วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 28 (ฉบับที่ 3) กันยายน – ธันวาคม พ.ศ. 2566
BURAPHA SCIENCE JOURNAL Volume 28 (No.3) September – December 2023 บทความวิจัย

ผลของสารอัลลีโลพาธิกจากผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) ต่อสรีรวิทยาการงอกของกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* Jusl var *parachinensis* (Bailey) Tsen & Lee)

Allelopathic Effect from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) on Seed-Germinating Physiology of Pakchoi (*Brassica chinensis* Jusl var *parachinensis* (Bailey) Tsen & Lee)

ยุวะธิดา กิ่งทอง และ ภาคภูมิ พระประเสริฐ*
Yuwatida Kingthong and Phakpoom Phraprasert*
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ประเทศไทย
Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Thailand

Received : 1 March 2023
Revised : 12 May 2023
Accepted : 22 May 2023

บทคัดย่อ

อัลลีโลพาธี (allelopathy) เป็นปรากฏการณ์ที่พืชปลดปล่อยสารอัลลีโลพาธิก (allelopathics) เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชข้างเคียง เพื่อลดการแข่งขันการใช้ทรัพยากรที่มีอยู่อย่างจำกัด ซึ่งอาจนำไปสู่การใช้ประโยชน์ในการทำการเกษตร ในการศึกษานี้จึงได้ศึกษาถึงผลของสารสกัดจากผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* Jusl var *parachinensis* (Bailey) Tsen & Lee) โดยทดสอบกับสารสกัดจากผักแครดที่สกัดด้วยเอทธานอล ที่มีความเข้มข้นระหว่าง 1.3-13.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดจากผักแครดที่ทำให้กวางตุ้งงอกลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) เท่ากับ 2.96 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีค่าออสโมติกโพเทนเชียลเท่ากับ -0.08 MPa จากนั้นทำการศึกษาสรีรวิทยาการงอกของเมล็ด โดยทำการเพาะเมล็ดกวางตุ้งในสารสกัดที่ IC_{50} เปรียบเทียบกับสารละลายกลูโคส NaCl KNO_3 ที่มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลเท่ากัน (-0.08 MPa) และน้ำกลั่น พบว่าการงอกของเมล็ดที่เพาะในสารละลายกลูโคส NaCl KNO_3 และน้ำกลั่นไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างจากสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และเมื่อทดสอบการดูดน้ำของเมล็ดเป็นเวลา 0-24 ชั่วโมง พบว่าการดูดน้ำของเมล็ดที่แช่ในสารสกัดไม่แตกต่างจากเมล็ดที่แช่ในน้ำ สารละลายกลูโคส NaCl และ KNO_3 ในทุกช่วงเวลาและเมื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงของอาหารสะสมในเมล็ดที่ได้รับสารสกัดเป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า เมล็ดที่ได้รับสารสกัดมีปริมาณแป้งสะสมมากกว่าชุดควบคุม แต่มีปริมาณน้ำตาลในเมล็ดกำลังงอกน้อยกว่าชุดควบคุม และยังพบอีกว่าปริมาณโปรตีนที่พบในเมล็ดที่ได้รับสารสกัดจากผักแครดมีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างจากเมล็ดแห้ง และมีปริมาณสูงกว่าชุดควบคุม จึงสามารถสรุปได้ว่าสารสกัดจากผักแครดสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดกวางตุ้งได้ โดยไม่มีผลต่อการดูดน้ำของเมล็ด แต่มีผลต่อการนำอาหารสะสมของเมล็ดมาใช้ระหว่างการงอก

คำสำคัญ : อัลลีโลพาธิก ; ผักแครด ; สรีรวิทยาการงอก ; กวางตุ้ง

Abstract

Allelopathy is a natural phenomenon that plants release allelopathics to inhibit neighbor plants to reduce the resources revening. This can be developed and use in agriculture. In this study, the *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. ethanol extract was used to test seed germination and growth of pakchoi (*Brassica chinensis* Jusl var *parachinensis* (Bailey) Tsen & Lee) at the concentration range between 1.3 and 13.0 mg/mL for 7 days. The results show that the IC_{50} of extract was 2.96 mg/mL. and the osmotic potential was -0.08 MPa. The physiology of seed gemination was tested. Seeds were geminated in IC_{50} of extract , sucrose, NaCl, and KNO_3 (with -0.08 MPa osmotic potential). The results revealed that the percent of gemination and growth of seed soaked in water, sucrose, NaCl, and KNO_3 were not different but statistic significant different ($P \leq 0.05$) from extract treated seeds. Seed water absorption in extract, sucrose, NaCl, and KNO_3 was determined and compared with water for 0-24 hour. This show that seed water absorption was not statistically different at all time points. The change of seed storages was also determined in seeds treated by the extract (at IC_{50}) compared to the control for 7 days. Extract treated seed showed higher starch content than the control but lower reducing sugar content. The protein content of treated seeds was not statistically different from untreated dry seeds, but the control had statistic significant lower protein content ($P \leq 0.05$). In conclude, the extract can inhibit pakchoi gemination which no effect on water absorption but showed the effect on food storages utilization during germination.

Keywords : Allelopathics ; *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. ; physiology of seed germination ; pakchoi

***Corresponding author. E-mail :** phakpoom@buu.ac.th

บทนำ

ปรากฏการณ์อัลลีโลพาธี (allelopathy) เป็นปรากฏการณ์ทางธรรมชาติที่พืชชนิดหนึ่งปล่อยสารเคมีที่เรียกว่าอัลลีโลพาธิก (allelopathics) เพื่อยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชข้างเคียง เป็นการลดการแก่งแย่งปัจจัยในการเจริญเติบโต เช่น น้ำ แร่ธาตุ และแสง เป็นต้น (Mahe *et al*., 2022) มีรายงานว่าพืชหลายชนิดมีการสร้างสารอัลลีโลพาธิกซึ่งสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ เช่น ยูคาลิปตัส (*Eucalyptus citriodora*) (Batish *et al*., 2004) สัก (*Tectona grandis* L.f.) (Kato-Noguchi, 2021) ข้าว (*Oryza sativa* L.) (Chung *et al*., 2003) เป็นต้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีรายงานเกี่ยวกับพืชหลายชนิดที่เป็นสมาชิกในวงศ์ Asteraceae เช่น ทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) (Ravilic *et al*., 2022) ดาวเรือง (*Tagetes* spp.)(Chompoo *et al*., 2019) บัวตอง (*Tithonia diversifolia*) (Kato-Noguchi, 2020) เป็นต้น รวมทั้งผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) ซึ่งเป็นสมาชิกในวงศ์นี้ด้วย และมีรายงานว่ามีผลทางอัลลีโลพาธี โดยมีการทดสอบในวัชพืชและพืชเศรษฐกิจ พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของ ถั่วผี (*Phaseolus lathyroides* L.f.) หญ้าเจ้าชู้ (Chrysopogon acciculatus Retz.) ต้อยติ่ง (*Ruellia* sp.) คะน้า (*Brassica alboglaba* Bail.) และข้าว (*Oryza sativa* L.) (Phraprasert & Namnamung, 2005)

การที่สารอัลลีโลพาธิกสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตนั้นมีรายงานว่ามีการยับยั้งโดยการไปรบกวนกระบวนการต่าง ๆ ของพืช เช่น กระบวนการย่อยสลายอาหารสะสม กระบวนการหายใจ การสังเคราะห์ด้วยแสง (Liang & Niu, 2022) การดูดและลำเลียงธาตุอาหาร (Li *et al*., 2022) การแบ่งเซลล์ (Soln & Koce, 2021) เป็นต้น อย่างไรก็ตามในการทดสอบอัลลีโลพาธีมักทดสอบสารสกัดจากพืชชนิดต่าง ๆ ต่อการงอกของเมล็ด ซึ่งปรากฏผลให้เห็นได้อย่างชัดเจนว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดมีผลให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดทดสอบลดลง ซึ่งในการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดนั้นย่อมไปมีผลลดค่าออสโมติกโพเทนเชียล (osmotic potential) ของสารละลายที่ใช้ทดสอบด้วย โดยที่ออสโมติกโพเทนเชียลมีผลต่อการงอกเช่นกัน โดยถ้าสารละลายที่ใช้ทดสอบมีค่าออสโมติกโพเทนเชียลต่ำมากจะไปรบกวนกระบวนการดูดน้ำของเมล็ด โดยทำให้เมล็ดดูดน้ำได้ลดลงจนอาจไม่เพียงพอต่อการงอกของเมล็ด (Nelson *et al*., 2021) ดังนั้นการทดสอบการงอกของเมล็ดภายใต้สารสกัดจึงควรคำนึงถึงค่าออสโมติกโพเทนเชียลของสารสกัดด้วย นอกจากกระบวนการดูดน้ำของเมล็ดแล้ว กระบวนการย่อยสลายอาหารสะสมและการนำอาหารสะสมไปใช้ระหว่างการงอกเป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่มีความสำคัญต่อการงอกและการเจริญของเมล็ด (Liang & Niu, 2022)

การศึกษาอัลลีโลพาธีในการยับยั้งการงอกของเมล็ด มีการศึกษาทั้งในเมล็ดวัชพืชและเมล็ดพืชเศรษฐกิจ (Phraprasert & Namnamung, 2005; Nelson *et al*., 2021; Li *et al*., 2022) แต่เนื่องจากเมล็ดวัชพืชมีเปอร์เซ็นต์การงอกไม่สม่ำเสมอทำให้เห็นผลทางอัลลีโลพาธีไม่ชัดเจนนัก ดังนั้นในการศึกษาจึงนิยมทำการศึกษาในเมล็ดพืชเศรษกิจมากกว่าเนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การงอกที่สม่ำเสมอ ทำให้สามารถนำมาใช้เป็นพืชทดลองในการศึกษาถึงผลของสารอัลลีโลพาธิกต่อกระบวนการทางสรีรวิทยาได้ดี เช่น Thonsoongnern & Phraprasert (2019) ใช้ถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) เพื่อเป็นพืชทดสอบผลของสารสกัดจากใบพลู (*Piper betle* L.) ต่อการงอก การเจริญเติบโตและสรีรวิทยา Li *et al*. (2022) ใช้ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชทดสอบถึงผลของสารสกัดจาก *Artemisia argyi* ต่อกระบวนการดูดธาตุอาหารและ

กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง Liang & Niu (2022) ศึกษาผลของสารอัลลีโลพาธิก para-hydroxybenzoic ต่อกระบวนการหายใจและสังเคราะห์ด้วยแสงในมะเขือเทศ (*Solanum lycopersicum*) รวมทั้งมีการศึกษาถึงผลของสารสกัดจากผักแครดต่อสรีรวิทยาการงอกของเมล็ดข้าว (*Oryza sativa* L.) ซึ่งเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว โดยพบว่าสารสกัดจากผักแครดมีผลยับยั้งการงอกของข้าว เนื่องจากสารสกัดดังกล่าวไปมีผลยับยั้งเอนไซม์ α-amylase จึงทำให้เมล็ดไม่งอก เพราะมีการยับยั้งการใช้อาหารสะสมในระหว่างการงอก (Kingthong & Phraprasert, 2017) แต่ทั้งนี้ไมแทบอลิซึมของเมล็ดพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่มีความแตกต่างกัน (Vitalini et al., 2021) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดจากผักแครดต่อสรีรวิทยาการงอกของกวางตุ้ง (*Brassica chinensis* Jusl var *parachinensis* (Bailey) Tsen & Lee) ซึ่งเป็นพืชใบเลี้ยงคู่ เพื่อศึกษาผลของสารสกัดดังกล่าวต่อสรีรวิทยากการงอกของเมล็ด เพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาและใช้ประโยชน์จากผักแครดในทางการเกษตรต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมสารสกัดจากใบผักแครดและการหาความเข้มข้น

เก็บใบผักแครดจากอำเภอคลองหาด จังหวัดสระแก้ว นำมาล้างทำความสะอาด นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นบดให้ละเอียดเป็นผงด้วยเครื่องบดไฟฟ้า นำผงผักแครดที่ได้ 20 กรัม เติมเอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แช่สกัดไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman No.4) สารละลายที่กรองได้ถือเป็นสารสกัดตั้งต้น

เตรียมจานแก้วเพาะเชื้อที่มีกระดาษเพาะเมล็ดรองพื้น นำไปใส่ในเดซิเคเตอร์ที่มีซิลิกาเจลเพื่อดูดความชื้นเป็นเวลา 1 วัน นำไปชั่งน้ำหนักแห้ง จากนั้นปิเปตสารสกัดตั้งต้นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานแล้ววางไว้ในตู้ดูดควันให้ตัวทำละลายระเหยออกจนหมดเป็นเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำไปใส่ในเดซิเคเตอร์ที่มีซิลิกาเจลเพื่อดูดความชื้นเป็นเวลา 1 วัน นำไปชั่งน้ำหนัก หาปริมาณสารที่สกัดได้จากน้ำหนักจานแก้วและกระดาษเพาะก่อนใส่สารสกัดลบด้วยน้ำหนักจานแก้วและกระดาษเพาะหลังใส่สารสกัดที่ทำให้แห้ง ซึ่งสารสกัดตั้งต้นมีความเข้มข้น 26.0 ± 0.82 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

นำสารสกัดตั้งต้นมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 1.3, 2.6, 6.5, และ 13.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้ทดสอบการงอกและการเจริญเติบโตของกวางตุ้ง

การทดสอบการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดกวางตุ้ง

ตัดกระดาษเพาะเมล็ดใส่ลงในจานแก้วเพาะเชื้อ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นใส่สารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานแก้วเพาะเชื้อแล้ววางไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ตัวทำละลายระเหยออกจนหมด จากนั้นจึงเติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำเมล็ดกวางตุ้ง ใส่ลงในจานแก้วเพาะเชื้อ จำนวน 25 เมล็ดต่อจาน ปิดฝาจานแก้วเพาะเชื้อและวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง สังเกตและบันทึกการงอกของเมล็ดเมื่ออายุครบ 7 วัน โดยกำหนดให้เมล็ดงอก หมายถึง เมล็ดที่มีรากเจริญออกมาจากเปลือกหุ้มเมล็ดอย่างน้อย 1 มิลลิเมตร นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด (Chung *et al.*, 2003) วัดความยาวรากและ

ความยาวยอดของต้นกล้า รวบรวมต้นกล้าทั้งหมดไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นำไปชั่งหาน้ำหนักแห้งด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

การวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการงอกของกวางตุ้ง 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50})

หาระดับความเข้มข้นของสารสกัดจากใบผักแครดที่สามารถยับยั้งการงอกของกวางตุ้งได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) โดยนำข้อมูลการงอกของเมล็ดที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาวิเคราะห์แบบโพรบิท (probit analysis) ตามวิธีของ Finney (1971)

*การหาค่า **osmotic potential** (Ψ_S) ของสารสกัดจากใบผักแครด*

หาค่า osmotic potential (Ψ_S) โดยใส่สารละลายปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นนำไปใส่ในกล่องโฟมที่มีน้ำแข็งผสมเกลือแกง วัดอุณหภูมิในหลอดทดลองด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิอัตโนมัติ ค่อย ๆ คนสารละลายอย่างช้า ๆ ตลอดเวลาที่วัดอุณหภูมิ อุณหภูมิจะค่อย ๆ ลดลง บันทึกอุณหภูมิที่ลดลงต่ำสุด (degree of supercooling) หลังจากนั้นอุณหภูมิจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและมีค่าคงที่ (apparent freezing point) บันทึกค่าอุณหภูมิดังกล่าว นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่า Ψ_S ของสารละลาย ดังสมการ (1) (William & William, 1931)

$$\Psi_S = 1.22 \times \Delta f \times (K / 273\ K) \quad (1)$$

โดยที่

$$\Delta f = \text{apparent freezing point } (^\circ C) - (0.0125 \times \text{degree of supercooling } (^\circ C)) \quad (2)$$

เมื่อ Δf = จุดเยือกแข็งจริง ($^\circ C$)

K = อุณหภูมิสัมบูรณ์ (K)

การทดสอบการดูดน้ำของเมล็ด

ทดสอบการดูดน้ำของเมล็ดโดย เตรียมสารสกัดจากใบผักแครดที่ระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการงอกของกวางตุ้งได้ 50 เปอร์เซ็นต์ และเตรียมสารละลายซูโครส สารละลายโซเดียมคลอไรด์ และสารละลายโพแทสเซียมไนเตรท ให้มี Ψ_S เท่ากับสารสกัด นำสารละลายมาปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นชั่งเมล็ดกวางตุ้ง 1 กรัม บันทึกน้ำหนักเมล็ดเริ่มต้น (W_1) จากนั้นนำเมล็ดไปแช่ในจานทดลองที่มีสารละลายต่าง ๆ โดยมีน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม เมื่อครบเวลา 1, 2, 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมง นำเมล็ดมาซับภายนอกให้แห้งและนำไปชั่งน้ำหนัก (W_2) เมื่อเวลาผ่านไป 1, 2, 3, 6, 9, 12, และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อชั่งน้ำหนักเมล็ดแล้ว นำเมล็ดกลับไปแช่ในสารละลายเดิมทันที (Turk & Tawaha, 2003) และนำข้อมูลไปคำนวณหาการดูดน้ำของเมล็ดพืชทดสอบ จากสมการ (3)

$$\text{อัตราการดูดน้ำของเมล็ด (g } H_2O\text{/g dry seed)} = \frac{(W2 - W1)}{W1} \quad (3)$$

การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และแป้ง

นำเมล็ดกวางตุ้งที่เพาะในสารสกัดจากผักแครดที่ IC_{50} และที่เพาะในน้ำกลั่นอย่างละจำนวน 10 เมล็ด มาหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยนำเมล็ดไปชั่งน้ำหนักแล้วใส่ลงในโกร่งบดที่วางอยู่บนน้ำแข็ง เติม 80% เอทธานอล 1.5 มิลลิลิตร บดให้ละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน ดูดตัวอย่างทั้งหมดใส่ลงในหลอดทดลอง นำไปต้มที่ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ด้วย 80% เอทธานอล ผสมให้เข้ากัน นำไปตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสมา 20 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่น 1,280 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย dinitrosalicylic acid 500 ไมโครลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส (Kato-Noguchi & Macías, 2005)

หาปริมาณแป้งในเมล็ดโดยนำตะกอนส่วนที่เหลือจากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มาล้างด้วย 80% เอทานอล โดยดูด 80% เอทานอล ใส่ลงในหลอดทดลอง ปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ผสมให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ดูดสารละลายส่วนใสทิ้ง ทำ 3 ครั้ง จากนั้นเติมสารละลาย acetate buffer pH 4.6 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตั้งไว้ให้สารละลายมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง เติมเอนไซม์ α-amylase 10 ไมโครลิตร (10 ยูนิต) และเอนไซม์ amyloglucosidase ปริมาตร 10 ไมโครลิตร (10 ยูนิต) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อย่อยแป้งเป็นน้ำตาล นำสารละลายไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นดูดสารละลายส่วนใสใส่ในหลอดทดลอง ปรับปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ด้วย 80% เอทานอล จากนั้นนำไปหาปริมาณน้ำตาล เพื่อนำไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานแป้ง (soluble starch) ที่ได้จากการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล (Rose *et al*., 1991)

การหาปริมาณโปรตีน

หาปริมาณโปรตีนโดยนำเมล็ดกวางตุ้งที่เพาะในน้ำกลั่น ที่เพาะในสารสกัดจากผักแครด และเมล็ดแห้ง จำนวนอย่างละ 10 เมล็ด ใส่ลงในโกร่งบดที่วางอยู่บนน้ำแข็ง เติม Tris - HCl buffer pH 7.5 (Tris 100 mM, EDTA 1 mM, $MgCl_2$ 5 mM, DTT 5 mM, $NaHSO_3$ 10 mM) 1 มิลลิลิตร บดเมล็ดพืชด้วยโกร่งจนละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน ดูดตัวอย่างที่ได้ใส่ลงในหลอดทดลอง นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ดูดส่วนใส 50 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลายทดสอบโปรตีน (Bradford reagent) ปริมาตร 1,450 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด

เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานโปรตีนจาก Bovine serum albumin เพื่อหาปริมาณโปรตีนในเมล็ด (Bradford, 1976)

ผลการวิจัย

ผลของสารสกัดจากผักแครดต่อการงอกและการเจริญเติบโตของกวางตุ้ง

เมื่อแช่เมล็ดกวางตุ้งในสารสกัดจากใบผักแครดที่มีความเข้มข้น 1.3, 2.6, 6.5, และ 13.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การงอก 94 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่เมล็ดที่ได้รับสารสกัดมีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงเป็น 70, 43, 31, และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Figure 1) โดยคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การงอกที่ลดลงเท่ากับ 24, 51, 63, และ 79 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ และเมื่อนำข้อมูลที่ได้ไปทดสอบทางสถิติพบว่าสารสกัดจากผักแครดมีผลให้การงอกของเมล็ดแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

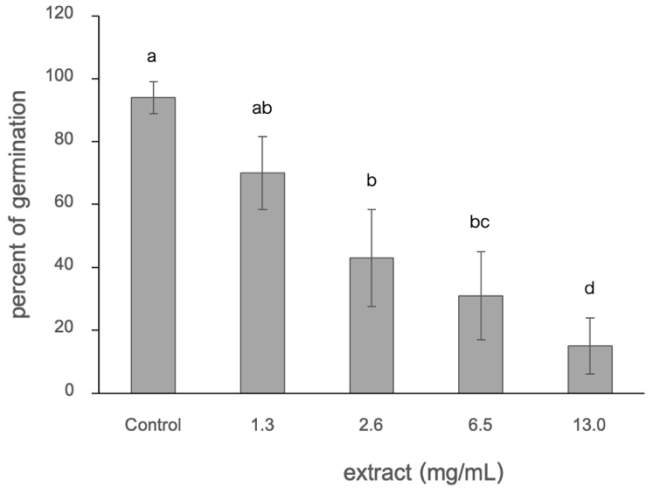

Figure 1 Percent of pakchoi seed germination treated by 0-13 mg/mL of leaf extract from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. for 7 days. (Error bars show ±standard deviation. abc on graph show the statistic difference at P≤0.05 by Tukey HSD.)

