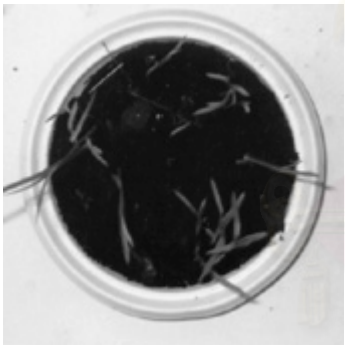
(A) ชุดควบคุม (control)



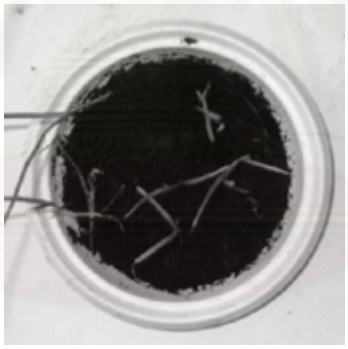
(B) กระเพราผี 1.00 กรัม



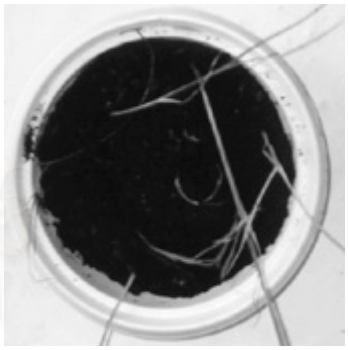
(C) กระเพราผี 2.00 กรัม



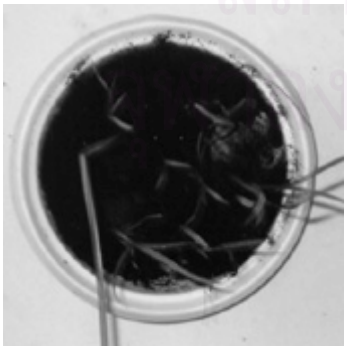
(D) กระเพราผี 4.00 กรัม



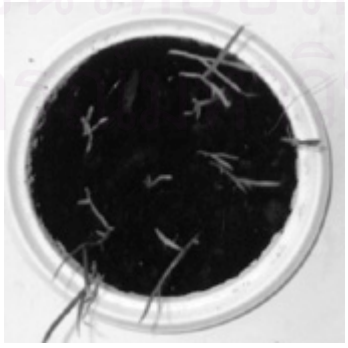
(E) กระเพราผี 5.00 กรัม



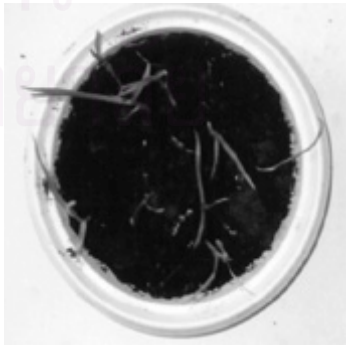
(F) กระเพราผี 10.00 กรัม



(G) Imazethapyr 50%



(H) Imazethapyr 75%



(I) Imazethapyr 90%

ภาพที่ 12 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ของสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

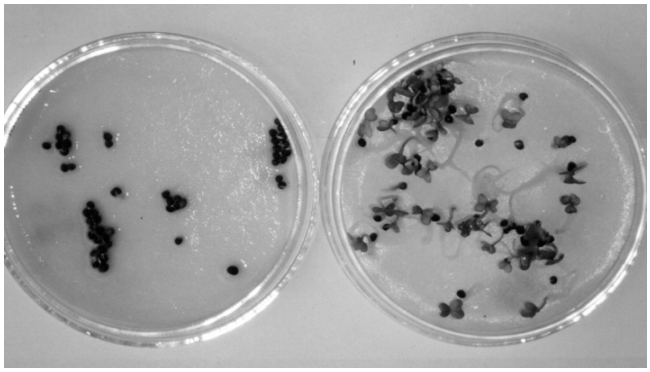
5. ทดสอบสารสกัดจากใบกระเพราผีที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืช

ค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ทางสถิติแสดงในตารางที่ 15

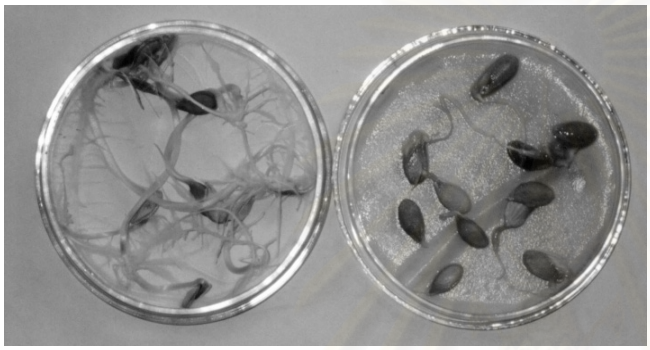
ตารางที่ 15 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีต่อกางอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืช

ชนิดของเมล็ดผัก		ค่าเฉลี่ย (% การยับยั้ง)		
		ความงอก	ความยาวต้น (cm)	ความยาวราก (cm)
ถั่วเขียว	Control	90.00	13.40	6.09
	Test	0.00 (100.00)	- (100.00)	- (100.00)
คะน้า	Control	50.67	1.48	1.34
	Test	0.00 (100.00)	- (100.00)	- (100.00)
ผักบุ้ง	Control	60.00	6.40	5.38
	Test	28.33 (47.17)	1.72 (73.12)	0.95 (82.34)
แตงกวา	Control	81.67	5.22	4.72
	Test	4.16 (94.90)	1.52 (70.88)	0.37 (92.16)
ฟักทอง	Control	78.33	4.80	11.64
	Test	6.67 (91.48)	1.75 (63.54)	2.25(80.67)

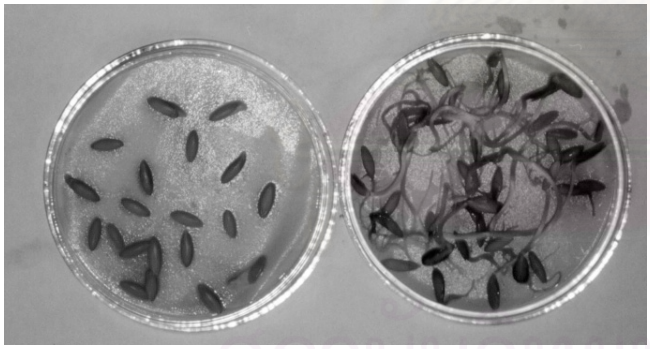
เมล็ดถั่วเขียวและเมล็ดคะน้าไม่มีการงอกของต้นอ่อนและรากเลย แต่แตงกวาและฟักทองเมื่องอกออกมาได้เล็กน้อย ต้นจะเน่าตายภายใน 1 –2 วัน ซึ่งผักบุ้งเป็นเมล็ดผักเพียงชนิดเดียวที่สามารถงอกได้ แต่การเจริญเติบโตของต้นและรากก็ถูกยับยั้งอย่างรุนแรง



(A) เปรียบเทียบเมล็ดผักคะน้าระหว่างใส่ (ซ้าย)และไม่ใส่สารสกัดจากกระเพราผี (ขวา)



(B) เปรียบเทียบเมล็ดฟักทองระหว่างใส่ (ขวา) และไม่ใส่สารสกัดจากกระเพราผี (ซ้าย)



(C) เปรียบเทียบเมล็ดแตงกวาระหว่างใส่ (ซ้าย) และไม่ใส่สารสกัดจากกระเพราผี (ขวา)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 13 ผลของสารสกัดจากใบกระเพราผีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดพืช

4.2 อภิปรายผลการทดลอง

การอภิปรายผลแบ่งตามหัวข้อการทดลอง

1. สารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

1.1 ทดสอบเบื้องต้นผลทางอัลลิโลพาธิของสารสกัดจากใบกระเพราผีในเอทานอลต่อแห้วหมู

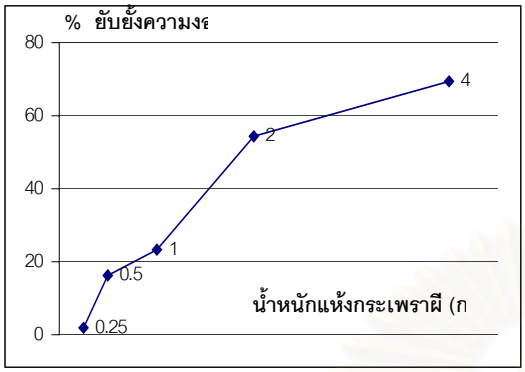
ผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยทางสถิติและเปอร์เซ็นต์ยับยั้ง พบว่าสารสกัดใบกระเพราผีในเอทานอลที่ความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้งใบกระเพราผี 3.00 กรัม สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญของทั้งต้นและรากแห้วหมูได้ดี โดยความสามารถในการยับยั้งเรียงตามลำดับจากมากไปน้อย คือ ยับยั้งน้ำหนักแห้งมากที่สุด 82.16% ยับยั้งจำนวนต้น 71.41% ยับยั้งความงอก 64.68% และยับยั้งความยาวของต้นที่งอกบนเหง้าแห้วหมูต่ำที่สุด 37.16%

