อภินันทนาการ

สัญญาเลขที่ R2559 B012

สำนักหอสมุด

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของพืชท้องถิ่นเพื่อพัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืช

ผู้วิจัย	สังกัด
ผศ.ดร.ธนัชสัณห์ พูนไพบูลย์พิพัฒน์	ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร
ดร.จวงจันทร์ จำปาทอง	ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน 1 ส.ค. 2560
เลขทะเบียน 1019939
เลขเรียกหนังสือ 9 ร8 951.4 ช199ร 2560

สนับสนุนโดย

งบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยนเรศวร

งบประมาณแผ่นดิน ปี 2560

Execusive summary

1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัยภายใต้งบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยนเรศวรประจำปี 2561

1.1 ชื่อเรื่อง ศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของพืชท้องถิ่นเพื่อพัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืช
Allelopathic Potential of Local Plants for Developing to Natural Herbicides

1.2 ชื่อผู้วิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนัชสัณห์ พูนไพบูลย์พิพัฒน์
หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร
หมายเลขโทรศัพท์ 055-962-734 โทรสาร 055-962-704
ดร. จวงจันทร์ จำปาทอง
หน่วยงานที่สังกัด ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร
หมายเลขโทรศัพท์ 055-962-734 โทรสาร 055-962-704

1.3 งบประมาณและระยะเวลาการวิจัย
ได้รับงบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560 งบประมาณที่ได้รับ 299,000 บาท
ระยะเวลาตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2559 ถึง มีนาคม 2562

2. สรุปแผนกิจกรรม

2.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

วัชพืชเป็นศัตรูพืชอย่างหนึ่งของระบบการปลูก วัชพืชจะคอยแก่งแย่งปัจจัยในการเจริญเติบโตของพืชปลูก เช่น ธาตุอาหาร น้ำ แสง คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น นอกจากนี้วัชพืชยังเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของโรคและแมลงศัตรูพืช ปัญหาวัชพืชในนาข้าวนับว่าเป็นปัญหาที่ร้ายแรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในนาหว่านน้ำตม จะพบว่าหญ้าข้าวนก หญ้าดอกขาว และที่กำลังระบาดอย่างมาก คือ ข้าววัชพืช หากเกษตรกรไม่มีการควบคุมกำจัดวัชพืช จะส่งผลให้สูญเสียผลผลิตมากถึง 100% ปัจจุบันการควบคุมกำจัดวัชพืชในระบบการปลูกแบบนาหว่านน้ำตมนิยมใช้สารกำจัดวัชพืชมากที่สุด เพราะ สะดวก รวดเร็ว และประหยัด อย่างไรก็ตาม การใช้สารกำจัดวัชพืชอย่างต่อเนื่องก่อให้เกิดปัญหาที่ตามอีก เช่น การตกค้างในดิน การไหลลงสู่แหล่งน้ำ ทำให้สิ่งมีชีวิตอย่างอื่นตาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการต้านทานสารกำจัดวัชพืชของวัชพืชบางชนิด

ลีโลพาธีคลุมดิน (Einhelling, 1995) อย่างไรก็ตามนักวิชาการหลายฝ่ายได้มุ่งเน้นการใช้ประโยชน์จากอัลลีโลพาธีในการควบคุมวัชพืชมากกว่าโรคพืชและแมลงศัตรูพืช

ปัจจุบัน นักวิชาการหลายฝ่ายได้สนใจอย่างยิ่งที่จะศึกษาและพัฒนาสารอัลลีโลพาธีเพื่อเป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากสารธรรมชาติส่วนล้วนมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม สามารถย่อยสลายได้ภายในเวลาอันรวดเร็ว ประเทศไทย เป็นประเทศที่อยู่ในเขตร้อน และมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะแก่การเจริญเติบโตของพืชพันธุ์หลากหลายชนิด ทั้งพืชพื้นบ้าน พืชป่า พืชประดับ เป็นต้น การศึกษาพืชเหล่านี้ทางด้านอัลลีโลพาธีที่สามารถพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ นับว่าเป็นแนวทางที่น่าสนใจ เพราะถ้าหากสามารถศึกษาหาประโยชน์จากสิ่งรอบตัวเหล่านี้ซึ่งเราอาจมองข้ามไป มาพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์ในระบบการผลิตพืชและควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตร ซึ่งเป็นองค์ความจากบรรพบุรุษที่เราได้มองข้ามไป เพื่อลดการใช้สารเคมี ลดการนำเข้าสารสังเคราะห์จากต่างประเทศ และช่วยปรับปรุงพื้นที่ทางการเกษตรให้มีความอุดมสมบูรณ์ ก่อให้เกิดความยั่งยืนในอนาคตให้กับลูกหลานชาวเกษตรกรไทยต่อไป

2.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1) เพื่อสนองโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

2) เพื่อทดสอบศักยภาพทางอัลลีลาพาธีของพืชท้องถิ่น

3) เพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์สำคัญของพืชท้องถิ่น

2.3 วิธีการวิจัย

2.3.1 การศึกษาฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีของพืชท้องถิ่น ด้วยการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบ ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกและผักกาดหัว

2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบ

2.4 ผลการวิจัย

2.4.1 ลำดวนดอย โด่ไม่รู้ล้ม และสะเม็กมีปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด

2.4.2 จวงและกระทือ มีปริมาณสารสกัดหยาบน้อยที่สุด สะบันงาป่าและสะเม็ก พบปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดมากสุด คือ 143.7 และ 145.86 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ

2.4.3 ไทรจีนพบปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากสุด 7,639.70 ไมโครกรัม quercetin equivalent ต่อกรัมสารสกัดหยาบ กระทือ พบปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยสุด 607.97 ไมโครกรัม quercetin equivalent ต่อกรัมสารสกัดหยาบ

2.4.4 สารสกัดหยาบจากโด่ไม่รู้ล้มและสะเม็ก มีผลยับยั้งความยาวรากของหญ้าข้าวนกมากกว่า 50%

2.4.5 สารสกัดหยาบจากกระเทียมเถา จำปีช้าง นมแมวซ้อน และสะเม็ก ยับยั้งความยาวรากของต้นกล้าผักกาดหัวมากกว่า 50%

3. ผลผลิตจากโครงการวิจัย

3.1 ผลงานตีพิมพ์

Poonpaiboonpipat, T. and J. Jumpathong, 201x. Evaluating herbicidal potential of aqueous–ethanol extracts of local plant species against *Echinochloa crus-galli* and *Raphanus sativus*. International Journal of Agriculture and Biology. DOI: 10.17957/IJAB/15.0940

4. ข้อเสนอแนะที่ได้จากการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัย

4.1 ศึกษาต่อยอดฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดหยาบ

บทคัดย่อ

สารสกัดหยาบด้วยเอทานอลผสมน้ำจากใบพืชท้องถิ่นมีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืช เพื่อทดสอบสมมติฐานดังกล่าวสารสกัดหยาบจากใบพืชจำนวน 19 ชนิด ถูกวิเคราะห์ปริมาณสารอัลลีโลเคมิคอลและทดสอบฤทธิ์ความเป็นสารกำจัดวัชพืชอยู่ความเข้มข้น 2.5 และ 5 g/L ด้วยวิธีการทดสอบทางชีวภาพต่อผักกาดหัวและหญ้าข้าวนกโดยมีน้ำกลั่นเป็นวิธีควบคุม ลำดวนดอยโด่ไม่รู้ล้ม และสะเม็กมีปริมาณสารสกัดหยาบมากที่สุด ในขณะที่ จวงและกระทือ มีปริมาณสารสกัดหยาบน้อยที่สุด สะบันงาป่าและสะเม็ก พบปริมาณสารฟินอลิกทั้งหมดมากสุด คือ 143.7 และ 145.86 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดหยาบ ในขณะที่ไทรจีนพบปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากสุด 7,639.70 ไมโครกรัม quercetin equivalent ต่อกรัมสารสกัดหยาบ ในขณะที่กระทือ พบปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยสุด 607.97 ไมโครกรัม quercetin equivalent ต่อกรัมสารสกัดหยาบ สารสกัดหยาบจากโด่ไม่รู้ล้มและสะเม็ก มีผลยับยั้งความยาวรากของหญ้าข้าวนกมากกว่า 50% และสารสกัดหยาบจากกระเทียมเถา จำปีช้าง นมแมวซ้อน และสะเม็ก ยับยั้งความยาวรากของต้นกล้าผักกาดหัวมากกว่า 50% ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดจาก กระเทียมเถา มะพูด ไทรจีน นมแมวซ้อน และสะเม็ก มีความสามารถในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าหญ้าข้าวนกและผักกาดหัว เนื่องจากมีปริมาณของสารฟินอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณที่สูง ผลการทดลองนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการคัดเลือกพืชที่มีฤทธิ์ในการพัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืชต่อไปในอนาคต

Abstract

Crude aqueous–ethanol leaf extracts of local plant species can be used as natural herbicides. To test this hypothesis, crude aqueous–ethanol leaf extracts of 19 local species were tested for major secondary metabolites (total phenolic and flavonoid contents) and their herbicidal activity, at concentrations of 2.5 and 5 g L^{-1}, based on germination bioassays against radish (*Raphanus sativas* L.) and barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) and distilled water was used as control. *Mitrephora wangii*, *E. scaber* and *Magnolia cathcarii* observed the highest crude yield of metabolites while *Cinnamomum porrectum* and *Zingiber zerumbet* had the minimum metabolites. *Goniothalamus calvicarpa* and *Agapetes lobbii* extract had highest total phenolic contents (143.7 and 145.86 mg GAE g^{-1} crude extract, respectively). Moreover *Ficus microcarpa extrct had* the highest phenolic contents (7,639.70 μg quercetin equivalent g^{-1} crude extract), followed by *Orophea polycarpa* while *Z. zerumbet* extrct had the least total flavonoid contents (607.97 μg quercetin equivalent g^{-1} crude extract). Aqueous-ethanol extracts derived from leaves of *Elephantopus scaber* and *A. lobbii* observed over 50% inhibition on the root growth of barnyardgrass and extracts derived from *Pachyptera hymenaea, Magnolia citrates, Anomianthus dulcis* and *F. microcarpa* observed over 50% inhibition in root length of radish. In conclusion, extracts of *P. hymenaea, F. microcarpa, A. dulcis, E. scaber* and *A. lobbii* observed strong inhibitort effects on germination and early seedling growth of radish and barnyardgrass due to higher phenolic and flavonoid contents. Results of this study might be considered for further studies to develop natural herbicides based on plant extracts.

สารบัญ

Execusive summary ..... ก
1. รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัยภายใต้งบประมาณแผ่นดินมหาวิทยาลัยนเรศวรประจำปี 2561 ..... ก
2. สรุปแผนกิจกรรม ..... ก
2.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา ..... ก
2.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย ..... ข
2.3 วิธีการวิจัย ..... ข
2.4 ผลการวิจัย ..... ข
3. ผลผลิตจากโครงการวิจัย ..... ค
4. ข้อเสนอแนะที่ได้จากการทำกิจกรรมส่งเสริมและสนับสนุนการวิจัย ..... ค
บทคัดย่อ ..... ง
Abstract ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ช
บทนำ 1
ความสำคัญและที่มาของปัญหา 1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย 1
ขอบเขตของโครงการวิจัย 2
การตรวจเอกสาร 2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4
วิธีการดำเนินงานวิจัย 5
การทดลองที่ 1 การศึกษาฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีของพืชท้องถิ่น 5
การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ 5
ผลการวิจัย 7
การทดลองที่ 1 ฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีของสารสกัดหยาบต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 7
การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ 11
วิจารณ์ผลและอภิปรายผล 12
เอกสารอ้างอิง 13

สารบัญตาราง

ตารางที่ 1 ชื่อสามัญไทย ตระกูล และชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชท้องถิ่น 19 ชนิด..... 6
ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำหนักของสารสกัดหยาบ 7
ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดหยาบต่อการงอก ความยาวต้น และความยาวรากของต้นกล้าผักกาดหัว 9
ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดหยาบต่อการงอก ความยาวต้น และความยาวรากของต้นกล้าหญ้าข้าวนก
..... 10
ตารางที่ 5 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของใบพืชท้องถิ่น..... 11

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

วัชพืชเป็นศัตรูพืชอย่างหนึ่งของระบบการปลูก วัชพืชจะคอยแก่งแย่งปัจจัยในการเจริญเติบโตของพืชปลูก เช่น ธาตุอาหาร น้ำ แสง คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น นอกจากนี้วัชพืชยังเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของโรคและแมลงศัตรูพืช ปัญหาวัชพืชในนาข้าวนับว่าเป็นปัญหาที่ร้ายแรงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในนาหว่านน้ำตม จะพบว่าหญ้าข้าวนก หญ้าดอกขาว และที่กำลังระบาดอย่างมากคือ ข้าววัชพืช หากเกษตรกรไม่มีการควบคุมกำจัดวัชพืช จะส่งผลให้สูญเสียผลผลิตมากถึง 100% ปัจจุบันการควบคุมกำจัดวัชพืชในระบบการปลูกแบบนาหว่านน้ำตมนิยมใช้สารกำจัดวัชพืชมากที่สุด เพราะ สะดวก รวดเร็ว และประหยัด อย่างไรก็ตาม การใช้สารกำจัดวัชพืชอย่างต่อเนื่องก่อให้เกิดปัญหาที่ตามอีก เช่น การตกค้างในดิน การไหลลงสู่แหล่งน้ำ ทำให้สิ่งมีชีวิตอย่างอื่นตาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการต้านทานสารกำจัดวัชพืชของวัชพืชบางชนิด

อัลลีโลพาธี คือ ปฏิกิริยาทางชีวเคมีของพืชและจุลินทรีย์ มีผลทั้งในด้านการยับยั้งและการกระตุ้นการเจริญเติบโตโดยผ่านทางสารเคมีที่ปล่อยสู่สภาพแวดล้อม ทำให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืชและจุลินทรีย์ (Rice, 1984; Callaway and Aschehoug, 2000) อัลลีโลพาธีมีศักยภาพในการปรับปรุงระบบการผลิตพืชและนำไปสู่การพัฒนาการเกษตรอย่างยั่งยืน การควบคุมวัชพืชและศัตรูพืชโดยการปลูกพืชอัลลีโลพาธีหมุนเวียนสลับกับพืชหลัก การใช้ซากพืชอัลลีโลพาธีคลุมดิน (Einhelling, 1995) อย่างไรก็ตามนักวิชาการหลายฝ่ายได้มุ่งเน้นการใช้ประโยชน์จากอัลลีโลพาธีในการควบคุมวัชพืชมากกว่าโรคพืชและแมลงศัตรูพืช

ปัจจุบัน นักวิชาการหลายฝ่ายได้สนใจอย่างยิ่งที่จะศึกษาและพัฒนาสารอัลลีโลพาธีเพื่อเป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากสารธรรมชาติส่วนล้วนมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม สามารถย่อยสลายได้ภายในเวลาอันรวดเร็ว ประเทศไทย เป็นประเทศที่อยู่ในเขตร้อน และมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะแก่การเจริญเติบโตของพืชพันธุ์หลากหลายชนิด ทั้งพืชพื้นบ้าน พืชป่า พืชประดับ เป็นต้น การศึกษาพืชเหล่านี้ทางด้านอัลลีโลพาธีที่สามารถพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ นับว่าเป็นแนวทางที่น่าสนใจ เพราะถ้าหากสามารถศึกษาหาประโยชน์จากสิ่งรอบตัวเหล่านี้ซึ่งเราอาจมองข้ามไป มาพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์ในระบบการผลิตพืชและควบคุมศัตรูพืชทางการเกษตร ซึ่งเป็นองค์ความจากบรรพบุรุษที่เราได้มองข้ามไป เพื่อลดการใช้สารเคมี ลดการนำเข้าสารสังเคราะห์จากต่างประเทศ และช่วยปรับปรุงพื้นที่ทางการเกษตรให้มีความอุดมสมบูรณ์ ก่อให้เกิดความยั่งยืนในอนาคตให้กับลูกหลานชาวเกษตรกรไทยต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1) เพื่อสนองโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี

2) เพื่อทดสอบศักยภาพทางอัลลีลาพาธีของพืชท้องถิ่น

3) เพื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์สำคัญของพืชท้องถิ่น

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1) คัดเลือกพืชท้องถิ่นในเขตจังหวัดพิษณุโลก และ จังหวัดใกล้เคียง
2) ทดสอบศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของพืชท้องถิ่นในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง

การตรวจเอกสาร

อัลลีโลพาธี (allelopathy) เป็นคำที่บัญญัติขึ้นโดย Hans Molisch นักพฤกษศาสตร์ชาวเยอรมันในปี ค.ศ. 1937 ซึ่งมีรากศัพท์มาจากภาษากรีก คือ allelon หมายถึง ซึ่งกันและกัน และ pathos หมายถึง ทำให้เกิดผล อัลลีโลพาธี จึงหมายถึง ปรากฏการณ์ที่พืชชนิดหนึ่ง (รวมทั้งจุลินทรีย์) ได้ผลิตและปลดปล่อยสารชีวเคมีออกมาสู่สิ่งแวดล้อม ซึ่งสารชีวเคมีนี้ก่อให้เกิดผลยับยั้งหรือส่งเสริมการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตที่อยู่รอบ ๆ (Molisch, 1937; Rice, 1984) สารชีวเคมีเหล่านี้สามารถปลดล่อยจากการระเหยของสารทางผิวใบที่มีชีวิต (volatilization from leaves) การชะล้างจากผิวใบโดยน้ำฝน หมอก และน้ำค้าง (leaching from leaves by rain, fog and dew) การละลายมากับสารอื่นทางราก (root exudation from roots) ปลดปล่อยจากการย่อยสลายของรากพืชที่ตายแล้ว (released from decomposing sloughed roots) ปลดปล่อยจากการย่อยสลายของใบ ผล และกิ่ง (released from decomposing leaves, fruits and twigs) (Rice, 1984 ; Putnam and Tang, 1986) สารที่ปลดปล่อยออกมาเหล่านี้เรียกว่า สารอัลลีโลเคมิคอล (allelochemical) หรือสารอัลลีโลพาธิกคอมพาวด์ (allelopathic compound)

สารอัลลีโลเคมิคอลที่พืชหรือจุลินทรีย์ปลดปล่อยออกมาเหล่านี้ Rice (1984) และ Putnam and Tang (1986) ได้แบ่งออกเป็น 11 กลุ่ม ได้แก่ 1) mono-terpens and ses-quitepene, 2) organic acids and aldehydes, 3) coumarins, 4) aromatic acids, 5) lactones, 6) quinines, 7) flavonoids, 8) tannins, 9) alkaloids, 10) terpenoids and steroids, 11) waxes

สารอัลลีโลเคมิคอลส่งผลต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของสิ่งมีชีวิตหลายอย่าง เช่น ผลต่อเซลล์วิทยาและโครงสร้างของพืช (cytology and ultrastructure) ผลต่อฮอร์โมนและสมดุลของฮอร์โมน (phytohormones and their balance) ผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์และความสามารถในการซึมผ่าน (membrane and its permeability) ผลต่อการงอกของละอองเรณูหรือสปอร์ (germination of pollens or spores) ผลต่อการดูดซับธาตุอาหาร (mineral uptake) ผลต่อการเปิด-ปิดปากใบ (stomatal movement) ผลต่อการสังเคราะห์รงควัตถุและการสังเคราะห์แสง (pigment synthesis and photosynthesis) ผลต่อการหายใจ (respiration) ผลต่อการสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis) เป็นต้น (Rice, 1984)

อัลลีโลพาธีมีศักยภาพในการปรับปรุงระบบการผลิตพืชและนำไปสู่การพัฒนาการเกษตรอย่างยั่งยืน การควบคุมวัชพืชและศัตรูพืชโดยการปลูกพืชอัลลีโลพาธีหมุนเวียนสลับกับพืชหลัก การใช้ซากพืชอัลลีโลพาธีคลุมดิน (Einhelling, 1995) อย่างไรก็ตามนักวิชาการหลายฝ่ายได้มุ่งเน้นการใช้ประโยชน์จากอัลลีโลพาธีในการควบคุมวัชพืชมากกว่าโรคพืชและแมลงศัตรูพืช

Macias *et al.* (1999) ได้เสนอแนวคิดในการใช้ประโยชน์จากอัลลีโลพาธีในการควบคุมวัชพืช

1) การใช้สารออกฤทธิ์จากพืช หรือสารสังเคราะห์ที่มีโครงสร้างและคุณสมบัติใกล้เคียงสารธรรมชาติ พัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืช

2) การถ่ายทอดยีนที่มีลักษณะเด่นของพืชอัลลีโลพาธีสู่พืชปลูก

3) การปลูกพืชอัลลีโลพาธีคลุมดิน (smother crop) ปลูกพืชแซม (intercrop) หรือปลูกพืชหมุนเวียน (crop rotation)

4) การใช้ซากพืช หรือส่วนหนึ่งส่วนใดของพืชที่บดแห้ง ใช้เป็นส่วนคลุมดิน (cover crop) ในระบบการปลูกพืชแบบไม่ไถ

จะเห็นได้ว่า การใช้ประโยชน์จากอัลลีโลพาธีสามารถทำได้หลายทาง มีทั้งทางที่เกษตรกรสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้โดยตรง เช่น การใช้พืชคลุมดิน การปลูกพืชแซม หรือการปลูกพืชหมุนเวียน หรือในระดับการศึกษาเชิงลึกที่ต้องใช้เทคโนโลยีขั้นสูง เช่น การหาสารออกฤทธิ์สำคัญ การพัฒนาพันธุ์พืชที่มีลักษณะเด่นทางอัลลีโลพาธี เป็นต้น แต่ทั้งนี้พืชที่นำมาใช้ดังกล่าวจำเป็นต้องมีคุณสมบัติทางอัลลีโลพาธีต่อการควบคุมวัชพืช เพราะหากนำพืชที่ไม่มีศักยภาพมาประยุกต์ใช้ อาจจะไม่สบผลสำเร็จได้ ฉะนั้นการศึกษาวิจัยหาพืชที่มีคุณสมบัติดังกล่าวจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจอย่างยิ่ง โดยเน้นการศึกษาพืชที่สามารถพบได้ทั่วไป ทั้งพืชสมุนไพรพื้นบ้าน วัชพืช พืชบำรุงดิน พืชคลุมดิน เป็นต้น

ปัจจุบันมีนักวิชาการทั่วโลกที่สนใจศึกษาทางด้านอัลลีโลพาธีเพิ่มขึ้นอย่างมากมาย ตัวอย่างที่ประสบความสำเร็จจากการศึกษาทางด้านอัลลีโลพาธีต่อการควบคุมวัชพืช เช่น สาร Bialaphos ที่ผลิตมาจากจุลินทรีย์ *Streptomyces hygroscopis* สารนี้เป็นสารกำจัดวัชพืชที่มีจำหน่ายในประเทศญี่ปุ่น (Dayan *et al.*, 2012) corn gluten meal ผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการผลิตแป้งข้าวโพด มีชื่อการค้าในนาม Weed Ban™ และ Corn Weed Blocker™ (Dayan *et al.*, 2009) Pelargonic acid ที่สามารถพบในพืชทั่วไป ได้ถูกพัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืชในนาม Scythe™ (Dayan *et al.*, 2009) น้ำมันกานพลู (clove oil) ถูกพัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืช ประเภทสัมผัสตาย ชื่อการค้าในนาม Burnout™, Bioorganic™, Weed Zap™, Matran II™, และ Eco-ExemptTM (Dayan *et al.*, 2009)

การใช้สารสกัดจากพืชโดยตรง มีรายงานว่า Rani *et al.* (2006) ทำการทดลองฉีดพ่นสารสกัดหยาบจากใบของ *Breynia retusa* (Dennst.) Alston บนวัชพืช *Calotropis gigantea* (R.Br.), *Parthenium hysterophorus* (L), *Dathura metal* (L) and *Tridax procumbens* (L). ซึ่งพบว่าสารสกัดดังกล่าวมีฤทธิ์เป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทสัมผัสตาย (contact herbicide) โดยมีผลทำให้ใบของวัชพืชไหม้ และเหี่ยว ในขณะเดียวกัน สารสกัดไม่มีต่อข้าว และ ข้าวฟ่าง Uddin *et al.* (2012) ทดลองฉีดพ่นสารสกัดจากรากของ *Fagopyrum tataricum* ที่ระดับความเข้มข้น 0, 1, 2.5, 5 และ 10% ที่อัตราน้ำฉีดพ่น 1,000 ลิตรต่อเฮกตาร์ ทดสอบในระยะก่อนและหลังงอก (pre- and post-emergence) กับวัชพืช ได้แก่ *Echinochloa crus-galli*, *Digitaria sanguinalis*, *Setaria viridis* L., *Poa annua* L., *Cyperus nipponicus* Franch. & Sav., *Galium spurium* L., *Conyza canadensis* (L.) Cronquist, *Eclipta alba* L., *Amaranthus retroflexus* and *Aeschynomene indica* ผลปรากฏว่าสารสกัดการควบคุมวัชพืชในระยะหลังงอกมากกว่าระยะก่อนงอก โดยมีผลมากกับวัชพืช *S. viridis* และ *A. indica* Razzaq *et al.* (2012) ทดลองใช้สารสกัดจากทานตะวัน และสารสกัดจากข้าวฟ่าง ที่อัตรา 18 ลิตรต่อเฮกตาร์ ผสมกับสารกำจัดวัชพืช mesosulfuron +

idosulfuron, metribuzin + phenoxaprop, mesosulfuron + idosulfuron พบว่าสามารถลดอัตราการใช้สารกำจัดวัชพืชดังกล่าวได้ถึง 70%

ทางด้านตัวอย่างการใช้พืชไถคลุกกับดินเพื่อควบคุมวัชพืช เช่น การไถพืชที่มีกลิ่นหอม (aromatic plant) ได้แก่ *Pimpinella anisum* L., *Foeniculum vulgare* P. Mill., *Ocimum basilicum* L., *Anethum graveolens* L., *Coriandrum sativum* L., *Petroselinum crispum* (P. Mill.) Nyman ex A.W. Hill, *Phacelia tanacetifolia* Benth., (*Mentha* X *Verticillata* L.), *Origanum vulgare* L. และ *Melissa officinalis* L. ในระยะออกดอกเป็นปุ๋ยพืชสดก่อนปลูกข้าวโพด พบว่า สามารถลดจำนวนวัชพืช *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv., *Portulaca oleracea* L., *Tribulus terrestris* L. และ *Chenopodium album* L. ได้ 11–50%, 12–59%, 26–79% และ 58–83% ตามลำดับ แต่ไม่ส่งผลต่อการงอกของเมล็ดข้าวโพด (Dhima *et al*, 2010) Isik *et al*. (2011) รายงานการปลูก ryegrass (*Lolium multiflorum* L.), oat (*Avena sativa* L.), rye (*Secale cereale* L.), wheat (*Triticum aestivum* L.), gelemen clover (*Trifolium meneghinianum* Clem.), Egyptian clover (*Trifolium alexsandrinum* L.), common vetch (*Vicia sativa* L.), hairy vetch (*Vicia villosa* Roth.) แล้วไถกลบ ก่อนปลูกพริกไทย พบว่า ryegrass, common vetch และ hairy vetch ลดจำนวนวัชพืชที่แข่งขันมากที่สุด ประมาณ 70% และทำให้ผลผลิตพริกไทยสูงกว่าพืชชนิดอื่น

ขณะที่การใช้เศษซากพืชคลุมดิน เช่น ส่วนเหนือดินของถั่ว *Stylosanthes guianensis* ที่บดให้ละเอียดและแห้ง ในอัตรา 1 ตัน/เฮกตาร์ ในนาดำ สามารถควบคุมวัชพืชได้ 80% และเพิ่มผลผลิตข้าว 40% (Khanh *et al*., 2006) การใช้ส่วนเหนือดินของวัชพืช (*Amaranthus hypochondriacus* L.) โรยและคลุกกับดิน ก่อนปลูกผักกาดหัว หอมหัวใหญ่ และแครอท สามารถควบคุมวัชพืชได้บ้าง ทำให้ผลผลิตของผักกาดหัวลดลง แต่เพิ่มผลผลิตของหอมหัวใหญ่ และแครอท (Tejeda-Sartorius, *et al*., 2011) ใบแก้ว (*Murraya paniculata* L.) ที่ถูกบดและแห้ง คลุมผิวดินในอัตรา 2, 4 และ 8 ตัน/เฮกตาร์ สามารถลดน้ำหนักแห้งของหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) หญ้ารังนก (*Chloris barbata* Sw) ผักโขมหนาม (*Amarathus spinosus* L.) และก้นจ้ำขาวดอกใหญ่ (Pangnakorn and Poonpaiboonpipattana, 2013)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) เผยแพร่ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ
2) สร้างนักวิจัยรุ่นใหม่
3) เป็นข้อมูลพื้นฐานในการต่อยอดโครงการวิจัย

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1019939
สำนักหอสมุด
21 ส.ค. 2562

การทดลองที่ 1 การศึกษาฤทธิ์ทางอัลลิโลพาธีของพืชท้องถิ่น

พืชท้องถิ่น 19 ชนิด แสดงในตารางที่ 1 ได้ถูกเก็บจาก สวนพฤกษศาสตร์บ้านร่มเกล้าในพระราชดำริ อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก ช่วงเดือนพฤศจิกายน 2559 เก็บตัวอย่างพืชท้องถิ่นโดยใช้ส่วนใบ ผึ่งในที่ร่มที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนกว่าตัวอย่างพืชจะแห้ง บดส่วนของพืชตัวอย่างแต่ละชนิดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร

การเตรียมสารสกัดจากพืช ชั่งตัวอย่างพืชแต่ละชนิด 100 กรัม สกัดด้วยแอลกอฮอล์ 70% ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เป็นเวลา 72 ชั่วโมง กรองสารสกัดผ่านผ้าขาวบางและกระดาษกรอง ระเหยแลกอฮอล์ 70% ออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract) บันทึกน้ำหนักสารสกัดหยาบ

การทดสอบสารสกัดหยาบ เจือจางสารสกัดหยาบแต่ละชนิดพืชด้วยแอลกอฮอล์7 0% ให้มีความเข้มข้น 2.5 g/L ppm และ 5 g/L ppm ตามลำดับ จากนั้นใส่สารสกัดที่ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในจานทดลองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่รองด้วยกระดาษเมล็ดจำนวน 2 แผ่น เปิดฝาปล่อยให้แอลกอฮอล์ระเหยในเครื่องดูดอากาศ จากนั้นใส่น้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อเป็นที่เก็บความชื้นให้กับเมล็ดพืช วางเมล็ดพืชทดสอบคือ ผักกาดหัว และ หญ้าข้าวนก วางเมล็ดพืชทดสอบจำนวน 20 เมล็ดต่อจานทดลอง ปิดฝาครอบ วางจานทดลองในห้องปฏิบัติการ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มีกรรมวิธีการทดลอง คือ สารสกัดที่ความเข้มข้น 2.5 g/L ppm และ 5 g/L ppm โดยมีน้ำกลั่นเป็นกรรมวิธีควบคุม ทำการทดลอง 4 ซ้ำ บันทึกจำนวนเมล็ดที่งอกเมื่อ 7 วันหลังปลูก โดยกำหนดให้เมล็ดที่งอกมี radicle แทงออกมาจากเปลือกหุ้มเมล็ดอย่างน้อย 2 มิลลิเมตร วัดความยาวต้นและรากเฉพาะต้นกล้าที่มีชีวิต วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ

คัดเลือกพืชอัลลิโลพาธีที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบที่สูง โดยใช้สารสกัดหยาบที่ได้จากการทดลองที่ 1 วิเคราะห์สารสกัดหยาบ

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin–Ciocalteu อ้างอิงจากวิธีของ Chumyam et al (2013) สารสกัดหยาบแต่ละพืชปริมาณ 1 กรัม ละลายในเอทานอลปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายดังกล่าวปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin–Ciocalteu reagent ปริมาตร 10 มิลลิตร ลงไป และเติม สารละลายโซเดียมคาร์บอร์เนตความเข้มข้น 7.5% ลงไปอีกจำนวน 8 มิลลิลิตร ตั้งหลอดทดลองทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำสารละลายดังกล่าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่

ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณปริมาณของฟินอลิกทั้งหมดเป็นค่า มิลลิกรัมกรดแกลลิก/สารสกัดหยาบ 1 กรัม (mg gallic acid /g of crude extract)

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content)

วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี aluminum chloride colorimetric assay อ้างอิงจากวิธีของ Petal et al. (2010) ละลายสารสกัดหยาบแต่ละชนิดด้วยสารละลายเอทานอลผสมน้ำกลั่น และทำการละลายสาร quercetin ให้มีความเข้มข้นระหว่าง 10–100 μg/mL เพื่อหาค่า standard curve ผสมสารละลายสารสกัดหยาบและสารละลาย quercetin เข้าด้วยกัน เป็นปริมาตร 4 มิลลิลิตร จากนั้นจึงใส่สารละลาย 5% ของ $NaNO_3$ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นจึงใส่ สารละลาย 10% $AlCl_3$ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร และทิ้งไว้อีก 6 นาที และจึงเติมสารละลาย 1 M NaOH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายดังกล่าวไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเป็นค่า มิลลิกรัม quercetin /สารสกัดหยาบ 1 กรัม (mg quercetin equivalent /g of crude extract)

ตารางที่ 1 ชื่อสามัญไทย ตระกูล และชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชท้องถิ่น 19 ชนิด

ชื่อสามัญไทย	ตระกูล (Family)	ชื่อวิทยาศาสตร์
นมแมวช้อน	Annonaceae	*Anomianthus dulcis* (Dunal) J.Sinclair
สะบันงาป่า	Annonaceae	*Goniothalamus calvicarpa*
กลาย	Annonaceae	*Mitrephora keithii* Ridl
ลำดวนดอย	Annonaceae	*Mitrephora wangii* Hu
จักหัน	Annonaceae	*Orophea polycarpa* A.DC.
โด่ไม่รู้ล้ม	Asteraceae	*Elephantopus scaber* L.
กระเทียมเถา	Bignoniaceae	*Pachyptera hymenaea* (DC.) A. Gentry
มะพูด	Clusiaceae	*Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz
สะเม็ก	Eeicaceae	*Agapetes lobbii* C.B. Clarke
อบเชย	Lauraceae	*Cinnamomum loureiroi* Nees
จวง	Lauraceae	*Cinnamomum porrectum* Kosterm.
จำปีพิษณุ	Magnoliaceae	*Magnolia cathcarii* (Hook.f. & Thornson) Noot
จำปีช้าง	Magnoliaceae	*Magnolia citrate* (Noot. & Chaoermglin)
แก้วมหาวรรณ	Magnoliaceae	*Michelia floribunda* Fin. et Gagnep
มณฑาป่า	Magnoliaceae	*Manglietia garrettii* Cralb
มณฑาภู	Magnoliaceae	*Magnolia henryi*
ไทรจีน	Moraceae	*Ficus microcarpa* L.f. var. *crassifolia* sheeh Liao
กระทือ	Zingiberaceae	*Zingiber zerumbet* (L.) Smith.)
มหาหงส์	Zingiberaceae	*Hedychium coronarium* J.Koenig

ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 ฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีของสารสกัดหยาบต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

ปริมาณสารสกัดหยาบ ในตารางที่ 2 แสดงปริมาณสารสกัดหยาบจากใบพืชแต่ละชนิด ซึ่งพบว่า โด่ไม่รู้ล้ม มีปริมาณสารสกัดหยาบมากสุด คือ 25.79% รองมาคือ ลำดวนดอย 25.12% จำปีพิษณุ 24.88% มณฑลป่า 20.11% ในขณะที่ สะเม็ก อบเชย มณฑาภู ไทรจีน มหาหงส์ มีปริมาณอยู่ระหว่าง 11-15% ในขณะที่ใบจวงและกระทือมีปริมาณสารสกัดหยาบน้อยที่คือ 2.91% และ 2.95% ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ปริมาณน้ำหนักของสารสกัดหยาบ

พืชท้องถิ่น	ปริมาณสารสกัดหยาบ* (% น้ำหนักแห้งของใบ)
นมแมวซ้อน	8.25
สะบันงาป่า	9.57
กลาย	8.33
ลำดวนดอย	25.12
จักหัน	9.51
โด่ไม่รู้ล้ม	25.79
กระเทียมเถา	7.33
มะพูด	9.44
สะเม็ก	14.83
อบเชย	13.31
จวง	2.91
จำปีพิษณุ	24.88
จำปีช้าง	7.24
แก้วมหาวรรณ	16.57
มณฑาป่า	20.11
มณฑาภู	11.59
ไทรจีน	11.44
กระทือ	2.95
มหาหงส์	11.17

*คิดมาจากน้ำหนักแห้งของใบพืช 100 กรัม

ผลต่อผักกาดหัว

ผลต่อการงอกของผักกาดหัว ปรากฏว่า ที่ความเข้มข้น 2.5 g/L สารสกัดหยาบจาก สะบันงาป่า กระเทียมเถา มะพูด อบเชย จวง จำปีพิษณุ จำปีช้าง และแก้วมหาวรรณ ยับยั้งการงอกของเมล็ดกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยที่สารสกัดหยาบจากกระเทียมเถาสามารถยับยั้งได้สูงสุด ซึ่งมีการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 38.75% ในขณะที่ความเข้มข้น 5 g/L พบว่าสารสกัดหยาบจาก สะบันงาป่า กระเทียมเถา มะพูด สะเม็ก อบเชย จวง จำปีพิษณุ จำปีช้าง และมณฑาภู ยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยที่สารสกัดหยาบจาก จำปีช้างและกระเทียมเถายับยั้งได้สูงสุด โดยมีอัตราการงอกของเมล็ด 20% และ 25% ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ผลต่อความยาวต้นกล้าผักกาดหัว ปรากฏว่า ที่ความเข้มข้น 2.5 g/L สารสกดัหยาบจากกระเทียมเถายับยั้งความยาวต้นของต้นกล้าผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีความยาว 2.2 เซนติเมตร ขณะที่กรรมวิธีควบคุมยาว 4.5 เซนติเมตร ในขณะที่ความเข้มข้น 5 g/L พบว่า มีเพียงสารสกัดหยาบจากกระเทียมเถาที่ยับยั้งความยาวต้นได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีความยาวราก 1.18 เซนติเมตร อย่างไรก็ตาม สารกัดหยาบที่มีแนวโน้มยับยั้งความยาวต้นได้แก่ สารกัดหยาบจากลำดวนดอยและไทรจีนซึ่งมีความยาวราก 2.63 และ 2.24 เซนติเมตร ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับควบคุม (ตารางที่ 3)

ผลต่อความยาวรากต้นกล้าผักกาดหัว ปรากฏว่า ที่ความเข้มข้น 2.5 g/L สารสกัดหยาบจากกระเทียมเถาและมะพูด ยับยั้งความยาวรากได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งมีความยาวรากเท่ากับ 1.71 และ 1.87 เซนติเมตร ตามลำดับ ในขณะที่ความเข้มข้น 5 g/L พบว่า สารสกัดหยาบจาก กระเทียมเถา มะพูด จำปีช้าง และไทรจีน ยับยั้งความยาวรากของต้นกล้าผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีความยาวรากเท่ากับ 0.36, 0.55, 1.97 และ 2.32 เซนติเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามพบว่าสารสกัดจากพืชบางชนิดเช่น ลำดวนดอย จวง จำปีพิษณุ มีความยาวรากอยู่ระหว่าง 2 – 3 เซนติเมตร ซึ่งน้อยกว่าควบคุมมาก แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ตารางที่ 3)

ผลต่อหญ้าข้าวนก

ผลต่อการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนก พบว่า สารสกัดหยาบไม่มีผลต่อการยับยั้งการงอกของเมล็ดหญ้าข้าวนกทั้งสองความเข้มข้น (ตารางที่ 4)

ผลต่อความยาวต้นกล้าหญ้าข้าวนก พบว่า สารสกัดหยาบทั้งสองความเข้มข้นไม่มีผลยับยั้งความยาวจ้นกล้าหญ้าข้าวนกได้ในทางสถิติ แต่อย่างไรก็ตาม สารสกัดหยาบจาก ลำดวนดอย มีแนวโน้มยับยั้งความยาวต้นมากที่สุด โดยมีความยาวต้นเท่ากับ 3.51 และ 2.31 เซนติเมตร ที่ความเข้มข้น 2.5 g/L และ 5 g/L ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ผลต่อความยาวรากต้นกล้าพบว่า ที่ความเข้มข้น 2.5 g/L สารสกัดหยาบจาก โด่ไม่รู้ล้ม และสะเม็กยับยั้งความยาวรากของหญ้าข้าวนกได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยมีความยาวรากเท่ากับ 1.22 และ 1.81 เซนติเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม สารสกัดหยาบจากลำดวนดอยและมะพูด ซึ่งมีความยาวราก 2.77 และ 2.91 เซนติเมตร ตามลำดับ มีแนวโน้มยับยั้งความยาวรากของต้นกล้าหญ้าข้าวนกได้ดีแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบควบคุม ขณะที่สารสกัดหยาบจากจำปีช้างมีความรากเท่ากับ 7.03 เซนติเมตร ซึ่งส่งเสริมการเจริญเติบโตของรากหญ้าข้าวนก ส่วนที่ความเข้มข้น 5 g/L พบว่า สารสกัดหยาบจากโด่ไม่รู้ล้ม มะพูด และสะเม็ก ยับยั้งความยาวของต้นกล้าหญ้าข้าวนกได้อย่างมีนัยสำคัญโดยมีความยาวรากเท่ากับ 1.36, 1.49 และ 1.41 เซนติเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสารสกัดหยาบจาก กลาย ลำดวนดอย และไทรจีน ซึ่งมีความยาวรากเท่ากับ 2.92, 2.98 และ 2.54

เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งผลมีแนวโน้มในการยับยั้งความยาวรากต้นกล้าหญ้าข้าวนก แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับควบคุม (ตารางที่ 4

ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดหยาบต่อการงอก ความยาวต้น และความยาวรากของต้นกล้าผักกาดหัว

ชนิดของสารสกัด	ความเข้มข้น 2.5 g/L			ความเข้มข้น 5 g/L		
	การงอก (%)	ความยาวต้นกล้า (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)	การงอก (%)	ความยาวต้นกล้า (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)
น้ำกลั่น (ควบคุม)	90.00	4.50	5.20	90.00	4.50	5.20
นมแมวซ้อน	83.75	4.75	6.87	95.00	4.33	5.10
สะบันงาป่า	68.75*	5.39	5.97	56.25*	3.96	3.58
กลายลำดวน	93.75	4.28	6.95	78.75	4.65	6.17
ดอย	77.50	3.11	3.47	73.75	2.63	2.70
จักหัน	97.50	4.89	6.02	83.75	5.55	6.20
โดไม่รู้ล้ม	85.00	4.97	6.04	76.25	5.18	4.90
กระเทียมเถา	38.75*	2.22*	1.71*	25.00*	1.18*	0.36*
มะพูด	67.50*	3.84	1.87*	57.50*	3.50	0.55*
สะเม็ก	77.50	5.50	6.28	65.00*	5.76	5.59
อบเชย	53.75*	3.84	4.31	35.00*	4.06	4.23
จวง	50.00*	5.71	5.36	47.50*	3.89	2.98
จำปีพิษณุ	63.75*	4.02	3.70	45.00*	4.93	2.68
จำปีช้างแก้ว	46.25*	3.78	2.56	20.00*	3.34	1.97*
มหาวรรณ	66.25*	4.49	4.47	55.00*	4.67	3.39
มณฑาป่า	88.75	5.32	5.83	82.50	5.61	4.90
มณฑาภู	91.25	5.24	4.78	68.75*	4.40	3.40
ไทรจีน	85.00	4.60	3.51	81.25	2.24	2.32*
กระทือ	91.25	5.56	6.09	81.25	4.33	3.66
มหาหงส์	82.50	5.04	4.89	70.00	3.77	3.39
LSD *p≤ 0.05*	17.55	2.14	3.22	22.32	2.29	2.57

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย (จาก 4 ซ้ำ) ค่า LSD *p≤ 0.05* แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 4 ผลของสารสกัดหยาบต่อการงอก ความยาวต้น และความยาวรากของต้นกล้าหญ้าข้าวนก

ชนิดของสารสกัด	ความเข้มข้น 2.5 g/L			ความเข้มข้น 5 g/L		
	การงอก (%)	ความยาวต้นกล้า (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)	การงอก (%)	ความยาวต้นกล้า (ซม.)	ความยาวราก (ซม.)
น้ำกลั่น (ควบคุม)	95.00	4.65	4.82	95.00	4.65	4.82
นมแมว	86.25	5.06	4.89	85.00	5.11	4.57
ช้อนสะบันงา	93.75	5.09	3.82	85.00	5.16	3.37
ป่า	97.50	5.03	3.59	82.50	5.43	2.92
กลายลำดวน	100.00	3.51	2.77	98.75	2.31	2.98
ดอย	98.75	3.98	3.82	95.00	4.37	3.81
จักหัน	88.75	4.88	1.22*	91.25	3.73	1.36*
โด่ไม่รู้ล้ม	98.75	4.97	5.11	91.25	5.01	5.45
กระเทียมเถา	98.75	5.30	2.91	95.00	5.36	1.49*
มะพูด	100.00	5.01	1.81*	96.25	4.84	1.41*
สะเม็ก	91.25	5.29	4.04	91.25	5.00	4.25
อบเชย	88.75	4.90	5.50	86.25	4.43	4.84
จวง	98.75	5.07	5.71	95.00	5.08	5.69
จำปีพิษณุ	97.50	4.85	7.03*	93.75	5.20	5.51
จำปีช้างแก้ว	96.25	5.32	4.25	95.00	5.25	3.72
มหาวรรณ	100.00	4.06	4.37	100.00	4.05	4.77
มณฑาป่า	97.50	3.84	4.98	96.25	4.11	4.09
มณฑาภู	95.00	4.75	3.67	87.50	4.52	2.54
ไทรจีน	97.50	4.06	3.75	97.50	4.01	3.47
กระทือ	85.75	4.94	3.85	80.00	5.14	4.54
มหาหงส์	14.50	2.24	2.14	20.75	2.32	2.86
LSD $p \leq 0.05$						

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย (จาก 4 ซ้ำ) ค่า LSD $p \leq 0.05$ แสดงการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

การทดลองที่ 2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟินอลิกและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบ

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณสารฟินอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดหยาบของพืชแต่ละชนิด ผลปรากฏว่า สารสะสกัดหยาบจากสะเม็ก มีปริมาณสารฟินอลิกทั้งหมดสูงสุด คือ 145.86 มิลลิกรัม กรดแกลลิก รองมาคือ สารสกัดหยาบจากสะบันงาป่า 143.7 มิลลิกรัม ไทรจีน 143.42 มิลลิกรัม จำปีพิษณุ 136.61 มิลลิกรัม มะพูด 135.91 มิลลิกรัม แก้วมหาวรรณ 114.74 มิลลิกรัม มณฑาภู 109.13 มิลลิกรัม ในขณะที่ สารสกัดหยาบที่พบปริมาณสารฟินอลิกทั้งหมดน้อยที่สุดได้แก่ สารสกัดหยาบจากกระทียมเถา 3.48 มิลลิกรัม อบเชย 3.8 มิลลิกรัม จักหัน 6.14 มิลลิกรัม นมแมวซ้อน 7.21 มิลลิกรัม

ขณะที่ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด พบว่า สารสกัดหยาบจากไทรจีน มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหทดมากสุด คือ 7.64 มิลลิกรัม quercetin/สารสกัดหยาบ 1 กรัม รองมาคือ จักหัน 5.61 มิลลิกรัม จำปีพิษณุ 4.74 มิลลิกรัม ส่วนสารสกัดหยาบจาก กระทือ พบปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยสุด 0.61 มิลลิกรัม (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ปริมาณสารฟินอลิกทั้งหมดและสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของใบพืชท้องถิ่น

ชนิดของพืชท้องถิ่น	ปริมาณฟินอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม กรด gallic/กรัมของสารกัดหยาบ)	ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (มิลลิกรัม quercetin/กรัมสารสกัดหยาบ)
นมแมวซ้อน	7.21	2.92
สะบันงาป่า	143.7	3.16
กลาย	17.31	2.55
ลำดวนดอย	46.49	2.04
จักหัน	6.14	5.61
โด่ไม่รู้ล้ม	69.56	2.31
กระเทียมเถา	3.48	1.22
มะพูด	135.91	3.69
สะเม็ก	145.86	3.62
อบเชย	3.8	1.65
จวง	97.79	1.42
จำปีพิษณุ	136.61	4.74
จำปีช้าง	77.13	2.88
แก้วมหาวรรณ	114.74	3.97
มณฑาป่า	70.37	2.37
มณฑาภู	109.13	2.90
ไทรจีน	143.42	7.64
กระทือ	107.3	0.61
มหาหงส์	23.63	3.01

วิจารณ์ผลและอภิปรายผล

ผลการทดลอง พบว่า สารสกัดหยาบมีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัด ความเข้มข้น และ ชนิดของพืชทดสอบ หญ้าข้าวนกแสดงความทนทานต่อสารสกัดหยาบมากกว่าผักกาดหัว ซึ่งโดยวิธีการทดสอบฤทธางอัลลีโลพาธีด้วยวิธีการทดสอบแบบชีวภาพนั้น (bioassay activity) ผักกาดหัวมีความอ่อนแอต่อสารอัลลีโลเคมิคอลมากกว่าหญ้าข้าวนก (Laosinwattana *et al.*, 2012) สารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 5 g/L แสดงผลการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบมากกว่าสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 2.5 g/L ซึ่งโดยทั่วไปนั้นสารสกัดจากพืชมักแสดงผลการยับยั้งพืชทดสอบที่ความเข้มข้นสูง ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำไม่มีแสดงผลการยับยั้ง หรือสารสกัดบางชนิดแสดงส่งเสริมที่ความเข้มข้นต่ำ (Einhellig, 1986)

ด้านผลของปริมาณสารสกัดหยาบและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซึ่งแสดงใน ตารางที่ 1 และ ตารางที่ 5 นั้น แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการงอก ความยาวต้น และความยาวรากของพืชทดสอบนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ไทรจีน (*F. microcarpa*) พบปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด และแสดงผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของผักกาดหัวมากที่สุดเช่นกัน อย่างไรก็ตามผลดังกล่าวนั้นขัดแย้งกับกรณีของสารสกัดหยาบจากกระเทียมเถา (*P. hymenaea*) ที่ซึ่งมีปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปริมาณน้อยแต่แสดงผลยับยั้งผักกาดหัวสูงพอๆ กันกับสารสกัดจากไทรจีน ในขณะที่สารสกัดหยาบจากกระเทียมเถาแสดงผลยับยั้งผักกาดหัว แต่แสดงผลส่งเสริมหญ้าข้าวนก

โดยทั่วไปสารฟีนอลิกที่พบในพืชแสดงออกเป็น 2 รูป คือ 1) รูปสารประกอบอิสระ เช่น benzoic acid และ cinnamic acid และ 2) ในรูปพันธะ เช่น glycosidic phenylpropanoid ester (Deba *et al.*, 2007). สารประกอบในพืชที่พบมาก ได้แก่ *p*-hydroxybenzoic, vanillic, *p*-coumaric, syringic และ ferulic acids ซึ่งสารประกอบดังกล่าวส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอลิกกลไกการทำลายของสารกลุ่มฟีนอลิก เช่น การส่งผลต่อการเคลื่อนย้ายฮอร์โมนอย่างเช่นออกซิน นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวเองของพืช และการเกิดอนุมูลอิสระในพืช (Buer *et al.*, 2010).

สารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นสารกลุ่มหลักของสารอัลลีโลเคมิคอลเช่นกัน (Einhellig, 2004) สารกลุ่มฟลาโวนอยด์จากพืชหลายชนิดมีรายงานผลทางอัลลีโลพาธี เช่น สาร issochaftoside ซึ่งได้ถูกปลดปล่อยออกมาผ่านสารละลายรากจาก *Desmodium uncinatum* ยับยั้งการเจริญเติบโตของรากหญ้าแม่มด (Hooper *et al.*, 2010) ในขณะที่สารฟลาโวนอยด์ที่พบในใบมะม่วงมีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืช *Parthenium hysterophorus* L. จากการคลุกซากใบมะม่วงลงดิน (Javaid *et al.*, 2010). สารกลุ่มฟลาโวนอยด์มีกลไกเกี่ยวกับการรบกวนการทำงานของไมโตรคอนเดรียซึ่งส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน (Moreland and Novitsky, 1987).

ในบทสรุปแล้ว สารสกัดหยาบจากกระเทียมเถา ไทรจีน โด่ไม่รู้ล้มและสะเม็ก แสดงผลการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบสูงกว่าสารสกัดหยาบจากพืชชนิดอื่นๆ ซึ่งเกิดการปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่พบมากในพืชเหล่านี้ ข้อมูลดังกล่าวจะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญในการต่อยอดพัฒนาพืชดังกล่าวเป็นสารกำจัดวัชพืชจากสารธรรมชาติต่อไปในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

Bukun, B. (2011). Influence of redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) density and biomass on peanut (*Arachis hypogaea*) yield. **African Journal of Biotechnology,** 10(84), 19542-19546.

Chan, E.W.C., Y.Y. Lim, S.K. Wong, K.K. Lim, S.P. Tan, F.S. Lianto and M.Y. Yong. 2009. Effects of Different Drying Methods on the Antioxidant Properties of Leaves and Tea of Ginger Species. **Journal of Food Chemistry,** 113: 166-172.

Cowan, P., Weaver, S.E. and Swanton, C.J. (1998). Interference between pigweed (*Amaranthus* spp.), barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*), and soybean (*Glycine max*). **Weed Science,** 46(5), 533-539.

Callaway, R.M. and Aschehoug, E.T. (2000). Invasive plants versus their new and old neighbors: A mechanism for exotic invasion. **Science,** 290(5491): 521-523.

Dayan, F.E., Cantrell, C.L. and Duke, S.O. (2009). Natural products in crop protection. **Bioorganic and Medicinal Chemistry,** 17(12), 4022-4034.

Dayan, F.E., Owens, D.K. and Duke, S.O. (2012). Rationale for a natural products approach to herbicide discovery. **Pest Management Science,** 68(4), 519-528.

Deba, F., Xuan, T. D., Yasuda, M. and Tawata, S. (2008). Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. var. *Radiata.* **Food Control,** 19(4): 346-353.

Dhima, K.V., Vasilakoglou, I.B., Gatsis, Th.D., Philotheou, E.P. and Eleftherohorinos, I.G. (2009). Effects of aromatic plants incorporated as green manure on weed and maize development. **Field Crops Research,** 110: 235 – 241.

Einhellig, F.A. (1995). Allelopathy: current status and future goals. In Inderjit, K.M.M. Dakshini and F.A. Einhellig (eds), **Allelopathy, Organisms, Processes and Applications,** ACS Symposium Series 582, American Chemical Society, Washington DC, pp. 1 – 24.

Hong, N. H., Xuan, T. D., Eiji, T., Hiroyuki, T., Mitsuhiro, M. and Khanh, T. D. (2003) Screening for allelopathic potential of higher plants from Southeast Asia. **Crop Protection,** 22(6): 829-836.

Isik, D., Kaya, E., Ngouajio, M. and Mennan, H. (2009) Weed suppression in organic pepper (*Capsicum annuum* L.) with winter cover crops. **Crop Protection,** 28(4): 356–363.

Khanh, T. D., Hong, N.H., Nhan, D.Q., Kim, S. L., Chung, I. M. and Xuan, T. D. (2006). Herbicidal activity of *Stylosanthes guianensis* and its phytotoxic components. **Journal of Agronomy and Crop Science,** 192(6): 427-433.

Khanh, T. D., Cong, L. C., Xuan, T. D., Uezato, Y., Deba, F., Toyama, T. and Tawata, S. (2009). Allelopathic plants: 20. Hairy beggarticks (*Bidens pilosa* L.). **Allelopathy Journal,** 24(2): 243-254.

Laosinwattana, C., Poonpaiboonpipat, T., Teerarak, M., Phuwiwat, W., Mongkolaussavaratana, T. and Charoenying, P. (2009). Allelopathic potential of Chinese rice flower (*Aglaia odorata* Lour.) as organic herbicide. **Allelopathy Journal,** 24(1), 45-54.

Macías, F.A., Oliva, R.M., Varela, R.M., Torres, A. and Molinillo, J.M.G., 1999. Allelochemicals from sunflower leaves cv. Peredovick. **Phytochemistry,** 52(4): 613-621.

Molisch, H. (1937). Der Einfuss einer Pfanze auf die andre – **Allelopathie. Germany** : Fisher, Jena

Poonpaiboonpipat, T., Teerarak, M., Phuwiwat, W., Charoenying, P. and Laosinwattana, C. (2011). Allelopathic effects of Arabian jasmine (*Jasminum sambac* Ait.) and preliminary test estimation in its natural herbicide activity. **Journal of Agricultural Technology,** 7(4), 1073-1085.

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

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J., Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology,** 5(11), 1142-1145.

Putnam, A. R. and Tang, C.S. (1986). **The Science of Allelopathy.** Eds; Wiley: New York.

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

Razzaq, A., Cheema, Z., Jabran, K., Hussain, M., Farooq, M. and Zafar, M. (2012). Reduced herbicide doses used together with allelopathic sorghum and sunflower water extracts for weed control in wheat. **Journal of Plant Protection Research,** 52(2), 281-285.

Rice, E.L. (1984). **Allelopathy** 2nd edition. Olendo : Acadecmic Press, Inc.

Siddiqui, I., Bajwa, R., Zil, E.H. and Javaid, A. (2010). Effect of six problematic weeds on growth and yield of wheat. **Pakistan Journal of Botany,** 42(4), 2461-2471.

Shui, J., An, Y., Ma, Y. and Ichizen, N. (2010) Allelopathic Potential of Switchgrass (*Panicum virgatum* L.) on Perennial Ryegrass (*Lolium perenne* L.) and Alfalfa (*Medicago sativa* L.). **Environmental Management,** 46(4): 590-598.

Singh, H.P., Kohli, R.K. and Batish, D.R. (2001). **Allellopathy in Agroecosystem.** New York : Food Products Press.

Tejeda-Sartorius, O., Vaquera-Huerta, H. and Cadena-Iñiguez, J. (2011). Effect of amaranth residues (*Amaranthus hypochondriacus* L.) on weed control and yield or radish, onion and carrot. **Spanish Journal of Agricultural Research** 9(1): 284-295.

Tobinaga, S., Sharma, M. K., Aalbersberg, W. G. L., Watanabe, L., Iguchi, K., Narui, K., Sasatsu, M. and Waki, S. (2009). Isolation and identification of a potent antimalarial and antibacterial polyacetylene from *Bidens pilosa*. **Planta Medica,** 75(6): 624-628.

Uddin, M.R., Li, X., Won, O.J., Park, S.U. and Pyon, J.Y. (2012). Herbicidal activity of phenolic compounds from hairy root cultures of *Fagopyrum tataricum*. **Weed Research,** 52(1), 25-33.

Wu, J., Wan, Z., Yi, J., Wu, Y. and Peng, W. (2012). Investigation of the extracts from *Bidens pilosa* Linn. var. *radiata* Sch. Bip. for antioxidant activities and cytotoxicity against human tumor cells. **Journal of Natural Medicines,** 67(1): 17-26.

INTERNATIONAL JOURNAL OF AGRICULTURE & BIOLOGY
ISSN Print: 1560–8530; ISSN Online: 1814–9596
18–1135/201x/00–0–000–000
DOI: 10.17957/IJAB/15.0940
http://www.fspublishers.org

Short Communication

Evaluating Herbicidal Potential of Aqueous–ethanol Extracts of Local Plant Species against *Echinochloa crus-galli* and *Raphanus sativus*

Thanatsan Poonpaiboonpipat[1*] and Juangjun Jumpathong[1]
[1]*Department of Agricultural Sciences, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand*
*For correspondence: thanatchasanhap@nu.ac.th

Abstract

Crude aqueous–ethanol leaf extracts of local plant species can be used as natural herbicides. To test this hypothesis, crude aqueous–ethanol leaf extracts of 19 local species were tested for major secondary metabolites (total phenolic and flavonoid contents) and their herbicidal activity, at concentrations of 2.5 and 5 g L^{-1}, based on germination bioassays against radish (*Raphanus sativas* L.) and barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) and distilled water was used as control. *Mitrephora wangii*, *E. scaber* and *Magnolia cathcarii* observed the highest crude yield of metabolites while *Cinnamomum porrectum* and *Zingiber zerumbet* had the minimum metabolites. *Goniothalamus calvicarpa* and *Agapetes lobbii* extract had highest total phenolic contents (143.7 and 145.86 mg GAE g^{-1} crude extract, respectively). Moreover *Ficus microcarpa extrct had* the highest phenolic contents (7,639.70 μg quercetin equivalent g^{-1} crude extract), followed by *Orophea polycarpa* while *Z. zerumbet* extrct had the least total flavonoid contents (607.97 μg quercetin equivalent g^{-1} crude extract). Aqueous-ethanol extracts derived from leaves of *Elephantopus scaber* and *A. lobbii* observed over 50% inhibition on the root growth of barnyardgrass and extracts derived from *Pachyptera hymenaea, Magnolia citrates, Anomianthus dulcis* and *F. microcarpa* observed over 50% inhibition in root length of radish. In conclusion, extracts of *P. hymenaea, F. microcarpa, A. dulcis, E. scaber* and *A. lobbii* observed strong inhibitort effects on germination and early seedling growth of radish and barnyardgrass due to higher phenolic and flavonoid contents. Results of this study might be considered for further studies to develop natural herbicides based on plant extracts. © 2019 Friends Science Publishers

Keywords: Crude extract; Phenolic content; Flavonoid content; Germination assay

Introduction

The continuous use of synthetic herbicides in agricultural and non-agricultural areas has become an increasing concern because these herbicides contaminate agricultural products, water sources, soil and air (Poonpaiboonpipat *et al*., 2013). Therefore, enhancing crop production by using eco-friendly methods is needed; especially *via* use of products based on natural compounds obtained from plants or microorganisms (Dayan *et al*., 2012). Many plant species produce some compounds that influence other species by stimulation or inhibition of growth and development and this phenomenon is called allelopathy. Allelopathic plants can play a beneficial role in weed control in several ways (Poonpaiboonpipat *et al*., 2011), namely, through crop rotation, intercropping system, or as cover crop (Mamolos and Kalburtji, 2001; den Hollander *et al*., 2007; Vasilakoglou *et al*., 2011; Shahzad *et al*., 2016a, b); mulching or incorporating plant material with soil (Laosinwattana *et al*., 2012; Farooq *et al*., 2017); use of plant based herbicides alone or in combination with synthetic herbicides (Jabran *et al*., 2008; Khan *et al*., 2012); use of crude or oil extraction (Kaur *et al*., 2010; Poonpaiboonpipat *et al*., 2013) and isolation of active compound and synthesis of derivative compounds (Heisey and Heisey, 2003). Natural products based on allelochemicals may replace or reduce the use of synthetic compounds because they are safe for humans, pets and the environment. Plant tissues including root, stem, bark, leaves, flower, fruits and seeds, almost contain organic compounds that exhibit allelopathic effects on plant growth (Jilani *et al*., 2008).

However, the important source of inhibitory activity is found in leaves as reported in *Suregada multiflorum* (Laosinwattana *et al*., 2010) and *Ageratum conyzoides* L. (Xuan *et al*., 2004). Phenolic compounds form a major group of plant allelochemicals found in the ecosystem (Li *et al*., 2010). Phenolic acids commonly found their potential and putative allelochemical compound which led to a natural herbicide formulation (Chon *et al*., 2005). Besides, these play many functions in different aspects of plant physiology. They influence the transport of plant hormones, especially auxin, which is one of their most essential functions. Their other roles include defense, allelopathy and modulation of the levels of reactive oxygen species (Buer *et al*., 2010).

To cite this paper: Poonpaiboonpipat, T. and J. Jumpathong, 201x. Evaluating herbicidal potential of aqueous–ethanol extracts of local plant species against *echinochloa crus-galli* and *raphanus sativus*. *Int. J. Agric. Biol.* 00: 000–000

Romklao Botanical Garden under the Royal Initiative, Phitsanulok, Thailand is enriched with native plant species and therefore was focused for this study. Thus, this study was designed to analyze the major secondary metabolite contents in the leaves of 19 plant species found in this garden. Moreover, the aqueous-ethanol extracts of these species were tested to evaluate their herbicidal activity against radish and barnyardgrass, the two widely found weeds in paddy fields of Thailand.

Materials and Method

Plant Material and Extraction

Nineteen species *viz. Anomianthus dulcis* (Dunal) J. Sinclair, *Goniothalamus calvicarpa*, *Mitrephora keithii* Ridl, *Mitrephora wangii* Hu, *Orophea polycarpa* A.DC., *Elephantopus scaber* L., *Pachyptera hymenaea* (DC.) A. Gentry, *Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz, *Agapetes lobbii* C.B. Clarke, *Cinnamomum loureiroi* Nees, *Cinnamomum porrectum* Kosterm, *Magnolia cathcarii* (Hook.f. & Thornson) Noot, *Magnolia citrates* (Noot. & Chaoermglin), *Michelia floribunda* Fin. et Gagnep, *Manglietia garrettii* Cralb, *Magnolia henryi*, *Ficus microcarpa* L.f. var. *crassifolia* sheeh Liao, *Zingiber zerumbet* (L.) Smith.) and *Hedychium coronarium* J. Koenig found in Romklao Botanical Garden under the Royal Initiative, Phitsanulok, Thailand were used in this study. Fresh leaves of these species were cleaned several times by water, chopped into 1 cm lengths, dried at 45°C and then ground with electronic grinder into powder. Each dried material was extracted by 50% aqueous-ethanol in a ratio of 10:100 w/v and kept at 25°C for 24 h in dark condition. The extractions were filtered through filter paper (Whatman No.1 Inc.). The residues were re-extracted again in the same condition and filtration. The filtered extractions were mixed and evaporated using a rotary evaporator and then kept in a chamber set to 5°C in the dark until use. After 24 h under a partial vacuum at 45°C, the crude extract was obtained, weighed, and calculated on the dried material percentage.

Seed Germination and Seedling Growth Bioassay

Herbicidal potential of crude aqueous-ethanol extracts of above cited plant species was evaluated against radish (*Raphanus sativus* L.) and barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.), widely found weeds in Thailand paddy fields. Seed of these weed species were collected and then firstly examined using seed germination test before starting the experiment. Each crude extract was diluted by 50% aqueous-ethanol giving final concentrations of 2.5 g L^{-1} and 5 g L^{-1}. Petri dishes (90 mm of diameter) were lined with the germination paper, and then 5 mL of aliquot solution was added to each of the petri dish. Twenty seeds per species was sowed on the paper and sealed with parafilm. The treatment with distilled water was used as control. The dishes were placed at room temperature (25°C–30°C) for seven days. The bioassays were done with four replicates. Number of seed germination, shoot length and root length of the indicator species were measured. The inhibition percentage was used for calculating the inhibitory activity on plant growth as followed (Hong *et al.*, 2003);

Inhibition percentage sample extracts = [1 – (treatment/control)] * 100.

Analysis of the Total Phenolic Content

The total phenolic content in each of the plant crude extract was determined using the Folin–Ciocalteu method as described by Chumyam *et al.* (2013). In this experiment, each crude extract at concentration of 1 g L^{-1} was prepared in ethanol. Then each of 2 mL diluted crude extract solution was transferred in a test tube before mixing in 10 mL of the Folin–Ciocalteu reagent and 8 mL of 7.5% sodium carbonate. The mixture was kept for 2 h at room temperature and the absorbance of reaction solution was measured at 765 nm by using an ultraviolet (UV) spectrophotometer. The total phenolic content of each crude extract (mg g^{-1}) was calculated using gallic acid (GAE) as standard.

Analysis of the Total Flavonoid Content

The total flavonoid content from each crude extract was measured by the aluminum chloride colorimetric assay. Aqueous-ethanol extracts that had been adapted to be within the linearity range (*i.e.*, 400 μg/mL) and different dilutions of the standard solution of quercetin (10–100 μg/mL) were added to a 10 mL volumetric flask containing 4 mL of water. In above mixture, 0.3 mL of 5% $NaNO_2$ was added and incubated for 5 min. After that, 0.3 mL of 10% $AlCl_3$ was transferred and allowed the reaction to continue for 6 mins. Later, 2 mL of 1 *M* NaOH was added and the total volume reached 10 mL with distilled water. Then, the solution was mixed well and the absorbance was measured against a freshly prepared reagent blank at 510 nm using a UV spectrophotometer. Finally, the total flavonoid contents obtained from each extract was expressed as the percentage of quercetin equivalent per 1 g dry weight of the crude extract.

Statistical Analysis

Data were analyzed using analysis of variance (ANOVA) technique to analyze the overall significance of data while least significant difference (LSD) test at 5% was used to compare the means (Steel *et al.*, 1997).

Results

Crude Extract Yield of Aqueous-ethanol Extracts of 19 Plant Species

Mitrephora wangii, *Elephantopus scaber* and *Magnolia cathcarii* had the highest crude yield (over 20% w/w) enclosed in the leaves. *Cinnamomum porrectum* and *Zingiber zerumbet* had the least yield (2.91% w/w and 2.95% w/w, respectively) (Table 1).

Table 1: Crude yield, total phenolic and flavonoid contents in the plant species under investigation

Family	Species	Crude yield[a] (% dry weight of leaves)	Total phenolic contents (mg GAE g^{-1} crude extract)	Total flavonoid contents (mg quercetin equivalent g^{-1} crude extract)
Annonaceae	*Anomianthus dulcis* (Dunal) J.Sinclair	8.25	7.21	2.92
Annonaceae	*Goniothalamus calvicarpa*	9.57	143.7	3.16
Annonaceae	*Mitrephora keithii* Ridl	8.33	17.31	2.55
Annonaceae	*Mitrephora wangii* Hu	25.12	46.49	2.04
Annonaceae	*Orophea polycarpa* A.DC.	9.51	6.14	5.61
Asteraceae	*Elephantopus scaber* L.	25.79	69.56	2.31
Bignoniaceae	*Pachyptera hymenaea* (DC.) A. Gentry	7.33	3.48	1.22
Clusiaceae	*Garcinia dulcis* (Roxb.) Kurz	9.44	135.91	3.69
Eeicaceae	*Agapetes lobbii* C.B. Clarke	14.83	145.86	3.62
Lauraceae	*Cinnamomum loureiroi* Nees	13.31	3.8	1.65
Lauraceae	*Cinnamomum porrectum* Kosterm.	2.91	97.79	1.42
Magnoliaceae	*Magnolia cathcarii* (Hook.f. & Thomson) Noot	24.88	136.61	4.74
Magnoliaceae	*Magnolia citrates* (Noot. & Chaoermglin)	7.24	77.13	2.88
Magnoliaceae	*Michelia floribunda* Fin. et Gagnep	16.57	114.74	3.97
Magnoliaceae	*Manglietia garrettii* Cralb	20.11	70.37	2.37
Magnoliaceae	*Magnolia henryi*	11.59	109.13	2.90
Moraceae	*Ficus microcarpa* L.f. var. *crassifolia* sheeh Liao	11.44	143.42	7.64
Zingiberaceae	*Zingiber zerumbet* (L.) Smith.)	2.95	107.3	0.61
Zingiberaceae	*Hedychium coronarium* J. Koenig	11.17	23.63	3.01

[a]Yield of extract per 10 g of plant material

Table 2: Effect of extracts of different plant species on germination, shoot length and root length of barnyard grass

Species	2.5 g L^{-1}			5 g L^{-1}		
	Germination (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Germination (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)
Control	95.00	4.65	4.82	95.00	4.65	4.82
A. dulcis	86.25	5.06	4.89	85.00	5.11	4.57
G. calvicarpa	93.75	5.09	3.82	85.00	5.16	3.37
M. keithii	97.50	5.03	3.59	82.50	5.43	2.92
M. wangii	100.00	3.51	2.77	98.75	2.31	2.98
O. polycarpa	98.75	3.98	3.82	95.00	4.37	3.81
E. scaber	88.75	4.88	1.22	91.25	3.73	1.36
P. hymenaea	98.75	4.97	5.11	91.25	5.01	5.45
G. dulcis	98.75	5.30	2.91	95.00	5.36	1.49
A. lobbii	100.00	5.01	1.81	96.25	4.84	1.41
C. loureiroi	91.25	5.29	4.04	91.25	5.00	4.25
C. porrectum	88.75	4.90	5.50	86.25	4.43	4.84
M. cathcarii	98.75	5.07	5.71	95.00	5.08	5.69
M. citrates	97.50	4.85	7.03	93.75	5.20	5.51
M. floribunda	96.25	5.32	4.25	95.00	5.25	3.72
M. garrettii	100.00	4.06	4.37	100.00	4.05	4.77
M. henryi	97.50	3.84	4.98	96.25	4.11	4.09
F. microcarpa	95.00	4.75	3.67	87.50	4.52	2.54
H. coronarium	97.50	4.06	3.75	97.50	4.01	3.47
Z. zerumbet	85.75	4.94	3.85	80.00	5.14	4.54
LSD $p \leq 0.05$	14.50	2.24	2.14	20.75	2.32	2.86

Seed Bioassay

All crude extracts at both 2.5 and 5 g L^{-1} showed no effect on germination of barnyard grass when compared with control. All crude extracts at 2.5 g L^{-1} were not significantly affected on shoot length of barnyard grass, however at 5 g L^{-1}, only *M. wangii* significantly inhibited shoot length of barnyard grass. *E. scaber* and *A. lobbii* at both concentrations showed the inhibition of root length of barnyard grass. *M. citrates* significantly promoted root length of barnyard grass at 2.5 g L^{-1} (Table 2). Another result of radish was showed in Table 3. *G. calvicarpa*, *P. hymenaea*, *G. dulcis*, *C. loureiroi*, *C. porrectum*, *M. cathcarii*, *M. citrates* and *M. floribunda* at 2.5 g L^{-1} and 5 g L^{-1} significantly inhibited the germination of radish. *P. hymenaea* significantly inhibited the shoot length and root length of radish at both 2.5 g L^{-1} and 5 g L^{-1} (Table 3).

Analysis of Phenolic and Flavonoid Content

G. calvicarpa, *A. lobbii and F. microcarpa* had the highest total phenolic content (143.7, 145.86 and 143.42 mg GAE g^{-1} of crude extract, respectively), whereas *P. hymenaea* and *C. loureiroi* had the least (3.48 and 3.8 mg GAE g^{-1} of crude extract, respectively). In terms of the flavonoid content, *F. microcarpa* had the highest content

Table 3: Effect of extracts of different plant species on germination, shoot length and root length of radish

Species	2.5 g L^{-1}			5 g L^{-1}		
	Germination (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Germination (%)	Shoot length (cm)	Root length (cm)
Control	90.00	4.50	5.20	90.00	4.50	5.20
A. dulcis	83.75	4.75	6.87	95.00	4.33	5.10
G. calvicarpa	68.75	5.39	5.97	56.25	3.96	3.58
M. keithii	93.75	4.28	6.95	78.75	4.65	6.17
M. wangii	77.50	3.11	3.47	73.75	2.63	2.70
O. polycarpa	97.50	4.89	6.02	83.75	5.55	6.20
E. scaber	85.00	4.97	6.04	76.25	5.18	4.90
P. hymenaea	38.75	2.22	1.71	25.00	1.18	0.36
G. dulcis	67.50	3.84	1.87	57.50	3.50	0.55
A. lobbii	77.50	5.50	6.28	65.00	5.76	5.59
C. loureiroi	53.75	3.84	4.31	35.00	4.06	4.23
C. porrectum	50.00	5.71	5.36	47.50	3.89	2.98
M. cathcarii	63.75	4.02	3.70	45.00	4.93	2.68
M. citrates	46.25	3.78	2.56	20.00	3.34	1.97
M. floribunda	66.25	4.49	4.47	55.00	4.67	3.39
M. garrettii	88.75	5.32	5.83	82.50	5.61	4.90
M. henryi	91.25	5.24	4.78	68.75	4.40	3.40
F. microcarpa	85.00	4.60	3.51	81.25	2.24	2.32
H. coronarium	91.25	5.56	6.09	81.25	4.33	3.66
Z. zerumbet	82.50	5.04	4.89	70.00	3.77	3.39
LSD $p \leq 0.05$	17.55	2.14	3.22	22.32	2.29	2.57

(7,639.70 μg quercetin equivalent g^{-1} of crude extract), followed by *O. polycarpa* (5,614.19 μg), *M. cathcarii* (4,743.00 μg) and *M. floribunda* (3,971.38 μg). *Z. zerumbet* had the least total flavonoid content (607.97 μg quercetin equivalent g^{-1} of crude extract) (Table 1).

Discussion

The results of different crude extracts on germination and seedling growth of barnyard grass and radish were depended on the concentrations and plant bioassay species. Barnyardgrass was likely to be more tolerant than radish. For bioassay allelopathic activity, radish and barnyard grass are always used as bioassay species by petri dish test method because the previous reports indicated that radish is highly sensitive to allelochemicals, whereas barnyard grass is tolerant (Laosinwattana *et al.*, 2012). The crude extracts at 5 g L^{-1} had more inhibitory effect on both species than at 2.5 g L^{-1}. The crude extracts from plants, especially allelopathic plant, always show an inhibition of germination and seedling growth of plant bioassay with increasing on a concentration. However, allelopathic compounds sometimes show growth stimulation with a lower concentration (Einhellig, 1986).

The yield of crude extracts and amount of total phenolic and flavonoid contents showed in Table 1 indicated that the inhibitory effect of crude extracts probably depended on the amount of total phenolic and flavonoid contents. *F. microcarpa* exhibited the highest total phenolic and flavonoid contents, inhibiting the germination and growth of radish. However, the results were complicated in case of *P. hymenaea* extract, which contained a small amount of trivial total phenolic content and a moderate amount of total flavonoid content. The extract had a stimulatory effect on the shoot and root length of bamyardgrass and the highest inhibitory effect on radish.

Phenolic acids found in plant tissues appear in two different forms *i.e.*, as free compounds such as benzoic acid and cinnamic acid derivatives and in bound forms such as glycosidic phenylpropanoid ester (Deba *et al.*, 2007). The major compounds of allelochemicals such as *p*-hydroxybenzoic, vanillic, *p*-coumaric, syringic and ferulic acids are reported (Chon *et al.*, 2005). Apparently, phenolic compounds in allelopathy and their modes of action appeared in similar actions such as inhibiting phytopathogens and plant growth causing on non-specific permeability changes on cell membrane, interacting with several phytohormones and enzymes during the biosynthesis pathway resulting deviations from typical patterns in plant (Einhellig, 2004).

Flavonoids are also a major group of allelopathic compounds that estimated as a secondary most of allelochemicals in plants (Einhellig, 2004). Several flavonoids from plants have been reported to have allellopathic activity. For example, isoschaftoside, flavonoid compound released by root exudation from the *Desmodium uncinatum* showed a inhibition of the root growth and development of *Stiga* spp. (Hooper *et al.*, 2010). The incorporation of mango leaves in soil had an inhibitory allelopathic effect on the seed germination and seedling growth of *Parthenium hysterophorus* L. and five flavonoids were found in its allelochemical composition (Javaid *et al.*, 2010). The flavonoids act as electron transport inhibitors through perturbation of the mitochondrial inner membrane (Moreland and Novitsky, 1987).

Conclusion

In conclusion, *P. hymenaea, F. microcarpa, A. dulcis, E. scaber* and *A. lobbii* represented the high inhibitory effect against radish and barnyard grass due to higher phenolic and flavonoid contents in their leaf extracts.

In Press

Therefore, these species should be included in future programs to develop natural plant based herbicides.

Acknowledgements

This work was supported Naresuan University Government budgeting Grant number R2560B125.

References

Buer, C.S., N. Imin and M.A. Djordjevic, 2010. Flavonoids: New roles for old molecules. *J. Integr. Plant Biol.*, 52: 98–111

Chon, S.U., H.G. Jang, D.K. Kim, Y.M. Kim, H.O. Boo and Y.J. Kim, 2005. Allelopathic potential in lettuce (*Lactuca sativa* L.) plants. *Sci. Hortic.*, 106: 309–317

Chumyam, A., K. Whangchaia, J. Jungklang, B. Faiyue and K. Saengnila, 2013. Effects of heat treatments on antioxidant capacity and total phenolic content of four cultivars of purple skin eggplants. *Sci. Asia*, 39: 246–251

Dayan, F.E., D.K. Owens and S.O. Duke, 2012. Rationale for a natural products approach to herbicide discovery. *Pest Manage. Sci.*, 68: 519–528

Deba, F., T.D. Xuan, M. Yasuda and S. Tawata, 2007. Herbicidal and fungicidal activities and identification of potential phytotoxins from *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Scherff. *Weed Biol. Manage.*, 7: 77–83

den Hollander, N.G., L. Bastiaans and M.J. Kropff, 2007. Clover as a cover crop for weed suppression in an intercropping design. II. Competitive ability of several clover species. *Eur. J. Agron.*, 26: 104–112

Einhellig, F.A., 1986. Mechanisms and modes of action of allelochemicals. *In: The Science of Allelopathy*, p: 317. Putnam, A.R. and C. Tang (eds.). John Wiley and Sons, Inc., USA

Einhellig, F.A., 2004. Mode of allelochemical action of phenolic compounds. *In: Allelopathy: Chemistry and Mode of Action of Allelochemicals*, p: 372. Macias, F.A., J.C.G. Galindo, J.M.G. Molinillo and H.G. Cutler (eds.). CRC Press

Farooq, M., A. Nawaz, E. Ahmad, F. Nadeem, M. Hussain and K.H.M. Siddique, 2017. Using sorghum to suppress weeds in dry seeded aerobic and puddled transplanted rice. *Field Crops Res.*, 214: 211–218

Heisey, R.M. and T.K. Heisey, 2003. Herbicidal effects under field conditions of *Ailanthus altissima* bark extract, which contains ailanthone. *Plant Soil*, 256: 85–99

Hong, N.H., T.D. Xuan, T. Eiji, T. Hiroyuki, M. Mitsuhiro and T.D. Khanh, 2003. Screening for allelopathic potential of higher plants from Southeast Asia. *Crop Prot.*, 22: 829–836

Hooper, A.M., M.K. Tsanuo, K. Chamberlain, K. Tittcomb, J. Scholes, A. Hassanali, Z.R. Khan and J.A. Pickett, 2010. Isoschaftoside, a C-glycosylflavonoid from *Desmodium uncinatum* root exudate, is an allelochemical against the development of *Striga*. *Phytochemistry*, 71: 904–908

Jabran, K., Z.A. Cheema, M. Farooq, S.M.A. Basra, M. Hussain and H. Rehman, 2008. Tank mixing of allelopathic crop water extracts with pendimethalin helps in the management of weeds in canola (*Brassica napus*) field. *Int. J. Agric. Biol.*, 10: 293–296

Javaid, A., S. Shafique and Q. Kanwal, 2010. Herbicidal activity of flavonoids of mango leaves against *Parthenium hysterophorus* L. *Nat. Prod. Res.*, 24: 1865–1875

Jilani, G., S. Mahmood, A.N. Chaudhry, I. Hassan and M. Akram, 2008. Allelochemicals: sources, toxicity and microbial transformation in soil —a review. *Ann. Microbiol.*, 58: 351–357

Kaur, S., H.P. Singh, S. Mittal, D.R. Batish and R.K. Kohli, 2010. Phytotoxic effects of volatile oil from *Artemisia scoparia* against weeds and its possible use as a bioherbicide. *Ind. Crops Prod.*, 32: 54–61

Khan, M.B., M. Ahmad, M. Hussain, K. Jabran, S. Farooq and M. Waqas-Ul-Haq, 2012. Allelopathic plant water extracts tank mixed with reduced doses of atrazine efficiently control *Trianthema portulacastrum* L. in *Zea mays* L. *J. Anim. Plant. Sci.*, 22: 339–346

Laosinwattana, C., C. Boonleom, M. Teerarak, S. Thitavasanta and P. Charoenying, 2010. Potential allelopathic effects of *Suregada multiflorum* and the influence of soil type on its residue's efficacy. *Weed Biol. Manage.*, 10: 153–159

Laosinwattana, C., M. Teerarak and P. Charoenying, 2012. Effects of *Aglaia odorata* granules on the seedling growth of major maize weeds and the influence of soil type on the granule residue's efficacy. *Weed Biol. Manage.*, 12: 117–122

Li, Z.H., Q. Wang, X. Ruan, C.D. Pan and D.A. Jiang, 2010. Phenolics and plant allelopathy. *Molecules*, 15: 8933–8952

Mamolos, A.P. and K.L. Kalburtji, 2001. Significance of allelopathy in crop rotation. *J. Crop. Prod.*, 4: 197–218

Moreland, D.E. and W.P. Novitsky, 1987. Effects of phenolic acids, coumarins, and flavanoids on isolated chloroplasts and mitochondria. *ACS Symposium Series*, 330: 247–274

Poonpaiboonpipat, T., U. Pangnakorn, U. Suvunnamek, M. Teerarak, P. Charoenying and C. Laosinwattana, 2013. Phytotoxic effects of essential oil from *Cymbopogon citratus* and its physiological mechanisms on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). *Ind. Crops Prod.*, 41: 403–407

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

Shahzad, M., M. Farooq, K. Jabran and M. Hussain, 2016a. Impact of different crop rotations and tillage systems on weed infestation and productivity of bread wheat. *Crop Prot.*, 89: 161–169

Shahzad, M., M. Farooq and M. Hussain, 2016b. Weed spectrum in different wheat-based cropping systems under conservation and conventional tillage practices in Punjab, Pakistan. *Soil Till. Res.*, 163: 71–79

Steel, R.G.D., J.H. Torrie and D.A. Dicky, 1997. *Principles and Procedures of Statistics; a Biometrical Approach*, pp: 352–358, 3rd edition. McGraw Hill, Inc. Book Co. New York, USA

Vasilakoglou, I., K. Dhima, E. Anastassopoulos, A. Lithourgidis, N. Gougoulias and N. Chouliaras, 2011. Oregano green manure for weed suppression in sustainable cotton and corn fields. *Weed Biol. Manage.*, 11: 38–48

Xuan, T.D., T. Shinkichi, N.H. Hong, T.D. Khanh and C.I. Min, 2004. Assessment of phytotoxic action of *Ageratum conyzoides* L. (billy goat weed) on weeds. *Crop Prot.*, 23: 915–922

(Received 09 August 2018; Accepted 19 October 2018)