

ผลของสารสกัดจากใบผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) ที่แยกด้วย เทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ต่อการเจริญเติบโตของข้าว (*Oryza sativa* L.)

Effect of Column Chromatography-Fractionated Leaf Extract from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. on Growth of *Oryza sativa* L.

นันทพร เซียนหย็อง, นิชาเรย์ จันทน์นวล และ ภาคภูมิ พระประเสริฐ

Nantaporn Sianfyong, Nicharee Jannual and Phakpoom Phraprasert

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ประเทศไทย

Department of Biology, Faculty of Science, Burapha University, Thailand

Received: 3 June 2026, Received in revised form: 8 June 2026, Accepted: 9 June 2026

Available online: 24 June 2026

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์และที่มา: อัลลีโลพาธีเป็นปรากฏการณ์ที่พืชปล่อยสารอินทรีย์สู่สิ่งแวดล้อมและมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชข้างเคียง สามารถพัฒนาสารที่พืชปลดปล่อยไปใช้ในการเกษตรทดแทนสารเคมีสังเคราะห์ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศรวมทั้งมนุษย์ มีรายงานว่าผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชได้หลายชนิด แต่การศึกษาส่วนใหญ่ยังเป็นการศึกษาในระดับสารสกัดหยาบ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาโดยการนำสารสกัดหยาบมาแยกออกเป็นสารส่วนต่าง ๆ เพื่อประเมินฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธี โดยใช้ข้าวเป็นพืชทดสอบเนื่องจากข้าวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีการงอกและการเจริญเติบโตที่สม่ำเสมอทำให้สามารถใช้ในการประเมินผลทางอัลลีโลพาธีได้ดีมีความคลาดเคลื่อนน้อย

วิธีดำเนินการวิจัย: ในการศึกษาที่มีการทดลอง 3 การทดลอง การทดลองแรก ทำการสกัดสารจากใบผักแครดด้วยเมทานอล 80% โดยแช่ไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกรองแล้วระเหยเมทานอลออกด้วย rotary evaporator และทำให้แห้งด้วย freeze drying ได้สารหยาบ (crude extract) นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปเตรียมให้มีความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0, และ 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปทดสอบกับเมล็ดข้าวที่เพาะในจานโดยมีรากยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร โดยเฉพาะในจานแก้วเดิมสารสกัดหยาบ 3 มิลลิกรัม ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดผลโดยวัดความยาวยอดและความยาวราก นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์เทียบกับชุดควบคุม จากนั้นทำการหาค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งการเจริญเติบโตได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (IC50) การทดลองที่สอง แยกสารสกัดหยาบด้วยวิธีการปั่นส่วนของเหลว โดยนำสารสกัดหยาบมาละลายด้วยน้ำแล้วเติม ethyl acetate เพื่อแยกชั้น เก็บสารสกัดชั้น ethyl acetate นำไประเหยแห้งแล้วนำไปทำการทดสอบเช่นเดียวกับการทดลองแรก การทดลองที่สาม นำสารสกัดในชั้น ethyl acetate มาแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ จากนั้นนำสารที่ได้แต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก แล้วนำไปทดสอบเช่นเดียวกับการทดลองแรก ทำการทดลอง ๆ ละ 4 ซ้ำ และนำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี One-Way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัย: จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้น 0.5-3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลยับยั้งความยาวยอดและรากข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยยอดถูกยับยั้งระหว่าง 13.75-16.40 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

ส่วนรากถูกยับยั้งระหว่าง 13.37-93.86 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยมีค่า IC₅₀ สำหรับราก เท่ากับ 0.93 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบเท่ากับเนื้อเยื่อใบ 18 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารสกัดส่วน ethyl acetate ให้มีความเข้มข้นเทียบเท่าเนื้อเยื่อใบ 18 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำไปทดสอบการเจริญเติบโตของข้าว พบว่าสารสกัดชั้น ethyl acetate สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าวได้ โดยยับยั้งรากได้ดีกว่ายอด ยับยั้งยอดและรากได้ 40.11 และ 79.33 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดชั้น ethyl acetate ไปแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ นำสารสกัดที่แยกได้ (10 ส่วน (fraction)) ไประเหยแห้งแล้วนำมาเตรียมให้มีความเข้มข้นเทียบเท่าเนื้อเยื่อใบ 18 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปทดสอบการเจริญเติบโตของข้าว พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยพบว่าสารสกัดส่วนที่ 8 (15.53×10^{-3} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถยับยั้งการเจริญของยอดและรากได้ดีที่สุด

สรุปผลการวิจัย: จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากผักแครดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าวได้ และเมื่อแยกสารสกัดด้วยวิธีการบั่นส่วนของเหลว ด้วย ethyl acetate และแยกต่อยด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ พบว่าสารสกัดที่ได้สามารถยับยั้งการเจริญของยอดและรากข้าวได้ โดยสารสกัดส่วนที่ 8 ที่ชะด้วย 80% ethyl acetate ใน hexane สามารถยับยั้งความยาวยอดและรากได้ดีที่สุดซึ่งสารสกัดในส่วนนี้อาจประกอบด้วยสารที่มีขั้วถึงไม่มีขั้ว งานวิจัยในลำดับต่อไปควรมีการสกัดแยกส่วนเพื่อระบุชนิดของสารออกฤทธิ์ เพื่อให้เห็นศักยภาพเบื้องต้นของสารอัลลีโลเคมีคัลจากผักแครดก่อนนำไปศึกษาและพัฒนาไปเป็นสารกำจัดวัชพืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืนต่อไป