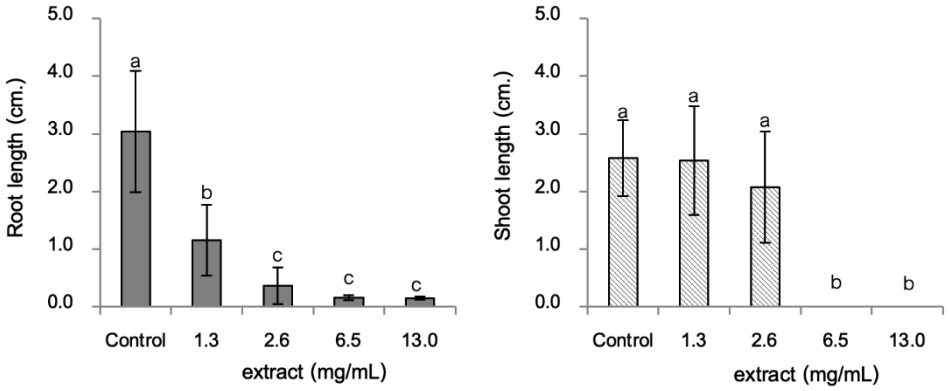

Figure 2 Root and shoot lengths of pakchoi treated by leaf extract from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) for 7 days. (Error bars show ±standard deviation. Abc on graph show the statistic difference at P≤0.05 by Tukey HSD.)

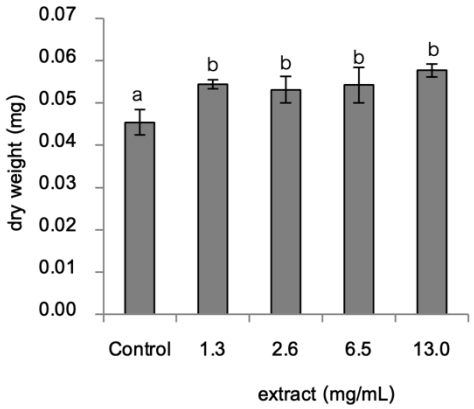

Figure 3 Dry weight of pakchoi treated by leaf extract from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) for 7 days. (Error bars show ±standard deviation. Abc on graph show the statistic difference at P≤0.05 by Tukey HSD.)

เมื่อนำเมื่อต้นกล้ากวางตุ้งที่ได้จากการแช่เมล็ดในสารสกัดจากใบผักแครดความเข้มข้น 1.3, 2.6, 6.5, และ 13.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วัน มาวัดความยาวรากและความยาวยอด พบว่า ต้นกล้าที่ได้มีความยาวรากและความยาวยอดแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05) โดยต้นกล้ามีความยาวรากและความยาวยอดลดลงเมื่อได้รับสารสกัดที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (Figure 2) และเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่าต้นกล้าที่ได้รับสารสกัดจากใบผักแครด

ความเข้มข้น1.3, 2.6, 6.5, และ 13.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีความยาวรากเป็น 37.80, 11.77, 5.04 และ 4.71 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ และมีความยาวยอดเป็น 98.37, 80.38 และ 0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ

จากการศึกษาน้ำหนักแห้งของกวางตุ้งที่แช่ในสารสกัดจากใบผักแครดความเข้มข้น 1.3, 2.6, 6.5, และ 13.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า เมล็ดที่ได้รับสารสกัดมีน้ำหนักแห้งแตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยเมล็ดที่ได้รับสารสกัดจะมีน้ำหนักแห้งมากกว่าชุดควบคุม โดยมีน้ำหนักแห้ง 0.054 0.053 0.054 และ 0.057 มิลลิกรัม ตามลำดับ ในขณะที่ชุดควบคุมมีน้ำหนักแห้ง 0.045 มิลลิกรัม (Figure 3)

*ผลของออสโมติกโพเทนเชียล (**osmotic potential**) ต่อของสารสกัดต่อการงอก การเจริญเติบโตและการดูดน้ำของเมล็ดกวางตุ้ง*

จากการทดลองเมื่อนำข้อมูลผลของความเข้มข้นของสารสกัดจากผักแครดและเปอร์เซ็นต์การงอกของกวางตุ้งไปหาความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้เมล็ดมีการงอก 50% (IC_{50}, inhibition concentration 50) พบว่ามีค่าเท่ากับ 2.96 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นได้นำสารสกัดจากผักแครดที่ความเข้มข้นนี้ไปหาค่าออสโมติกโพเทนเชียล พบว่าสารสกัดมีค่าออสโมติกโพเทนเชียลเท่ากับ -0.08 MPa และได้เตรียมสารละลายชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ซูโครส โซเดียมคลอไรด์ และ โพแทสเซียมไนเตรท ที่มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลเท่ากับ -0.08 MPa นำไปทดสอบการงอกของเมล็ดโดยมีน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม โดยเพาะเมล็ดเป็นเวลา 7 วัน พบว่า เมล็ดที่เพาะในน้ำกลั่น ซูโครส โซเดียมคลอไรด์ โพแทสเซียมไนเตรท มีเปอร์เซ็นต์การงอกไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่เมล็ดที่ได้รับสารสกัดจากผักแครดที่มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลเท่ากัน (-0.08 MPa) มีเปอร์เซ็นต์การงอกน้อยกว่ากลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยแต่ละกลุ่มมีเปอร์เซ็นต์การงอกเท่ากับ 93 95 93 และ 94 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่เมล็ดที่ได้รับสารสกัดมีเปอร์เซ็นต์การงอกเพียง 44 เปอร์เซ็นต์ (Figure 4)

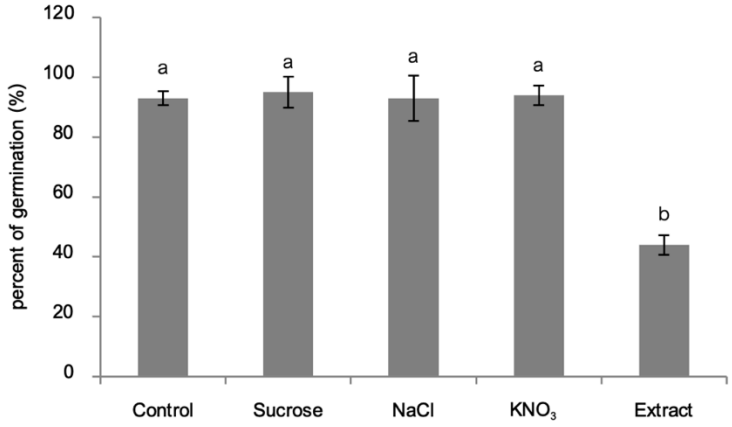

Figure 4 Percent of pakchoi seed germination which soaked in sucrose and leaf extract from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn at -0.08 MPa solute potential for 7 days. (Error bars show ±standard deviation. Abc on graph show the statistic difference at $P \leq 0.05$ by Tukey HSD.)

เมื่อนำต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดที่ทดสอบด้วยสารละลายซูโครส โซเดียมคลอไรด์ โพแทสเซียมไนเตรท ที่มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลเท่ากับสารสกัดจากใบผักแครด (-0.08 MPa) ที่ IC_{50} มาวัดความยาวรากและยอด พบว่า ต้นกล้าที่งอกจากเมล็ดที่ได้รับสารสกัดจากผักแครดมีความยาวรากและยอดน้อยกว่าชุดควบคุมและชุดที่ได้รับสารละลายชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)(Figure 5) โดยรากของกวางตุ้งที่ได้รับสารสกัดมีความยาวราก 0.13 เซนติเมตร ในขณะที่รากของต้นกล้าที่เจริญในน้ำกลั่น สารละลายซูโครส โซเดียมคลอไรด์ โพแทสเซียมไนเตรท มีความยาวเฉลี่ยเท่ากับ 3.01, 2.61, 4.88, และ 4.33 เซนติเมตร ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบความยาวยอดพบว่า ยอดของต้นกล้าที่ได้รับสารสกัดจากผักแครดมีความยาวน้อยกว่าชุดควบคุมและชุดที่ได้รับสารละลายชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)(Figure 5) โดยยอดมีความยาวเป็น 1.08 เซนติเมตร ในขณะที่ต้นกล้าที่เจริญในน้ำกลั่น สารละลายซูโครส โซเดียมคลอไรด์ โพแทสเซียมไนเตรท มีความยาวยอดเป็น 2.40, 2.46, 4.23, และ 4.25 เซนติเมตร ตามลำดับ

เนื่องจากการดูดน้ำของเมล็ดเป็นกระบวนการที่สำคัญในการงอกของเมล็ดอย่างมาก และการดูดน้ำของเมล็ดยังขึ้นกับค่าออสโมติกโพเทนเชียลด้วย ดังนั้นจึงได้มีการทดสอบการดูดน้ำของเมล็ดในน้ำ (ชุดควบคุม) และในสารละลายซูโครส โซเดียมคลอไรด์ โพแทสเซียมไนเตรท รวมทั้งสารสกัดจากใบผักแครด โดยสารละลายเหล่านี้มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลเท่ากัน คือ -0.08 MPa โดยทำการทดสอบเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเวลาเพิ่มขึ้นเมล็ดจะมีอัตราการดูดน้ำเพิ่มขึ้น โดยเมล็ดจะมีอัตราการดูดน้ำสูงใน 3 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นในชั่วโมงที่ 6-24 เมล็ดจะมีอัตราการดูดน้ำลดลง และเมื่อทำการเปรียบเทียบอัตราการดูดน้ำของเมล็ดที่แช่ในสารละลายต่าง ๆ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$)(Figure 6)

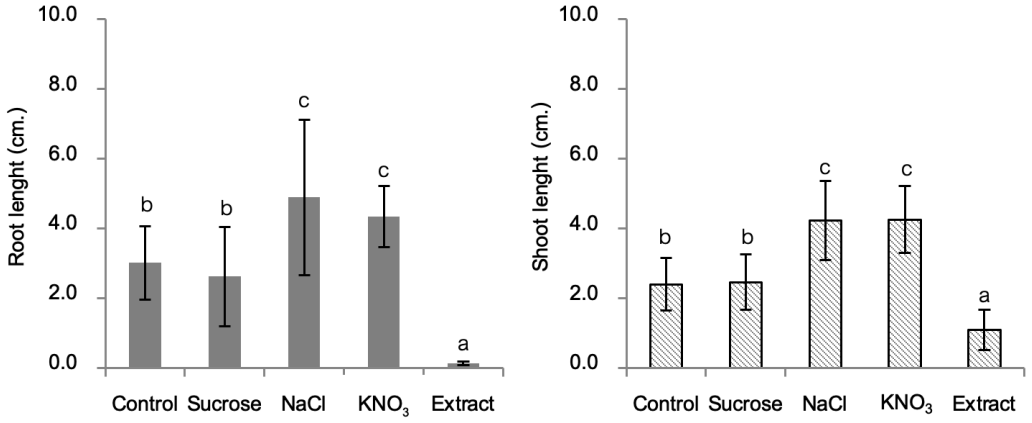

Figure 5 Root and shoot lengths of pakchoi soaked in sucrose and leaf extract from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn at -0.08 MPa osmotic potential for 7 days. (Error bars show ±standard deviation. Abc on graph show the statistic difference at $P \leq 0.05$ by Tukey HSD.)

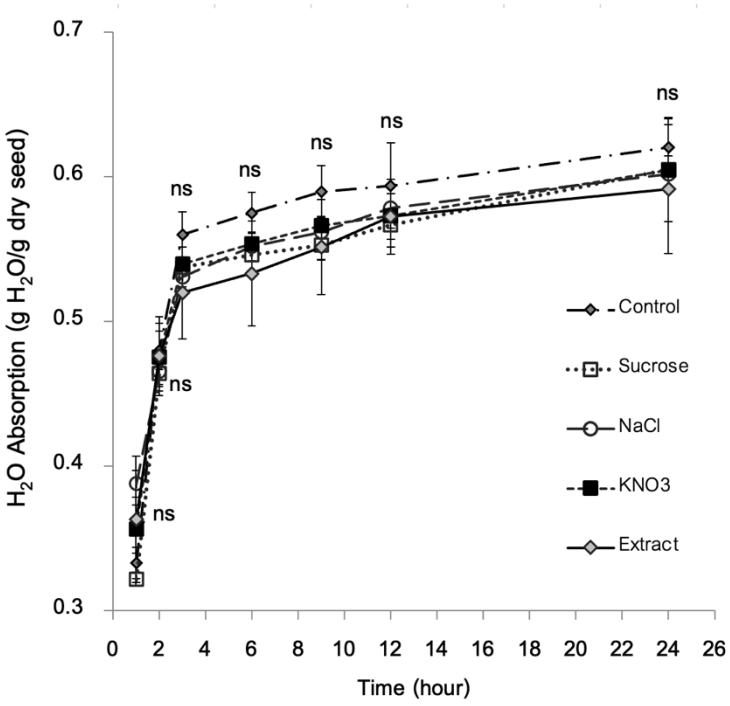

Figure 6 Water absorption of pakchoi seeds soaked in sucrose and leaf extract from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn at -0.08 MPa osmotic potential for 7 days. (Error bars show ±standard deviation. ns on graph shows the non-significant of the water absorbtion of seeds at a time (P>0.05).)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณแป้ง น้ำตาลและโปรตีนในเมล็ดกวางตุ้งที่ได้รับสารสกัดจากใบผักแครด

เมื่อทำการแช่เมล็ดกวางตุ้งในน้ำกลั่นและสารสกัดจากผักแครดที่ความเข้มข้น 2.96 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (IC_{50}) เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำเมล็ดมาหาปริมาณแป้งและน้ำตาล พบว่า เมล็ดที่ได้รับสาสกัดมีปริมาณแป้งในเมล็ดมากกว่าเมล็ดที่เพาะในน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีปริมาณ 37.50 และ 11.80 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (Figure 7) และพบว่าเมล็ดที่งอกในน้ำกลั่นมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงกว่าเมล็ดที่ได้รับสารสกัดจากผักแครดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยมีปริมาณ 1.97 และ 0.96 ไมโครกรัม/กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ (Figure 7)

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเมล็ดกวางตุ้งที่เพาะในน้ำกลั่นและสารสกัดจากผักแครดที่ความเข้มข้น 2.96 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (IC_{50}) เป็นเวลา 7 วัน และในเมล็ดแห้งที่ไม่ผ่านการเพาะเมล็ด พบว่า เมล็ดที่แช่ในน้ำกลั่นมีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุด คือ 0.27 มิลลิกรัม/เมล็ด และแตกต่างจากเมล็ดที่ได้รับสารสกัดและเมล็ดแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยเมล็ดที่ได้รับสารสกัดมีปริมาณโปรตีนเท่ากับในเมล็ดแห้ง โดยมีปริมาณโปรตีน 0.34 มิลลิกรัมต่อเมล็ด (Figure 8)

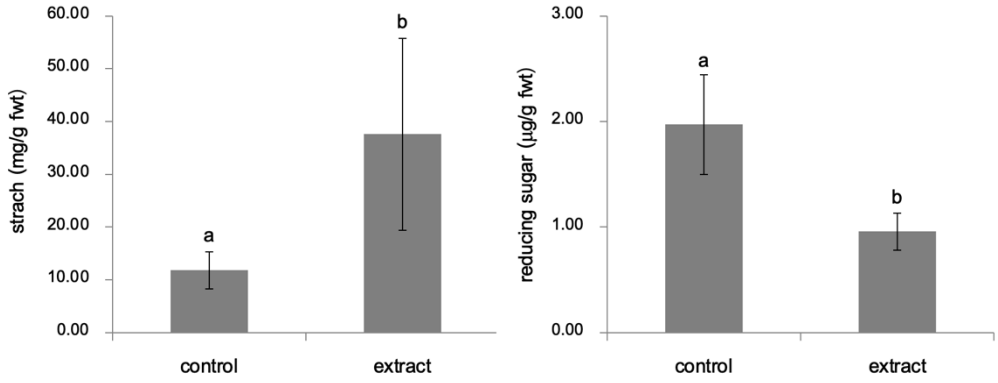

Figure 7 Reducing sugar, and starch contents of pakchoi seed treated in leaf extract from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn at 2.96 mg/mL extract for 7 days. (Error bars show ±standard deviation. Abc on graph show the statistic difference at P≤0.05 by Tukey HSD.)

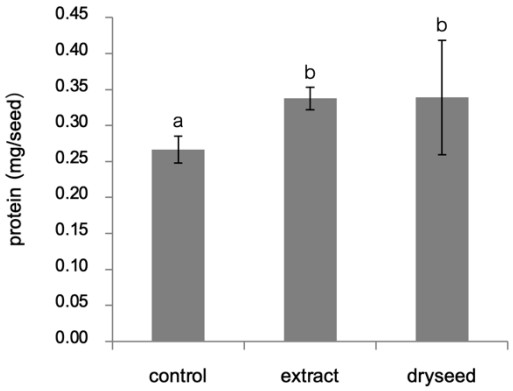

Figure 8 Protein content in pakchoi seeds soaked in leaf extract from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn at 2.96 mg/mL extract for 7 days and in non-germinated seeds without treatment. (Error bars show ±standard deviation. Abc on graph show the statistic difference at P≤0.05 by Tukey HSD.)

วิจารณ์ผลการวิจัย

จากการนำเมล็ดกวางตุ้งเพาะในสารสกัดจากใบผักแครดที่มีความเข้มข้น 1.3, 2.6, 6.5, และ 13.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุม เป็นเวลา 7 วัน พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดกวางตุ้งลดลง ทำให้เห็นได้ว่าสารสกัดจากใบผักแครดน่าจะสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดกวางตุ้งได้ และเมื่อวัดการเจริญเติบโตทั้งความยาวยอดและรากพบว่าสารสกัดจากผักแครดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้ากวางตุ้งด้วย ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าสารสกัดดังกล่าวอาจไปมีผลลดการเติบโตของเซลล์หรืออาจไปมีผลยับยั้งการแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อยอด และราก และมีรายงานว่าสารอัลลีโลพาธิก สามารถยับยั้งกระบวนการแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ (cell elongation) (Soln & Koce, 2021) และเมื่อพิจารณาจากน้ำหนักแห้งพบว่าน้ำหนักแห้งของกวางตุ้งที่ได้รับสารสกัดจากผักแครดมีน้ำหนักมากกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งนี้เป็นไปได้ว่า เมล็ดของกวางตุ้งที่ได้รับสารสกัดมีการนำอาหารสะสมมาใช้ได้น้อยกว่า ทั้งนี้กระบวนการที่สำคัญหนึ่งของเมล็ดคือกระบวนการหายใจ เนื่องจากในการงอกและการเจริญเติบโตต้องการพลังงาน ดังนั้นเมล็ดจึงต้องย่อยสลายสารอาการสะสมเพื่อนำมาใช้ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์ และเมื่อมีการสลายอาหารสะสมมาใช้ในช่วงก่อนมีการสังเคราะห์ด้วยแสง จึงอาจเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้เมล็ดที่งอกได้ตามปกติในชุดควบคุมมีน้ำหนักน้อยกว่าชุดที่ได้รับสารสกัด ซึ่งเมล็ดที่เพาะในสารสกัดน่าจะถูกยับยั้งกระบวนการนำอาหารสะสมมาใช้ประโยชน์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Liang & Niu (2022) ที่รายงานว่าสารอัลลีโลพาธิก para-hydroxybenzoic acid สามารถยับยั้งกระบวนการหายใจของเมล็ดมะเขือเทศได้ ซึ่งมีรายงานว่าพบสารดังกล่าวได้ในผักแครดด้วย (Zheleva-Dimitrova *et al*., 2020) แต่ทั้งนี้สารสกัดที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นสารสกัดแบบหยาบ ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ที่จะมีสารชนิดอื่นอีกที่สามารถยับยั้งกระบวนการหายใจและการงอกของเมล็ดกวางตุ้ง

อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดที่ลดลงหลังจากได้รับสารสกัดที่มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นอาจมีผลมาจากค่าออสโมติกโพเทนเชียลของสารสกัด เนื่องจากเมื่อสารสกัดมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่าออสโมติกโพเทนเชียลของสารละลายลดลง และถ้าสารละลายมีค่าออสโมติกโพเทนเชียลต่ำมากจะมีผลให้เมล็ดดูดน้ำได้ลดลงหรือดูดน้ำไม่ได้ เมล็ดจึงไม่สามารถงอกได้ ดังนั้นเมล็ดที่ไม่งอกหลังจากได้รับสารสกัดนั้นอาจเป็นผลมาจากสารอัลลีโลพาธิกในสารสกัดหรือออสโมติกโพเทนเชียลของสารสกัดก็ได้ ในการทดลองนี้จึงได้นำข้อมูลการงอกของเมล็ดที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยวิธี probit analysis ทำให้ทราบได้ว่าสารสกัดจากผักแครดที่ยับยั้งการงอกของเมล็ดกวางตุ้งได้ 50 เปอร์เซ็นต์มีความเข้มข้น 2.96 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งเมื่อวัดค่าออสโมติกโพเทนเชียลพบว่ามีค่าเท่ากับ -0.08 MPa จากนั้นจึงทำการเตรียมสารละลาย ต่าง ๆ ได้แก่ ซูโครส โซเดียมคลอไรด์ โพแทสเซียมไนเตรดให้มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลเท่ากับสารสกัดจากผักแครด และนำสารละลายเหล่านี้ไปทดสอบการงอกของเมล็ดกวางตุ้ง พบว่า เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดกวางตุ้งในสารละลายซูโครส โซเดียมคลอไรด์ โพแทสเซียม-ไนเตรดไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ในขณะที่เมล็ดที่ได้รับสารสกัดจากผักแครดมีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงเหลือ 44% เท่านั้น จากผลการทดลองนี้ทำให้เห็นได้อย่างชัดเจนว่าการที่เมล็ดกวางตุ้งที่ได้รับสารสกัดจากผักแครดแล้วมีเปอร์เซ็นต์การงอกลดลงนั้นเป็นผลมาจากอัลลีโลพาธิกในสารกัดมากกว่าผลของออสโมติกโพเทนเชียล สอดคล้องกับ Silva et al. (2013) ที่รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกเมล็ดกาแฟ (*Coffea arabica*) ที่มีออสโมติกโพเทนเชียล สูงกว่า -0.2 MPa ไม่มีผลต่อการงอกและการ

เจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L. cv. Grand Rapids), ผักกาดขาว (*Brassica chinensis* var. *Parachinensis* (Sinskaja)) และหญ้าก้นจ้ำขาว (*Bidens pilosa* L.) และจากการศึกษาผลของออสโมติกโพเทนเชียลต่อการเจริญเติบโตของกวางตุ้งโดยพิจารณาจากความยาวยอดและรากพบสารละลายที่มีองค์ประกอบของธาตุอาหาร (NaCl และ KNO_3) มีการเจริญเติบโตดีกว่าชุดควบคุม ในขณะที่ชุดที่ได้รับสารละลายซูโครสมีการเจริญเติบโตไม่แตกต่างจากชุดควบคุม แต่ชุดที่ได้รับสารสกัดจากผักแครดมีความยาวยอดและรากลดลงอย่างเห็นได้ชัด จากผลการทดลองนี้ทำให้เห็นได้ว่าการที่รากและยอดเจริญเติบโตลดลงนั้นอาจเนื่องมากจากสารสกัดไปมีผลต่อการแบ่งเซลล์หรือมีผลต่อการขยายขนาดของเซลล์ แต่เนื่องจากเมื่อทดสอบการดูดน้ำของเมล็ดที่ได้รับสารสกัด พบว่าเมล็ดยังคงสามารถดูดน้ำได้ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมและสารละลายชนิดอื่นที่มีค่าออสโมติกโพเทนเชียลเท่ากัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Rao & Dao (1987) ที่ศึกษาการงอกของพืชสกุล *Brassica* 5 ชนิด ได้แก่ *Brassica rapa* L. พันธุ์ Purpletop, Cyclon, และ Tyfon, *B. oleracea* L., และ *B. napus* L. ภายใต้สภาวะของดินที่มีค่าวอเตอร์โพเทนเชียล (water potential) ระหว่าง -0.5 และ -0.01 MPa พบว่า ค่าวอเตอร์โพเทนเชียลระหว่าง -0.01 และ -0.10 MPa ไม่มีผลต่อการงอกและการเจริญของต้นกล้า ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าสารสกัดน่าจะมีผลต่อการแบ่งเซลล์ของต้นกล้ามากกว่าผลต่อการขยายขนาดของเซลล์

ในการงอกของเมล็ดนอกจากการดูดน้ำของเมล็ดแล้วการนำอาหารสะสมมาใช้ระหว่างการงอกเป็นอีกกระบวนการหนึ่งที่สำคัญ ซึ่งจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแป้งและน้ำตาลของเมล็ด พบว่าเมล็ดที่เพาะในน้ำกลั่นมีปริมาณแป้งน้อยกว่าเมล็ดที่ได้รับสารสกัด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมล็ดในชุดควบคุมสามารถย่อยสลายแป้งสะสมมาใช้ระหว่างการงอกได้ โดยเมื่อวัดปริมาณน้ำตาลพบว่ามีปริมาณสูงกว่าเมล็ดที่ได้รับสารสกัด ดังนั้นสามารถกล่าวได้ว่าเมล็ดปกติจะมีการย่อยแป้งได้น้ำตาลเพื่อนำน้ำตาลไปใช้ในกระบวนการหายใจระดับเซลล์เพื่อนำพลังงานที่ได้ไปใช้ในการเจริญเติบโตของต้นกล้า แต่ในกรณีของเมล็ดที่ได้รับสารสกัดจากผักแครด พบว่ามีปริมาณแป้งอยู่ในเมล็ดมาก และมีปริมาณน้ำตาลน้อยกว่าชุดควบคุม ซึ่งน่าจะมาจากการที่เมล็ดสามารถย่อยสลายแป้งได้น้อยลง จึงเกิดน้ำตาลน้อยลง เนื่องจากเอนไซม์ α-amylase เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยแป้งที่สะสมในเมล็ดให้เป็นน้ำตาล สอดคล้องกับการทดลองที่พบว่าสารสกัดจากใบผักแครดที่สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α-amylase ในระหว่างการงอกของเมล็ดข้าว (Kingthong & Phraprasert, 2017) และสาร 6-methoxy-2-benzoxazolinone ซึ่งเป็นสารอัลลีโลพาธิกที่พบได้ในข้าวไรน์ (*Secale cereale*) ที่ความเข้มข้นมากกว่า 0.03 mmol/L สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์ α-amylase ในเมล็ดผักกาดหอม ได้ (Kato-Noguchi & Macias, 2005) และมีรายงานด้วยว่าสารสกัดด้วยเมธานอลจากผักแครดสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α-amylase และ β-glucosidase (Zheleva-Dimitrova *et al*., 2020) นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณโปรตีนที่เป็นอาหารสะสมในเมล็ดในชุดควบคุมมีปริมาณลดลงในระหว่างที่เมล็ดงอก ในขณะที่เมล็ดที่ได้รับสารสกัดจากผักแครดมีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างจากเมล็ดก่อนนำมาเพาะ ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าการนำโปรตีนมาใช้ประโยชน์ระหว่างการงอกอาจจะถูกยับยั้ง โดยการที่โปรตีนสะสมจะถูกนำมาใช้ได้จำเป็นต้องย่อยให้เป็นกรดอะมิโนโดยเอนไซม์ protease ซึ่งมีรายงานว่า สาร partenin ที่พบได้ใน พาธีเนียม (*Parthenium hysterophorus* L.) ซึ่งเป็นพืชในวงศ์ Asteraceae เช่นเดียวกับผักแครด สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ protease ได้ นอกจากนี้ยังมีผลลดการเจริญเติบโตของต้นและรากถั่วเขียว (*Phaseolus aureus* Roxb.) (Batish *et al.*, 2001) นอกจากนี้ยังมีรายงานด้วยว่าสารสกัด

จากผักแครดมีผลยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในเมแทบอลิซึมของโปรตีน (Zheleva-Dimitrova *et al.*, 2020) ดังนั้นจึงเห็นได้ว่ากระบวนการนำอาหารสะสมมาใช้ในระหว่างการงอกของเมล็ดถูกยับยั้งโดยสารสกัดจากผักแครด ซึ่งจากงานวิจัยนี้ทำให้เห็นศักยภาพของสารสกัดจากผักแครดในการนำไปใช้ในทางการเกษตร แต่จำเป็นต้องมีการศึกษาและพัฒนาสู่การนำไปใช้งานจริงเป็นขั้นต่อไป

สรุปผลการวิจัย

เมื่อทดสอบสารสกัดจากผักแครดพบว่าเมื่อความเข้มข้นของผักแครดเพิ่มขึ้นมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การงอกและการเจริญเติบโตของกวางตุ้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ซึ่งอาจเป็นผลมาจากสารอัลลีโลพาธิกหรือผลจากออสโมติกโพเทนเชียลของสารละลาย โดยเมื่อทดสอบผลของสารสกัดจากผักแครดที่ IC_{50} (2.96 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) พบว่าสารสกัดจากผักแครดมีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของกวางตุ้ง และเมื่อทดสอบผลของออสโมติกโพเทนเชียลพบว่าออสโมติกโพเทนเชียลของสารสกัดจากผักแครดไม่มีผลต่อการดูดน้ำและการเจริญเติบโตของกวางตุ้ง แต่พบว่าสารสกัดจากกวางตุ้งมีผลยับยั้งการนำอาหารสะสมในเมล็ด ได้แก่ แป้งและโปรตีน มาใช้ในระหว่างกระบวนการงอก ทำให้เห็นได้ว่าสารสกัดจากผัก แครดมีสารอัลลีโลพาธิกที่มีความสามารถในการยับยั้งการงอกและการเติบโตของเมล็ดกวางตุ้ง

เอกสารอ้างอิง

Batish, D. R., Setia, N., Singh, H. P., & Kohli, R. K. (2004). Phytotoxicity of lemon-scented eucalypt oil and its potential use as a bioherbicide. *Crop Protection, 23*(12), 1209-1214.

Batish, D. R., Singh, H. R., Kohli, R.K., & Saxena, D.B. (2001). Allelopathic effect of parthenin – a sesquiterpene lactone, on germination, and early growth of mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.). *PGRSA Quaterly, 29*(3), 81-91.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry, 72*, 248-254.

Chompoo., J., Muangsuai, P., Sawangsri, N., Boonruangrod, R., & Pornprom, T. (2019). Allelopathic effect of water extracts from leaves and stems of *Tagetes* spp. on growth of weeds and crops. Journal of *Agricultural Science and Management, 2*(2), 5-15. (in Thai)

Chung, I. M., Kim, K. H., Ahn, J. K., Lee, S. B., Kim S. H., & Hahn, S. J. (2003). Comparision of allelopathic potential of rice leaves, straw and hull extract on barnyardgrass. *Agronomy Journal, 95*, 1063-1070.

Finney, D. J. (1971). *Probit Analysis*. Cambridge: Cambridge University Press.

Kato-Noguchi, H. (2020). Involvement of allelopathy in the invasive potential of *Tithonia diversifolia*. *Plants, 9*(6), 766.

Kato-Noguchi, H. (2021). Phytotoxic substances involved in teak allelopathy and agroforestry. *Apply Sciences, 11*(8), 3314.

Kato-Noguchi, H., & Macías, F. A. (2005). Effects of 6-methoxy-2-benzoxazolinone on the germination and α-amylase activity in lettuce seeds. *Journal of Plant Physiology, 162*(12), 1304-1307.

Kingthong, Y., & Phraprasert, P. (2017). Effect of allelopathic from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. leaves on seed germination, growth, and physiology of rice (*Oryza sativa* L.). *Burapha Science Journal, 22*(3), 188-204. (in Thai)

Li, J., Zhao., T., Chen, L., Chen, H., Luo, D., Chen, C., Miao, Y., & Liu, D. (2022). *Artemisia argyi* allelopathy: a generalist compromises hormone balance, element absorption, and photosynthesis of receptor plants. *BMC Plant Biology, 22*, 368.

Liang, G., & Niu, Y. (2022). The allelopathic effect of para-hydroxybenzoic acid on the gene expression of photosynthesis and respiration in *Solanum lycopersicum*. *Current Plant Biology, 32*, 100261.

Mahe, I., Chauvel, B., Colbach, N., Cordeau, S., Gfeller, A., Reiss, A., & Moreau, D. (2022). Deciphering field-based evidences for crop allelopathy in weed regulation. *Agronomy for Sustainable Development, 42*(50), 1-20.

Nelson, K. M., Bisbing, S., Grossenbacher, D. L., Ritter, M., & Yost, J.M. (2001). Testing an invasion mechanism for *Eucalyptus globulus*: Is there evidence of allelopathy? *Botany, 108*(4), 607-615.

Phraprasert, P., & Namnamung, W., (2005). Effect of crude extracts from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. by various solvents on seed germination and growth of some plants. *Burapha Science Journal, 10*(1-2), 68-75. (in Thai)

Rao, S. C., & Dao, T. H. (1987). Soil water effects on low-temperature seedling emergence of five Brassica cultivars. *Agronomy Journal, 79*(3), 517-519.

Ravilic, M., Kulundzic, A. M., Balicevic, R., Markovic, M., Vuletic, M. V., Kranjac, D., & Sarajliic, A. (2022). Allelopathic potential of sunflower genotypes at different growth stages on lettuce. *Apply Sciences, 12*(24), 12568.

Rose, R., Rose, C. L., Omi, S. K., Foory, K.R., Durall, D. M., & Bigg, W. L. (1991). Starch determination by perchloric acid vs enzymes: evaluation the accuracy and precision of six colorimetric methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 39*, 2-11.

Silva, R. M. G., Brigatti, J. G. F., Santos, V. H. M., Mecina, G. F., & Silva, L. P. (2013). Allelopathic effect of the peel of coffee fruit. *Scientia Horticulturae, 158*, 39-44.

Soln, K., & Koce, J. D. (2021). Allelopathic root inhibition and its mechanisms. *Allelopathy Journal, 52*(2), 181-198.

Thonsoongnern, P. & Phraprasert, P. (2019) Effect of allelopathy from *Piper betle* L. leaves on seed germination, growth, and physiology of mung bean (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek). *Burapha Science Journal, 24*(3), 994-1005. (in Thai)

Turk, M. A., & Tawaha, A. M. (2003). Allelopathic effect of black mustard (*Brassica nigra* L.) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L.). *Crop Protection, 22*, 673-677.

Vitalini, S., Orlando, F., & Iriti, M. (2021). Selective phytotoxic activity of eugenol towards monocot and dicot target species. *Natural Product Research, 36*(6), 1659-1662.

William, C. S., & William F.S. (1931). A method for the determination of the freezing point depression of aqueous solutions particularly those containing protein. *Journal of Biological Chemistry, 91*, 217-226.

Zheleva-Dimitrova, D., Sinan, K. I., Etienne, O. K., Zengin, G., Gevrenova, R., Mahomoodally, M. F., Lobine, D. & Mollica, A. (2020). Chemical composition and biological properties of *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn: A comparative investigation of different extraction methods. *Process Biochemistry, 96*, 202-212.