1.2 ผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากใบกะเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

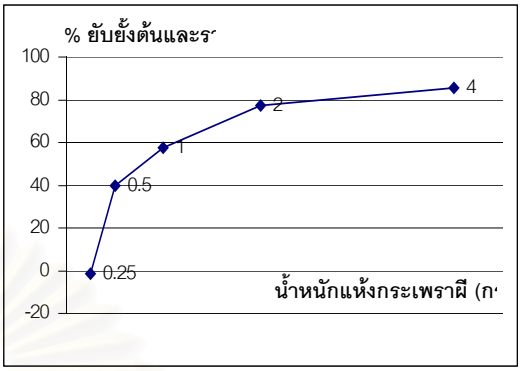
เมื่อนำเปอร์เซ็นต์ยับยั้งมาวิเคราะห์โดยการสร้างกราฟ แสดงในภาพที่ 14 จากกราฟแสดงให้เห็นว่าทั้งการยับยั้งความงอก (ภาพ 14A) การยับยั้งน้ำหนักแห้ง (ภาพ 14B) การยับยั้งจำนวนต้น (ภาพ 14C) และความยาวต้น (ภาพ 14D) ลักษณะของกราฟค่อนข้างเป็นเส้นตรง แสดงว่าสารสกัดในเอทานอลของใบกระเพราผีสามารถยับยั้งการเจริญของแห้วหมูทั้งต้น ราก และความยาวของต้น แต่การยับยั้งต้นและรากที่น้ำหนักแห้ง 0.25 กรัม มีค่าติดลบ คือ กระตุ้นการเจริญเติบโตของแห้วหมู เนื่องจากตามปกติแล้วสาร allelochemical ที่มีความเข้มข้นต่ำ มักกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชที่ได้รับสารนั้น แต่เมื่อได้รับความเข้มข้นสูงเพียงพอในระดับหนึ่ง ซึ่งในการทดลองนี้ คือ เมื่อใช้สารสกัดจากกระเพราผีในเอทานอลความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัมขึ้นไป พืชที่รับสารจะถูกยับยั้งอย่างชัดเจน และเมื่อความเข้มข้นของกระเพราผีที่ใช้สูงขึ้น ค่าเบี่ยงเบนมาตราฐานของทั้งจำนวนและความยาวต้น และน้ำหนักแห้งจะต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับที่ความเข้มข้นต่ำๆ

นอกจากนี้กราฟทั้ง 4 แสดงให้เห็นว่าความชันช่วงความเข้มข้นระหว่าง 1.00 – 2.00 กรัม จะมากกว่าช่วง 2.00 – 4.00 กรัม แสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหนักแห้งที่ใช้ในช่วง 1.00 – 2.00 กรัม มีประสิทธิภาพสูงกว่าช่วง 2.00 – 4.00 กรัม ในช่วง 1.00 – 2.00 กรัม แห้วหมูจะตอบสนองการยับยั้งเป็นอย่างมาก แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นมากขึ้น

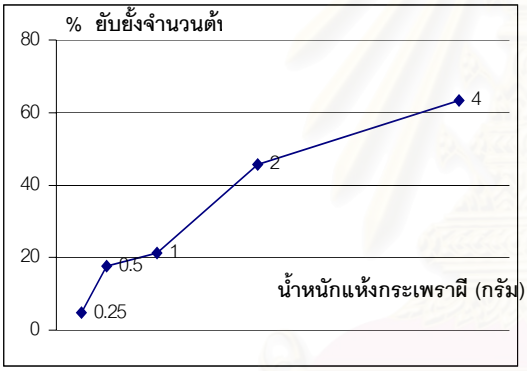
ประสิทธิภาพในการยับยั้งจะลดลง เห็นได้ชัดเจนโดยเฉพาะในเปอร์เซ็นต์ยับยั้งน้ำหนักแห้ง (ภาพ 14B) และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวต้น (ภาพ 14D)



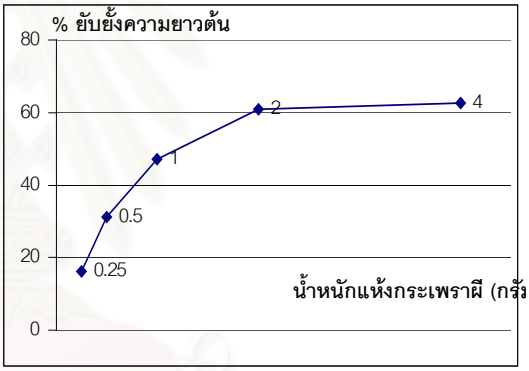
(A) น้ำหนักแห้งของกระเพราผี (กรัม) และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอก



(B) น้ำหนักแห้งของกระเพราผี (กรัม) และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งน้ำหนักแห้ง



(C) น้ำหนักแห้งของกระเพราผี (กรัม) และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งจำนวนต้น



(D) น้ำหนักแห้งของกระเพราผี (กรัม) และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวต้น

ภาพที่ 14 กราฟวิเคราะห์ผลของความเข้มข้นของกระเพราผีในเอทานอลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

2. ทดสอบชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดกระเพราผี

ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแสดงให้เห็นว่า ชนิดของตัวทำละลายซึ่งมีความเป็นขั้วแตกต่างกันและเวลาที่ใช้ในการสกัดมีผลอย่างยิ่งต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ที่ได้ ตัวทำละลายทำให้สามารถสกัดสารที่มีขั้วแตกต่างกันได้อย่างกว้างๆ ในแง่ของเวลาซึ่งการสกัดโดยใช้วิธีที่ 1 ได้ผลไม่ชัดเจนเท่าวิธีที่ 2 เนื่องจากเวลาที่ใช้ในการสกัดวิธีที่ 1 น้อยกว่าวิธีที่ 2 มาก ตามปกติแล้วผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมักมีหลายชนิดและมีความเป็นขั้วใกล้เคียงกัน ดังนั้นการแยกสารออกจากกันจึงต้องใช้เวลาพอสมควรในการแยก การที่สารสกัดในเฮกเซนซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งสูงที่

สุดเมื่อเปรียบกับเอทานอลซึ่งมีขั้วค่อนข้างสูง และคลอโรฟอร์มที่มีขั้วปานกลาง แสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของต้นและรากค่อนข้างมีความเป็นขั้วต่ำ

การวิเคราะห์ผลของตัวทำละลายแบ่งตามหัวข้อต่อไปนี้ คือ

2.1. เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอก

จากภาพ 15A วิธีสกัดวิธีที่ 1 การยับยั้งการงอกของสารสกัดทั้ง 3 ชนิดไม่แตกต่างกันมากนัก ส่วนวิธีสกัดวิธีที่ 2 การยับยั้งการงอกของสารสกัดในเอทานอล (0.86%) และสารสกัดในคลอโรฟอร์ม (2.89%) ค่อนข้างต่ำมาก เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดในเฮกเซน (15.29%) ทั้ง 2 วิธีมีแนวโน้มในการยับยั้งเพิ่มขึ้นเมื่อตัวทำละลายมีขั้วต่ำลง แสดงว่าสารออกฤทธิ์ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตมีความเป็นขั้วค่อนข้างต่ำ

2.2. เปอร์เซ็นต์ยับยั้งน้ำหนักแห้ง

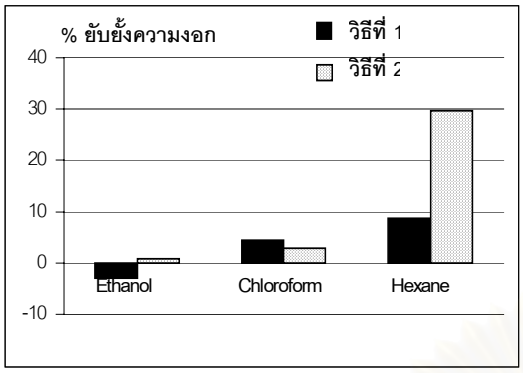
การยับยั้งน้ำหนักแห้งเป็นดรรชนีชี้วัดความสมบูรณ์ของต้นและรากแห้วหมู เนื่องจากบางชุดการทดลองเปอร์เซ็นต์ความงอก จำนวนต้นและความยาวมาก แต่ต้นไม่สมบูรณ์ ทำให้น้ำหนักแห้งของต้นและรากต่ำ ภาพ 15B แสดงกราฟเปรียบเทียบระหว่างวิธีสกัดวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 จะเห็นว่าในวิธีสกัดวิธีที่ 1 สารสกัดในเฮกเซน (32.81%) มีเปอร์เซ็นต์มากที่สุด ส่วนสารสกัดในเอทานอล (25.95%) และสารสกัดในคลอโรฟอร์ม (20.56%) ไม่มีความแตกต่างกันมากนัก ในวิธีสกัดวิธีที่ 2 สารสกัดในเอทานอล (4.42%) และสารสกัดในคลอโรฟอร์ม (0.60%) เกือบไม่ยับยั้งเลย เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดในเฮกเซน (52.23%) ที่มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงมาก แสดงว่าสารออกฤทธิ์ยับยั้งที่เคยอยู่ในสารสกัดในเอทานอลและสารสกัดในคลอโรฟอร์ม ในวิธีที่ 1 ได้รวมกันอยู่ในสารสกัดในเฮกเซนเกือบทั้งหมดในวิธีที่ 2 จากผลการทดลองดังกล่าว ทำให้สรุปได้ว่า เวลามีผลอย่างยิ่งต่อการสกัดสารออกฤทธิ์จากกระเพราผี เวลาที่เพิ่มขึ้นในวิธีสกัดวิธีที่ 2 ทำให้แยกสารออกฤทธิ์เพิ่มขึ้นได้เป็นอย่างมาก