คำสำคัญ: อัลลีโลเคมีคัล; ความเป็นพิษต่อพืช; ผักแครด

Abstract

Background and Objectives: Allelopathy is a biological phenomenon where plants release organic compounds into the environment; subsequently inhibiting the growth of neighboring plants. These plant-derived compounds showed significant potential to agricultural development as eco-friendly alternatives to synthetic chemicals, which risks to organisms in the ecosystem and human health. Although *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. has been reported to suppress the germination and growth of various plant species, most existing literature remains limited to the evaluation of crude extracts. Therefore, this study aimed to fractionate the crude extract into fractions to evaluate their allelopathic potential. Rice (*Oryza sativa* L.) was utilized as the test plant due to it is monocotyledon, uniform germination and growth, suitable for allelopathic evaluation with minimal error.

Methodology: This study comprised three experiments. In the first experiment, plant compounds were extracted from *S. nodiflora* leaves using 80% methanol. The mixture was macerated for 24 hours, filtered, and concentrated using a rotary evaporator to remove methanol, followed by freeze-drying to obtain the crude extract. This crude extract was subsequently prepared at concentrations of 0, 0.5, 1.0, 2.0, and 3.0 mg/mL. The bioassay was conducted on pre-germinated rice seeds with an initial radicle length of approximately 1 mm. The seeds were placed in glass Petri dishes, treated with 3 mL of the crude extract, and incubated in the dark at room temperature for 48 hours. Shoot and root lengths were then measured, and the data were converted into percentages relative to

the control. The 50% inhibition concentration (IC₅₀) was subsequently determined. In the second experiment, liquid-liquid partitioning was performed to fractionate the crude extract. The extract was dissolved in water and partitioned with ethyl acetate. The resulting ethyl acetate fraction was collected, evaporated to dryness, and used to the bioassay protocol as described in the first experiment. And the third experiment, the ethyl acetate fraction was further purified using column chromatography. The eluted fractions were evaporated to dryness and tested as the first experiment. The results were statistical tested by One-Way ANOVA and compared means by Tukey's HSD at 95% confidence level.

Main Results: The results demonstrated that the crude extract at concentrations ranging from 0.5 to 3.0 mg/mL statistically significantly inhibited both shoot and root lengths of rice ($p < 0.05$). Compared to the control group, shoot growth was suppressed by 13.75%–16.40%, while root growth was inhibited by 13.37%–93.86%. The IC₅₀ for root growth was calculated and showed at 0.93 mg/mL, which was equivalent to 18 mg of leaf tissue per mL. Subsequently, the ethyl acetate fraction was prepared at a concentration equivalent to 18 mg of leaf tissue/mL and brought to bioassay on rice. The ethyl acetate fraction exhibited an inhibitory effect, with a higher potency against roots than shoots, which inhibited shoot and root growth by 40.11% and 79.33% relative to the control, respectively. Following purification via column chromatography, the isolated fractions (10 fractions) were evaporated to dryness and prepared to a concentration equivalent to 18 mg of leaf tissue/mL. The bioassay revealed that these fractions maintained statistically significant inhibitory activity on rice growth ($p < 0.05$). Fraction 8 (at a concentration of 15.53×10^{-3} mg/mL) exhibited the highest inhibitory efficacy against both shoot and root growth.

Conclusions: In conclusion, extracts from *S. nodiflora* (L.) exhibited significant allelopathic potential to inhibit rice growth. When the extract was separated using the liquid fractionation method with ethyl acetate and further separated by column chromatography, it was found that the resulting extracts could inhibit the growth of rice shoots and roots. Fraction 8 may contain semipolar to nonpolar substances. Further research should involve fractionation to identify the active compounds to focus the initial potential of allelochemicals derived from *S. nodiflora* (L.) before study and develop into herbicides for sustainable agriculture.

Keywords: allelochemicals; phytotoxicity; *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.

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

Introduction

อัลลีโลพาธี (allelopathy) เป็นปรากฏการณ์การทางธรรมชาติที่พืชสามารถปลดปล่อยสารอัลลีโลเคมีคัล (allelochemicals) ออกสู่สิ่งแวดล้อม โดยสารเหล่านี้สังเคราะห์และสะสมในส่วนต่าง ๆ ของพืช ซึ่งพืชสามารถปลดปล่อยออกสู่สิ่งแวดล้อมได้หลายวิธี เช่น ผ่านการระเหยจากใบ การหลั่งออกจากราก การชะล้างโดยน้ำฝน และการย่อยลายของซากพืช (Kato-Noguchi, 2024) เมื่อสารเหล่านี้ปล่อยออกสู่ธรรมชาติสามารถมีผลต่อพืชข้างเคียงโดยอาจมีผลยับยั้งการงอกหรือการ

เจริญเติบโตของพืช มีรายงานว่าสารอัลลีโลเคมีคัลหลายชนิดมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับสารกำจัดวัชพืชที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางเกษตรกรรมได้ จึงทำให้สารอัลลีโลเคมีคัลจากพืชได้รับความสนใจเพื่อพัฒนาเป็นสารกำจัดวัชพืชอินทรีย์จากธรรมชาติ เนื่องจากสารสกัดจากพืชมีความปลอดภัยต่อมนุษย์และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าสารเคมีสังเคราะห์ (Tesio & Ferrero, 2010)