เมื่อพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์ยับยั้งจากกราฟของสารสกัดในเอทานอลและสารสกัดในคลอโรฟอร์มเห็นได้ว่าสารสกัดในเอทานอลมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งสูงกว่าสารสกัดในคลอโรฟอร์ม ทั้ง 2 วิธี สันนิษฐานได้ว่าสารยับยั้งความสมบูรณ์ของต้นและรากมี 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีขั้วต่ำที่พบในเฮกเซนค่อนข้างมีฤทธิ์ยับยั้งสูง และกลุ่มที่มีความเป็นขั้วสูงพบในเอทานอล ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งต่ำกว่ากลุ่มที่พบในเฮกเซน

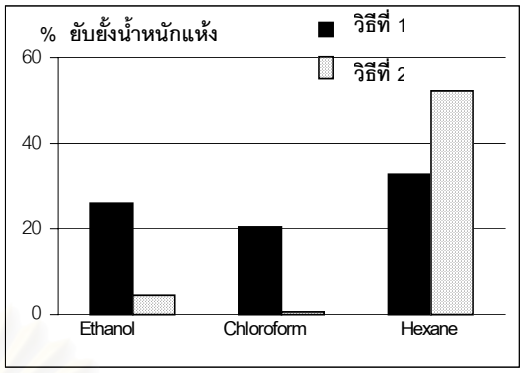
2.3. เปอร์เซ็นต์ยับยั้งจำนวนและความยาวต้น

เมื่อพิจารณาจากภาพ 15C และ 15D จะเห็นได้ว่าจำนวนและความยาวของต้นมีความสัมพันธ์กับแบบตรงข้าม ในวิธีที่ 1 เห็นได้อย่างชัดเจนว่าเปอร์เซ็นต์ยับยั้งจำนวนต้นของ สารสกัดในเอทานอลสูงสุด และต่ำสุดในสารสกัดในเฮกเซน แต่เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวต้นใน สารสกัดในเฮกเซนสูงสุด และต่ำสุดในสารสกัดในเอทานอล แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าจำนวนและความยาวต้นมีความสัมพันธ์กับชนิดตัวทำละลายหรือไม่ เนื่องจากจำนวนและความยาวต้นมีความแปรผันภายในชุดการทดลองสูง เพราะแห้วหมูเป็นสิ่งมีชีวิต เปอร์เซ็นต์ยับยั้งต้นและความยาวที่แตกต่างระหว่างสารสกัดแต่ละชนิดเกิดเนื่องจากชุดควบคุมมีจำนวนต้นและความยาวต้นแตกต่างกันเท่านั้น แต่ความยาวของสารสกัดในเฮกเซน ทั้ง 2 วิธีมีลักษณะเหมือนกันคือยับยั้งความยาวของต้นเป็นอย่างมาก ส่งผลให้สารสกัดในเฮกเซนมีน้ำหนักของต้นและรากน้อยกว่าในสารสกัดชนิดอื่นๆ

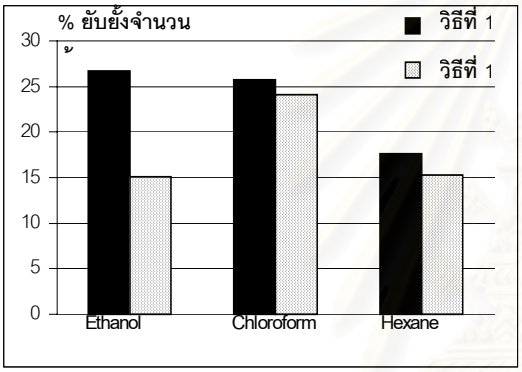
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



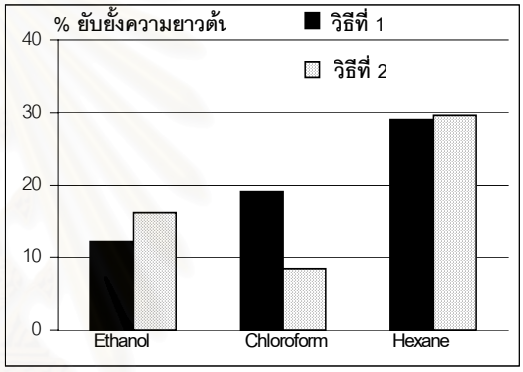
(A) เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอก



(B) เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ยับยั้งน้ำหนักแห้ง



(C) เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ยับยั้งจำนวนต้น



(D) เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวต้น

ภาพที่ 15 กราฟเปรียบเทียบผลของชนิดของตัวทำละลายและวิธีที่ใช้สกัดใบกระเพราผีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

3. หา fraction ที่มีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูมากที่สุด

การแยก fraction อย่างคร่าวๆด้วยเทคนิค Quick Column Chromatography ทำให้เกิดการแยกสารที่ยับยั้งการงอกของรากและต้นของเหง้าแห้วหมูตามความเป็นขั้วได้

4 fraction การวิเคราะห์ลักษณะของ fraction ต่างๆ แสดงในกราฟที่ 16 รหัสที่ใช้ในกราฟมีความหมายต่อไปนี้ คือ

- control คือ ชุดควบคุม

- H1 คือ fraction 100% hexane

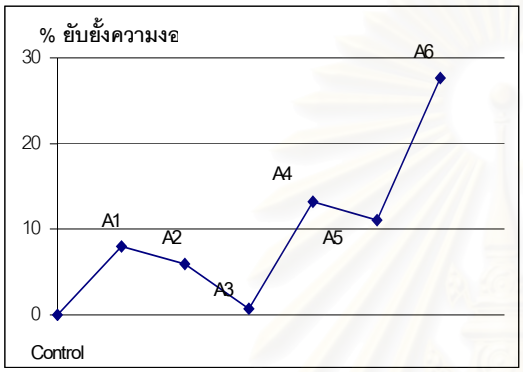
- H2 คือ fraction 50% hexane + 50% chloroform

- H3 คือ fraction 100% chloroform

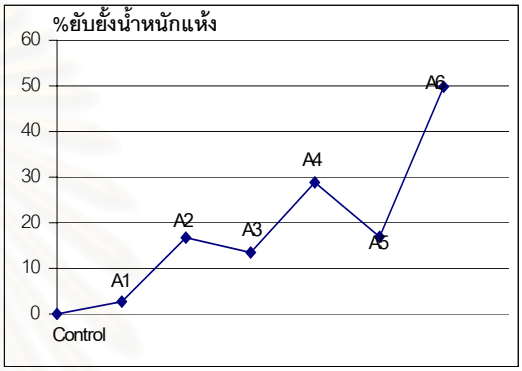
- H4 คือ fraction 90% chloroform + 10% ethanol

- H5 คือ ผสมกันระว่าง 4 fraction ที่แยกได้ เรียกว่า mix

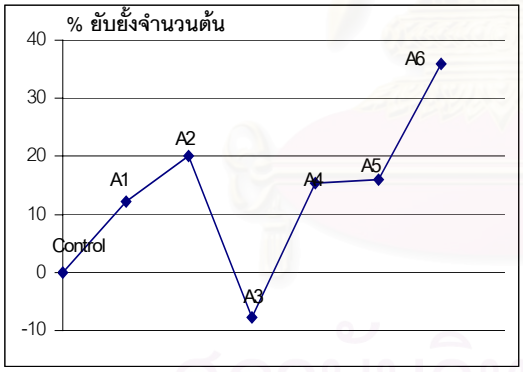
- H6 คือ สารสกัดในเฮกเซน (crude hexane) ที่ไม่ผ่านการแยก



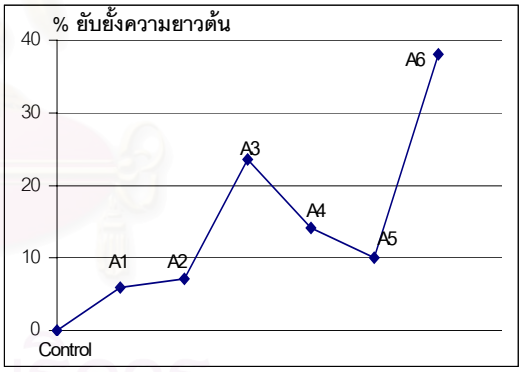
(A) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอก



(B) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งน้ำหนักแห้ง



(C) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งจำนวนต้น



(D) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวต้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 16 กราฟแสดงผลของสารสกัดกระเพราผีใน fraction ต่างๆ ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมู

เมื่อพิจารณาจากภาพที่ 16 กราฟทั้ง 4 fraction ที่แยกออกมาจะเห็นว่า fraction H4 (90% chloroform + 10% ethanol) มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอกและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งน้ำหนักแห้งสูงสุด แต่กลับพบว่า fraction H2 (50% hexane +50% chloroform) สามารถยับยั้งจำนวนต้นได้ดีที่สุด และ fraction H3 (100% chloroform) ยับยั้งความยาวต้น

แห้วหมูได้สูงสุด แสดงให้เห็นว่าสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการงอกและการเจริญของแห้วหมูนั้นมีหลายชนิดและมีขั้วที่แตกต่างกันพอสมควร แต่ขั้วไม่สูงมากพอที่จะละลายในชั้นคลอโรฟอร์มในการสกัดครั้งแรก ตรงตามที่ได้สันนิษฐานไว้ในการทดลองเรื่องของตัวทำละลาย fraction H5 (mix) ซึ่งเป็นการนำ fraction ทั้ง 4 มารวมกันเพื่อทดสอบว่าเมื่อสารถูกแยกออกจากกันแล้วนำมารวมกันอีกครั้งจะสามารถออกฤทธิ์ได้เท่าเดิมหรือไม่ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดในเฮกเซนที่ยังไม่เคยแยกมาก่อนเลย จากกราฟจะเห็นว่าการยับยั้งของ fraction H5 น้อยกว่า fraction H4 และสารสกัดในเฮกเซน (crude hexane; H6) อย่างชัดเจน แสดงว่าเมื่อสารถูกแยกออกจากกันแล้วจะไม่สามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งได้มีประสิทธิภาพเท่าเดิม นอกจากนี้ยังแสดงให้เห็นว่าสารออกฤทธิ์ยับยั้งนอกจากจะมีหลายชนิดแล้วยังต้องทำงานร่วมกันในการยับยั้งการเจริญของแห้วหมูอีกด้วย การแยกด้วยวิธี Quick Column Chromatography เป็นการแยกโดยใช้ตัวทำละลายที่มีความจำเพาะมากขึ้น ทำให้สารแยกไปในแต่ละ fraction เป็นปริมาณน้อย ทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งลดลงเป็นอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดในเฮกเซน

4.เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากใบกระเพราผีกับสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์

สารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ที่เลือกใช้ คือ Imazethapyr การวิเคราะห์จะแบ่งตามหัวข้อการทดลอง คือ การเปรียบเทียบแบบ pre–emergent และ Early post –emergent

4.1 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น pre–emergent ระหว่างสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน

เมื่อนำเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูมาสร้างกราฟจะได้ภาพที่ 17 ซึ่งรหัสที่ใช้ในกราฟมีดังนี้

หมายเลข 1 คือ Emulsion ที่ไม่ได้ใส่กระเพราผี

หมายเลข 2 คือ Emulsion ของกระเพราผี เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม

หมายเลข 3 คือ Emulsion ของกระเพราผี เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 กรัม

หมายเลข 4 คือ Emulsion ของกระเพราผี เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 4.00 กรัม

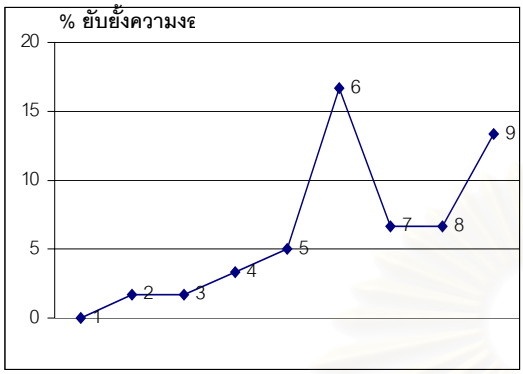
หมายเลข 5 คือ Emulsion ของกระเพราผี เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 5.00 กรัม

หมายเลข 6 คือ Emulsion ของกระเพราผี เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม

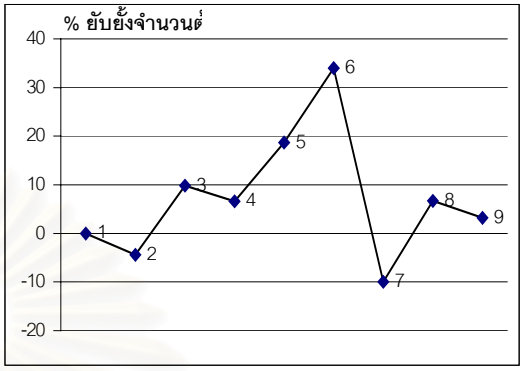
หมายเลข 7 คือ Imazethapyr ที่อัตรา 50% ที่อัตราแนะนำ

หมายเลข 8 คือ Imazethapyr ที่อัตรา 75% ที่อัตราแนะนำ

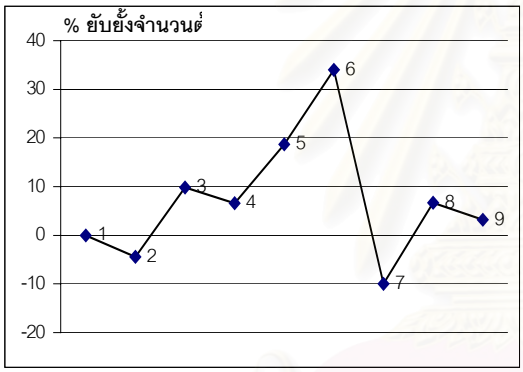
หมายเลข 9 คือ Imazethapyr ที่อัตรา 90% ที่อัตราแนะนำ



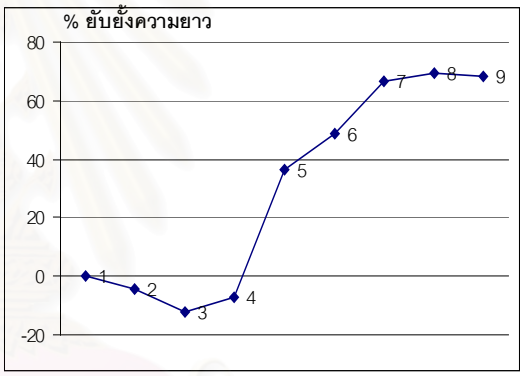
(A) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอก



(B) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งน้ำหนักแห้ง



(C) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งจำนวนต้น



(D) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวต้น

<u>ภาพที่ 17</u> กราฟเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น pre-emergent ของสารสกัดจากใบกระเพราผีและ Imazethapyr

จากกราฟแสดงให้เห็นว่าปริมาณของสารสกัดจากใบกระเพราผีที่ใช้ในการยับยั้งแห้วหมูเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองในจานเลี้ยงเชื้อ เห็นได้จากภาพ 17B 17C และ 17D ที่มีความเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนในช่วงความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้งกระเพราผี 4.00 – 5.00 กรัม ซึ่งสูงกว่าการทดลองในจานเลี้ยงเชื้อที่ใช้เทียบเท่าน้ำหนักแห้งเพียง 1.00 กรัม เนื่องจากการทดลองในจานแก้ว รากแห้วหมูจะสัมผัสกับสารสกัดจากกระเพราผีโดยตรง แต่การทดลองในดิน ดินจะดูดซับสารบางส่วนทำให้เหลือสารที่ยับยั้งการงอกในดินลดลง ทำให้ปริมาณกระเพราผีในดินเหลือน้อยลง เมื่อใช้สารสกัดจากใบกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 และ 2.00 กรัม แห้วหมูจึงแนวโน้มที่เจริญเติบโตมากกว่าถูกยับยั้ง (ภาพ 17B

17C และ 17D) สอดคล้องกับการทดลองในการทดลองผลของความเข้มข้นที่ว่าเมื่อใช้สารสกัดปริมาณน้อย จะเกิดกระตุ้นการเจริญเติบโตของแห้วหมูแทนที่จะยับยั้ง

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญของแห้วหมูระหว่างสารสกัดจากใบกระเพราผีและ Imazethapyr เมื่อพิจารณาจากกราฟ กระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับ Imazethapyr ที่อัตราแนะนำ 90% เป็นอย่างมาก โดยเฉพาะเปอร์เซ็นต์ยับยั้งจำนวนต้นและราก [กระเพราผี (40.23%) Imazethapyr (39.97%)] และเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอก [กระเพราผี (16.67%) Imazethapyr (13.33%)]

เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะกระเพราผีที่น้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม และ Imazethapyr อัตราแนะนำ 90% จากภาพ 17C และ 17D ความแตกต่างระหว่างการใช้กระเพราผีและ Imazethapyr ในการยับยั้งแห้วหมูเห็นได้ชัดเจนในเรื่องจำนวนและความยาวต้น เปอร์เซ็นต์ยับยั้งต้นของกระเพราผีสูงกว่า Imazethapyr เป็นอย่างมาก [กระเพราผี (34.00%) Imazethapyr (3.23%)] แต่ Imazethapyr ยับยั้งความยาวต้นมากกว่ากระเพราผี [กระเพราผี (48.67%) Imazethapyr (68.39%)] แสดงว่ากระเพราผีลดจำนวนต้นแห้วหมูแต่ไม่ลดความยาวของต้นมากนัก ส่วน Imzethapyr จะลดความยาวต้นมากแต่ลดจำนวนต้นน้อย

4.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post –emergent ระหว่างสารสกัดจากใบกระเพราผีและ Imazethapyr

4.2.1 ทดสอบความสามารถในการเป็น Early post –emergent ของกระเพราผี

เนื่องจากค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ความงอกระหว่างชุด Control และ Test มีความแตกต่างของเปอร์เซ็นต์ความงอกทางสถิติอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากกระเพราผีสามารถยับยั้งการเจริญของแห้วหมูหลังจากงอกได้ ซึ่งการทดลองนี้เป็นการทดสอบเบื้องต้นว่าสารสกัดจากใบกระเพราผีสามารถยับยั้งแห้วหมูที่เจริญแล้วได้หรือไม่ จึงไม่ทำการวิเคราะห์ในหัวข้อนี้

4.2.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post –emergent ของสารสกัดจากใบกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ในดิน

เมื่อนำเปอร์เซ็นต์ยับยั้งเมื่อนำมาสร้างกราฟ แสดงในภาพที่ 18 รหัสที่ใช้ในกราฟมีดังนี้

หมายเลข 1 คือ Emulsion ที่ไม่ได้ใส่กระเพราผี

หมายเลข 2 คือ Emulsion ของกระเพราผี เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม

หมายเลข 3 คือ Emulsion ของกระเพราผี เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 2.00 กรัม

หมายเลข 4 คือ Emulsion ของกระเพราผี เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 4.00 กรัม

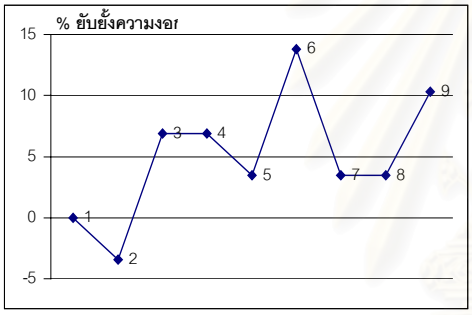
หมายเลข 5 คือ Emulsion ของกระเพราผี เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 5.00 กรัม

หมายเลข 6 คือ Emulsion ของกระเพราผี เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม

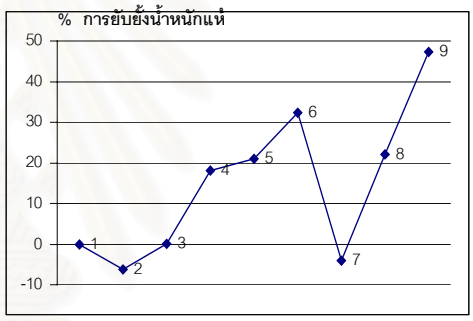
หมายเลข 7 คือ Imazethapyr อัตรา 50% ของอัตราแนะนำ

หมายเลข 8 คือ Imazethapyr อัตรา 75% ของอัตราแนะนำ

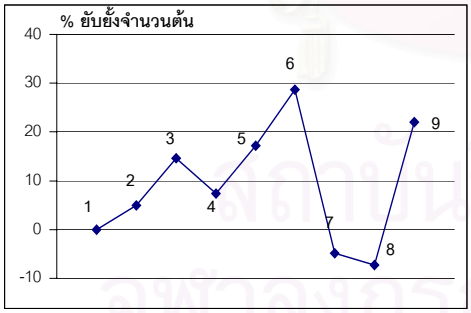
หมายเลข 9 คือ Imazethapyr อัตรา 90% ของอัตราแนะนำ



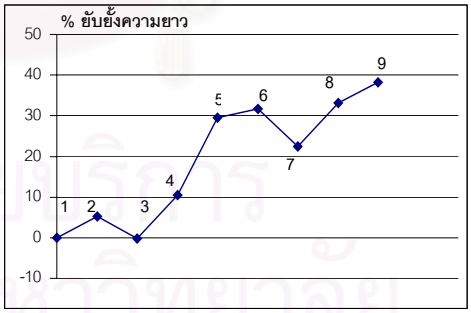
(A) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอก



(B) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งน้ำหนักแห้ง



(C) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งจำนวนต้น



(D) เปอร์เซ็นต์ยับยั้งความยาวต้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 18 กราฟเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเป็น Early post-emergent ของสารสกัดจากกระเพราผีและ Imazethapyr

ผลจากกราฟแสดงให้เห็นว่าปริมาณของกระเพราผีที่ใช้ยับยั้งแห้วหมูได้อยู่ในช่วง 5.00 – 10.00 กรัม ซึ่งสูงกว่าการทดสอบเปรียบเทียบ pre –emergent ที่ใช้กระเพราผีอยู่ในช่วง 4.00 – 5.00 กรัม เนื่องจากแห้วหมูที่เจริญเติบโตมากขึ้นจะแข็งแรงขึ้น ทำให้ต้องใช้ปริมาณกระเพราผีเพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างกระเพราผีและ Imazethapyr พบว่า กระเพราผีเทียบเท่า 10.00 กรัม และ Imazethapyr อัตราแนะนำ 90% มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอกใกล้เคียงกัน [กระเพราผี (13.80%) Imazethapyr (10.34%)] แต่เปอร์เซ็นต์ยับยั้งน้ำหนักแห้งของ Imazethapyr สูงกว่ากระเพราผี [กระเพราผี (32.35%) Imazethapyr (47.25%)]

ประสิทธิภาพของกระเพราผีเทียบเท่า 5.00 กรัม มีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกันกับ Imazethapyr อัตราแนะนำ 75% ลักษณะการยับยั้งของกระเพราผีจะยับยั้งจำนวนต้นได้มากกว่าความยาวต้น ส่วน Imazethapyr จะยับยั้งความยาวได้มากกว่าจำนวนต้น ซึ่งเป็นไปตามลักษณะเดียวกับการทดลอง pre-emergent แต่ความแตกต่างไม่ชัดเจนเท่ากับการทดลองใน pre-emergent

เช่นเดียวกับการทดลองที่ผ่านมา เมื่อใช้กระเพราผีปริมาณต่ำ จะทำให้เกิดการกระตุ้นการเจริญเติบโตแทนการยับยั้ง เห็นได้จากภาพ 18A 18B และ 18D

5. ผลต่อการยับยั้งเมล็ดพืชชนิดอื่น ๆ

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดในเฮกเซนเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 1.00 กรัม มีฤทธิ์ในการยับยั้งความงอกของเมล็ดถั่วเขียวและเมล็ดผักคะน้าอย่างรุนแรง (ตายหมด 100%) เมล็ดฟักทองและเมล็ดแตงกวา มีเมล็ดที่ใหญ่และหนาสามารถป้องกันสารจากกระเพราผีได้ในระดับหนึ่ง แต่เมื่อมีการงอกออกมาเล็กน้อย สารยับยั้งเข้าไปทำลายต้นอ่อนทำให้ต้นอ่อนตายภายใน 2 – 3 วัน เมล็ดผักบุ้ง เป็นเมล็ดที่ทนทานต่อการทำลายของกระเพราผีได้ดีที่สุด ถูกยับยั้งความงอก 47.17% แต่ความยาวของต้น (73.12%)และราก (82.34%) ถูกยับยั้งอย่างรุนแรงเช่นเดียวกับเมล็ดพืชทั้ง 4 ชนิดที่นำมาทดสอบ

4.3 ผลการวิเคราะห์ปัจจัย

จากการทดลองและการสังเกต พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งการงอกและการเจริญของแห้วหมู ได้แก่

4.3.1. ความสมบูรณ์และขนาดของเหง้าแห้วหมู

เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญที่สุด เหง้าแห้วหมูที่มีความสมบูรณ์มากจะสามารถต่อต้านต่อสารสกัดจากใบกระเพราผีได้ดีขึ้น การทดลองในแต่ละชุดจะมีความผันแปรเป็นอย่างมากเมื่อแห้วหมูมีความสมบูรณ์แตกต่างกัน เหง้าแห้วหมูไม่สมบูรณ์เนื่องจากขึ้นในบริเวณที่มีปัจจัยที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแห้วหมู เช่น สภาวะที่ขาดน้ำหรือดินไม่อุดมสมบูรณ์

ผลจากขนาดของเหง้าแห้วหมูเนื่องจาก เหง้าแห้วหมูที่มีขนาดใหญ่จะได้รับสารต่อน้ำหนักเหง้าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเหง้าแห้วหมูขนาดเล็ก ซึ่งปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อขนาดแห้วหมูคือ ความถี่ในการขุดเหง้าแห้วหมูของเกษตรกร แปลงที่มีการขุดทำลายบ่อยครั้งเหง้าแห้วหมูจะมีขนาดเล็ก

ฤดูกาลเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อขนาดของแห้วหมู ในฤดูฝน แห้วหมูจะเจริญเติบโตขยายพันธุ์อย่างรวดเร็ว แต่มีการสะสมอาหารไว้ในเหง้าน้อยมาก ซึ่งตรงข้ามกับฤดูร้อนแห้วหมูจะสะสมอาหารอย่างรวดเร็ว เป็นเหตุผลเดียวกันแห้วหมูที่ขึ้นในบริเวณที่แห้งแล้งมักจะมีการสะสมอาหารไว้ในเหง้าจำนวนมาก

4.3.2 ความเข้มข้นของสารสกัดจากกระเพราผีที่ใช้

ความเข้มข้นของสารสกัดจากกระเพราผีที่ใช้ มีผลอย่างยิ่งต่อการเจริญเติบโตของแห้วหมู เมื่อใช้กระเพราผีที่ความเข้มข้นต่ำ แห้วหมูจะถูกกระตุ้นการเจริญเติบโต ซึ่งแสดงได้จากการทดลองเรื่องผลของความเข้มข้น สารสกัดกระเพราผี 0.25 กรัมทำให้แห้วหมูเจริญเติบโตมากกว่าชุดการทดลองที่ไม่ได้ใส่สารสกัดกระเพราผี แต่เมื่อใช้สารสกัดจากกระเพราผี 1.00 กรัมหรือมากกว่า การงอกและการเจริญของแห้วหมูจะลดลงอย่างเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารสกัดกระเพราผีที่ใช้

4.3.3. ชนิดของตัวทำละลายและเวลาที่ใช้สกัด

ตัวทำละลายที่มีขั้วแตกต่างกันที่ใช้สกัดกระเพราผี สามารถสกัดแยกกลุ่มของชนิดสารออกมาได้แตกต่างกัน เฮกเซนซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ สามารถสกัดสารออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูสูงสุด นอกจากความเป็นขั้วของตัวทำละลายแล้ว เวลาที่ใช้ในการสกัดก็เป็นสิ่งสำคัญเช่นเดียวกัน เนื่องจากสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มและมีความเป็นขั้วใกล้เคียงกันมาก ทำให้ต้องใช้เวลาในการค่อยๆแยกออกมาจึงจะแยกออกมาได้สมบูรณ์

4.3.4 ความสามารถและปริมาณในการเข้าถึงของสารเคมีที่ยับยั้งการงอกของแห้วหมู

การยับยั้งการเจริญเติบโตของแห้วหมู มีปัจจัยจำนวนมากที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ความลึกของเหง้าแห้วหมูจากหน้าดิน รูพรุนของดินและปริมาณน้ำซึ่งมีผลต่อการเข้าถึงเหง้าแห้วหมูของสารที่ออกฤทธิ์ นอกจากนี้การทดลองในดิน สารสกัดจากใบกระเพราผีซึ่งอยู่ในรูปของ Emulsion การเตรียม Emulsion ที่ดีทำให้สารออกฤทธิ์กระจายได้อย่างสม่ำเสมอและได้รับขนาดที่แน่นอน

4.3.5 ปริมาณแสงและอุณหภูมิที่เหง้าแห้วหมูได้รับ

ปริมาณแสงเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิ ซึ่งแห้วหมูจะเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณแสงที่ได้รับไม่เท่ากันในแต่ละชุดการทดลอง ทำให้เกิดความแปรผันของผลการทดลองอย่างเห็นได้ชัดเจน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยสารสกัดจากกระเพราผีที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแห้วหมู มีจุดประสงค์เพื่อหา fraction ที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูได้มากที่สุด การทดลองเริ่มต้นโดยทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูในจานเลี้ยงเชื้อ ใช้สารสกัดใบกระเพราผีในเอทานอลที่ความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 3.00 กรัม ซึ่งพบว่าสารสกัดใบกระเพราผีสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าแห้วหมูได้ดี โดยยับยั้งความงอก 64.68% ยับยั้งน้ำหนักแห้ง 82.16% ยับยั้งความยาวต้น 37.61% และยับยั้งจำนวนต้น 71.41% ซึ่งการทดสอบเบื้องต้นทำให้ทราบว่าสารสกัดกระเพราผีในเอทานอลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูได้จริง จึงทำการทดสอบโดยใช้สารสกัดจากกระเพราผีในเอทานอลที่ความเข้มข้นเทียบเท่าน้ำหนักแห้งต่างๆ คือ 0.00 (ชุดควบคุม) 0.25 0.50 1.00 2.00 และ 4.00 กรัม ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดกระเพราผีที่มีความเข้มข้นต่ำๆ มีแนวโน้มกระตุ้นการเจริญเติบโตของแห้วหมูคล้ายคลึงกับสาร allelochemical ทั่วไปที่เมื่อใช้ความเข้มข้นต่ำๆ มักจะทำให้พืชที่ได้รับสารนั้นเจริญเติบโตมากขึ้น แต่เมื่อใช้สารสกัดกระเพราผีที่มีความเข้มข้นสูงขึ้น คือ มากกว่าหรือเท่ากับ 1.00 กรัม แห้วหมูจะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตอย่างชัดเจนและมากขึ้นตามลำดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น และความเข้มข้นของสารสกัดกระเพราผีที่เหมาะสมใช้ในการทดลองต่อไปคือ 1.00 กรัม การทดลองแยกสารสกัดกระเพราผีด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วแตกต่างกัน เพื่อหาสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งแห้วหมูได้ดีที่สุด โดยใช้เฮกเซน คลอโรฟอร์ม และเอทานอล เป็นตัวทำละลายสกัดแยกขั้ว โดยเปรียบเทียบวิธีสกัด 2 วิธี เฮกเซนซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ สกัดสารยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของแห้วหมูได้ดีที่สุด ซึ่งปริมาณสารออกฤทธิ์ยับยั้งแห้วหมูที่สกัดได้นอกจากจะขึ้นกับชนิดของตัวทำละลายแล้ว ยังขึ้นกับเวลาที่ใช้ในการสกัดด้วย ในวิธีสกัดวิธีที่ 2 ซึ่งสกัดจากใบกระเพราผีโดยตรงและใช้เวลาในการสกัดมากกว่าวิธีที่ 1 เฮกเซนที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีที่ 2 มีสารออกฤทธิ์ยับยั้งแห้วหมูมากกว่าเฮกเซนในวิธีที่ 1 อย่างชัดเจน นอกจากนี้การสกัดแยกด้วยวิธีที่ 1 ทำได้ไม่สมบูรณ์ เมื่อนำสารสกัดในเฮกเซนที่ได้จากวิธีที่ 2 ซึ่งมีสารออกฤทธิ์ยับยั้งแห้วหมูมากที่สุดมาแยก fraction ด้วยวิธี Quick Column Chromatograph ด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วแตกต่างกัน 4 ชนิดจากน้อยไปมาก คือ 100% เฮกเซน 50% คลอโรฟอร์ม ใน 50% เฮกเซน 100% คลอโรฟอร์ม และ 10% เอทานอบใน 90% คลอโรฟอร์ม เปรียบเทียบ

กับสารสกัดเฮกเซนที่ผ่านการแยกแล้วนำมารวมกันอีกครั้งและสารสกัดในเฮกเซนที่ไม่ผ่านการแยก พบว่าสารสกัดในเฮกเซนที่ไม่ผ่านการแยกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแห้วหมูได้ดีที่สุด เนื่องจากการแยกสารสกัดในเฮกเซนด้วยตัวทำละลายที่มีความจำเพาะมากขึ้น ทำให้จำนวนชนิดของสารยับยั้งแห้วหมูมีจำนวนน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดในเฮกเซนที่ไม่ได้แยก ดังนั้นจึงใช้สารสกัดกระเพราผีที่ยังไม่ได้แยกในการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างสารสกัดจากกระเพราผีและสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ Imazethapyr ซึ่งเป็นสารกำจัดวัชพืชสังเคราะห์ที่ใช้ควบคุมแห้วหมูในไร่ถั่วเหลือง โดยการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพทั้งแบบการทำลายวัชพืชก่อนงอก (pre – emergent) และการทำลายวัชพืชหลังงอกไม่เกิน 10 วัน (Early Post – emergent) ในดิน การทดลองเปรียบเทียบแบบ pre-emergent และ Early post –emergent ใช้สารสกัดกระเพราผีที่เตรียมเป็น Emulsion ชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water type Emulsion) เทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 0.00 (ชุดควบคุม) 1.00 2.00 4.00 5.00 และ 10.00 กรัม และใช้ความเข้มข้นของ Imazethapyr 50% , 75% และ 90% ของอัตราแนะนำ โดยอัตราแนะนำเท่ากับ 400 ลูกบาศก์เซนติเมตร / ไร่ ผสมน้ำ 80 ลิตร ซึ่งในการทดลองเปรียบเทียบแบบ pre–emergent สารสกัดจากใบกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับ Imazethapyr ที่อัตราแนะนำ 90% โดยมีเปอร์เซ็นต์ยับยั้งความงอกและเปอร์เซ็นต์ยับยั้งน้ำหนักแห้งใกล้เคียงกัน และการเปรียบเทียบแบบ Early post – emergent สารสกัดจากใบกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 10.00 กรัม มีประสิทธิภาพยับยั้งความงอกใกล้เคียงกับ Imazethapyr ที่อัตราแนะนำ 90% ส่วนกระเพราผีเทียบเท่าน้ำหนักแห้ง 5.00 กรัม มีประสิทธิภาพยับยั้งน้ำหนักแห้งใกล้เคียงกับ Imazethapyr ที่อัตราแนะนำ 75% ปริมาณสารสกัดกระเพราผีที่ใช้ในการยับยั้งแห้วหมูในดินสูงขึ้นมากเมื่อเปรียบเทียบกับการทดลองจานเลี้ยงเชื้อเนื่องจากสารสกัด กระเพราผีจะสามารถยับยั้งแห้วหมูได้ดีเมื่อสารถูกเหง้าแห้วหมูโดยตรง และลักษณะที่พบร่วมกันทั้งการทดลองแบบยับยั้งการงอกและยับยั้งหลังงอกคือ กระเพราผีจะยับยั้งจำนวนต้นมากกว่าความยาวต้น ในขณะที่ Imazethapyr จะยับยั้งความยาวต้นมากกว่าจำนวนต้น การทดลองสุดท้ายคือ การทดสอบผลทาง allelopathy ของสารสกัดกระเพราผีต่อเมล็ดพืช ถั่วเขียวและคะน้าถูกยับยั้งการงอกอย่างรุนแรง ตายหมด 100% ส่วนฟักทองและแตงกวามีเมล็ดที่ใหญ่และหนาสามารถป้องกันสารสกัดจากกระเพราผีได้ในระดับหนึ่ง แต่เมื่อมีการงอกออกมาและได้รับสารสกัดกระเพราผีเข้าไป ทำให้ต้นอ่อนของฟักทองและแตงกวาตายอย่างรวดเร็ว ผักบุ้งมีความทนทานต่อสารสกัดกระเพราผีมากที่สุด เนื่องจากเมล็ดผักบุ้งมีเปลือกที่เหนียวมาก ทำให้สาร allelochemical เข้าสู่เซลล์ของผักบุ้งได้น้อยกว่า