ปัจจุบันการทำการเกษตรมีการใช้สารกำจัดวัชพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่เป็นสารเคมีสังเคราะห์อย่างแพร่หลาย ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงมีการศึกษาสารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชเพื่อใช้เป็นสารกำจัดวัชพืชทางชีวภาพ มีรายงานว่าพืชในวงศ์ Asteraceae หลายชนิด มีฤทธิ์ทางอัลลีโลพาธีสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชได้ เช่น คำฝอย (*Carthamus tinctorius*) (Motamedi *et al.*, 2016) โทศจุฬาลัมพา (*Artemisia annua*) และแดนดีไลออน (*Taraxicum officinalis*) (Siyar *et al.*, 2018) ทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) (Janusauskaite, 2023) บัวตอง (*Tithonia diversifolia*) (Fangue-Yapseu *et al.*, 2021) รวมถึงผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) ซึ่งการศึกษาเหล่านี้ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในระดับสารสกัดหยาบเท่านั้น รวมทั้งมีรายงานการศึกษาอัลลีโลพาธีในสารสกัดหยาบ (crude extract) จากผักแครด พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งพืชหลายชนิด เช่น ถั่วเขียว (*Vigna radiata* var. *Vaibhav*) (Ghayal *et al.*, 2014) ข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) (Siyar *et al.*, 2018) ข้าว (*Oryza sativa* L.) กวางตุ้ง (*Brassica chinensis* Jusl var *parachinensis* (Bailey) Tsen & Lee) เป็นต้น (Kingthong & Phrprasert, 2023) โดยเฉพาะอย่างยิ่งใน ข้าว (*Oryza sativa* L.) ซึ่งเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวจัดอยู่ในวงศ์เดียวกับวัชพืชจำพวกหญ้า (Poaceae) ที่พบในพื้นที่เกษตรกรรม การใช้ข้าวเป็นพืชทดสอบ จึงช่วยให้สามารถประเมินประสิทธิภาพของสารอัลลีโลเคมีคัลที่มีผลต่อพืชได้ดี รวมทั้งข้าวมีเปอร์เซ็นต์การออกสูงและสม่ำเสมอ มีอัตราการเจริญของยอดและรากสม่ำเสมอกว่าวัชพืชทำให้สามารถใช้เป็นพืชทดสอบอัลลีโลเคมีคัลได้ดี อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาในเชิงลึกเกี่ยวกับสารสกัดแบบแยกส่วนจากผักแครด ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงทำการศึกษาศาสกัดและนำมาแยกส่วนโดยใช้เทคนิคการแยกสารแบบคอลัมน์โครมาโตกราฟีเพื่อให้สามารถบ่งชี้ได้มากขึ้นว่าสารสกัดส่วนใดที่มีผลในการยับยั้งพืชทดสอบมากที่สุด เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาเพื่อระบุชนิดของสารอัลลีโลเคมีคัลและพัฒนาเป็นสารเพื่อใช้ประโยชน์ในการทำการเกษตรแบบยั่งยืนต่อไป

Methodology

การเตรียมสารสกัดจากผักแครด

นำผักแครด (*Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn.) ที่เก็บจากจังหวัดอุบลราชธานี มาล้างทำความสะอาดและผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดไฟฟ้า สกัดโดยใช้ผงใบผักแครด 931 กรัม และเติมเมทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 ลิตร ตั้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาคั่นเอาส่วนของเหลว และนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman NO. 4 นำสารสกัดไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส จากนั้นทำให้แห้งด้วยวิธี freeze drying จะได้สารสกัดหยาบ (crude extract)

การทดสอบผลของสารสกัดหยาบจากใบผักแครดต่อการเจริญเติบโตของข้าว

นำสารสกัดหยาบที่ได้มาเตรียมให้มีความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปทดสอบการเจริญเติบโตของเมล็ดข้าวที่งอก โดยตัดกระดาษเพาะเมล็ดใส่ลงในจานเพาะเชื้อ (ขนาด 5 เซนติเมตร) ปิดฝาแล้วใส่ใน

ถุงพลาสติก นำไปแช่เชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ทำการฟอกเมล็ดข้าวด้วย Sodium Hypochlorite 15 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง เพาะเมล็ดข้าวในที่มืด เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา เลือกเฉพาะเมล็ดข้าวที่งอก (เมล็ดที่มีรากเจริญออกมา 1 มิลลิเมตร) จำนวน 20 เมล็ดต่อจานเพาะเชื้อ ทำ 4 ซ้ำ ปิเศษสารสกัดหยาบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 3 มิลลิตร ใส่ลงจานเพาะเชื้อ วางไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง (28°C) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ทำการวัดความยาวยอด ความยาวราก ตามวิธีการของ Kato-Noguchi *et al.* (2023) จากนั้นนำความยาวยอดและความยาวรากไปคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งความยาวยอดหรือราก 50% โดยคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (IC50) ด้วยวิธีวิเคราะห์โพรบิต (probit analysis) (Tokgoz *et al.*, 2024) โดยใช้โปรแกรม Excel

การทดสอบสารสกัดชั้น ethyl acetate ที่ได้จากการแบ่งชั้น (partition) จากสารสกัดหยาบของใบผักแครดต่อการเจริญเติบโตของข้าว

นำสารสกัดหยาบจำนวน 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับค่า pH ให้เป็น 7 ด้วย 0.5 M phosphate buffer นำไปสกัดแยกชั้นแบบของเหลว-ของเหลวด้วย ethyl acetate ทั้งหมด 4 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดชั้น ethyl acetate ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส จากนั้นเตรียมสารสกัดที่ได้ให้มีความเข้มข้นที่เทียบเท่ากับค่า IC50 ของสารสกัดหยาบบนพื้นฐานของน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง) นำไปทดสอบการเจริญเติบโตของข้าว เช่นเดียวกับการทดลองก่อนหน้า

การทดสอบสารสกัด ethyl acetate fraction จากใบผักแครดที่แยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ต่อการเจริญเติบโตของข้าว

นำสารสกัดชั้น ethyl acetate ไปแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ที่บรรจุด้วยซิลิกาเจล 60 ขนาดอนุภาค 0.04-0.06 มม. 230-400 mesh ASTM 100 กรัม โดยคอลัมน์มีขนาด กว้าง 5 เซนติเมตร สูง 20 เซนติเมตร จากนั้นนำสารสกัดหยาบ 1.87 กรัมมาผสมกับซิลิกาเจล 5 กรัม ใส่ลงบนซิลิกาเจลที่บรรจุอยู่แล้ว ทำการชะสารออกจากคอลัมน์ด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ใน n-hexane ที่ความเข้มข้น 20, 20, 30, 40, 50, 60, 70, และ 80 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ปริมาตร 100 มิลลิตร ตามลำดับ จากนั้นชะด้วย absolute ethyl acetate ปริมาตร 100 มิลลิตร และสุดท้ายชะด้วย absolute methanol ปริมาตร 200 มิลลิตร ทำการเก็บสารละลายทุกส่วนหลังจากที่มีการชะด้วยตัวทำละลาย ซึ่งจะได้สารทั้งหมด 10 ส่วน (fraction) จากนั้นนำสารแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส จากนั้นเตรียมสารสกัดที่ได้ให้มีความเข้มข้นที่เทียบเท่ากับค่า IC50 ของสารสกัดหยาบบนพื้นฐานของน้ำหนักแห้ง (มิลลิกรัม/กรัม น้ำหนักแห้ง) นำไปทดสอบการเจริญเติบโตของข้าว เช่นเดียวกับการทดลองก่อนหน้า

การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Complete randomized design) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยวิธี One-Way ANOVA และ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's HSD ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม PSPP เวอร์ชัน 2.1.1-g557d00

Results

ผลของสารสกัดหยาบจากใบผักแครดต่อการเจริญเติบโตของข้าว

จากการสกัดสารจากใบผักแครด ด้วยเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ (v/v) นำไประเหยเมทานอลออกด้วย rotary evaporator จากนั้นกักน้ำออกด้วยวิธี freeze-drying พบว่าสารสกัดที่ได้เท่ากับ 52 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และเมื่อนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปเตรียมให้มีความเข้มข้น 0-3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้ในการทดสอบการเจริญเติบโตของข้าว เป็นเวลา 48 ชั่วโมงแล้วนำมาเมล็ดข้าวมาวัดความยาวยอดและราก พบว่า สารสกัดมีผลต่อความยาว ยอดและความยาวราก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเมื่อข้าวได้รับสารสกัดทำให้ความยาวยอดลดลงเป็น 86.25, 84.83, 84.60 และ 85.47 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ ส่วนรากมีความยาวลดลงเป็น 96.63, 36.75, 9.93 และ 6.20 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ (Figure 1) และเมื่อนำไปหาค่า IC₅₀ พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้ง ความยาวรากได้ 50% มีค่าเท่ากับ 0.93 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ($y = 3.44x + 5.10$, $r^2 = 0.96$) เทียบเท่ากับเนื้อเยื่อใบ 18 มิลลิกรัมใบต่อมิลลิลิตร แต่ไม่สามารถหาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งความยาวยอด 50% ได้ เนื่องจากไม่มีการทดลองที่ทำให้ยอดมีความยาวลดลงต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

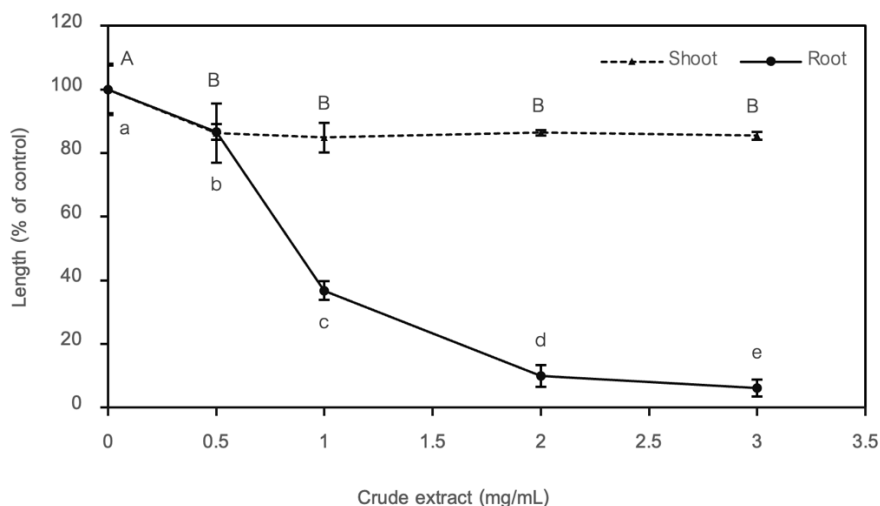


Figure 1 Effect of crude extract from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. on rice root and shoot growth treated for 48 hours compared to the control. (Error bars show $\pm$ standard deviation, letter ABC and abc on the graph shows the statistical difference at $p < 0.05$ by Tukey's HSD of shoot and root, respectively)

ผลของสารสกัดชั้น ethyl acetate ที่ได้จากการแบ่งชั้น (partition) จากสารสกัดหยาบของใบผักแครดต่อการเจริญเติบโตของข้าว

เมื่อนำสารสกัดหยาบ 25 กรัม มาละลายด้วยน้ำ ปรับ pH เป็น 7 ด้วย 0.5 M phosphate buffer แล้วนำไปแยกชั้นด้วย ethyl acetate พบว่า สารที่ได้มีน้ำหนัก 1.75 กรัม เทียบเท่าเนื้อเยื่อใบ 23.89 กรัม จากนั้น ทำการทดสอบที่ความเข้มข้น 0.88 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบเท่าเนื้อเยื่อใบ 18 มิลลิกรัม พบว่า สารสกัดชั้น ethyl acetate มีผลให้การเจริญเติบโตของ

ยอดและรากลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารสกัด มีผลยับยั้งการเจริญของยอด 40.11 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และยับยั้งการเจริญของรากคิดเป็น 79.33 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (Figure 2)

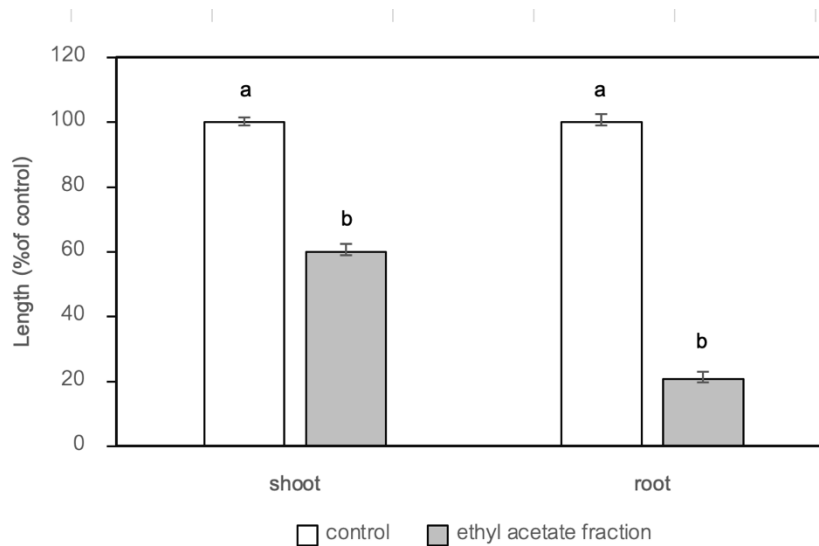


Figure 2 Root and shoot length of rice treated with ethyl acetate fraction of extract from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. for 48 hours compared to the control. (Error bars show $\pm$ standard deviation, letter ab on the graph shows the statistical difference at $p < 0.05$ by Tukey's HSD between treated sample and control.)

ผลของสารสกัด ethyl acetate fraction จากใบผักแครดี้ที่แยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ต่อการเจริญเติบโตของข้าว

เมื่อนำสารสกัดชั้น ethyl acetate มาแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์โดยใช้ซิลิกาเจล 60 เป็นวัฏภาคหยุดนิ่ง (stationary phase) จากนั้นทำการชะด้วย ethyl acetate ใน hexane ที่ความเข้มข้น 20-80 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วชะด้วย ethyl acetate absolute ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และสุดท้ายชะด้วย absolute methanol ปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำสารสกัดแต่ละส่วนไปทำการระเหยแห้งแล้วนำไปเตรียมสารสกัดแต่ละส่วนเทียบเท่ากับใบ 18 มิลลิกรัม โดยแต่ละส่วนมีความเข้มข้นดัง Table 1 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบการเจริญเติบโตของยอดและรากพบว่า สารสกัดส่วนที่ 2-6 ไม่มีผลต่อความยาวยอด แต่สารสกัดส่วนที่ 1 และ 7-10 มีผลให้ความยาวยอดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีผลให้ความยาวยอดลดลงเป็น 79.25, 76.11, 73.27, 75.66, และ 73.12 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาในผลของสารสกัดต่อการเจริญของราก พบว่า สารสกัดมีผลให้ความยาวรากของข้าวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาโดยอาศัยข้อมูลการจัดกลุ่มทางสถิติด้วย Tukey's HSD พบว่าสามารถจัดกลุ่มผลของสารสกัดต่อความยาวรากได้ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ซึ่งมีผลต่อการเจริญของรากไม่ต่างจากชุดควบคุม ได้แก่ สารสกัดส่วนที่ 6 และ 4 ซึ่งมีความยาวราก 76.34 และ 72.40 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่มีผลต่อการเจริญของรากปานกลาง ได้แก่ สารสกัดส่วนที่ 1, 2, 3, 5, 7, 9, และ 10 โดยมีผลให้มีความยาวรากอยู่

ระหว่าง 47.22-76.11 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม และกลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มที่มีผลต่อการเจริญของรากมากที่สุด ได้แก่ สารสกัดส่วนที่ 8 มีผลให้รากข้าวเจริญน้อยที่สุด โดยมีความยาว 39.43 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม

Table 1 Concentration of *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. extract fraction from silica-gel column chromatography eluted by ethyl acetate in n-hexane (v/v), absolute ethyl acetate, and absolute methanol, equivalent to 18 mg. leaf dry weight/mL.

Fraction number	Elute solvent	Concentration ($\times 10^{-3}$ mg/mL)
1	20% ethyl acetate in n-hexane	8.87
2	20% ethyl acetate in n-hexane	8.88
3	30% ethyl acetate in n-hexane	10.54
4	40% ethyl acetate in n-hexane	26.62
5	50% ethyl acetate in n-hexane	32.72
6	60% ethyl acetate in hexane	11.09
7	70% ethyl acetate in n-hexane	15.00
8	80% ethyl acetate in n-hexane	15.53
9	absolute ethyl acetate	12.75
10	absolute methanol	17.74

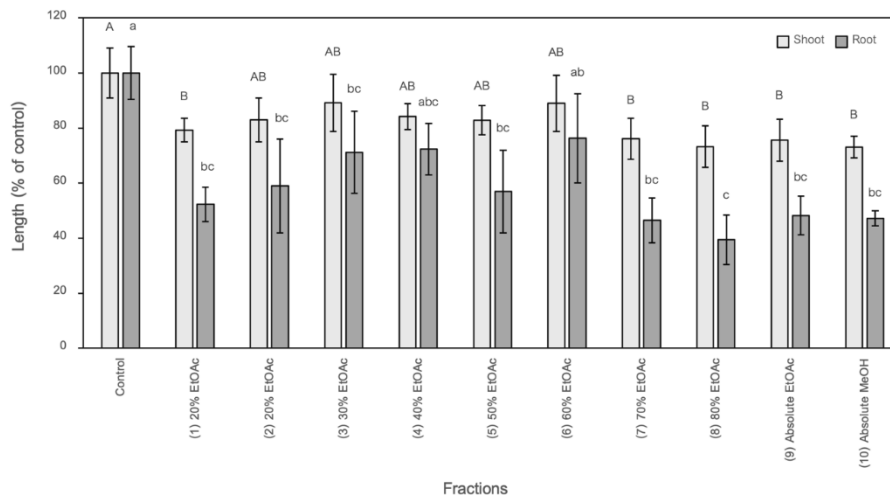


Figure 3 Root and shoot length of rice treated by *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. extract from column chromatography (fractions eluted by ethyl acetate in hexane from 20 to 80%, absolute ethyl acetate, and absolute methanol, respectively) for 48 hours. (Error bars show $\pm$ standard deviation, letter AB and abc on the graph shows the statistical difference at $p < 0.05$ by Tukey's HSD across fraction of shoot and root length, respectively.)

Discussion

เมื่อสกัดสารจากใบผักแครดด้วยเมทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ นำไประเหยตัวทำละลายออก พบว่า สารสกัดหยาบที่ได้มีลักษณะหนืด สีเขียวเข้ม และนำสารสกัดนี้ไปศึกษาผลของสารสกัดหยาบจากใบผักแครดต่อการเจริญเติบโตของข้าว ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า สารสกัดหยาบทำให้ข้าวมีความยาวยอดลดลง 13.75-16.40 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งจากผลดังกล่าวทำให้ไม่สามารถหาค่า IC₅₀ ของสารสกัดต่อยอดได้ และยังพบด้วยว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นยอดไม่ได้ถูกยับยั้งมากขึ้น อาจเป็นไปได้ว่ายอดไม่ตอบสนองต่อสารสกัด หรือเกิด Plateau effect ซึ่งการจะระบุประเด็นนี้ให้ชัดเจนอาจจำเป็นต้องใช้เวลาในการให้สารกับเมล็ดนานขึ้น ส่วนการศึกษาในราก พบว่า สารสกัดมีผลยับยั้งความยาวรากได้ 3.37, 63.25, 90.07 และ 93.80 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ ซึ่งสามารถนำไปคำนวณหาค่า IC₅₀ ได้เท่ากับ 0.93 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเทียบได้กับสารสกัดจากเนื้อเยื่อใบเท่ากับ 18 มิลลิกรัม ผลการทดลองนี้ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kato-Noguchi *et al.* (2023) ที่ศึกษาผลของสารสกัดจาก *Osmanthus fragrans*, *Osmanthus × fortunei* และ *Osmanthus heterophyllus* ต่อการเจริญเติบโตของพืชใบเลี้ยงเดี่ยววงศ์ข้าว (Poaceae) ได้แก่ *Lolium multiflorum* และ *Vulpia myuro* พบว่าสารสกัดของพืชสกุล *Osmanthus* มีค่า IC₅₀ ที่สามารถยับยั้งความยาวรากของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวทั้ง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 30.4 และ 8.88 มิลลิกรัมเทียบเท่าเนื้อเยื่อใบ ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่าสารสกัดมีผลต่อรากมากกว่ายอด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Nishida *et al.* (2005) และ Abenavoli *et al.* (2001) ที่รายงานว่า รากเป็นส่วนที่สัมผัสกับสารสกัดโดยตรงและดูดสารสกัดเข้าสู่เซลล์โดยตรงรวมถึงการสะสมสารพิษในเนื้อเยื่อรากที่ส่งผลต่อการแบ่งเซลล์และการขยายขนาดของเซลล์ (cell elongation) จึงส่งผลกระทบต่อความยาวรากมากกว่าความยาวยอด

จากการนำสารสกัดหยาบไปทำการสกัดด้วยวิธีแบ่งส่วนของเหลว (liquid-liquid partition) ระหว่างชั้นน้ำและ ethyl acetate จากนั้นนำสารที่ได้ในชั้น ethyl acetate ไปศึกษาผลของสารสกัดต่อการเจริญเติบโตของข้าว โดยคำนวณให้มีความเข้มข้นเทียบเท่ากับเนื้อเยื่อใบ 18 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.88 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดมีผลให้ความยาวยอดและรากลดลงเป็น 40.11 และ 79.33 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Kato-Noguchi *et al.* (2023) ที่รายงานว่าสารสกัดจากใบ *O. × fortunei* ที่ได้จากการแบ่งส่วนของเหลวในชั้น ethyl acetate มีฤทธิ์ยับยั้งความยาวรากและความยาวยอดของพืชที่ใช้ศึกษาได้ 68 และ 80 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้เห็นได้ว่าสารสกัดที่ได้ในชั้น ethyl acetate มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าวได้ ซึ่งสารที่ละลายใน ethyl acetate เป็นสารอินทรีย์ที่มีขั้วต่ำถึงปานกลาง (Pattanaik & Mandalia, 2011) ด้วยคุณสมบัติการละลายในสารที่มีคุณสมบัติเหมือนกัน ดังนั้นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าว จึงน่าจะเป็นสารที่มีขั้วถึงไม่มีขั้ว ทั้งนี้ได้นำสารสกัดจากชั้น ethyl acetate ไปศึกษาต่อโดยการแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ ซึ่งสามารถใช้แยกสารสกัดตามสภาพของขั้วได้ และจากการแยกสารสกัดผ่านโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์โดยมีซิลิกาเจล 60 เป็นวัสดุภาคหยุดนิ่ง โดยใช้ตัวชะเป็นสารละลาย ethyl acetate ใน hexane ความเข้มข้น 20-80 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ตามลำดับ ชะต่อด้วย ethyl absolute acetate และ absolute methanol ตามลำดับ จากนั้นนำสารที่เก็บได้ในแต่ละส่วนไประเหยตัวทำละลายออก และนำไปศึกษาผลของสารสกัดต่อการเจริญเติบโตของข้าว พบว่า สารสกัดที่ได้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยเฉพาะผลต่อความยาวราก และพบว่าสารสกัดในส่วนที่ 8 ที่ชะด้วย ethyl acetate

ใน hexane ที่ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ส่งผลให้ความยาวรากลดลงเหลือเพียง 39.43 ในขณะที่ความยาวยอดลดลงเหลือ 73.27 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ Kato-Noguchi *et al.* (2023) โดยทำการทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดแต่ละส่วน ที่ได้จากการปั่นส่วนของเหลวด้วย ethyl acetate และนำไปแยกด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์พบว่าสารสกัดส่วนที่ชะด้วยตัวทำละลาย ethyl acetate ใน n-hexane ที่ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ (v/v) มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชหลายชนิดได้มากที่สุด อย่างไรก็ตามในการคำนวณความเข้มข้นของสารสกัดเป็นการคำนวณบนพื้นฐานของน้ำหนักเนื้อเยื่อใบ ดังนั้นการทดสอบจึงไม่สามารถเปรียบเทียบกันบนพื้นฐานของปริมาณสารได้ อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสนใจว่าสารสกัดในส่วนอื่นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของข้าวด้วย ดังนั้นสารสกัดจากผักกระเฉดอาจมีผลร่วมกันในการยับยั้ง ทั้งนี้จากรายงานของ Kijisutha *et al.* (2025) ที่รายงานว่าสารสกัดหยาดจากผักกระเฉดให้ผลการยับยั้งได้ดีที่สุดและยับยั้งได้มากกว่าสารสกัดที่ผ่านการแยกแบบปั่นส่วนของเหลว ซึ่งอาจเป็นผลจากการเสริมฤทธิ์กันของสารแต่ละชนิดและสารสกัดส่วน moderate polar ซึ่งรายงานว่ามีส่วนประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) มีฤทธิ์ยับยั้งความยาวยอดและความยาวรากของต้นกล้ากวางตุ้งอย่างชัดเจนกว่าสารสกัดส่วนอื่น โดยสารเหล่านี้ จัดเป็นสารอัลลีโลเคมีคัลที่สำคัญในระบบนิเวศและเป็นสารที่มีรายงานว่ามีส่วนต่อการกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืชหลายประการ เช่น การยับยั้งการแบ่งเซลล์ การยึดตัวของเซลล์ การสังเคราะห์ด้วยแสงและการหายใจของพืช รวมถึงการทำงานของเอนไซม์ การสังเคราะห์โปรตีนและฮอร์โมนของพืช เป็นต้น (John & Sarada, 2012) อย่างไรก็ตามแนวทางการศึกษาในลำดับถัดไปจึงควรมุ่งเน้นการแยกสารบริสุทธิ์ (Bioassay-guided isolation) จากสารสกัดส่วนดังกล่าวเพื่อระบุชนิดของสารออกฤทธิ์สำคัญ ข้อมูลของสารบริสุทธิ์ที่ได้จะสามารถแสดงศักยภาพในการนำสารดังกล่าวไปศึกษาและพัฒนาเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชหรือสารกำจัดวัชพืชจากธรรมชาติที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งจะเป็แนวทางเลือกสำคัญในการลดการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในระบบเกษตรกรรมอย่างยั่งยืนต่อไป

Conclusions

จากการศึกษาผลของสารสกัดจากผักกระเฉด พบว่าสารสกัดหยาดที่สกัดด้วย เมทานอล 80% สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของยอดและรากข้าวได้ แต่ยับยั้งรากได้ดีกว่ายอด โดยความเข้มข้นของสารสกัดหยาดที่สามารถยับยั้งความยาวรากได้ 50 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 0.93 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบเท่ากับเนื้อเยื่อใบ 18 มิลลิกรัมใบต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำสารสกัดหยาดไปแยกด้วยวิธีปั่นส่วนของเหลวด้วย ethyl acetate พบว่าสารสกัดที่ได้จากชั้น ethyl acetate เมื่อเตรียมที่ความเข้มข้น 0.88 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบเท่าเนื้อเยื่อใบ 18 มิลลิกรัม พบว่าสามารถยับยั้งยอดและรากข้าวได้ 40.11 และ 79.33 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ และเมื่อนำสารสกัดจากชั้น ethyl acetate ไปแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ และเตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้นเทียบเท่าเนื้อเยื่อใบ 18 มิลลิกรัม พบว่าสารสกัดส่วนที่ 8 (15.53×10^{-3} มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถยับยั้งยอดและรากได้ดีที่สุด โดยสามารถยับยั้งได้ 26.73 และ 60.57 เปอร์เซ็นต์เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ตามลำดับ ซึ่งในส่วนนี้อาจประกอบด้วยสารกึ่งมีขั้วถึงไม่มีขั้ว ทั้งนี้การทดลองต่อไป จะทำการระบุชนิดของสารที่ออกฤทธิ์ในส่วนที่ 8 เพื่อพัฒนาเป็นสารทางเลือกในการกำจัดวัชพืชที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมต่อไป

References

- Abenavoli, M. R., Lupini, A., & Sorgonà, A. (2001). Influence of coumarin on the net nitrate uptake in durum wheat. *Plant Science*, 161(4), 685-693.
- Fangue-Yapseu, G. Y., Mouafo-Tchinda, R. A., Kenne, M. F., Onomo, P. E., & Djocgoue, P. F. (2021). Allelopathic effect of three wild plants (*Azadirachta indica*, *Tithonia diversifolia* and *Thevetia peruviana*) on Tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) growth and stimulation of metabolites involved in plant resistance. *American Journal of Plant Sciences*, 12, 285-299.
- Ghayal, N.A., Biware, M.V., & Dhumal, K.N. (2014). Effect of leachates of alien weeds on seed germination, seedling growth and physiology in Mungbean. *International Journal of Agriculture and Bioscience*, 3(4), 141-148.
- Janusauskaite, D. (2023). The allelopathic activity of aqueous extracts of *Helianthus annuus* L., grown in boreal conditions, on germination, development, and physiological indices of *Pisum sativum* L. *Plants*, 12(9), 1920. <https://doi.org/10.3390/plants12091920>
- John, J., & Sarada, S. (2012). Role of phenolics in allelopathic interactions. *Allelopathy Journal*, 29(2), 215-230.
- Kato-Noguchi, H. (2024). Isolation and identification of allelochemicals and their activities and functions. *Journal of Pesticide Science*, 49(1), 1–14.
- Kato-Noguchi, H., Hamada, Y., Kojima, M., Kumagai, S., Iwasaki, A., & Suenaga, K. (2023). Allelopathic substances of *Osmanthus* spp. for developing sustainable agriculture. *Plants*, 12(2), 376. <https://doi.org/10.3390/plants12020376>
- Kijsutha, C., Diraksa, K., Aueangai, K., Chansuksri, P., & Phrprasert, P. (2025). Effects of *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. leaves extracted by liquid-liquid partition on germination and growth of Pakchoi (*Brassica chinensis* Jusl var *parachinensis* (Bailey) Tsen & Lee). *Burapha Science Journal*, 30(3), 1019-1034. <https://li05.tci-thaijo.org/index.php/buuscij/article/view/759>
- Kingthong, Y., & Phrprasert, P. (2023). Allelopathic effect from *Synedrella nodiflora* (L.) Gaertn. on seed-germinating physiology of pakchoi (*Brassica chinensis* Jusl var *parachinensis* (Bailey) Tsen & Lee). *Burapha Science Journal*, 28(3), 1653-1670. <https://li05.tci-thaijo.org/index.php/buuscij/article/view/1125>

- Motamedi, M., Karimmojeni, H., & Sini, FG. (2016). Evaluation of allelopathic potential of safflower genotypes (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of Plant Protection Research*, 56(4), 364-371.
- Nishida, N., Tamotsu, S., Sui, N., & Era, A. (2005). Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*. *Journal of Chemical Ecology*, 31(5), 1103–1116.
- Pattanaik, B.N., & Mandalia, H.C. (2011). Ethyl acetate: Properties, production process and application. *International Journal of Current Research and Review*, 3(12), 23-40.
- Siyar, S., Muhammad, Z., Hussain, F., Hussain, Z., Islam, S., & Majeed, A. (2018). Allelopathic effects of two Asteraceae weeds (*Artemisia annua* and *Taraxicum officinalis*) on germination of maize and wheat. *PSM Biological Research*, 3(2), 44-47.
- Tesio, F., & Ferrero, A. (2010). Allelopathy, a chance for sustainable weed management. *International Journal of Sustainable Development & World Ecology*, 17(5), 377–389.
- Tokgoz, A., Emsen, B., & Dogan, M. (2024). The efficacy of allelopathy of select lichens on antioxidant potential and proliferation of *Ceratophyllum demersum* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 159, 26.
<https://doi.org/10.1007/s11240-024-02894-3>