5.2 ข้อจำกัดของการวิจัย

การทดลองเกี่ยวกับสิ่งมีชีวิตมีปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้เป็นจำนวนมาก เช่น ความแข็งแรงของเหง้าแห้วหมูที่ใช้ ปริมาณแสงอาทิตย์ที่ได้รับ ทำให้ค่าที่ทดลองได้มีความแปรปรวนสูง ซึ่งการทดลองบางส่วนทำในจานเลี้ยงเชื้อ ถ้านำมาทดลองในแปลงปลูกอาจได้ข้อมูลที่ไม่เหมือนกับผลการทดลอง เนื่องจากมีปัจจัยแปรผันอื่นๆจำนวนมาก เช่น ชนิดของเนื้อดิน ความชื้น ปริมาณน้ำฝน ปฏิกิริยาในดินที่เกิดเนื่องจากจุลินทรีย์หรือสารเคมีชนิดต่างๆ

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาเพิ่มเติมโดยเลือกวัชพืชชนิดอื่นๆ เนื่องจากสารที่สกัดได้จากใบกระเพราผีอาจมีฤทธิ์ทำลายที่จำเพาะต่อวัชพืชชนิดใดชนิดหนึ่ง

2. ศึกษาเพิ่มเติมเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างสารสกัดจากใบกระเพราผีสดและใบกระเพราผีแห้ง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กรกช ชั้นจิรกุล. การเสาะหาสารเคมีเพื่อการเกษตรจากวัชพืชบางชนิดในวงศ์ Euphorbiaceae . วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2541.

กรรณิการ์ สุขเกษมและสุชาติ ประสิทธิ์รัฐสินธุ์. การวิเคราะห์ปัจจัย การวิเคราะห์จัดกลุ่ม. กรุงเทพฯ : สถาบันบัณฑิตพัฒนาบริหารศาสตร์, 2533 : หน้า 70-79.

กฤตาภร ณ นคร และปริชาติ ลิ้มไพบูลย์. องค์ประกอบทางเคมีของกระเพราผี. ซีเนียร์โปรเจค ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2534 : หน้า 20-34.

กลุ่มเกษตรสัญจร. วัชพืช. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : กลุ่มเกษตรสัญจร, 2540 : 30-35.

กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร. ข่าวพฤกษศาสตร์และวัชพืช 5 (ตุลา – ธันวา 2535) : 1-3.

กัลยา วานิชย์บัญชา. การวิเคราะห์สถิติ : สถิติเพื่อการตัดสินใจ. พิมพ์ครั้งที่ 3 . กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2540 : หน้า 315-350.

กัลยา วานิชย์บัญชา. การใช้ SPSS for windows ในการวิเคราะห์ข้อมูล.พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ซี เค แอนด์ เอส โฟโต้สตูดิโอ,2543 : หน้า 35 – 65,278 – 289.

เจ เอฟ แมกซ์เวลและธวัชชัย รัตน์ชเลศ. ชื่อวัชพืชในเมืองไทย = Weed names in Thailand เชียงใหม่ : ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2537 : หน้า 114.

เจ เอฟ แมกซ์เวลและธวัชชัย รัตน์ชเลศ .รายชื่อวัชพืชที่มีรายงานพบในประเทศไทย.พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ : โครงการพัฒนาความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย , 2540 : หน้า 117, 118.

ชฎาพร เกิดปัญญา. องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของผักปอดนา (*Sphenoclea zeylanica* Gaertn.) . วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2535.

ไชยยศ สุพัฒนกุล, ประทีป กระแสสินธุ์และสมบัติ ชีณะวงศ์.คำแนะนำการควบคุมวัชพืช 2531. กรุงเทพฯ : งานวิทยาการวัชพืช กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2531 : หน้า 23-25.

ไซอานามิด. แบบแจ้งรายละเอียดเกี่ยวกับสารเคมีอันตราย (Material safety data sheet), 2538.

ธวัชชัย รัตน์ชเลศ. เทคโนโลยีสารกำจัดวัชพืช. กรุงเทพฯ : รั้วเขียว, 2540 : หน้า 128 -149.

นวลศรี ทยาพัชร. รายงานวิชาการ ปัญหาสารพิษทางการเกษตรในประเทศไทย. กรุงเทพฯ : กองวัตถุมีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2533 : หน้า 12.

บรรพต ณ ป้อมเพชร. การควบคุมศัตรูพืชและวัชพืชโดยชีววิธี. กรุงเทพฯ : ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ, 2525 : หน้า 28-45.

บุญเอิญ มิลินทสูต. พจนานุกรมพฤกษศาสตร์. กรุงเทพฯ : ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร, 2536 : หน้า 114, 117, 119.

ปัญญา มณีจักร์. องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของหญ้าค้อนกลอง *sphaeranthus africanus* linn. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2537.

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. วัชพืชศาสตร์. กรุงเทพฯ : รั้วเขียว, 2540 : หน้า 23 -79.

ภาวิณี คณาสวัสดิ์. โครมาโตกราฟฟีพื้นฐาน. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2529 : หน้า 38-42.

รังสิต สุวรรณเขตนิคม. สารกำจัดวัชพืชกับผลทางสรีรวิทยาของพืช. กรุงเทพฯ : จงเจริญการพิมพ์, 2531 : หน้า 35 -39.

วราภรณ์ สุวกูล. อิมัลชัน. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2527 : หน้า 38.

วรินทร ชวศิริ และสันติ ทิพยางค์. สารอัลลิโลพาธิคจากวัชพืชไทย : รายงานวิจัย. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2538 : หน้า 128–131.

วัชรี คุณกิตติ และสุธี เวคะวากยานนท์. เทคนิคการตั้งตำรับยาเตรียม. พิมพ์ครั้งที่ 2. ขอนแก่น : โครงการผลิตตำราคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2541 : หน้า 32-35.

ศิริชัย พงษ์วิชัย. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยคอมพิวเตอร์. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2532 : หน้า 12–35, 112–145.

ศิริพร ซึงสนธิพร. ผลทางอัลลิโลพาธิคของวัชพืชสาบหมา *(Eupatorium adenophorum* Spreng.) ต่อการเจริญเติบโตของพืชปลูกและวัชพืชบางชนิด, วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2532.

สุรพล อุปดิสสกุล. สถิติ : การวางแผนการทดลอง เล่ม 1. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ : สหมิตรออฟเซท, 2536 : หน้า 27-45.

ภาษาอังกฤษ

Ahmed, M.W.S. and Irwin, P. The compostion of leaf oil of *Hyptis suaveolens*. Journal of Essential Oil Research 6 (1994) : 571-575.

Ahn, J.K., Chung, I.M. and Yun, S.J. Identification of allelopathic compounds from rice (*Oryza sativa* L.) straw and their biological activity. Canadian Journal of Plant Science 81 (Oct 2001) : 815-819.

Arsenault, W., Christie, B.R., Kimpinski, Matheson, B.G.J. and Sturz, A.V. Weeds as a source of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural soils. Canidian Journal of Microbiology 47: (Nov 2001) : 1013-1024.

Bryan, T. Research methods in weed science. 2nd ed. Auburn, Albabma : Southern Weed Science Society, 1977 : 122–127 .

Carroll, B.L., Cheary, B.S., Smith, M.W. and Wolf, M.E. Allelopathy of bermudagrass, tall fescue, redroot pigweed, and cutleaf evening primrose on pecan. Hortscience 36: (Oct 2001) : 1047-1048.

Chittapur, B.M., Hunshal, C.S. and Shenoy, H. Allelopathy in parasitic weed management: role of catch and trap crops. Allelopathy Journal 8: (Jul 2001) : 147-150.

Colbert, J.C. Foam and emulsion control agents and processes. New Jersey : Noyes Data, 1981 : 45-46.

Dayan, F.E., Kobicy, M., Schrader, K.K., Tellez, M.R., Webber, C.L. and Wedge, D.E. Phytotoxic and fungitoxic activities of the essential oil of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) leaves and its composition. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49 (Aug 2001) : 3768-3771 .

Facts and Comparisons. The review of natural products : the most complete source of natural product information. St. Louis : Facts and Comparisons, 2001 : 25-27.

Floyd, M.A. and Glenn, C.K. Weed science : principles and practices. 2nd ed. New York : Wiley, 1982 : 172–179.

Ghosh, P.K., Mukherjee, K.S. and Mukherjee, R.K. Chemistry of *Hyptis suaveolens*. Journal of Natural Product 47(1984) : 377-378.

Goto, Y. Allelopathic sesquiterpenoids from rhizomes of *Petasites japonicus ssp* giganteus Kitam. Phytochemistry 57 (May 2001) : 109-113.

Gowda, D.C. Components of the seed coat mucilage from *Hyptis suaveolens* . Phytochemistry 23(1984) : 377-378.

Inderjit, K.M.M, Dakshini, L.F. and Chester, L.F. Principles and practices in plant ecology : Allelochemical Interactions : CRC Press, 1999 : 211-212 .

Ino, T. and Kato-Noguchi, H. Assessment of allelopathic potential of root exudate of rice seedlings. Biologia Plantarum 44: (2001) : 635-638.

Jaenson, T.G. and Palsson, K. Plant products used as mosquito repellents in Guinea Bissau, West Africa. Acta Trop 72 (1999) : 39-52.

Janick, J. Plant science : an introduction to world crops. San Francisco : Freeman, 1969 : 35-45.

Jensen, N.F. Plant breeding methodology. New York : Wiley, 1988 : 79-81.

Kenji, N. Major weeds in Thailand : illustrated by color. Bangkok : National Weed Science Research Institute Project, 1985 : 89.

Klejdus, B. and Kuban, V. High performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in seed exudates of *Festuca arundinacea* and F-pratense. Phytochemical Analysis 11(Nov-Dec 2000) : 375-379.

Klingman, G.C. Weed science : principles and practices. New York : Wiley, 1975 : 25-27.

Kobaisy, M. Phytotoxic and fungitoxic activities of the essential oil of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) leaves and its composition. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49 : (Aug 2001) : 3768-3771.

Kraus, E. and Lambers, H. Leaf and root respiration of *Lolium perenne* populations selected for contrasting leaf respiration rates are affected by intra- and interpopulation interactions. Plant and Soil 231 (Apr 2001) : 267-274 .

Kurt, B.G.T. Natural product chemistry. Chichester : J. Wiley, 1983 : 117-119.

Larry, O.C. and Miller, B.M. Principles of seed science and technology. 3rd ed. New York : Chapman & Hall, 1995 : 67-69.

Manchand, P.S and White, J.D. Structures of Suaveolic acid and Suaveolo. Journal of Organic Chemistry. 39 (1974) : 2306-2308.

Mayer, A.M. and Poljakoff-Mayber, A. The germination of seeds. 3rd ed. Oxford : Pergamon Press, 1982 : 112-115.

Misara, T.N., Singh, R.S. and Upadhyay, J. Triterpenoids from *Hyptis suaveolens*. Phytochemistry 22(1983) : 2557-2558.

Misara, T.N., Singh, R.S. and Upadhyay, J. A Natural triterpene acid from *Hyptis suaveolens*. Phytochemistry 22 (1983) : 603-605.

Nakano, H. A growth-inhibitory substance exuded from freeze-dried mesquite (*Prosopis juliflora (Sw.)* DC.) leaves. Plant Growth Regulation 33 (Mar 2001) : 165-168.

Parker, R. Introduction to plant science. Albany, N.Y. : Delmar Publishers, 2000 : 79-81.

Peerzada, N. Chemical composition of the essential oil of *Hyptis Suaveolens*. Molecules 2(Nov 1997) : 165-168.

Prakasa, R. and Raja, R. An a-ring contracted Triterpenoid form *Hyptis suaveolens*. Phytochemistry 29(1990) : 1326-1329.

Premasthira, C. and Zungsontiporn, S. Allelopathic effects of wild spikenard (*Hyptis suaveolens* Poit.) on growth of Rice. 16th Asian-Pacific weed society conference (1992) : 377-380.

Research methods in weed science. Atlanta, Georgia : Southern Weed Science Society, 1972 : 125–126.

Rice, E.L. Allelopathy. 2nd ed. Orlando : Academic Press, 1984 :175–215, 278-290.

Rizvi, S.J.H. and Rizvi, V. Allelopathy : basic and applied aspects. New York : Chapman and Hall, 1991 : 38-45.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. วิธีการเตรียม Imazethapyr ที่ % ต่างๆ

* ใช้สารกำจัดวัชพืช persuit 5%

ซึ่งอัตราแนะนำของ Imazethapyr จากฉลากยา คือ

400 ลูกบาศก์เซนติเมตร (ยา) / ไร่ ผสมกับน้ำ 80 ลิตร

ดังนั้นอัตราใช้ 100 % = 5.0 cm^3 (ยา) / 1000 cm^3 (น้ำ) /ไร่

อัตราใช้ 100 % = 1.0 cm^3 (ยา) / 200 cm^3 (น้ำ) /ไร่

พื้นที่ 1 ไร่ = 1600 x100 x100 cm^2

= 1.6×10^6 cm^2

กระถางเพาะทดลองมีรัศมี 4.5 เซนติเมตร ดังนั้นจะมีพื้นที่ 63.6 cm^2

พื้นที่ 1.6×10^6 cm^2 ใช้น้ำ 80 x1000 cm^3

พื้นที่ 63.6 cm^2 ใช้น้ำ 0.32 cm^3

เพื่อให้การเตรียมทำได้ในทางปฏิบัติเตรียม Imazethapyr ในน้ำ 200 cm^3 ในขวดวัดปริมาตร

- เตรียม 50% Imazethapyr

จะต้องใช้ตัวยา = 0.5 x 1.0

= 0.5 cm^3 / ในน้ำ 200 cm^3

เตรียมโดยการปิเปต Imazethapyr 0.5 cm^3 เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนเป็น 200 cm^3 ในขวดวัดปริมาตร

- เตรียม 75% Imazethapyr

คำนวณในลักษณะเช่นเดียวกับ เตรียม 50% Imazethapyr

จะได้ ปิเปต 0.75 cm^3 ใน น้ำกลั่น 200 cm^3

- เตรียม 90% Imazethapyr

คำนวณในลักษณะเช่นเดียวกับ เตรียม 50% Imazethapyr

จะได้ ปิเปต 0.9 cm^3 ใน น้ำกลั่น 200 cm^3

ใช้ในการทดลอง พ่นสารที่ผสมแล้วชุดละ 0.32 cm^3

2. วิธีการเตรียม emulsion ของกระเพราผี ชั่งสารต่อไปนี้

- สารสกัดจากกระเพราผี (crude hexane) 4.0 กรัม

- น้ำมันมะกอก (Olive oil) 10.0 กรัม

- Span 80 (Sorbitan monooleate) 4.7 กรัม

- Tween 80 (Polyoxyethylene sorbitan monooleate) 5.3 กรัม

- water 80.0 กรัม

วิธีการเตรียม

1.ละลายกระเพราผีในน้ำมันมะกอก บดให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน ผสม Emulsifier (tween 80 และ Span 80) ลงในน้ำมัน คนให้เข้ากัน ให้ความร้อนด้วย waterbath จนมีอุณหภูมิประมาณ 70 –80 องศาเซลเซียส

2. นำน้ำกลั่นที่ชั่งแล้วให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิสูงกว่าชั้นน้ำมันประมาณ 3 –5 องศาเซลเซียส

3.นำน้ำค่อยๆเทลงในชั้นน้ำมันอย่างช้าๆ พร้อมทั้งคนตลอดเวลาอย่างสม่ำเสมอ จนเย็น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวศิริกันยา ตรีประสิทธิ์ผล เกิดเมื่อวันที่ 14 กันยายน พ.ศ. 2517 ที่กรุงเทพมหานคร ได้รับปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเคมี จากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร เมื่อปีการศึกษา 2541 เข้ารับการศึกษาระดับปริญญามหาบัณฑิต สหสาขาวิทยาศาสตร์สภาวะแวดล้อม คณะบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2542

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย