อัลลิโลพาทีและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์สารเฟลโวนอยด์ของถั่วเหลืองสายพันธุ์ต่างๆ

ALLELOPATHY AND EXPRESSION OF FLAVONOID BIOSYNTHESIS INVOLVED GENES OF VARIOUS SOYBEAN CULTIVARS

เอื้ออารีย์ รวมเรืองฤทธิ์

AUA-AREE RONRUANGRIT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพืชไร่นา

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-2374-2

อัลลีโลพาทีและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์สารเฟลโวนอยด์ของถั่วเหลืองสายพันธุ์ต่าง ๆ

ALLELOPATHY AND EXPRESSION OF FLAVONOID BIOSYNTHESIS INVOLVED GENES OF VARIOUS SOYBEAN CULTIVARS

เอื้ออารีย์ รณเรืองฤทธิ์
AUA-AREE RONRUANGRIT

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพืชสวน
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2549

ISBN 974-15-2374-2

ALLELOPATHY AND EXPRESSION OF FLAVONOID BIOSYNTHESIS INVOLVED GENES OF VARIOUS SOYBEAN CULTIVARS

AUA-AREE RONRUANGRIT

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN HORTICULTURE
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2006

ISBN 974-15-2374-2

COPYRIGHT 2006
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	**อัลลีโลพาทีและการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์สารเฟลโวนอยด์ของถั่วเหลืองสายพันธุ์ต่างๆ**
ชื่อนักศึกษา	นางสาวเอื้ออารีย์ รณเรืองฤทธิ์
รหัสประจำตัว	45065102
สาขาวิชา	พืชสวน
พ.ศ.	2549
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. วิรัตน์ ภูวิวัฒน์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ.ดร. กนกพร สมพรไพลิน

บทคัดย่อ

การทดสอบเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลือง คือ ลำต้น ใบ ราก และส่วนผสมรวมทุกส่วน ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว โดยใช้ถั่วเหลืองจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์มข.35 นครสวรรค์1 เชียงใหม่4 และ GC10981 และใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 4 ระดับคือ 12.50 25.00 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนของใบถั่วเหลืองให้ผลในการยับยั้งดีที่สุด ในขณะที่สารสกัดจากลำต้นและรากมีผลน้อยมาก การเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดมีผลให้ศักยภาพในการยับยั้งสูงขึ้น

ผลการทดสอบเปรียบเทียบสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ คือ มข.35 นครสวรรค์1 จักรพันธุ์1 ไข่แมงทอง สุโขทัย1 สุโขทัย2 สุโขทัย3 เชียงใหม่1 เชียงใหม่2 เชียงใหม่3 เชียงใหม่4 เชียงใหม่60 สจ.1 สจ.2 สจ.4 สจ.5 GC2679 GC2796 GC3318 GC4120 GC4637 GC7231 GC9822 GC10848 GC10981 GC10992 GC11101 KUSL20004 PK462 และ #8407 ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 2 ชนิดคือ ผักกาดหัวและผักกวางตุ้ง โดยใช้น้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ ปรากฏว่าสารสกัดที่ให้ผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบมากที่สุด 4 สายพันธุ์คือ เชียงใหม่60, สุโขทัย1 เชียงใหม่3 และ สจ.4 ส่วนสารสกัดที่ให้ผลในการยับยั้งน้อยที่สุด 4 สายพันธุ์คือ KUSL20004 GC10992 #8407และ เชียงใหม่1

การศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณของสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์และผลทางด้านอัลลีโลพาทีของสารสกัดจากใบถั่วเหลือง โดยใช้วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่จำเพาะของสารแต่ละชนิด เปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากใบถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งมากที่สุดจำนวน 4 สายพันธุ์และให้ผลยับยั้งน้อยที่สุดจำนวน 4 สายพันธุ์ ปรากฏผลว่าถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งมากมีปริมาณสารแคลโคน ออโรน แอนโธไซยานิน และแทนนินมากกว่าถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ให้ผล

ยับยั้งน้อยอย่างเด่นชัด ขณะที่ปริมาณสารบางชนิดในกลุ่มของเฟลโวน ไอโซเฟลโวนอยด์ เฟลวาโนนและเฟลวานอล ในถั่วเหลืองทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน

ในการศึกษาการแสดงออกของยีนจากวิถีชีวสังเคราะห์เฟลโวนอยด์ซึ่งให้เอนไซม์แคลโคน ซินเตส (*CHS*) และไดไฮโดรเฟลโวนอล รีดักเตส (*DFR*) โดยใช้เทคนิค RT-PCR ผลการทดลองแสดงให้ทราบว่าผลทางด้านอัลลีโลพาทีและระดับการถอดรหัสของยีน *CHS* และ *DFR* จากใบอ่อนของถั่วเหลืองทั้ง 2 กลุ่มมีความสัมพันธ์กัน โดยถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่60 มีการแสดงออกของยีนทั้งสองมากที่สุด ส่วนพันธุ์ที่มีการแสดงออกของยีน *CHS* และ *DFR* น้อยที่สุดคือพันธุ์ #8407 และ KUSL20004 ตามลำดับ

Thesis Title	Allelopathy and Expression of Flavonoid Biosynthesis Involved Genes of Various Soybean Cultivars
Student	Miss Aua-Aree Ronruangrit
Student ID.	45065102
Degree	Master of Science
Programme	Horticulture
Year	2006
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Wirat Phuwiwat
Thesis Co Advisor	Asst. Prof. Dr. Kanokporn Sompornpailin

ABSTRACT

Comparative effect of water extracts from stem, leaf, root and mixed part of 4 soybean cultivars; KU35, NW1, CM4 and GC10981 on the germination and seedling growth of chinese radish (*Raphanus sativus* var. *longipinnatus* L.) were tested. The extract concentrations from each plant part at 12.50, 25.00, 50.00 and 100.00 mg/ml. were used and the distilled water was the control for comparison. It was found that leaf water extract had the greatest inhibitory effect compared to stem and root. The inhibitory effect was increased when the higher concentrations were applied.

Allelopathic effect of leaf water extracts from 30 soybean cultivars; KU35, NW1 JKP1, KMT, SKT1, SKT2, SKT3, CM1, CM2, CM3, CM4, CM60, SJ1, SJ2, SJ4, SJ5 GC2679, GC2796, GC3318, GC4120, GC4637, GC7231, GC9822, GC10848, GC10981 GC10992, GC11101, KUSL20004, PK462 and #8407 on the germination and seedling growth of 2 tested plants; chinese radish and green pak choy (*Brassica campestris* var. *chinensis* L.) were evaluated by using the extract concentrations at 0 (distilled water), 25.00, 50.00 and 100.00 mg/ml. The results indicated that the extracts from cultivars CM60, SKT1, CM3 and SJ4 were the greatest inhibitory effect group whereas those from cultivars KUSL20004, GC10992, #8407 and CM1 were the lowest inhibitory effect group.

The relationships between the flavonoid content and allelopathic activity of the soybean leaf water extracts from the 4 highest inhibitory effect cultivars and the 4 lowest effect cultivars were comparative studied by measuring the absorbance at the specific wavelength for each flavonoid compound. The results showed that the 4 highest

inhibitory cultivars had significantly higher contents of chalcone, aurone, anthocyanin and tannin than those of the 4 lowest inhibitory cultivars. Nevertheless the contents of some flavone, flavanone, isoflavonoid and flavonol compounds from these 2 soybean groups were not significantly different.

The expression of genes from the flavonoid biosynthetic pathway encoding chalcone synthase (*CHS*) and dihydroflavonol 4-reductase (*DFR*) were analyzed using RT-PCR technique. The result showed the correlation between allelopathic activity and the transcription levels of *CHS* and *DFR* genes from the young leaves of these 2 soybean groups. The highest expression of *CHS* and *DFR* were found in CM60 cultivar whereas the cultivars #8407 and KUSL20004 gave the lowest expression of these genes, respectively.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ซึ่งให้คำแนะนำและคำปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ ตลอดจนตรวจทาน แก้ไขและแนะนำในการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. กนกพร สมพรไพลิน อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในการทำงานวิจัยจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุเม อรัญนารถ และ รศ. สมภพ ฐิตะวสันต์ ที่ให้เกียรติเป็นประธานกรรมการและกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำตลอดจนตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร และศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ ที่อนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองเพื่อใช้ในการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณพี่ๆ น้องๆ ภาควิชาพืชสวน ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์และทุกๆ คน ที่ไม่ได้เอ่ยชื่อในที่นี้ ที่มีส่วนให้ความช่วยเหลือในระหว่างการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่และน้อง ที่สนับสนุนและให้กำลังใจในการศึกษาและทำงานวิจัยจนสำเร็จ

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โดยงบประมาณของโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัยสาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร ภายใต้โครงการบัณฑิตศึกษาและวิจัยสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ทบวงมหาวิทยาลัย

คุณประโยชน์อันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

เอื้ออารีย์ รณเรืองฤทธิ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ III

กิตติกรรมประกาศ V

สารบัญ VI

สารบัญตาราง IX

สารบัญภาพ XI

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา 4

1.3 ขอบเขตของการวิจัย 4

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ 5

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 6

2.1 อัลลีโลพาที 6

2.1.1 การวิจัยด้านอัลลีโลพาทีของพืชทั่วไป 6

2.1.2 การวิจัยด้านอัลลีโลพาทีของพืชตระกูลถั่ว 9

2.2 สารเฟลโวนอยด์และผลด้านอัลลีโลพาที 12

2.2.1 โครงสร้างของสารเฟลโวนอยด์ 14

2.2.2 ชีวสังเคราะห์ของสารเฟลโวนอยด์ 16

2.3 การแสดงออกของยีน 19

2.3.1 การศึกษาการแสดงออกของยีนโดยวิธี RT-PCR 20

2.3.2 การศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารเฟลโวนอยด์ 23

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย 25

3.1 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน 25

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลทางด้านอัลลีโลพาทีของสารสกัดด้วยน้ำจากถั่วเหลือง 25

การทดลองที่ 1.1 การศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองจำนวน 4 สายพันธุ์ ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดผักกาดหัว 25

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้งและผักกาดหัว 26

การทดลองที่ 2 การศึกษาความสัมพันธ์ของการผลิตสารเฟลโวนอยด์ในใบถั่วเหลืองและผลทางด้านอัลลีโลพาทีโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง 26

การทดลองที่ 3 การศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์โดยวิธี RT-PCR 27

3.2 สถานที่ดำเนินงาน 29

3.3 ระยะเวลาดำเนินการ 30

บทที่ 4 ผลการทดลอง 31

4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาผลทางด้านอัลลีโลพาทีของสารสกัดด้วยน้ำจากถั่วเหลือง 31

4.1.1 การศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองจำนวน 4 สายพันธุ์ ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดผักกาดหัว 31

4.1.2 การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้งและผักกาดหัว 50

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาความสัมพันธ์ของการผลิตสารเฟลโวนอยด์ในใบถั่วเหลืองและผลทางด้านอัลลีโลพาทีโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง 72

4.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์โดยวิธี RT-PCR 78

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง 82

บทที่ 6 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 87

6.1 สรุปผลการทดลอง 87

6.2 ข้อเสนอแนะ 89

บรรณานุกรม 90

ภาคผนวก 99

ประวัติผู้เขียน 101

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชของประเทศไทยปี พ.ศ. 2541-2547	1
1.2	ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสารเคมีทางการเกษตรปี พ.ศ. 2547	2
2.1	ความยาวคลื่นแสงที่สารกลุ่มเฟลโวนอยด์ดูดกลืนแสงได้สูงสุด	19
4.1	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว ที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์ มข. 35 โดยใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น	31
4.2	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว ที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์ นครสวรรค์1 โดยใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น	36
4.3	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่4 โดยใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น	41
4.4	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์ GC10981 โดยใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น	45
4.5	ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกวางตุ้งที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ โดยใช้ความเข้มข้น 3 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น	50
4.6	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้น)	52
4.7	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง30 สายพันธุ์ต่อความยาวต้นของผักกวางตุ้ง5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้น)	54
4.8	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อความยาวรากของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้น)	56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.9 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อความยาวรวมของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้น) 58

4.10 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อน้ำหนักแห้งของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้น) 60

4.11 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ โดยใช้ความเข้มข้น 3 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น 61

4.12 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อการงอกของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้น) 63

4.13 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ต่อความยาวต้นของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้น) 65

4.14 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ต่อความยาวรากของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้น) 67

4.15 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ต่อความยาวรวมของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้น) 69

4.16 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ต่อน้ำหนักแห้งของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้น) 71

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	โครงสร้างของสารเฟลโวนอยด์กลุ่มต่างๆ	15
2.2	ชีวสังเคราะห์ของสารเฟลโวนอยด์	17
2.3	การสังเคราะห์ cDNA	22
2.4	การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์	22
4.1	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์มข.35 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นที่มีต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด	32
4.2	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์มข. 35 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวหลังการเพาะ 5 วัน	33
4.3	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์มข.35 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด	34
4.4	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์1 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด	37
4.5	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์1 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวหลังการเพาะ 5 วัน	38
4.6	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์1 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด	39
4.7	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่4 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นที่มีต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด	42
4.8	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่4 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวหลังการเพาะ 5 วัน	42
4.9	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่4 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ	44
4.10	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์GC10981 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นที่มีต่อการงอกของต้นกล้าผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด	46
4.11	ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์GC10981 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวหลังการเพาะ 5 วัน	47

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.12 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์GC10981 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด 48

4.13 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้ ง5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสายพันธุ์ถั่วเหลือง) 51

4.14 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของระดับความเข้มข้น) 51

4.15 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวต้นกล้าผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสายพันธุ์ถั่วเหลือง) 53

4.16 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวต้นกล้าผักกวางตุ้ง(อิทธิพลของระดับความเข้มข้น) 53

4.17 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรากของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสายพันธุ์ถั่วเหลือง) 55

4.18 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรากของผักกวางตุ้ง (อิทธิพลของระดับความเข้มข้น) 55

4.19 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรวมของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสายพันธุ์ถั่วเหลือง) 57

4.20 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรวมของผักกวางตุ้ง (อิทธิพลของระดับความเข้มข้น) 57

4.21 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อน้ำหนักแห้งของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสายพันธุ์ถั่วเหลือง) 59

4.22 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อน้ำหนักแห้งของผักกวางตุ้ง (อิทธิพลของระดับความเข้มข้น) 59

4.23 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสายพันธุ์ถั่วเหลือง) 62

4.24 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของระดับความเข้มข้น) 62

4.25 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวต้นของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสายพันธุ์ถั่วเหลือง) 64

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.26 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวต้นของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของระดับความเข้มข้น) 64

4.27 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรากของผักกาดหัว (อิทธิพลของสายพันธุ์ถั่วเหลือง) 66

4.28 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรากของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของระดับความเข้มข้น) 66

4.29 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรวมของผักกาดหัว (อิทธิพลของสายพันธุ์ถั่วเหลือง) 68

4.30 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรวมของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของระดับความเข้มข้น) 68

4.31 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อน้ำหนักแห้งของผักกาดหัว (อิทธิพลของสายพันธุ์ถั่วเหลือง) 70

4.32 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อน้ำหนักแห้งของผักกาดหัว (อิทธิพลของระดับความเข้มข้น) 70

4.33 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารแคลโคนไอโซไลเควอริทิเจนินในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ 72

4.34 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารออโรนซัลฟูเรตินในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ 73

4.35 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเฟลวาโนนในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ 73

4.36 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเฟลโวนในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ 74

4.37 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารไอโซเฟลโวนอยด์ในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ 75

4.38 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเฟลโวนอลในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ 76

4.39 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารแอนโธไซยานินในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ 77

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.40 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารกัลโลแทนนินในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ 77

4.41 cDNA ของถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ 78

4.42 ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์และการแสดงออกจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์โดยใช้ไพรเมอร์สำหรับเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *CHS* และไพรเมอร์สำหรับเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *actin* 80

4.43 ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์และการแสดงออกจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์โดยใช้ไพรเมอร์สำหรับเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *DFR* และไพรเมอร์สำหรับเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *actin* 81

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

การเพิ่มผลผลิตในระบบการปลูกพืชให้มีประสิทธิภาพมากที่สุด ขึ้นอยู่กับการควบคุมศัตรูพืชชนิดต่างๆ ทั้งในด้าน โรคพืช แมลงศัตรูพืช และโดยเฉพาะอย่างยิ่งวัชพืช (Vyvyan. 2002) เนื่องจากวัชพืชเป็นสาเหตุหลักที่สำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้ผลผลิตและคุณภาพผลผลิตไม่ได้ตามเป้าหมาย เพราะวัชพืชไปแก่งแย่งธาตุอาหาร แสงแดด พื้นที่ในการเจริญเติบโต เป็นอุปสรรคในการระบายน้ำ รวมทั้งวัชพืชบางชนิดปลดปล่อยสารบางอย่างที่ทำความเสียหายให้กับพืชปลูกได้ (สุรชัย มัจฉาชีพ. 2538) การใช้สารเคมีในการควบคุมวัชพืชเป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เพราะความสะดวก ให้ผลที่แน่นอน และรวดเร็ว ดังนั้นจึงเป็นวิธีการที่นำมาใช้เพื่อการจัดการวัชพืชในระบบการผลิตพืชมากที่สุด ถ้าไม่มีการใช้สารควบคุมวัชพืชก็จะทำให้เสียค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนมากในการจ้างแรงงานเพื่อกำจัดวัชพืช (Macias *et al.* 2000) แต่สารเคมีเหล่านี้ไม่สามารถผลิตได้ในประเทศจึงต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งในแต่ละปีประเทศไทยมีการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (ตารางที่ 1.1) โดยพบว่ามีการนำเข้าสารเคมีกำจัดวัชพืชมากที่สุด ทั้งในด้านปริมาณและมูลค่าที่มีการนำเข้า (กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2548) ในปี พ.ศ. 2547 ประเทศไทยมีการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชทั้งหมด 86,904 ตัน คิดเป็นมูลค่า 11,135 ล้านบาท ซึ่งแยกเป็นสารกำจัดวัชพืชประมาณ 55,648 ตัน มูลค่า 6,079 ล้านบาท (ตารางที่ 1.2)

ตารางที่ 1.1 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชของประเทศไทยปี พ.ศ. 2541 - 2547

สารกำจัดศัตรูพืช	ปี พ.ศ.						
	2541	2542	2543	2544	2545	2546	2547
ปริมาณ (ตัน)	32,977	56,865	52,702	60,541	65,310	79,580	86,904
มูลค่า (ล้านบาท)	5,093	11,059	7,258	8,760	9,115	11,341	11,135

ที่มา : กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2548

นอกจากการที่ประเทศไทยจะต้องสูญเสียเงินตราต่างประเทศเพื่อนำเข้าสารเคมีกำจัดศัตรูพืชเป็นจำนวนมากในแต่ละปีแล้ว การใช้สารเคมีเหล่านี้เกินความจำเป็นและขาดความเข้าใจที่

ถูกต้อง ทำให้เกิดปัญหาตามมาคือ มีผู้ป่วยเนื่องจากการใช้สารเคมีที่เป็นวัตถุมีพิษเป็นจำนวนมาก ซึ่งผู้ป่วยเหล่านี้มีโอกาสเสี่ยงในการเป็นมะเร็งสูง และยังสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมทำให้เกิดความอ่อนแอในลูกหลานได้ (สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตสารธรรมชาติทางการเกษตร. 2545) นอกจากนี้การใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดเดิมหรือสารอื่นที่มีกลไกการทำลายพืชเหมือนกันซ้ำที่เดิมเป็นเวลาหลายปีติดต่อกัน และการปลูกพืชชนิดเดียวซ้ำที่เดิมโดยมีการปลูกพืชหมุนเวียนน้อยมาก ก็เป็นสาเหตุทำให้วัชพืชเกิดความต้านทานขึ้น ซึ่งกลายมาเป็นผลกระทบที่เกิดขึ้นทั่วโลกในขณะนี้ (รังสิต สุวรรณเขตนิคม. 2544 ; Jasieniuk *et al.* 1996 ; Bhowmik and Inderjit. 2003)

ตารางที่ 1.2 ปริมาณและมูลค่าการนำเข้าสารเคมีทางการเกษตรปี พ.ศ. 2547

ประเภทของวัตถุอันตราย	ปริมาณ (กก.)	มูลค่า (บาท)
สารกำจัดแมลง	16,731,359	2,834,667,096
สารป้องกันและกำจัดโรคพืช	10,107,987	1,718,871,122
สารกำจัดวัชพืช	55,648,692	6,079,745,372
สารกำจัดไร	424,679	100,810,934
สารกำจัดหนู	194,550	18,611,740
สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช	1,809,874	174,287,174
สารกำจัดหอยและหอยทาก	881,840	76,393,153
สารรมควันพิษ	1,105,975	131,687,370
สารกำจัดไส้เดือนฝอย	-	-
รวม	86,904,958	11,135,073,963

ที่มา : กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2548

ในระบบการเกษตรแบบยั่งยืนมีเป้าหมายสำคัญทั้งในด้านการรักษาสภาพแวดล้อมและคำนึงถึงสุขภาพของผู้ผลิตและผู้บริโภค โดยพยายามลดการปนเปื้อนสารเคมีสังเคราะห์ในผลผลิตการเกษตร แต่ในขณะเดียวกันก็จะเน้นให้มีผลกระทบต่อผลผลิตน้อยที่สุด (Wyse. 1994) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงเทคโนโลยีการควบคุมวัชพืช โดยการหาสิ่งทดแทนที่ได้มาจากธรรมชาติ ซึ่งมีความปลอดภัยกว่าสารเคมีสังเคราะห์จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง (Vyvyan. 2002 ; Chon *et al.* 2005) ด้วยเหตุนี้การวิจัยและพัฒนาสารจากธรรมชาติจึงได้รับความสนใจจากนักวิชาการทั้งในประเทศและต่างประเทศมากขึ้นตามลำดับ สารจากธรรมชาติที่ได้จากพืชนับว่าเป็นแหล่งที่สำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากยังมีพืชอีกเป็นจำนวนมากที่สามารถผลิตสารชนิดต่างๆ ซึ่งมี

โครงสร้างหลากหลายและให้ฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน สารเหล่านี้เป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ จึงมีแนวโน้มในการสลายตัวได้เร็ว ไม่ก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างในพืชและสิ่งแวดล้อม (Ferguson and Rathinasabapathi. 2003)

ถั่วเหลืองมีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Glycine max* (L.) Merr. อยู่ใน Family Leguminosae และ Subfamily Papilionoideae ชื่อสามัญคือ soybean (กรมส่งเสริมการเกษตร. 2537) ถั่วเหลืองเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลก เพราะทั้งคนและสัตว์เลี้ยงใช้บริโภคเป็นอาหาร (สมจินตนา ทุมแสนและคณะ. 2546) ดังนั้นจึงมีความต้องการใช้เป็นปริมาณมากทั้งการบริโภคและเป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมหลายชนิด เช่น อุตสาหกรรมสกัดน้ำมันพืช อุตสาหกรรมแปรรูปอาหาร และอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ เป็นต้น (อัจฉรา อุทโยภาศและคณะ. 2547) นอกจากนี้แล้วยังใช้ปลูกเป็นพืชหมุนเวียนที่ช่วยปรับปรุงบำรุงความอุดมสมบูรณ์ของดิน เนื่องจากถั่วเหลืองสามารถตรึงไนโตรเจนในบรรยากาศมาสร้างเป็นสารประกอบไนโตรเจนที่พืชสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตได้ โดยอาศัยแบคทีเรียไรโซเบียมที่ทำให้เกิดปมรากถั่ว (อภิพรรณ พุกภักดี. 2546) ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นแหล่งที่ดีของโปรตีนและไขมัน การบริโภคถั่วเหลืองเป็นผลดีต่อสุขภาพและช่วยป้องกันโรคบางโรคได้ เนื่องจากในถั่วเหลืองมีสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ (flavonoid) และ ไอโซเฟลโวนอยด์ (isoflavonoid) ซึ่งมีคุณสมบัติเหมือนกับฮอร์โมนเอสโตรเจน (estrogen) ในเพศหญิง จึงเรียกสารเหล่านี้ว่าไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) หรือสารเอสโตรเจนที่ได้จากพืช ซึ่งช่วยป้องกันโรคของระบบหลอดเลือดและหัวใจ ป้องกันภาวะกระดูกพรุน ลดภาวะเสี่ยงของการเป็นมะเร็งโดยเฉพาะมะเร็งเต้านม เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ กระตุ้นการเจริญของเซลล์ประสาท เป็นต้น (อรอนงค์ กังสดาลอำไพ. 2543 ; รุจน์ สุทธิศรี. 2549)

การพบสารกลุ่มเฟลโวนอยด์มากในถั่วเหลืองเป็นที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง เพราะสารกลุ่มนี้นอกจากจะมีคุณค่าในด้านโภชนาการแล้ว ยังพบว่าเป็นสารที่มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับการควบคุมการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืชด้วย (Graham.1991) ซึ่งจากผลการศึกษาของ Muan (1977) โดยทำการทดสอบการปลูกถั่วเหลืองร่วมกับหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) พบว่าถั่วเหลืองที่มีอายุ 3-5 สัปดาห์ สามารถยับยั้งการติดเมล็ดของหญ้าข้าวนกได้ ขณะที่ถั่วเหลืองอายุ 6-10 สัปดาห์ มีผลยับยั้งความสูงและน้ำหนักแห้งของหญ้าข้าวนก แต่เมื่อเกิน 10 สัปดาห์ขึ้นไปจะมีผลทำให้ผลผลิตของหญ้าข้าวนกเพิ่มขึ้น ส่วน Rose *et al.* (1984) ได้ทดสอบการปลูกถั่วเหลืองจำนวน 280 สายพันธุ์ ร่วมกับวัชพืช velvetleaf (*Abutilon theophrasti* Medic.) และ foxtail millet (*Setaria italica* (L.) Beauv.) พบว่าถั่วเหลืองแต่ละสายพันธุ์ให้ผลยับยั้งการงอกและน้ำหนักแห้งของวัชพืชทดสอบได้แตกต่างกัน ขณะที่ Jones *et al.* (2001) ได้ทำการทดสอบการปลูกพืชตระกูลถั่วและพืชตระกูลอื่นๆ ในแปลงทดลองโดยหลังการเก็บเกี่ยวทำการ

คลุมแปลงปลูกด้วยเศษซากที่เหลือ เพื่อศึกษาผลต่อการเจริญเติบโตของวัชพืช ซึ่งพบว่าแปลงที่ปลูกแล้วคลุมด้วยถั่วเหลืองมีวัชพืชเจริญเติบโตน้อยที่สุด โดยเฉพาะวัชพืชใบกว้างและหญ้าต่างๆ จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าถั่วเหลืองเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพด้านอัลลีโลพาที (allelopathy) โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นได้

อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยด้านอัลลีโลพาทีของถั่วเหลืองในประเทศไทยยังมีน้อยมาก โดยเฉพาะในการศึกษาระดับโมเลกุล ดังนั้นจึงมีความสนใจที่จะศึกษาเปรียบเทียบผลทางอัลลีโลพาทีของถั่วเหลืองสายพันธุ์ต่างๆ ต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบและศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลทางอัลลีโลพาทีและปริมาณสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ในใบถั่วเหลือง รวมทั้งศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์ดังกล่าว สำหรับเป็นแนวทางในการพัฒนาพันธุ์ถั่วเหลืองให้เป็นพืชปลูกที่มีความต้านทานต่อวัชพืชสูงและเป็นการลดการใช้สารเคมี อันจะนำไปสู่ระบบการผลิตพืชทางการเกษตรที่ยั่งยืนต่อไปในอนาคต

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลือง ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

1.2.2 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของศักยภาพด้านอัลลีโลพาทีของถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์

1.2.3 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสารเฟลโวนอยด์ในใบถั่วเหลืองและผลทางด้านอัลลีโลพาที

1.2.4 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลือง ได้แก่ ต้น ใบ ราก และส่วนผสมรวมทุกส่วนจากถั่วเหลือง 4 สายพันธุ์ คือ มข.35 นครสวรรค์1 เชียงใหม่4 และ GC10981 ที่ระดับความเข้มข้น 12.50 25.00 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัว (*Raphanus sativus* L. var. *longipinnatus*) โดยใช้น้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ

1.3.2 ศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของศักยภาพด้านอัลลีโลพาทีของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 25.00 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อ

มิลลิลิตร ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้ง (*Brassica campestris* Jusl. var. *chinensis*) และผักกาดหัว โดยใช้น้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ

1.3.3 ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสารเฟลโวนอยด์ในใบถั่วเหลืองและผลทางด้านอัลลีโลพาทีโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้สารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบมากที่สุดจำนวน 4 สายพันธุ์ คือ เชียงใหม่3 สุโขทัย1 เชียงใหม่60 และสจ.4 และสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบน้อยที่สุดจำนวน 4 สายพันธุ์ คือ KUSL20004 GC10981 #8407 และ เชียงใหม่1 โดยสารแอนโธไซยานิน แทนนิน เฟลโวนอล และเฟลโวน ใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 20.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารไอโซเฟลโวนอยด์ เฟลวาโนน ออโรนและแคลโคน ใช้ระดับความเข้มข้น 10.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ในช่วงความยาวคลื่น 250-550 นาโนเมตร เปรียบเทียบปริมาณสารกลุ่มเฟลโวนอยด์ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 250-550 นาโนเมตร

1.3.4 ศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์ โดยวิธี reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) โดยการสกัดอาร์เอ็นเอรวมจากใบอ่อนถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ ในข้อ 1.3.3 นำมาสังเคราะห์ cDNA แล้วเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR และตรวจผลการแสดงออกด้วยวิธีเจล อิเล็คโตรโฟเรซีส (gel electrophoresis)

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบถึงส่วนของถั่วเหลืองที่มีปริมาณของสารอัลลีโลพาทีสะสมอยู่สูง

1.4.2 ทราบถึงความแตกต่างของผลทางด้านอัลลีโลพาทีของถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์

1.4.3 ทราบถึงความสัมพันธ์ของปริมาณสารเฟลโวนอยด์ในใบถั่วเหลืองและผลทางด้านอัลลีโลพาที

1.4.4 ทราบถึงความสัมพันธ์ของผลทางด้านอัลลีโลพาที และความแตกต่างในการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์

1.4.5 เพื่อเป็นแนวทางในการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ถั่วเหลืองที่มีศักยภาพด้านอัลลีโลพาทีสูง สามารถต้านทานต่อวัชพืชได้ดี

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อัลลีโลพาที

ในสภาพธรรมชาติปรากฏการณ์ที่พืชรวมทั้งจุลินทรีย์มีการผลิตสารชีวเคมีแล้วปลดปล่อยออกสู่สภาพแวดล้อม และสารชีวเคมีเหล่านี้มีผลกระทบทั้งโดยทางตรงและทางอ้อมต่อพืชหรือจุลินทรีย์อื่นๆ ที่อยู่โดยรอบเรียกว่า อัลลีโลพาที ซึ่งบัญญัติขึ้นโดย Hans Molisch นักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน ในปี ค.ศ. 1937 (Rice. 1984) ปรากฏการณ์นี้อาจจะส่งผลในการกระตุ้นหรือยับยั้งการเจริญเติบโตและพัฒนาการของพืชหรือจุลินทรีย์ ซึ่งผลกระทบดังกล่าวจะมีความรุนแรงต่างกันโดยขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารชีวเคมีที่ถูกปลดปล่อยออกมา ธรรมชาติของสารชนิดนั้นๆ และช่วงระยะเวลาที่สารชนิดนั้นๆ ยังคงอยู่ในสภาพแวดล้อม (Kebede. 1994 ; Ferguson and Rathinasabapathi. 2003) สารเหล่านั้นเรียกว่าสารอัลลีโลพาที (allelopathic chemicals หรือ allelochemicals หรือ allelochemics) สารอัลลีโลพาทีปรากฏอยู่ในทุกส่วนของพืชไม่ว่าจะเป็น ใบ ดอก ผล ลำต้น ราก เหง้า เมล็ดและละอองเรณูหรือเกสรของดอก (Weston. 1996 ; An *et al*. 1998) สารหลายๆ ชนิดจะสะสมอยู่ในพืชในปริมาณที่แตกต่างกัน และในพืชชนิดเดียวกันก็มีปริมาณสารที่แตกต่างกัน (Chon *et al*., 2005 ; Xuan *et al*., 2005) ซึ่งการปลดปล่อยสารเหล่านี้จากพืชออกสู่สภาพแวดล้อมมี 4 วิธี ได้แก่ 1. การระเหย (volatilization) จากส่วนของพืชขณะที่มีชีวิตอยู่ 2. การชะล้าง (leaching) โดยน้ำฝน หมอกหรือน้ำค้างจากส่วนที่อยู่เหนือดินของพืช 3. การปลดปล่อยสารออกจากรากพืช (root exudation) 4. การย่อยสลายของเศษซากพืช (decomposition of plant residue) จากการที่ใบหรือส่วนต่างๆ ร่วงลงสู่ดิน หรือรากที่แก่และตายไป แล้วถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ดิน ทำให้สารอัลลีโลพาทีถูกปลดปล่อยออกมา (Rice. 1984)

2.1.1 การวิจัยด้านอัลลีโลพาทีของพืชทั่วไป

การศึกษาวิจัยผลทางด้านอัลลีโลพาทีของพืชชนิดต่างๆ ได้รับความสนใจและมีรายงานผลการศึกษาเป็นจำนวนมากทั้งในประเทศและต่างประเทศ เช่น ศิริพร ชิงสนธิพรและชอุ่ม เปรมัษเฐียร (2543) รายงานการศึกษาผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบเทียนหยด (*Duranta repens* L.) โดยใช้อัตราส่วน 0.0625 0.125 0.25 0.5 และ 1.0 กรัม ในวุ้น 0.5% พบว่าการเจริญเติบโตของไมยราบยักษ์ (*Mimosa pigra* L.) ลดลง เมื่อได้รับสารสกัดจากใบเทียนหยดในอัตราที่สูงขึ้น รากของไมยราบยักษ์ถูกยับยั้งได้มากกว่าต้นในปริมาณสารที่ได้รับเท่ากัน เมื่อเพิ่ม

ความเข้มข้นเป็น 1.0 กรัม ทั้งรากและต้นของไมยราบยักษ์จะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ ส่วนรายงานผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบประยงค์ (*Aglaia odorata* Lour.) อัตราส่วน 1:20 1:40 และ 1:60 (น้ำหนัก : ปริมาตร) ปรากฏว่าสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบทั้ง 8 ชนิดคือ ผักกาดหัว ผักกวางตุ้ง ข้าวโพดเทียน (*Zea may* L.) หอมแบ่ง (*Allium ascalonicum* L.) ไมยราบยักษ์ ถั่วผี (*Phaseolus lathyroides* L.) หญ้าขจรจบดอกเหลือง (*Pennisetum setosum* L.) และหญ้ารังนก (*Chloris barbata* Sw.) ได้ (บุญรอด ชาติยานนท์. 2544) ขณะที่ วิรัตน์ ภูวิวัฒน์และจำรูญ เล้าสินวัฒนา (2545) รายงานผลของการใช้สารสกัดด้วยน้ำจากใบเลี่ยน (*Melia azedarach* L.) อัตราส่วน 1:10 (น้ำหนัก : ปริมาตร) พบว่าสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง (*Ipmoea reptans* Poir.) และข้าว (*Oryza sativa* L.) พันธุ์กข.23 ได้ 88.02 94.43 และ 93.75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ สำหรับ ดารารัตน์ มณีจันทร์ (2546) ศึกษาผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชสกุลมะลิ 11 ชนิด ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้งและผักกาดหัว พบว่าสารสกัดจากใบมะลิลาซ้อน (*Jasminum sambac* Ait.) และใบพุทธชาติก้านแดง (*J. officinale* Linn. f. var. *grandiforum* (Linn.) Kob.) ให้ผลในการยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้ดี เมื่อนำสารสกัดจากใบพืชทั้ง 2 มาทำการทดสอบกับพืชทดสอบ 10 ชนิด ได้แก่ ไมยรา (*Desmanthus virgatus* (L.) Willd.) โสน (*Aeschynomene indica* L.) ถั่วท่าพระสไตโล (*Stylosanthes quianensis* (Aublet) Sw.) ถั่วผี ผักโขม (*Amaranthus viridis* L.) ข้าว หญ้าข้าวนก หญ้ารูซี่ (*Bachiaria ruziziensis* L.) หญ้าอะตราตัม (*Paspalum atratum* Swallen) และหญ้าพิแคทูลัม (*P. plicatulum* Michx.) ปรากฏว่าสารสกัดจากใบพุทธชาติก้านแดงให้ผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตได้ดีกว่าสารสกัดจากใบมะลิลาซ้อน ในส่วนการศึกษาผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนใบ กิ่งและลำต้นของพุทธชาติก้านแดงที่ระดับความเข้มข้น 3.12 6.25 12.50 25.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการงอกของ โสน ไมยรา หญ้าข้าวนก และหญ้าอะตราตัม พบว่าสารสกัดจากใบให้ผลยับยั้งได้ดีที่สุด การเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดมีผลให้ศักยภาพในการยับยั้งมากขึ้น (ดารารัตน์ มณีจันทร์. 2547) ในขณะที่ พัชนี เจริญยิ่งและคณะ (2547) ได้รายงานผลการศึกษาสารสกัดด้วยน้ำจากผลกำจัดต้น (*Zanthoxylum limonella* Alston) ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัวและกวางตุ้ง ปรากฏว่าสารสกัดด้วยน้ำจากผลกำจัดต้นสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบทั้ง 2 ได้ โดยสารสกัดอัตราส่วน 1:10 สามารถยับยั้งการงอกได้อย่างสมบูรณ์ ในด้านการทดสอบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบ ก้านใบ กิ่งและเปลือกจากสังเครียดใบเล็ก (*Aglaia malaccensis* Ridley) โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 25.00 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก ถั่วไมยรา ผักกวางตุ้งและข้าว ผลปรากฏว่าสารสกัดจากส่วนของเปลือกให้ผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกได้

มากที่สุด ขณะที่สารสกัดจากส่วนของใบมีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของถั่วไมยราได้ดีที่สุด ในส่วนผักกวางตุ้งและข้าวพบว่าการใช้สารสกัดจากเปลือกและใบให้ผลไม่แตกต่างกัน และระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้นมีผลให้การยับยั้งมากขึ้น (วิรัตน์ ภูวิวัฒน์และคณะ. 2548)

สำหรับ Viles and Reese (1996) ได้ศึกษาพบว่าสารสกัดด้วยน้ำและสารที่ระเหยจากรากของ *Echinacea angustifolia* D.C. มีผลยับยั้งการงอก ความยาวรากและปริมาณคลอโรฟิลล์ของผักกาดหอม (*Lactuca sativa* L.) switchgrass (*Panicum virgatum* L.) และ prairie dropseed (*Sporobolu heterolepis* L.) มากกว่าสารที่สกัดและสารที่ระเหยจากส่วนยอด และปริมาณของสารทุติยภูมิในพืชชนิดนี้ก็มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม ซึ่งใช้เป็นเครื่องมือจำแนกทางอนุกรมวิธานด้วย ในขณะที่ Saxena *et al.* (1996) ทดสอบสารสกัดด้วยน้ำจากรากและยอดของหญ้าไข่มุก (*Pennisetum glaucum* (L.) R.Br.) ที่ระดับความเข้มข้น 20 40 60 และ 80 กรัมต่อลิตร พบว่าสารสกัดที่ได้แสดงความเป็นพิษต่อตัวเอง โดยการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตรขึ้นไปมีผลยับยั้งการงอก ความยาวราก ความยาวต้นและน้ำหนักแห้งของต้นหญ้าไข่มุกเอง ในด้านการทดสอบสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนยอด รากและเมล็ดของหญ้านวลน้อย (*Zoysia matrella* (L.) Merr.) โดยใช้ระดับความเข้มข้น 12.5 25 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักโขม พบว่าการใช้สารสกัดที่ระดับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากส่วนยอดให้ผลยับยั้งดีกว่าสารสกัดจากส่วนรากและเมล็ด ส่วนการใช้สารสกัดที่ระดับ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรลงมามีผลส่งเสริมการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ (Laosinwattana *et al.*, 1997) Ebana *et al.* (2001) รายงานผลการศึกษาสารสกัดด้วยน้ำจากใบ ต้นและราก ของข้าว จำนวน 12 สายพันธุ์ และช่วงระยะเวลาที่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของผักกาดหอมและ ducksalad (*Heteranthera limosa* (Sw.) Willd.) ปรากฏว่าสารสกัดจากใบมีผลยับยั้งมากกว่าต้นและราก โดยสารสกัดจากใบของข้าวพันธุ์ PI312777 ที่อยู่ในระยะมีใบ 6 ใบ มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตพืชทดสอบมากที่สุด สำหรับการทดสอบเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบ ฟางและแกลบของข้าวพันธุ์ต่างๆ พบว่าสารสกัดจากฟางข้าวพันธุ์ Danganeuilbangju ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกมากที่สุด ส่วนในข้าวพันธุ์ Dongobyeo สารสกัดจากใบให้ผลในการยับยั้งมากที่สุด สำหรับข้าวพันธุ์ Baek พบว่าสารสกัดจากแกลบให้ผลการยับยั้งมากที่สุด (Chung *et al.*, 2003) ขณะที่ Turk and Tawaha (2003) รายงานว่าสารสกัดด้วยน้ำจากชิ้นส่วนใบ ดอก ต้น ราก และส่วนผสมจากทุกส่วนของผักกาดฝรั่ง (*Brassica nigra* L.) มีผลยับยั้งการงอก ความยาวรากและน้ำหนักของต้นกล้าข้าวโอ๊ตป่า (*Avena fatua* L.) โดยส่วนที่ยับยั้งมากที่สุดคือใบ รองลงมาคือส่วนผสมจากทุกส่วน ดอก ต้นและราก ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันผลการทดสอบสารสกัดด้วยน้ำจากใบ ราก

และลำต้นของข้าวสาลีพันธุ์ durum แสดงให้เห็นว่าส่วนของใบให้ผลยับยั้งการงอกและความยาวเรดิเคิลของข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare* L.) และข้าวสาลีพันธุ์ bread มากกว่าส่วนของรากและลำต้น (Oueslati. 2003) ขณะที่ Xuan *et al.* (2004a) รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกและใบของต้นสะเดา (*Azadirachta indica* A. Juss) ให้ผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชปลูกที่ทดสอบคือ อัลฟัลฟ่า ถั่วอะซูกิ (*Vigna angularis* Willd.) แครอท (*Daucus carota* L.) ผักกาดหัว ข้าว และงา (*Sesamum indicum* L.) และยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชที่ทดสอบคือ หญ้าข้าวนก ขาเขียด (*Monochoria vaginalis* (Burm. F.) Presl.) และโสนได้ ส่วนการทดสอบผลทางอัลลีโลพาทีของผักกาดหอมโดย Chon *et al.* (2005) พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบผักกาดหอม 4 สายพันธุ์แสดงผลการยับยั้งแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ซึ่งสารสกัดจากใบของสายพันธุ์ cheongchima สามารถยับยั้งความยาวรากถั่วอัลฟัลฟ่าได้อย่างสมบูรณ์เมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ขึ้นไป ส่วน Jasicka-Misiak *et al.* (2005) รายงานผลของสารสกัดด้วยน้ำจากเมล็ดแครอท ความเข้มข้น 0.5 1 5 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสามารถยับยั้งความยาวรากและไฮโปคอทิลของ cress (*Lepidium sativum* L.) แครอท หอมหัวใหญ่ (*Allium cepa* L.) และแตงกวา (*Cucumis sativus* L.) โดยมีผลการยับยั้งต่อการเจริญของรากมากกว่าไฮโปคอทิล ซึ่งแครอทและ cress อ่อนแอต่อสารสกัดมากกว่าหอมหัวใหญ่และแตงกวา การใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของรากแครอทและ cress ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งความยาวรากแครอทได้อย่างสมบูรณ์

2.1.2 การวิจัยด้านอัลลีโลพาทีของพืชตระกูลถั่ว

ชอุ่ม เปรมัษเฐียรและศิริพร ซึงสนธิพร (2543) ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากทั้งต้นและรากถั่วเขียว (*Vigna radiata* L. Wilczek) และสารที่ถูกปล่อยออกมาจากรากต่อการเจริญเติบโตของผักกาดหอมและหญ้าข้าวนก โดยใช้สารสกัดความเข้มข้น 0 1 2.5 5 และ 10 กรัมต่อน้ำหนักสด พบว่าสารสกัดจากถั่วเขียวยับยั้งการเจริญเติบโตของรากพืชทดสอบได้มากกว่าส่วนต้นและน้ำหนักแห้ง สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัมต่อน้ำหนักสด ยับยั้งการเจริญเติบโตของรากผักกาดหอมและหญ้าข้าวนกได้ 95 และ 75 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้อย่างสมบูรณ์เมื่อใช้ความเข้มข้น 2.5 กรัมต่อน้ำหนักสดขึ้นไป และการทดสอบสารที่ถูกปล่อยจากรากถั่วเขียวอายุ 10 20 30 และ 40 วัน ปรากฏว่า การปลูกร่วมกับถั่วเขียวอายุ 10 วันขึ้นไป ทั้งผักกาดหอมและหญ้าข้าวนกจะถูกยับยั้งการเจริญเติบโตมากขึ้น ถั่วเขียวที่อายุ 40 วัน สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้อย่างสมบูรณ์และยับยั้งการเจริญเติบโตของรากใบและน้ำหนักแห้งหญ้าข้าวนกได้ 89 74 และ 62 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วน Kalburtji and

Mosjidis (1992) รายงานว่าการใช้ซากและสารสกัดจากดินที่ปลูก chinese bush clover (*Lespedeza cuneata* (Dum. De Cours) G. Bon) โดยใช้พืชทดสอบคือหญ้าแพรก (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) และหญ้าบาเฮีย (*Paspalum notatum* Flugge.) พบว่าสารสกัดที่ได้ไม่ยับยั้งการงอกของพืชทดสอบ แต่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ สำหรับการใช้ซากของ red clover (*Trifolium pretense* L.) 2530 กิโลกรัมต่อเฮกแตร์ ผสมดินเป็นเวลา 8 21 30 42 63 และ 100 วัน แล้วทำการสกัดสารจากดิน โดยใช้อัตราส่วนดินต่อน้ำ 1:1 มาทดสอบกับการเจริญเติบโตของ wild mustard (*Sinapis arrensis* L.) พบว่าสารสกัดที่ได้หลังจากการผสมซากของ red clover 8 วันสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเรดิเคิลของ wild mustard ได้ดีที่สุด (Ohno *et al.*, 2000) ส่วนการทดสอบของ Caamal-Maldonado *et al.* (2001) โดยใช้พืชคลุมดินตระกูลถั่ว 4 ชนิด ได้แก่ velvet bean (*Mucuna deeringiana* (Bort) Merr.) ถั่วพร้า (*Canavalia ensiformis* (L.) DC.) กระถิน และ wild tamarind (*Lysiloma latisiliquum* (L.) Benth.) โดยใช้สารสกัดจากใบที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเรดิเคิลของหญ้าข้าวนก ผักโขม (*Amaranthus hypochondriacus* L.) และมะเขือเทศได้ ซึ่งพบว่าสารสกัดจากใบ velvet bean และ ถั่วพร้ายับยั้งเรดิเคิลผักโขมมากที่สุด ซึ่งสารสกัดจากถั่วพร้าสามารถยับยั้งการเจริญของมะเขือเทศได้อย่างรุนแรง ขณะที่หญ้าข้าวนกทนทานต่อสารสกัดได้มากที่สุด ส่วน Chon *et al.* (2002) รายงานว่าสารสกัดจากใบของถั่วอัลฟัลฟา (*Medicago sativa* L.) ที่ระดับความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรขึ้นไป สามารถยับยั้งการเจริญของรากและไฮโปคอทิลของหญ้าข้าวนกได้ ขณะที่เมื่อทดสอบกับถั่วอัลฟัลฟาเองปรากฏว่าสามารถยับยั้งได้เฉพาะการเจริญของราก แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นไปถึง 40 กรัมต่อลิตร พบว่าสามารถยับยั้งได้อย่างสมบูรณ์ทั้งสองพืชทดสอบ และเมื่อทำการสกัดสารจากใบถั่วอัลฟัลฟา ปรากฏว่าเป็นสารประกอบฟีนอลิก คือ coumarin, tran-cinnamic acid, o-coumaric acid และ hydro-cinnamic acid โดยเมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ จะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตด้านความยาวรากของถั่วอัลฟัลฟาและหญ้าข้าวนกได้ ในส่วนการทดสอบเพื่อคัดเลือกพันธุ์พืชที่มีศักยภาพด้านอัลลีโลพาทีในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ของ Hong *et al.* (2003) โดยใช้สารสกัดด้วยน้ำอัตราส่วน 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร จากส่วนของใบ ต้น และรากของพืชจำนวน 19 สกุล ผลปรากฏว่าสารสกัดจากใบของพืชส่วนใหญ่ให้ผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัวมากที่สุด รองลงมาคือ ต้นและราก ตามลำดับ โดยสารสกัดที่ได้จากพืชตระกูลถั่ว 2 ชนิดคือ galactia (*Galactia pendula* Pers.) และ กระถิน (*Leucaena glauca* (L.) Benth.) ให้ผลยับยั้งการงอกของผักกาดหัวได้อย่างสมบูรณ์ ในด้านการแยกสกัดสารอัลลีโลพาทีจากใบของถั่ว *Pueraria thunbergiana* (Sieb. and Zucc.) พบว่าเป็นสารในกลุ่มแซนทอกซิน (xanthoxin) โดยการใช้ *cis*, *trans*-xanthoxin ที่ระดับความเข้มข้น 1.1 ไมโครโมลาร์ และ *trans*, *trans*-xanthoxin ที่ระดับความเข้มข้น 14 ไมโครโมลาร์

สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของราก cress ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (Kato-Noguchi. 2003a) ส่วนการสกัดและจำแนกสารอัลลีโลพาทีจากถั่วลันเตา (*Pisum sativum* L.) พบว่าเป็นสารไอโซเฟลโวนอยด์พิซาติน (pisatin) ซึ่งเมื่อทดสอบสารนี้ต่อการเจริญเติบโตของ cress และผักกาดหอม ปรากฏว่าเมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้น 10 และ 30 ไมโครโมลาร์ ขึ้นไป สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ cress และผักกาดหอมได้ ตามลำดับ โดยเมื่อใช้ที่ระดับ 61 และ 91 ไมโครโมลาร์ สามารถยับยั้งรากและไฮโปคอทิลของ cress ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนในผักกาดหอมต้องใช้ที่ระดับความเข้มข้น 78 และ 115 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ Kato-Noguchi (2003b) นอกจากนี้ Khanh *et al.* (2005) รายงานว่าการใช้สารสกัดจากถั่วท่าพระสไตโล และ Japanese pagoda tree (*Sophora japonica* L.) โดยใช้ส่วนต้น ใบและราก ทั้งสดและแห้ง ที่ระดับความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมน้ำหนักสดต่อมิลลิลิตร และ 50 มิลลิกรัมน้ำหนักแห้งต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจากพืชทั้ง 2 ชนิด สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัวและหญ้าข้าวนกได้ โดยสารสกัดจากใบยับยั้งได้มากกว่ารากและต้นตามลำดับ ซึ่ง *S. japonica* ยับยั้งได้มากกว่าถั่วท่าพระสไตโล เมื่อนำชิ้นส่วนที่แห้งไปทดสอบในนาข้าวในอัตราส่วน 1.5 ตันต่อเฮกแตร์ พบว่าถั่วทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชในนาข้าวได้ 70-80 เปอร์เซ็นต์ และเพิ่มผลผลิตในนาข้าวได้ 9.9 และ 25.8 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ในส่วนการศึกษาวิจัยด้านอัลลีโลพาทีของถั่วเหลือง ปรากฏว่า Rose *et al.* (1984) ได้ทดสอบการปลูกถั่วเหลืองจำนวน 280 สายพันธุ์ โดยปลูกร่วมกับวัชพืช 2 ชนิดคือ velvetleaf และ foxtail millet ในแปลงทดลอง ผลปรากฏว่าถั่วเหลืองแต่ละสายพันธุ์ให้ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชทดสอบได้แตกต่างกัน จากนั้นได้ทำการคัดเลือกถั่วเหลืองจำนวน 20 สายพันธุ์ มาทำการทดสอบในโรงเรือนด้วยวิธีปลูกร่วมกับวัชพืชในกระถาง พบว่าสามารถยับยั้งน้ำหนักแห้งของ velvetleaf และ foxtail millet ได้เฉลี่ย 47 และ 52 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในส่วนของการทดสอบผลของสารที่ถูกชะล้างออกจากรากของถั่วเหลืองปรากฏว่าสามารถทำให้น้ำหนักแห้งของ velvetleaf ลดลงได้เฉลี่ย 15 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีผลต่อ foxtail millet ขณะที่การคลุกผสมซากถั่วเหลืองแห้งอัตราส่วน 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการงอกและน้ำหนักแห้งของ velvetleaf ได้เฉลี่ย 46 เปอร์เซ็นต์ ส่วนใน foxtail millet ยับยั้งได้เฉลี่ย 82 และ 65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนผลของสารสกัดด้วยน้ำจากต้นถั่วเหลืองอัตราส่วน 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ยับยั้งการงอกได้ 41 และ 61 เปอร์เซ็นต์ ใน foxtail millet และ velvetleaf ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีคุณสมบัติด้านอัลลีโลพาทีชนิดหนึ่ง แต่จะแสดงผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของพืชชนิดอื่นแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ สำหรับในการทดสอบการปลูกพืชตระกูลถั่วคือ ถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris* L.) พันธุ์ spearfelt, ถั่วเหลืองพันธุ์ intrepid, ถั่วอะซูกิ (*Vigna angularis* L.) พันธุ์ erimo, ถั่วเขียวพันธุ์ emerald, ถั่วฝักยาว (*V. unguiculata* L.) พันธุ์ PRFC4A และพืช

ตระกูลอื่นๆ คือ ทานตะวัน (*Helianthus annuus* L.) พันธุ์ suncross41 และข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* L.) พันธุ์ patriot โดยปลูกพืชแต่ละชนิดในแปลงทดลองขนาด 10x1.5 เมตร เมื่อเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้วนำเศษซากที่เหลือมาแผ่คลุมให้ทั่วแปลง หลังจากนั้น 8 สัปดาห์ ทำการนับจำนวนชนิดวัชพืชใบกว้างและหญ้าต่างๆ ผลปรากฏว่าแปลงที่ปลูกแล้วคลุมด้วยซากของถั่วเหลืองมีการเจริญเติบโตของวัชพืชทั้ง 2 ประเภทน้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าถั่วเหลืองนอกจากจะใช้เป็นพืชปลูกหมุนเวียนแล้ว ยังสามารถปลดปล่อยสารบางอย่างซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของวัชพืชได้ (Jones *et al.*, 2001)

สารที่ถูกจำแนกว่ามีคุณสมบัติด้านอัลลีโลพาทีที่พืชสร้างขึ้นส่วนใหญ่เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ได้แก่ เทอพีนอยด์ (terpenoids) สเตอรอยด์ (steroids) ฟีนอล (phenol) คูมาริน (coumarin) เฟลโวนอยด์ (flavonoids) สติลบีน (stilbenes) แทนนิน (tannins) อัลคาลอยด์ (alkaloid) ไซยาโนจินิค ไกลโคไซด์ (cyanogenic glycosides) กลูโคซิโนเลต (glucosinolates) กรดอินทรีย์และสารอินทรีย์อื่นๆ ที่ละลายน้ำได้ (simple water-soluble organic acids, straight-chain alcohol, aliphatic aldehydes and ketones) แลคโตนไม่อิ่มตัว (simple unsaturated lactones) กรดไขมันและโพลีอะเซทิลีน (long-chain fatty acids and polyacetylenes) แนปโธควิโนน แอนธราควิโนนและสารประกอบควิโนน (naphthoquinones, anthraquinones and complex quinones) กรดเบนโซอิกและอนุพันธ์ (benzoic acid and derivatives) กรดฟีนอลิก (phenolic acids) กรดซินนามิกและอนุพันธ์ (cinnamic acid and derivatives) กรดอะมิโนและโพลีเปปไทด์ (amino acids and polypeptides) ซัลไฟด์และมัสตาร์ดออยส์ ไกลโคไซด์ (sulfides and mustard oil glycosides) พิวลีนและนิวคลีโอไซด์ (purines and nucleosides) สตริกโก แลคโตน (strigo lactones) และสารประกอบอีกหลายชนิด (Rice. 1984 ; Einhellig. 1985 ; Seigler. 1996) โดยสารประกอบพวกฟีนอลิกเป็นกลุ่มที่มีการศึกษาและได้รับรายงานว่ามีมากที่สุดในธรรมชาติและมีความสำคัญในระบบนิเวศน์ (Chung *et al.*, 2002 ; Xuan *et al.*, 2005)

2.2 สารเฟลโวนอยด์และผลด้านอัลลีโลพาที

สารเฟลโวนอยด์เป็นสารฟีนอลิกกลุ่มหนึ่งที่แสดงคุณสมบัติด้านอัลลีโลพาที ดังมีรายงานผลการทดสอบสารเฟลโวนอยด์ของ Baruah *et al.* (1994) ซึ่งสกัดมาจากดอกบัวตอง (*Tithonia diversifolia* Hemsl.) พบว่าสารสกัดที่ได้คือฮีสพิดูลิน (hispidulin) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเฟลโวน (flavones) และได้ทำการทดสอบผลของสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 0 50 100 250 500 และ 1000 ไมโครโมลาร์ ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัว แตงกวา และหัวหอม ปรากฏว่า

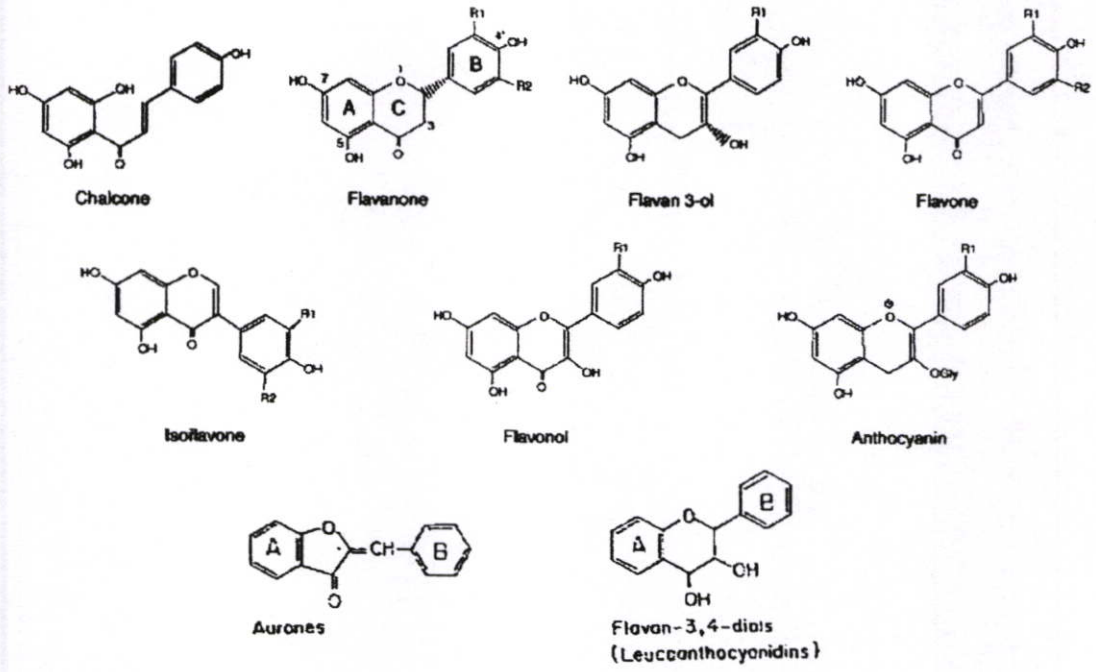
การใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ ขึ้นไป มีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของรากพืชทดสอบได้และที่ระดับความเข้มข้น 500 ไมโครโมลาร์ ขึ้นไป สามารถยับยั้งการเจริญของรากผักกาดหัวโดยทำให้เกิดอาการ necrosis ส่วน Macias *et al.* (1997) ได้สกัดสารเฟลโวนอยด์ 5 ชนิด คือทัมบูลิน (tumbulin) คุคูลคานิน บี (kukulcanin B) เฮเลียนโนน เอ (heliannone A) เฮเลียนโนน บี (heliannone B) และ เฮเลียนโนน ซี (heliannone C) จากใบของทานตะวัน และทำการทดสอบผลต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศและข้าวบาร์เลย์ พบว่าสารทัมบูลินสามารถยับยั้งความยาวต้นของมะเขือเทศได้ เมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-5} โมลาร์ สารคุคูลคานิน บี สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นมะเขือเทศเมื่อใช้ความเข้มข้นตั้งแต่ 10^{-5}-10^{-8} โมลาร์ ส่วนสารเฮเลียนโนน เอ เมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-4} โมลาร์ สามารถยับยั้งการงอกของมะเขือเทศและข้าวบาร์เลย์ได้ ขณะที่เฮเลียนโนน บีและซี มีผลยับยั้งการเจริญของต้นและความยาวเรดิเคิลของมะเขือเทศได้ เมื่อใช้ความเข้มข้น 10^{-5}-10^{-6} โมลาร์ ในส่วนของการสกัดสารเฟลโวนอยด์ 7 ชนิดจากมอส (*Tortula muralis* Hedw.) ให้บริสุทธิ์ พบว่าเป็นสารกลุ่มเฟลโวน 6 ชนิดและสารเฟลวาโนน (flavanone) 1 ชนิด เมื่อทำการทดสอบผลของสารสกัดที่ได้ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของมอสและผักกาดหัว โดยใช้ความเข้มข้น 0.01 0.1 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปรากฏว่าการใช้สารเฟลโวนอยด์ทั้ง 7 ชนิด สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัวได้ และการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 0.1 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการงอกของสปอร์มอสได้อย่างสมบูรณ์ (Basile *et al.*, 2003) ขณะที่ Tsanuo *et al.* (2003) ได้สกัดสารไอโซเฟลโวน (isoflavone) จากอีเหนียว (*Desmodium uncinatum* (Jacq.) DC.) และพบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 1 10 และ 100 ppm สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญของเรดิเคิลของหญ้าแม่มด (*Striga hermonthica* (Del.) Benth.) ซึ่งเป็นพืชพวกกาฝากของธัญพืชและพืชตระกูลถั่ว และเป็นสาเหตุทำให้ผลผลิตของพืชเสียหาย ส่วนผลการทดสอบสารเควอเซติน (quercetin) และอนุพันธ์ที่ได้จากการสกัดจากดอกของแคคตัส *Astrophytum ornatum* (Britton Rose.) *Notocactus ottonis* (Lehm.) และ *Neochilenia spp.* ต่อการเจริญของต้นกล้า *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. แสดงให้เห็นว่าการใช้สารทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของต้นกล้าได้อย่างสมบูรณ์ (Parvez *et al.* 2004) ขณะที่ Xuan *et al.* (2004b) พบว่าสารฟีนอลิคที่สกัดจากใบ ต้นและรากของสาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนก ขาเขียด และโสนได้ โดยสารสกัดจากใบยับยั้งได้มากกว่าสารสกัดจากต้นและราก สารฟีนอลิคบางชนิดพบเฉพาะในใบเท่านั้น ซึ่งอาจจะทำให้ใบมีประสิทธิภาพในการยับยั้งมากกว่าส่วนอื่นๆ นอกจากนี้ Beninger and Hall (2005) ได้รายงานผลการทดสอบสารกลุ่มเฟลโวน 2 ชนิดคือ ลูทิโอลิน (luteolin) และไดออสเมติน (diosmetin) ซึ่งแยกได้จากใบของต้นเก๊กฮวย (*Chrysanthemum*

morifolium Ramat.) พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.2 และ 2.0 มิลลิโมลาร์ ลูทิโอลินสามารถลดจำนวนใบและปริมาณคลอโรฟิลล์ของแหน (*Lemna gibba* L.) ได้ ซึ่งการใช้สารสกัดลูทิโอลินที่ระดับความเข้มข้น 2.0 มิลลิโมลาร์ สามารถยับยั้งน้ำหนักแห้งได้ด้วย ขณะที่สารสกัดไดออสเมตินไม่มีผลต่อน้ำหนักแห้ง

2.2.1 โครงสร้างของสารเฟลโวนอยด์

เฟลโวนอยด์เป็นสารทุติยภูมิอยู่ในกลุ่มฟีนอลิก ที่พบได้ในส่วนต่างๆ ของพืชทั่วไป ซึ่งทำให้เกิดสีสันต่างๆ พบมากในดอก ผล และใบ สารเฟลโวนอยด์เป็นสารให้สีที่ละลายน้ำได้ และเก็บสะสมอยู่ในแวคิวโอลของพืช (Meer *et al.*, 1993 ; Davies. 2000) เฟลโวนอยด์เป็นกลุ่มของสารที่ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว จัดเรียงตัวด้วยวงของคาร์บอน 3 วงคือ A B และ C โดยวง A และ B เป็นวงฟีนิล (phenyl ring) ที่มีคาร์บอน 6 อะตอม ถูกเชื่อมต่อด้วยวง C ที่เป็นวงแลคโตน (lactone ring) ซึ่งมีคาร์บอน 3 อะตอม การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของวง C ทำให้แยกเฟลโวนอยด์ออกเป็นชนิดต่างๆ (ภาพที่ 2.1) และการแทนที่หรือการรวมตัวกันที่วง A และ B เช่น การเติมหมู่ไฮดรอกซี (hydroxylation) การเติมหมู่เมทิล (methylation) การเติมน้ำตาล (glycosylation) หรือ การเติมหมู่เอซิล (acylation) ทำให้เกิดอนุพันธ์ของเฟลโวนอยด์รูปแบบที่แตกต่างกันออกไป Madhuri and Reddy (1999) แบ่งเฟลโวนอยด์ออกเป็น 12 กลุ่ม ได้แก่ 1. แคลโคน (chalcones) 2. ออโรน (aurones) 3. เฟลโวน 4. เฟลโวนอล (flavonols) 5. เฟลวาโนน 6. ไดไฮโดรแคลโคน (dihydrochalcone) 7. คาเทชิน (catechins) 8. เฟลแวน 3-4 ไดออล (flavan 3-4-diols) 9. ไบเฟลโวนอยด์ (biflavonoids) 10. ไอโซเฟลโวนอยด์ 11. โปรแอนโธไซยานิดิน (proanthocyanidins) และ 12. แอนโธไซยานิน (anthocyanins) ขณะที่ Winkel-Shirley (2001) แบ่งสารเฟลโวนอยด์ที่พบได้มากในพืชชั้นสูงออกได้เป็น 7 กลุ่ม คือ 1. แคลโคน 2. เฟลโวน 3. เฟลโวนอล 4. เฟลแวนไดออล 5. แอนโธไซยานิน 6. คอนเด็น แทนนิน (condensed tannins) และ 7. ออโรน ส่วนอ้อมบุญ ล้วนรัตน์ (2536) แบ่งออกเป็น 12 กลุ่ม คือ 1. เฟลโวน 2. ไอโซเฟลโวน 3. เฟลโวนอล 4. เฟลวาโนน 5. เฟลวาโนนอล (flavanonols) 6. ลิวโคแอนโธไซยานินส์ (leucoanthocyanins) 7. แอนโธไซยานิน 8. คาเทชิน 9. แคลโคน 10. ไดไฮโดรแคลโคน 11. ออโรน และ 12. แซนโทน (xanthones)

แคลโคนมีโครงสร้างที่วง C แตกต่างจากกลุ่มอื่นๆ ให้สีเหลืองเข้ม ในสารละลายที่เป็นกรดแคลโคนสามารถเกิดไอโซเมอไรเซชั่น (isomerisation) เปลี่ยนเป็นเฟลวาโนนได้ ส่วนออโรนเป็นสารที่ให้สีเหลืองทอง พบได้ทั้งในรูปอิสระและไกลโคไซด์ (glycoside) ในส่วนเฟลโวนเป็นสารที่ให้สีเหลืองอ่อนถึงแก่ มีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของวง C สารกลุ่มเฟลโวนที่มีหมู่ไฮดรอกซี (OH) เพิ่มเติมที่ตำแหน่งคาร์บอน 3 ของวง C จะให้โครงสร้างของสารกลุ่มเฟลโวนอล



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของสารเฟลโวนอยด์กลุ่มต่างๆ (อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. 2536 ; Taylor and Grotewold. 2005)

ซึ่งให้สีเหลืองอ่อนถึงแก่ เฟลโวนอลที่พบบ่อยในพืชชั้นสูงได้แก่ เควอเซตินและเคเอ็มเฟอรอล (kaempferol) (อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. 2536) เฟลวาโนนจะมีหมู่คาร์บอนิล (carbonyl group) ในตำแหน่งที่ 4 ของวง C เป็นสารที่ไม่มีสีหรืออาจมีสีเหลืองอ่อนๆ พบได้ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและใบเลี้ยงคู่ เฟลวาโนนไกลโคไซด์ที่รู้จักกันดีคือ เฮสเพอริดิน (hesperidin) และ นาริงจิน (naringin) ลิวโคแอนโธไซยานินเป็นสารไม่มีสี พบได้น้อยในรูปของไกลโคไซด์ ส่วนแอนโธไซยานินเป็นเม็ดสีที่ละลายน้ำได้ ประกอบด้วยโมเลกุลที่มีน้ำตาลและไม่มีน้ำตาล ในธรรมชาติมักพบในรูปไกลโคไซด์ ซึ่งมีน้ำตาลมาเกาะที่ตำแหน่งคาร์บอน 3 หรือ คาร์บอน 5 และเกาะที่ตำแหน่งทั้งสองได้เป็น 3,5-ไดไกลโคไซด์ ซึ่งพบเป็นจำนวนมากและลักษณะดังกล่าวไม่พบในเฟลโวนอยด์ชนิดอื่น (วันดี กฤษณพันธ์. 2536) แอนโธไซยานินชนิดต่างๆ จะต่างกันที่หมู่ไฮดรอกซีบนวง B ที่สำคัญได้แก่ เดลฟินิดิน (delphinidins) ซึ่งให้สีออกน้ำเงินหรือม่วงอมน้ำเงิน ไซยานิดิน (cyanidins) มีสีม่วงแดง และเพลาโกนิดิน (pelargonidins) ให้สีชมพู สีแดงสด สีส้ม (อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. 2536)

การที่มีวงเบนซินมาเกาะที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 บนวง C และมีพันธะคู่ระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 จะให้สารกลุ่มไอโซเฟลโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารไม่มีสี พบมากในพืชตระกูลถั่วเท่านั้น (Harbrone *et al.*, 1971; Williams and Harborne. 1989 ; Dixon and Steele. 1999) ไอโซเฟลโวนอยด์ที่สำคัญได้แก่ เดียดซีน (daidzein) และเจนีสทีน (genistein) ซึ่งแหล่งกำเนิด

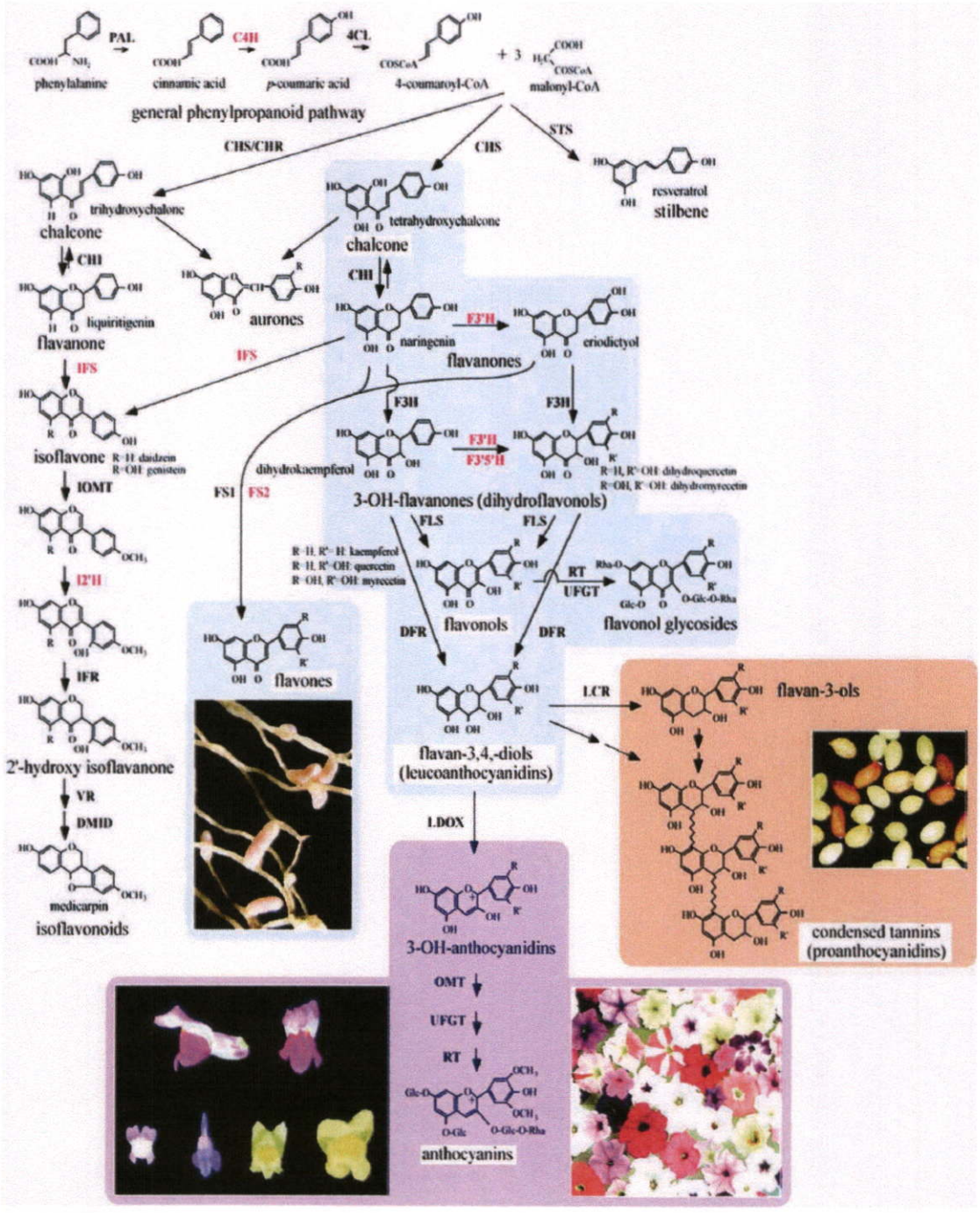
ธรรมชาติที่สำคัญคือถั่วเหลือง (ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์. 2536 ; Graham. 1991 ; Jung *et al.*, 2000) ในส่วนของแทนนินเป็นสารที่พบได้ในพืชเกือบทุกชนิด พบในพืชใบเลี้ยงคู่มากกว่าพืชใบเลี้ยงเดี่ยว มีโมเลกุลใหญ่และมีโครงสร้างซับซ้อนขึ้น เนื่องมาจากการรวมตัวกันของสารกลุ่มโปรแอนโธไซยานิดิน ละลายในน้ำได้ ยกเว้นในพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากๆ สามารถรวมตัวกับโปรตีนหรือสารโมเลกุลใหญ่ (macromolecule) เช่น แป้ง เซลลูโลส เป็นต้น เพื่อให้ได้สารที่ซับซ้อนยิ่งขึ้น แทนนินแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ ไฮโดรไลเอเบิล แทนนิน (hydrolysable tannins : HT) สารในกลุ่มนี้เช่น กัลโลแทนนิน (gallotannins) มีคุณสมบัติคือเมื่อถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดอ่อนหรือเบสอ่อนจะให้สารพวกคาร์โบไฮเดรตและฟินอลิก อีกกลุ่มหนึ่งคือ คอนเด็น แทนนินหรือโปรแอนโธไซยานิดิน สารในกลุ่มนี้เช่น เฟลแวน 3-ออล (flavan 3-ol) หรือคาเทชิน (Cannas. 2001)

2.2.2 ชีวสังเคราะห์ของสารเฟลโวนอยด์

สารตั้งต้นที่ใช้ในการสังเคราะห์เฟลโวนอยด์คือ 4-คูมาริลโคเอ (4-coumaroyl-CoA) และมาโลนิลโคเอ (malonyl-CoA) (ภาพที่ 2.2) โดย 4-คูมาริลโคเอ ถูกสร้างมาจากฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) ในวิถีฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid pathway) วิถีนี้เริ่มจากกรดอะมิโนฟีนิลอะลานีน ซึ่งถูกสร้างมาจากวิถีชิคิเมท (shikimate pathway) ถูกเปลี่ยนให้เป็น 4-คูมาริลโคเอ ใน 3 ขั้นตอน โดยเอนไซม์ฟีนิลอะลานีน แอมโมเนีย ไลเอส (phenylalanine ammonia-lyase) ซินนาเมท ไฮดรอกซีเลส (cinnamate-4-hydroxylase) และ 4-คูมาเรทโคเอ ไลเกส (4-coumarate-CoA ligase) ส่วนมาโลนิลโคเอถูกสังเคราะห์มาจากการทำปฏิกิริยาระหว่างอะเซติลโคเอ (acetyl CoA) กับคาร์บอนไดออกไซด์ (Meer *et al.*, 1993 ; Davies. 2000)

การสังเคราะห์เฟลโวนอยด์เริ่มจากเอนไซม์แคลโคน ซินเตส (chalcone synthase : CHS) เป็นตัวกระตุ้น (catalyze) ให้ 4-คูมาริลโคเอ 1 โมเลกุล รวมตัวกับมาโลนิลโคเอ 3 โมเลกุล ให้ผลผลิตเป็นสารนารินจินิน แคลโคน (2'4, 6'4-tetrahydroxylate naringenin chalcone) แคลโคนสามารถที่จะถูกเปลี่ยนไปเป็นออโรนได้ และการเกิดไอโซเมอร์ไรเซชั่น โดยเอนไซม์แคลโคน ไอโซเมอเรส (chalcone isomerase : CHI) ให้สารนารินจินิน เฟลวาโนน (naringenin flavanones) เฟลวาโนนจะถูกเปลี่ยนเป็นสารกลุ่มไดไฮโดรเฟลโวนอล (dihydroflavonols) โดยเอนไซม์เฟลวาโนนไฮดรอกซีเลส (flavanone 3-hydroxylase : F3H) การเติมหมู่ไฮดรอกซีที่ตำแหน่งต่างๆ เพิ่มโดยเอนไซม์เฟลโวนอยด์ 3' ไฮดรอกซีเลส (flavonoid 3'-hydroxylase : F3'H) และเฟลโวนอยด์ 3',5' ไฮดรอกซีเลส (flavonoid 3',5'-hydroxylase : F3'5'H) ให้สารกลุ่มไดไฮโดรเฟลโวนอล ได้แก่ ไดไฮโดรเควอเซติน (dihydroquercetin) และไดไฮโดรเมริเซติน (dihydromyricetin) เฟลวาโนนและไดไฮโดรเฟลโวนอลเป็นสารตั้งต้นของเฟลโวนและเฟลโวนอล โดยเอนไซม์เฟลโวน ซินเตส (flavone synthase : FS) และเฟลโวนอล ซินเตส (flavonol synthase : FLS) ตามลำดับ การเติม

หมู่ไฮดรอกซีที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของสารกลุ่มไดไฮโดรเฟลโวนอล โดยเอนไซม์ไดไฮโดรเฟลโวนอล รีดักเตส (dihydroflavonol 4-reductase : DFR) จะให้สารลิวโคแอนโธไซยานิน สารตัวนี้จะถูกนำไปใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แอนโธไซยานินและอาจถูกเปลี่ยนเป็นคาเทชิน โดยเอนไซม์ลิวโคแอนโธไซยานิดิน รีดักเตส (leucoanthocyanidin reductase : LCR) และเกิดการรวมตัวกันได้เป็นแทนนินต่อไป (Meer *et al.*, 1993 ; Davies. 2000)



ภาพที่ 2.2 ชีวสังเคราะห์ของสารเฟลโวนอยด์ (Winkel-Shirley. 2001)

ในพืชตระกูลถั่วแคลโคนที่ได้จะไม่มีหมู่ไฮดรอกซีที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 (6'-deoxychalcones) ปฏิกิริยานี้เกิดจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ 2 ชนิดคือ แคลโคน ซินเตส และแคลโคน รีดักเตส (chalcone reductase : CHR) และเกิดไอโซเมอไรเซชั่นให้สารในกลุ่มไดไฮโดรเฟลวาโนน หลังจากนั้นมีการย้ายหมู่เอริล (วง B) จากคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 มาที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 โดยเอนไซม์ไอโซเฟลโวน ซินเตส (isoflavone synthase : IFS) ให้สารกลุ่มไอโซเฟลโวน ซึ่งเข้าสู่การสังเคราะห์ไอโซเฟลโวนอยด์ต่อไป (Dixon and Paiva. 1995 ; Dixon and Steele. 1999) ในชีวสังเคราะห์ของสารเฟลโวนอยด์เอนไซม์ CHS จัดว่าเป็นเอนไซม์สำคัญ (key enzyme) เนื่องจากเป็นศูนย์กลางในการสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์และมีการแสดงออกที่ตอบสนองต่อการกระตุ้นทั้งจากภายในและภายนอกได้มาก ดังนั้นยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ CHS จึงเป็นยีนที่มีความสำคัญ ในการวิเคราะห์ด้านพันธุศาสตร์โมเลกุล (Meer *et al.*, 1993 ; Dixon and Steele. 1999) ขณะที่ DFR เป็นเอนไซม์สำคัญในส่วนท้ายของชีวสังเคราะห์ที่จะนำไปสู่การสังเคราะห์แอนโธไซยานินและแทนนิน ซึ่งเป็นสารที่มีความสำคัญต่อกระบวนการทางชีวภาพของพืชหลายอย่างและเกี่ยวข้องกับโภชนาการของมนุษย์ด้วย ดังนั้นยีนที่เป็นรหัสของเอนไซม์ CHS และ DFR จึงนิยมนำมาใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของยีนกันอย่างกว้างขวาง (Robbins *et al.*, 1998 ; Davies. 2000 ; Xie *et al.*, 2004)

ในส่วนต่างๆ ของพืชปกติแล้วจะประกอบไปด้วยเฟลโวนอยด์หลายชนิดผสมกันอยู่ เช่นในดอกไม้หนึ่งดอกประกอบด้วยสารที่ให้สีมากกว่า 10 ชนิดขึ้นไป (Harborne. 1998) การจำแนกชนิดและกลุ่มของสารในพืชมีหลายวิธี เช่น อินฟาเรด (infared ; IR) นิวเคลียร์ แมกเนติก รีโซแนน (nuclear magnetic resonance ; NMR) แมส สเปกตรา (mass spectral ; MS) และการดูดกลืนแสงหรือรังสีที่อยู่ในช่วงอุลตราไวโอเลตและวิสิเบิลสเปกโทรสโกปี (ultraviolet and visible spectroscopy) เป็นต้น (Williams and Harborne. 1989) เฟลโวนอยด์เป็นสารฟีนอลิกที่ประกอบด้วยสารอะโรมาติก (aromatic) พันธะคู่มากกว่า 2 พันธะ จะเปลี่ยนแปลงสีเมื่อถูกทดสอบด้วยเบสหรือแอมโมเนีย และแสดงคุณสมบัติในการดูดกลืนแถบคลื่นแสงซึ่งแบ่งได้เป็น 2 ช่วงคือ ช่วงความยาวคลื่นที่สามารถมองเห็นได้ (visible spectral range) และช่วงอุลตราไวโอเลต (ultraviolet range) ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดในช่วงความยาวคลื่นที่สามารถมองเห็นได้เรียกว่า absorbance หรือ optical density (OD) ซึ่งสารเฟลโวนอยด์แต่ละกลุ่มจะดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่นแสงที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2.1) ส่วนตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารได้แก่ เอทานอล เมทานอล น้ำ เฮกเซน ปิโตรเลียม และอีเธอร์ (Williams and Harborne. 1989)

ตารางที่ 2.1 ความยาวคลื่นแสงที่สารกลุ่มเฟลโวนอยด์ดูดกลืนแสงได้สูงสุด (Harborne. 1998)

กลุ่มสาร	ชนิดสาร	ความยาวคลื่นแสง (นาโนเมตร)
แอนโทไซยานิน (anthocyanins)	เดลฟินิดิน (delphinidins)	546
	ไซยานิดิน (cyanidins)	535
	เพลาโกนิดิน (pelargonidins)	520
แทนนิน (tannins)	กัลโลแทนนิน (gallotannins)	550
เฟลโวนอล (flavonols)	เมริซิติน (myricetin)	378
	เควอเซติน (quercetin)	374
	เคเอ็มเฟอรอล (kaempferol)	368
เฟลโวน (flavones)	ลูทิโอลิน (luteolin)	350
	อะพิจินิน (apigenin)	336
เฟลวาโนน (flavanones)	นารินจินิน (naringenin)	330
	เฮสเพอริติน (hesperitin)	300
ไอโซเฟลโวน (isofalvones)	เดียดซีน (daidzein)	303
	จีนิสทีน (genistein)	325
ออโรน (aurones)	ซัลฟูเรติน (sulphuretin)	399
แคลโคน (chalcones)	ไอโซไลเควอริทิเจนิน (isoliquiritigenin)	372

2.3 การแสดงออกของยีน

ยีน (gene) คือส่วนของดีเอ็นเอ (DNA) ที่มีลำดับเบสจำเพาะที่เป็นรหัสในการสร้างโปรตีนหรืออาร์เอ็นเอ (RNA) (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545) ดีเอ็นเอที่ถ่ายทอดในสิ่งมีชีวิตทำหน้าที่ควบคุมกิจกรรมของเซลล์แต่ละเซลล์ โดยกำหนดการสังเคราะห์เอ็นไซม์และโปรตีนต่างๆ ยีนไม่สร้างโปรตีนโดยตรงแต่ถ่ายทอดคำสั่งในรูปอาร์เอ็นเอ ซึ่งจะไปทำหน้าที่สังเคราะห์โปรตีน (อุไรวรรณ วิจารณกุล. 2545) โปรตีนมีบทบาทสำคัญในกระบวนการชีววิทยาทุกชนิด เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา มีความสำคัญต่อโครงสร้างและเสถียรภาพของเซลล์ ควบคุมการเข้าออกของสารภายในเซลล์และเก็บสะสมโมเลกุลที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการ ดังนั้นการสังเคราะห์โปรตีนจึงเป็นสิ่งสำคัญอันดับแรกในเซลล์ทุกชนิด โครงสร้างของโปรตีนถูกกำหนดอยู่ในลำดับเบสในดีเอ็นเอ การส่งผ่านข้อมูลทางพันธุกรรมโดยกระบวนการที่เรียกว่าการลอกรหัส (transcription) จากดีเอ็นเอเป็นโมเลกุลอาร์เอ็นเอนำรหัส (messenger RNA ; mRNA) อาร์เอ็นเอนำรหัสสายเดี่ยวที่ได้จะถูกนำออกมาจากนิวเคลียส สำหรับสร้างโปรตีนในไซโตพลาสซึม ซึ่งเรียกกระบวนการนี้ว่าการแปลรหัส (translation) (Lorkowski and Cullen. 2003)

หน้าที่หลักของโครโมโซม (chromosome) คือการเป็นต้นแบบสำหรับการสังเคราะห์อาร์เอ็นเอ เพื่อให้ข้อมูลที่เก็บอยู่ในโครโมโซมถูกถอดรหัสและมีประโยชน์ต่อเซลล์ ดีเอ็นเอมีความสามารถในการเป็นรหัสของอาร์เอ็นเอและโปรตีนซึ่งจำเป็นต่อการสร้างเซลล์ สิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดจะมีโครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์แตกต่างกันออกไป เพราะมีการสังเคราะห์และสะสมอาร์เอ็นเอและโปรตีนที่ต่างชนิดกัน (ดนัย บุณยเกียรติและอังสนา อัครพิศาล. 2540) อาร์เอ็นเอภายในเซลล์มี 3 ชนิดคือ 1. อาร์เอ็นเอนำรหัส เป็นอาร์เอ็นเอที่ได้จากกระบวนการถอดรหัสของสายใดสายหนึ่งของดีเอ็นเอ ซึ่งทำหน้าที่เป็นรหัสพันธุกรรมที่ใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน ซึ่งมีประมาณ 3 - 5 เปอร์เซ็นต์ของอาร์เอ็นเอทั้งหมด 2. ทรานสเฟอร์อาร์เอ็นเอหรือทีอาร์เอ็นเอ (transfer RNA ; tRNA) ทำหน้าที่ในการนำกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ไปยังไรโบโซม ซึ่งเป็นแหล่งที่มีการสังเคราะห์โปรตีน 3. ไรโบโซมอลอาร์เอ็นเอหรืออาร์อาร์เอ็นเอ (ribosomal RNA ; rRNA) ทำหน้าที่เป็นองค์ประกอบของไรโบโซม โดยรวมกับโปรตีนกลายเป็นหน่วยย่อยของไรโบโซม (ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2543)

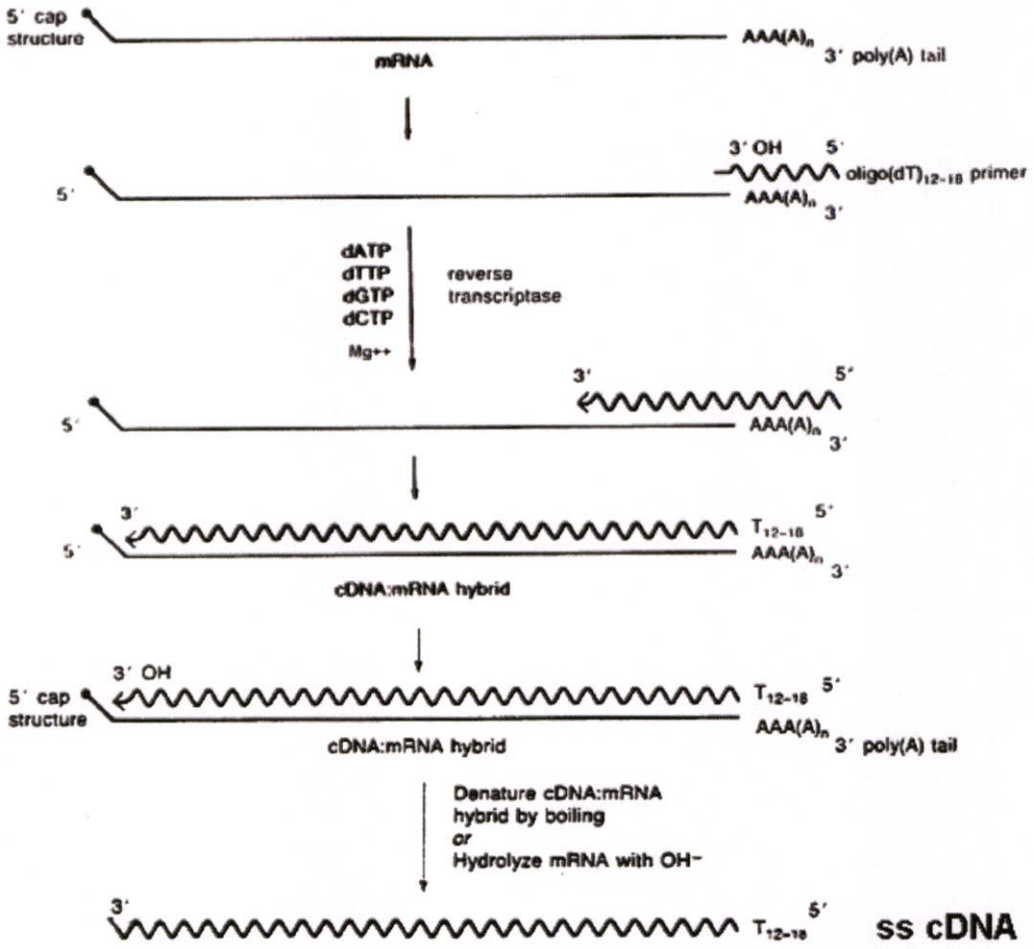
ยีนแต่ละชนิดมีการแสดงออกในเซลล์ที่แตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลาของการเจริญเติบโตและพัฒนาการ การแสดงออกของยีนต้องอาศัยกระบวนการถอดรหัสและแปลรหัส การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนสามารถวัดได้ที่ระดับอาร์เอ็นเอนำรหัสหรือวัดการแสดงออกที่ระดับโปรตีน แต่การวัดที่ระดับโปรตีนจะเสียเวลามาก มีความยุ่งยากมากกว่าและแพงกว่า (Lorkowski and Cullen. 2003) ดังนั้นการศึกษาด้านการแสดงออกของยีนที่ระดับอาร์เอ็นเอนำรหัสจึงง่ายและสะดวกมากกว่า วิธีการที่นำมาใช้ อาทิเช่น northern blots, RNA dot/slot blots, nuclease protection และ *in situ* hybridization ซึ่งวิธี northern blots เป็นวิธีที่ถูกนำมาใช้มากที่สุด แต่เมื่อ Saiki *et al.* (1985) ได้เสนอผลงานการค้นพบเทคนิคพีซีอาร์ (PCR) ก็ได้มีการนำเอาเทคนิคนี้มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์การแสดงออกของยีนเช่น RNA-PCR, reverse transcriptase-PCR (RT-PCR), RNA phenotyping และ message amplification phenotyping (MAPPing) เป็นต้น สำหรับวิธี RT-PCR เป็นวิธีหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ เนื่องจากมีข้อดีคือใช้โททัลอาร์เอ็นเอ (total RNA) เริ่มต้นในปริมาณน้อยกว่า 1 นาโนกรัม เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว มีประโยชน์หลายอย่างและมีความไวสูง (Larrick and Siebert. 1995)

2.3.1 การศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธี RT-PCR

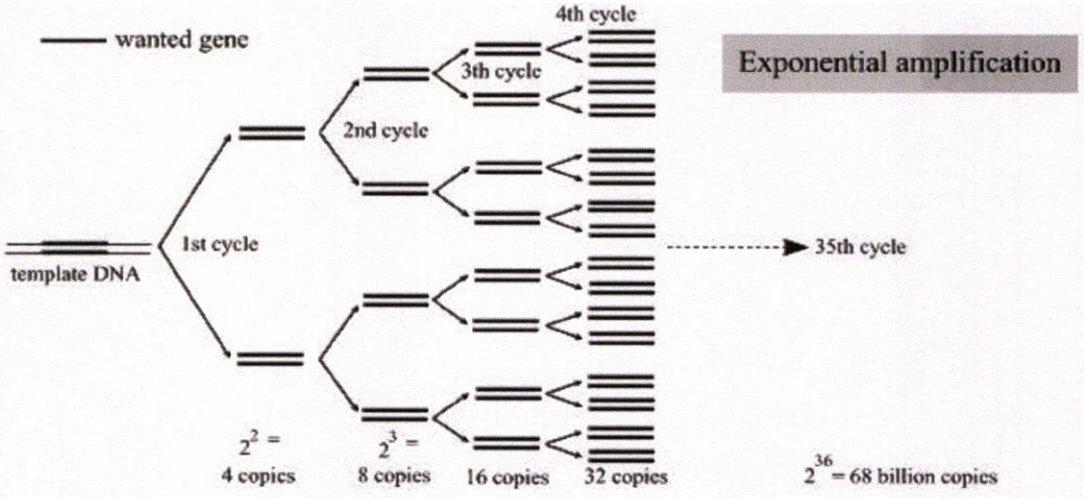
ขั้นตอนการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธี RT-PCR ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักคือ 1. การแยกอาร์เอ็นเอจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อ โดยมีหลักการคือการหยุดปฏิกิริยาของเอ็นไซม์นิวคลีเอส (nucleases) แล้วตกตะกอนโปรตีนและแยกอาร์เอ็นเอออกจากสารโมเลกุลใหญ่อื่นๆ (Jone *et al.*, 1994) 2. การสร้างสายดีเอ็นเอ โดยใช้อาร์เอ็นเอเป็นต้นแบบ ดีเอ็นเอที่ได้จะเรียกว่า

complementary DNA หรือ cDNA ในขั้นตอนนี้ต้องการเฉพาะอาร์เอ็นเอนำรหัส ปกติแล้วอาร์เอ็นเอนำรหัสเมื่อถูกสังเคราะห์จากนิวเคลียส ก่อนที่จะถูกส่งออกไปสังเคราะห์โปรตีนที่ไซโตพลาสซึมจะมีการตกแต่งโมเลกุลอาร์เอ็นเอ (RNA processing) โดยการตัดโมเลกุลของอาร์เอ็นเอนำรหัสที่เป็นส่วนของนิวคลีโอไทด์ที่ไม่ทำหน้าที่เป็นรหัสพันธุกรรมสำหรับการสังเคราะห์โปรตีน เรียกว่าอินทรอน (intron) และเชื่อมส่วนที่เป็นรหัสพันธุกรรม (exon) เข้าด้วยกัน การเติมโมเลกุลของ 7-เมธิลกัวโนซีนไตรฟอสเฟต (7-methyl guanosine triphosphate) ที่ปลาย 5' ของสายอาร์เอ็นเอหรือที่เรียกว่าการเติมแคป (cap) ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นตัวจดจำตำแหน่งแรกของจุดเริ่มต้นที่จะมีการสังเคราะห์โปรตีน ป้องกันอาร์เอ็นเอถูกทำลาย และขั้นตอนการเติมนิวคลีโอไทด์ A ประมาณ 40-100 โมเลกุล หรือโพลีเอ (poly A) ของปลายด้าน 3' ของอาร์เอ็นเอ ทำหน้าที่ขนส่งอาร์เอ็นเอที่สมบูรณ์แล้วออกจากนิวเคลียส และเป็นสัญญาณสำหรับไรโบโซมเพื่อให้เกิดการสร้างโปรตีนอย่างมีประสิทธิภาพแล้วจึงมีการเติมเบส T สายสั้นๆ (oligo dT) เข้าไปจำคู่กับโพลีเอที่ปลาย 3' นี้และทำหน้าที่เป็นสายเริ่มต้น (primer) จากนั้นจึงใช้เอ็นไซมรีเวอร์ส ทรานสคริปเตส (reverse transcriptase) ทำหน้าที่สังเคราะห์สายดีเอ็นเอต่อโดยใช้อาร์เอ็นเอนำรหัสเป็นแม่แบบ (ภาพที่ 2.3) 3. การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอในหลอดทดลองโดยไม่ต้องนำไปขยายหรือเพิ่มปริมาณภายในเซลล์ของแบคทีเรียหรือการโคลน การทำพีซีอาร์ทำให้ได้ดีเอ็นเอปริมาณเพิ่มขึ้นเป็นทวีคูณ (ภาพที่ 2.4) โดยต้องทราบลำดับเบสของดีเอ็นเอบริเวณที่ต้องการเพิ่มปริมาณเฉพาะส่วนปลายหรือทั้งหมดก็ได้ แล้วใช้ไพรเมอร์ 2 ชนิดที่มีเบสคู่สมกับปลายทั้งสองด้านของดีเอ็นเอที่ต้องการเพิ่มปริมาณความยาวประมาณ 20-35 เบส ใช้บัฟเฟอร์ (buffer) ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไซด์ไตรฟอสเฟต (dNTP) ทั้ง 4 ชนิดประกอบด้วย dATP, dCTP, dGTP และ dTTP เอ็นไซม์ที่ใช้สังเคราะห์ดีเอ็นเอคือ Taq DNA polymerase แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) ทำให้ดีเอ็นเอแม่แบบแยกเป็นสายเดี่ยว (denaturation) โดยใช้ความร้อนแล้วลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็วเพื่อให้ไพรเมอร์มาจับคู่ที่ส่วนปลายดีเอ็นเอที่ต้องการ (annealing) สุดท้ายเปลี่ยนอุณหภูมิให้เหมาะสมกับการทำงานของเอ็นไซม์ให้ทำหน้าที่สังเคราะห์ดีเอ็นเอต่อ (extension) เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปครบทั้ง 3 ขั้นตอนโมเลกุลดีเอ็นเอเป้าหมายจะเพิ่มขึ้นเป็นสองเท่า ดังนั้นถ้าปฏิกิริยาดำเนินซ้ำๆ กันหลายรอบดีเอ็นเอจะเพิ่มเป็นจำนวนเท่าไปเรื่อยๆ จนได้ 2^n เมื่อปฏิกิริยาผ่านไป n รอบ (สุรินทร์ ปิยโชคณากุล. 2545)

สำหรับการตรวจสอบผลของการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ ใช้วิธีการทำเจลอิเลคโตรโฟเรซีส (gel electrophoresis) ซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้แยกชีวโมเลกุลที่อยู่ในสนามไฟฟ้าออกจากกัน โดยอาศัยความแตกต่างของการเคลื่อนที่ของโมเลกุลของสารนั้นๆ ในสนามไฟฟ้า (นภา ศิวรังสรรค์. 2547) ซึ่งเป็นผลมาจากความแตกต่างของชนิดและปริมาณของประจุ ขนาดและรูปร่างของโมเลกุลของสารที่ต้องการจะแยก โดยการใส่สารที่ต้องการแยกลงในตัวกลางเช่น อะกาโรสเจล (agarose gel)



ภาพที่ 2.3 การสังเคราะห์ cDNA (Croy. 1998)



ภาพที่ 2.4 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ (Vierstraete. 1999)

หรือพอลิอะคริลาไมด์เจล (polyacrylamide gel) เป็นต้น ทำการแยกโดยใช้บัฟเฟอร์ที่มี pH ประมาณ 8 ซึ่ง pH นี้ดีเอ็นเอจะมีประจุลบเนื่องจากการแตกตัวของหมู่ฟอสเฟต แล้วปล่อยกระแสไฟฟ้าผ่านตัวกลาง ในการแยกกรดนิวคลีอิก โดยใช้อะกาโรสเจลอิเลคโตรโฟเรซีสนั้น เป็นวิธีมาตรฐานที่นิยมใช้มากที่สุด (Larrick and Siebert. 1995) ทั้งในการแยก วิเคราะห์หาปริมาณและทำให้บริสุทธิ์ จึงเป็นเทคนิคที่สำคัญมาก อีกทั้งทำได้ง่ายและรวดเร็วกว่าเทคนิคอื่นๆ (อุไรวรรณ วิจารณกุล. 2545) การตรวจหาตำแหน่งของแถบดีเอ็นเอของอิเลคโตรโฟเรซีสจะทำโดยย้อมอะกาโรสด้วยเอธิเดียม โบรไมด์ (ethidium bromide) โมเลกุลของเอธิเดียม โบรไมด์จะเข้าไปจับกับเบสคู่สมของดีเอ็นเอเกลียวคู่ เมื่อฉายแสงที่ความยาวคลื่นต่ำๆ สารเชิงซ้อนของเอธิเดียม โบรไมด์และดีเอ็นเอมีคุณสมบัติดูดแสงที่ความยาวคลื่น 300 และ 360 นาโนเมตร และปล่อยแสงวาว (flourescence) สีส้มออกมาที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร ทำให้เห็นแถบดีเอ็นเอวาวแสงสีส้มเมื่อส่องด้วยแสงอุลตราไวโอเลต (นภา ศิวรังสรรค์. 2547)

2.3.2 การศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารเฟลโวนอยด์

ในการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เป็นรหัสของเอ็นไซม์ CHS ในถั่วลันเตาของ Harker *et al.* (1990) พบว่ายีน *CHS* มีลักษณะเป็น multigene family และตำแหน่ง (loci) *a* และ *a1* มีผลควบคุมการแสดงออกของ *CHS* โดย *CHS1* และ *CHS3* แสดงออกทั้งในกลีบดอกและราก ส่วน *CHS2* พบในรากเท่านั้น แต่เมื่อถูกชักนำด้วยสาร $CuCl_2$ ทุกส่วนจะแสดงออกไม่ว่าจะเป็นจีโนไทป์ไหนก็ตาม แสดงให้เห็นว่ายีนในกลุ่มนี้มีการตอบสนองต่อการกระตุ้นจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ขณะที่ McKhann and Hirsch (1994) รายงานผลการศึกษาการแสดงออกของยีน *CHS* ในถั่วอัลฟัลฟ่า โดยใช้วิธี northern blot พบว่าในส่วนปลายรากและรากอ่อนจะมีการแสดงออกของยีน *CHS* สูงกว่าในต้น ใบและดอก ประมาณ 40-50 เท่า ในขณะที่ในปมรากถั่วสูงกว่าทั้ง 3 ส่วน ประมาณ 14-16 เท่า และเมื่อมีการทำให้เกิดบาดแผลขึ้นบนใบเลี้ยงพบว่ามีการแสดงออกมากขึ้นกว่าปกติ 5-6 เท่า ส่วนการศึกษาการแสดงออกของยีน *DFR* ในถั่วอัลฟัลฟ่าด้วยวิธี northern blot พบว่า *DFR* มีการแสดงออกในดอกตูมสูงกว่าดอกบานและการแสดงออกในใบจะสูงกว่าในดอก ส่วนในปมรากและในรากมีการแสดงออกที่ต่ำกว่าในดอกมาก ดังนั้นจึงทำการตรวจสอบด้วยวิธี RT-PCR อีกครั้ง ซึ่งผลปรากฏว่า *DFR* มีการแสดงออกมากทั้งในใบและดอก แต่แสดงออกน้อยในปมราก ส่วนในรากแสดงออกน้อยที่สุด และเมื่อทำการทดสอบรากที่อยู่ในสภาพขาดแคลนไนโตรเจน พบว่าไม่มีผลต่อการแสดงออกของยีน *DFR* (Charrier *et al.*, 1995) ส่วน Colliver *et al.* (1997) ศึกษาการแสดงออกของยีน *CHS* ใน bird's foot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) โดยถ่ายยีน *CHS* antisense ที่ได้จากถั่วแขกด้วยเชื้ออะโกรแบคทีเรียม (*Agrobacterium*) พบว่ามีการแสดงออกของยีน *CHS* เพิ่มขึ้นสูงในต้นที่ได้รับการถ่ายยีน แต่เมื่อตรวจสอบปริมาณการสะสม

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และวิธีดำเนินงาน

การศึกษาผลทางอัลลีโลพาทีและการแสดงออกของยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับชีวสังเคราะห์สารเฟลโวนอยด์ในถั่วเหลืองสายพันธุ์ต่างๆ ประกอบด้วย 3 การทดลอง ได้แก่

การทดลองที่ 1 การศึกษาผลทางด้านอัลลีโลพาทีของสารสกัดด้วยน้ำจากถั่วเหลือง

การทดลอง 1.1 การศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลือง จำนวน 4 สายพันธุ์ ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของเมล็ดผักกาดหัว

การเตรียมสารสกัดจากพืช นำส่วนต่างๆ ได้แก่ ต้น ใบและราก ถั่วเหลืองในระยะเริ่มออกดอก จำนวน 4 สายพันธุ์ คือ มข.35 นครสวรรค์1 เชียงใหม่4 และ GC10981 ล้างทำความสะอาด แล้วนำไปอบแห้งด้วยอุณหภูมิ 45 ^{o}ซ จนแห้งสนิท ตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทำการสกัดสารจากแต่ละส่วนและส่วนผสมของทั้ง 3 ส่วน โดยใช้น้ำกลั่นในอัตราส่วนน้ำหนักแห้ง 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บในที่เย็นอุณหภูมิประมาณ 8 ^{o}ซ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำมากรองด้วยผ้าขาวบางก่อน นำไปกรองซ้ำด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จะได้สารสกัดตั้งต้นจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การทดสอบสารสกัดต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบคือผักกาดหัว ในจานทดลอง โดยปรับความเข้มข้นของสารสกัดด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0 12.50 25.00 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบกับเมล็ดผักกาดหัว โดยใส่สารสกัดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในแต่ละจานทดลองที่วางด้วยกระดาษเพาะเมล็ด เพื่อเป็นวัสดุเก็บรักษาความชื้น นำเมล็ดพืชวางเรียงจำนวน 20 เมล็ดต่อจานเพาะ ปิดฝาครอบเพื่อป้องกันการระเหยของสารและวางไว้ในสภาพอุณหภูมิห้องปกติ

การวางแผนการทดลอง การวัดผลและเก็บข้อมูล การทดลองแต่ละพันธุ์ใช้แผนการทดลองแบบ 4x5 Factorial in completely randomized design จำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 1 จานทดลอง ทำการนับจำนวนการงอกของเมล็ดพืชทดสอบในวันที่ 5 หลังการเพาะ โดยเมล็ดที่มีความยาวรากตั้งแต่ 2 มิลลิเมตรขึ้นไปนับเป็นเมล็ดที่งอก นำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การงอกพร้อมทั้งวัดการเจริญเติบโตคือ ความยาวต้น ความยาวราก และความยาวรวมจากนั้นจึงนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ

60 °ซ เมื่อครบ 72 ชั่วโมงชั่งหาน้ำหนักแห้งและนำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan 's multiple range test (DMRT)

การทดลองที่ 1.2 การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้งและผักกาดหัว

การเตรียมสารสกัดจากพืช นำใบจากถั่วเหลืองในระยะเริ่มออกดอกจำนวน 30 สายพันธุ์คือ มข.35 นครสวรรค์1 จักรพันธุ์1 ไข่แมงทอง สุโขทัย1 สุโขทัย2 สุโขทัย3 เชียงใหม่1 เชียงใหม่2 เชียงใหม่3 เชียงใหม่4 เชียงใหม่60 สจ.1 สจ.2 สจ.4 สจ.5 GC2679 GC2796 GC3318 GC4120 GC4637 GC7231 GC9822 GC10848 GC10981 GC10992 GC11101 KUSL20004 PK462 และ #8407 มาทำการสกัดตามวิธีการเช่นเดียวการทดลองที่ 1.1

การทดสอบสารสกัดต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยปรับความเข้มข้นของสารสกัดตั้งต้นด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 4 ระดับ คือ 0 25.00 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบกับเมล็ดพืชทดสอบ 2 ชนิดคือ ผักกาดหัวและผักกวางตุ้ง โดยใช้วิธีการทดสอบเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1

การวางแผนการทดลอง การวัดผลและเก็บข้อมูล ใช้แผนการทดลองแบบ 30x4 Factorial in completely randomized design จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 1 จานทดลอง ทำการวัดผล เก็บข้อมูลและวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 คัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งสูงที่สุดและต่ำที่สุดจำนวนอย่างละ 4 สายพันธุ์เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การทดลองที่ 2 การศึกษาความสัมพันธ์ของการผลิตสารเฟลโวนอยด์ในใบถั่วเหลืองและผลทางด้านอัลลีโลพาทีโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง

จากการทดลองที่ 1.2 ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบสูงที่สุดจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ เชียงใหม่3 (ชม.3) สุโขทัย1 (สข.1) เชียงใหม่60 (ชม.60) และสจ.4 และถั่วเหลืองให้ผลการยับยั้งต่ำที่สุด 4 สายพันธุ์ได้แก่ KUSL20004 GC10992 #8407 และเชียงใหม่1 (ชม.1) ทำการเตรียมสารสกัดจากใบถั่วเหลืองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1.1 โดยใช้สารสกัดด้วยน้ำที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่กรองด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ทำการเจือจางสารสกัดตั้งต้นเพื่อให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารแต่ละชนิดที่ทำการวัดไม่เกิน 1.2 (Giusti and Wrolstad. 2001) โดยสารแอนโธไซยานิน แทนนิน เฟลโวนอล และเฟลโวน ใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 20.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน

สารไอโซเฟลโวนอยด์ เฟลวาโนน ออโรนและแคลโคน ใช้ระดับความเข้มข้น 10.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ ในช่วงความยาวคลื่น 250-550 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงตามวิธีการของ Harborne (1998)

การวางแผนการทดลอง ใช้แผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 ซ้ำ นำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan 's multiple range test (DMRT)

การทดลองที่ 3 การศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนส์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์โดยวิธี RT-PCR

การเตรียมตัวอย่างพืช ทำการเก็บใบถั่วเหลืองในระยะเริ่มออกดอกจากสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบมากที่สุด 4 สายพันธุ์ได้แก่ สุโขทัย1 เชียงใหม่60 เชียงใหม่3 และ สจ.4 และยับยั้งน้อยที่สุด 4 สายพันธุ์ได้แก่ KUSL20004 เชียงใหม่1 GC10992 และ #8407 โดยเลือกเก็บเฉพาะใบอ่อน ชั่งน้ำหนักให้ได้ตัวอย่างละประมาณ 1 กรัม ห่อด้วยอะลูมินั่มฟรอยด์ ทำให้เย็นทันทีในไนโตรเจนเหลวแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

การสกัดแยกอาร์เอ็นเอรวม ดำเนินการตามวิธีที่ดัดแปลงมาโดย กนกพร สมพรไพลิน (2548) โดยนำใบอ่อนถั่วเหลืองปริมาณ 1 กรัม ที่บดในไนโตรเจนเหลว ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลายฟีนอล : เอ็กแทรกชั่น บัฟเฟอร์ (0.1 M Tris-HCl pH 9.0, 0.1 M LiCl, 10 mM EDTA และ 1% SDS) อัตราส่วน 1 : 1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่า 5 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 ^{o}ซ นาน 30 นาที ดูดน้ำใสส่วนบนและเติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) ปริมาตร 1 เท่า กลับหลอดไปมา นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 ^{o}ซ นาน 10 นาที ดูดน้ำใสส่วนบนใส่หลอดใหม่แล้วเติม 10 M LiCl (อัตราส่วน น้ำใส 1 มิลลิลิตร : 10 M LiCl 200 ไมโครลิตร) เก็บที่ 4 ^{o}ซ นาน 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ นาน 20 นาที เทส่วนใสทิ้ง ล้างตะกอนด้วย 70% เอทานอล ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ นาน 10 นาที ละลายตะกอนด้วย 300 ไมโครลิตร ของ 0.3 M โซเดียม อะซีเตต pH 5.2 และเติมคลอโรฟอร์ม : ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) ปริมาตร 1 เท่า ปั่นเหวี่ยงที่ 4,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ นาน 5 นาที ย้ายส่วนใสไปที่หลอดใหม่ ปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ นาน 10 นาที เติม 99% เอทานอล ปริมาตร 2.5 เท่า เก็บที่ -20 ^{o}ซ นาน 30 นาที ปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ นาน 10 นาที เทสารละลายทิ้ง ล้างตะกอนด้วย 70% เอทานอล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยง 10,000

รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 °ซ นาน 5 นาที ทำให้แห้งด้วยสูญญากาศ ละลายด้วย DEPC วัดปริมาณความเข้มข้นของอาร์เอ็นเอรวม โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 260 นาโนเมตร

การสังเคราะห์ cDNA จากอาร์เอ็นเอรวม นำอาร์เอ็นเอรวมที่ได้มาสังเคราะห์ cDNA โดยใช้ชุด iScript cDNA synthesis kit (บริษัทไบโอราด จำกัด) โดยนำอาร์เอ็นเอรวมของถั่วเหลืองแต่ละสายพันธุ์ปริมาตร 3 ไมโครกรัม และเติมน้ำที่ปราศจากเอ็นไซม์นิวคลีเอส (nuclease-free water) ให้ได้ปริมาตรรวม 15 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 65 °ซ นาน 10 นาที วางบนน้ำแข็งทันที 5 นาที หลังจากนั้นเติม 5x iScript reaction mix ปริมาตร 4 ไมโครลิตร แล้วเติม iScript reverse transcriptase ปริมาตร 1 ไมโครลิตร เก็บที่ 25 °ซ นาน 10 นาที และบ่มที่ 42°ซ นาน 120 นาที เพื่อสร้าง cDNA สายแรก และหยุดปฏิกิริยาที่ 85 °ซ นาน 5 นาที แล้วเจือจางด้วยน้ำดีไอออไนซ์ 80 ไมโครลิตร เก็บที่ -20 °ซ

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ของไพรเมอร์ที่ออกแบบขึ้นและไพรเมอร์ที่จำเพาะ และวิเคราะห์ความแตกต่างในการแสดงออกของยีน

ไพเมอร์ที่ออกแบบขึ้น (degenerate primer) สำหรับยีน *CHS* และ *FLS* (ภาคผนวก)

dCHS (forward) 5'A(A/G)C GCA TGT G(C/T)G A(C/T)A A(A/G)T C(A/G/T)A (C/T)(A/G)A T3'
dCHS (reverse) 5'CA(A/C/G/T) GC(A/G) CT(A/C/T) GAC AT(A/G) TT(G/T) CC(A/G) TA(C/T) TC3'

dFLS (forward) 5'GA(A/G) G(C/T)(A/G) AAT GAA GAG TA(C/T) GCC A(A/G)(G/T) (A/G/T)(C/G)A3'
dFLS (reverse) 5'AC(C/T) GGC CA(C/T) GA(C/G) AT(C/T) CT(C/T) GTC TT3'

ไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับยีน *DFR* จาก Gen Bank Accession No. AF167556 ได้แก่

GmaDFRF_BHI (forward) 5' CCG GGA TCC ATG GGT TCA GCA TCC GAA A 3'
GmaDFRR_BHI (reverse) 5' CCG GGA TCC CTA TTT ATG CAT GGC ATT CA 3'

ปฏิกิริยาพีซีอาร์ ใช้ cDNA ของใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ยับยั้งมากและสายพันธุ์ที่ยับยั้งน้อยจากผลการทดลองที่ 1.2 อย่างละ 4 สายพันธุ์ โดยแต่ละสายพันธุ์ใช้ cDNA ปริมาตร 3 ไมโครลิตรเป็นแม่พิมพ์ เติม 10x Taq buffer ปริมาตร 5 ไมโครลิตร 10 mM dNTP ปริมาตร 1 ไมโครลิตร 10 µM ไพรเมอร์แต่ละชนิด ปริมาตร 1 ไมโครลิตร 25 mM $MgCl_2$ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร เอนไซม์ Tag DNA polymerase ปริมาตร 0.4 ไมโครลิตร และเติมน้ำให้ครบ 50 ไมโครลิตร นำไปเพิ่มปริมาณด้วยเครื่องทำปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ โดยตั้งโปรแกรมดังนี้

Predenaturation	ที่ 95 °ซ นาน 5 นาที	
3 step cycling		
Denaturation	ที่ 94 °ซ นาน 45 วินาที	
Annealing	ที่ 45 °ซ สำหรับยีน *CHS*	นาน 2 นาที
	ที่ 30 40 และ 45 °ซ สำหรับยีน *FLS*	นาน 2 นาที
	ที่ 47 °ซ สำหรับยีน *DFR*	นาน 2 นาที
Extension	ที่ 72 °ซ นาน 3 นาที	
Final extension	ที่ 72 °ซ นาน 7 นาที	

จำนวน 25 รอบ สำหรับยีน *CHS* และ 30 รอบ สำหรับยีน *FLS* และยีน *DFR*

การวิเคราะห์และเปรียบเทียบผลการแสดงออก ตรวจสอบผลพีซีอาร์ ที่ได้โดยทำอิเล็คโตรโฟรีซีสบนอะกาโรส 1.2 % ใช้กระแสไฟ 100 โวลต์ นาน 30 นาที เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน (DNA marker) ทำการเปรียบเทียบผลการแสดงออกที่ได้กับการเพิ่มปริมาณยีนด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับยีน *actin* ซึ่งเป็น house keeping gene

ไพรเมอร์ที่จำเพาะสำหรับยีน *actin*

Actin (forward) 5'GTG ACA ATG GAA CTG GAA TGG TNA AGG C3'

Actin (reverse) 5'CAC CAT CAC CAG AAT CGA GCA CAA TAC C3'

ใช้ส่วนประกอบในปฏิกิริยาและตั้งโปรแกรมพีซีอาร์เหมือนการทดลองที่ 3 แต่เปลี่ยนอุณหภูมิในขั้นตอน annealing เป็น 55 °ซ และใช้จำนวนรอบ 25 รอบ ตรวจสอบผลพีซีอาร์ที่ได้ โดยทำอิเล็คโตรโฟรีซีสบนอะกาโรส 1.2 % ใช้กระแสไฟ 100 โวลต์ นาน 30 นาที เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน

3.2 สถานที่ดำเนินงาน

ห้องปฏิบัติการและโรงเรือนทดลอง ภาควิชาพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ห้องปฏิบัติการโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัยสาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.3 ระยะเวลาดำเนินการ

ใช้ระยะเวลาดำเนินการตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2547 – ธันวาคม 2548

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาผลทางด้านอัลลีโลพาทีของสารสกัดด้วยน้ำจากถั่วเหลือง

4.1.1 การศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่าง ๆ ของถั่วเหลืองจำนวน 4 สายพันธุ์ ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัว

ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่าง ๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์มข. 35

อิทธิพลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์มข. 35 ระดับความเข้มข้นของสารสกัดและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง มีผลต่อการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตทางด้านความยาวต้น ความยาวราก ความยาวรวม และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าผักกาดหัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว ที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์มข. 35 โดยใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

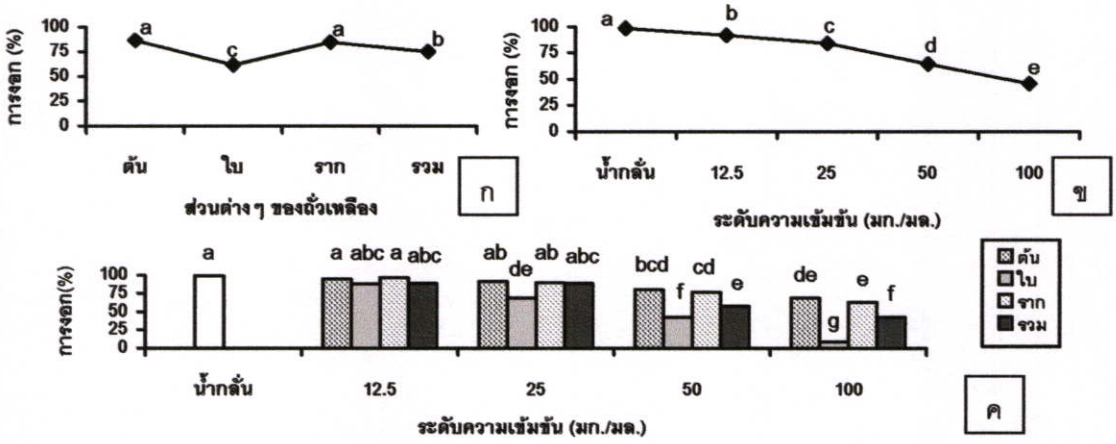
Source of Variation	df	Mean Square				
		การงอก	ความยาวต้น	ความยาวราก	ความยาวรวม	น้ำหนักแห้ง
Treatment	19	2329.93**	8.05**	55.06**	66.88**	16593.49**
A	3	2721.25**	13.99**	8.18**	14.49**	14320.26**
B	4	7583.59**	19.84**	245.54**	243.09**	49522.96**
AB	12	480.89**	2.64**	3.28**	7.91**	6185.31**
Error	60	68.33	0.23	0.21	0.41	1217.14
Total	79	612.26	2.11	13.40	16.40	4915.25
C.V. (%)		10.75	10.87	8.77	6.58	13.99

A = สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลือง B = ระดับความเข้มข้นของสารสกัด

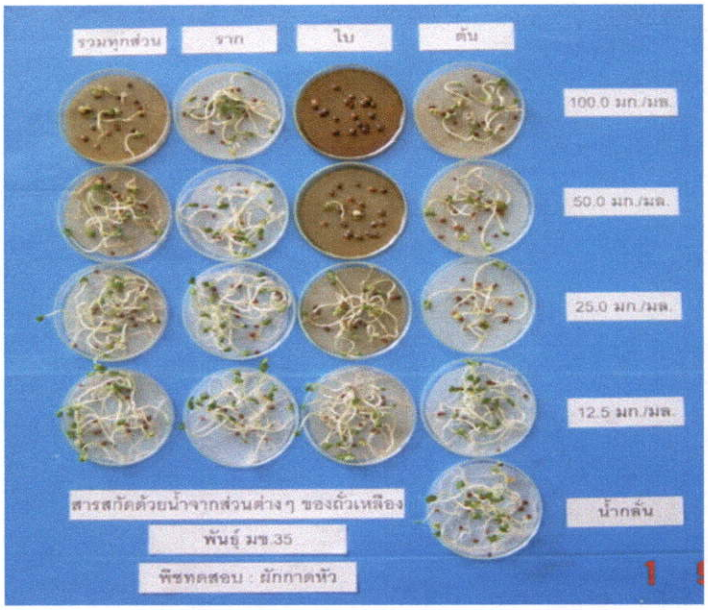
AB = ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย A และ B

** แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ผลต่อการงอก สารสกัดจากส่วนใบมีผลในการยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหัวมากกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่สารสกัดจากต้นและราก ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 4.1 ก) ในด้านของระดับความเข้มข้นพบว่า การเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัด มีผลทำให้การงอกของเมล็ดผักกาดหัวถูกยับยั้งมากยิ่งขึ้น (ภาพที่ 4.1 ข) โดยสารสกัดตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการงอกได้ 53.80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น สำหรับผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง พบว่าการใช้สารสกัดจากต้น ใบ ราก และรวมทุกส่วน ที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลไม่แตกต่างจากการใช้น้ำกลั่น การเพิ่มระดับความเข้มข้นเป็น 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีเพียงสารสกัดจากส่วนใบที่สามารถยับยั้งการงอกได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่สารสกัดจากส่วนอื่นๆ ต้องใช้ระดับความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป สำหรับที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบสามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหัวได้มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนผสมรวมทุกส่วน สารสกัดจากรากและสารสกัดจากต้น โดยยับยั้งการงอกได้ 91.14 56.96 36.71 และ 30.38 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพที่ 4.1 ค และ 4.2)

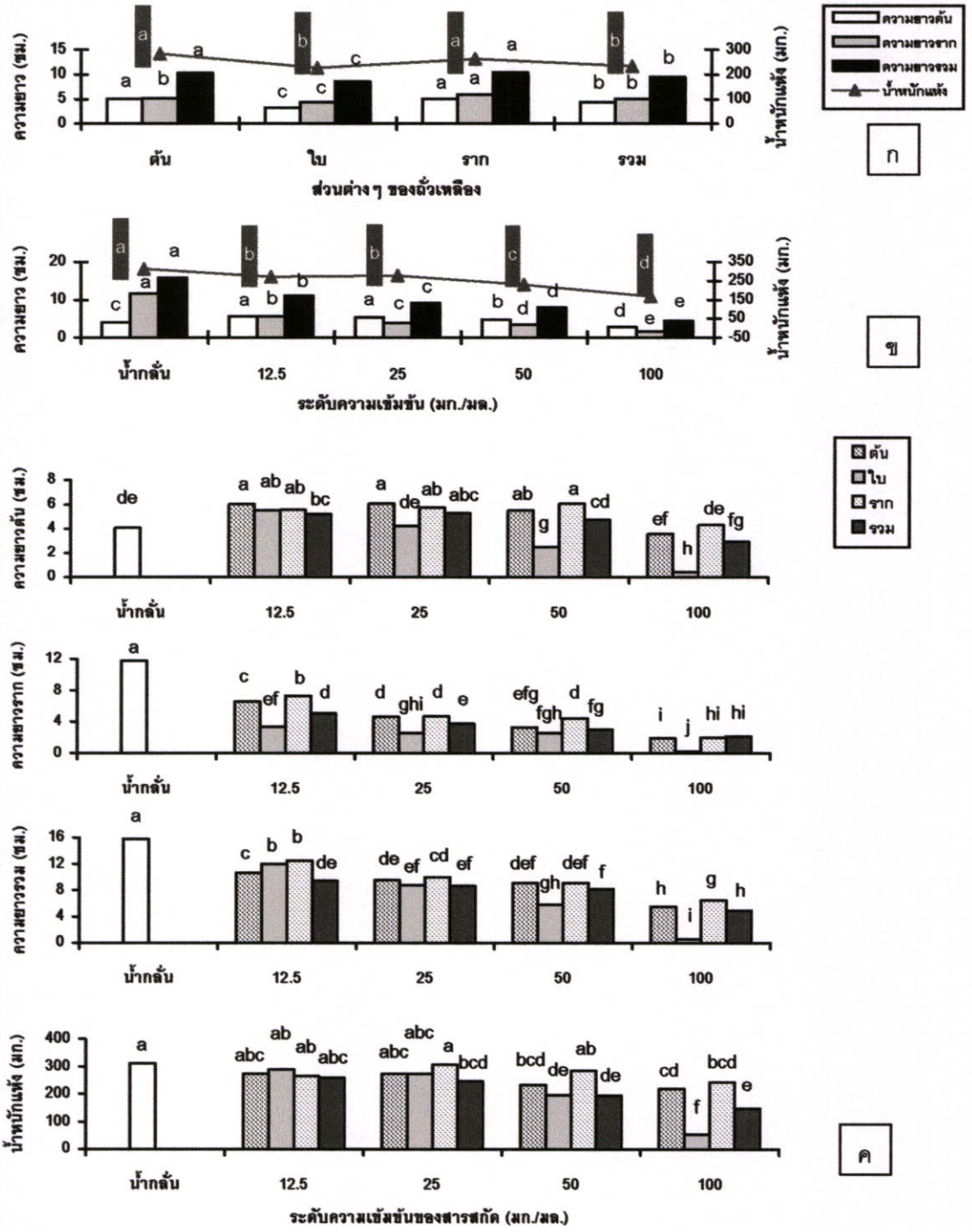


ภาพที่ 4.1 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์มข.35 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นที่มีต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด (ก. อิทธิพลของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ข. อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด ค. อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากส่วนต่างๆ และระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p = 0.05$)



ภาพที่ 4.2 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์มข. 35 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวหลังการเพาะ 5 วัน

ผลต่อการเจริญเติบโต หลังการเพาะเมล็ด 5 วัน พบว่าสารสกัดจากใบของถั่วเหลืองพันธุ์มข. 35 มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวในด้านความยาวต้นมากที่สุด ซึ่งมากกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือสารสกัดรวมทุกส่วน ขณะที่สารสกัดจากต้นและรากให้ผลไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4.3 ก) สำหรับผลของระดับความเข้มข้นพบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 12.50 ถึง 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลให้ต้นกล้ามีความยาวต้นมากกว่าต้นกล้าที่เพาะด้วยน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีเพียงที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่านั้นที่สารสกัดมีผลยับยั้งความยาวต้นผักกาดหัวอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4.3 ข) ในด้านอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 12.50 และ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดทั้งหมดยกเว้นสารสกัดจากใบที่ความเข้มข้น 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลให้ความยาวต้นของต้นกล้าผักกาดหัวยาวกว่าต้นกล้าที่เพาะด้วยน้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพิ่มระดับความเข้มข้นเป็น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลให้สารสกัดจากใบยับยั้งการเจริญเติบโตในด้านความยาวต้นของต้นกล้าได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่สารสกัดจากส่วนต้นและราก ยังคงมีผลให้ต้นกล้ามีความยาวมากกว่าการเพาะด้วยน้ำกลั่นส่วนที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปรากฏผลว่าสารสกัดจากใบมีผลยับยั้งมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนผสมรวมทุกส่วนและสารสกัดจากต้น โดยสามารถยับยั้งความยาวต้นผักกาดหัวได้ 89.93 28.26 และ 11.79 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น (ภาพที่ 4.3 ค)



ภาพที่ 4.3 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์มข.35 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด (ก. อิทธิพลของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ข. อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด ค. อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากส่วนต่างๆ และระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p = 0.05$)

ในด้านของความยาวราก พบว่าสารสกัดจากส่วนใบสามารถยับยั้งความยาวรากของผักกาดหัวได้มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากต้นและรวมทุกส่วนซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่สารสกัดจากส่วนของรากให้ผลการยับยั้งน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.3 ก) ส่วนผลของระดับความเข้มข้นพบว่า การใช้สารสกัดตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป สามารถยับยั้งความยาวรากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.3 ข) ขณะที่ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองมีอิทธิพลต่อความยาวรากโดย ปรากฏว่าการใช้สารสกัดจากต้น ใบ รากและรวมทุกส่วน ตั้งแต่ที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป สามารถยับยั้งความยาวรากได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากส่วนใบยับยั้งได้มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากรวมทุกส่วน ต้น และรากตามลำดับ ซึ่งสามารถยับยั้งได้ 71.26 51.14 42.01 และ 38.95 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นถึง 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากส่วนใบยับยั้งได้มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากต้น รากและรวมทุกส่วน โดยสามารถยับยั้งได้ 98.30 83.67 82.29 และ 81.63 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น (ภาพที่ 4.3 ค)

เมื่อพิจารณาความยาวรวมของต้นกล้า พบว่าสารสกัดจากใบสามารถยับยั้งความยาวรวมของต้นกล้าผักกาดหัวได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากส่วนอื่นๆ รองลงมาได้แก่สารสกัดจากส่วนผสมรวมทุกส่วน ต้นและรากตามลำดับ ซึ่งสารสกัดจากต้นและรากให้ผลต่อความยาวรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 4.3 ก) ในด้านระดับความเข้มข้นของสารสกัดพบว่า การใช้สารสกัดตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป มีผลยับยั้งความยาวรวมของต้นกล้าผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพิ่มระดับความเข้มข้นเป็น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งความยาวรวมได้ 72.33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.3 ข) สำหรับอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง ปรากฏว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆ สามารถยับยั้งความยาวรวมต้นกล้าผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อใช้ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป โดยที่ระดับความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจากส่วนใบยับยั้งได้มากกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นๆ และที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากส่วนใบยับยั้งได้ 96.15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น (ภาพที่ 4.3 ค)

ในส่วนผลต่อน้ำหนักแห้งของต้นกล้า พบว่าการใช้สารสกัดจากใบและรวมทุกส่วนมีผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีผลให้น้ำหนักแห้งลดลงมากกว่าการใช้สารสกัดจากต้นและรากอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4.3 ก) การใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป มีผลให้น้ำหนักแห้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.3 ข) ด้านปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากส่วนต่างๆ ให้ผลไม่

แตกต่างจากการใช้น้ำกลั่น ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเพียงสารสกัดจากรวมทุกส่วนเท่านั้นที่มีผลยับยั้งน้ำหนักแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามเมื่อใช้ระดับความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดจากใบสามารถยับยั้งน้ำหนักแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติได้ และที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบมีผลยับยั้งได้มากที่สุด โดยยับยั้งได้ 82.73 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น (ภาพที่ 4.3 ค)

ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่าง ๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์1

อิทธิพลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์1 ระดับความเข้มข้นของสารสกัดและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง มีผลต่อการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตทางด้านความยาวต้น ความยาวราก ความยาวรวม และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าผักกาดหัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว ที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์1 โดยใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

Source of Variation	df	Mean Square				
		การงอก	ความยาวต้น	ความยาวราก	ความยาวรวม	น้ำหนักแห้ง
Treatment	19	2331.10**	9.35**	58.64**	104.12**	26276.48**
A	3	1712.81**	9.72**	32.20**	79.47**	30927.48**
B	4	8357.50**	30.92**	238.57**	402.83**	69828.62**
AB	12	476.88**	2.06**	5.28*	10.71*	10596.35**
Error	60	133.85	0.59	2.48	4.66	2341.87
Total	79	662.31	2.70	15.99	28.58	8098.30
C.V. (%)		17.58	18.89	24.03	20.26	16.48

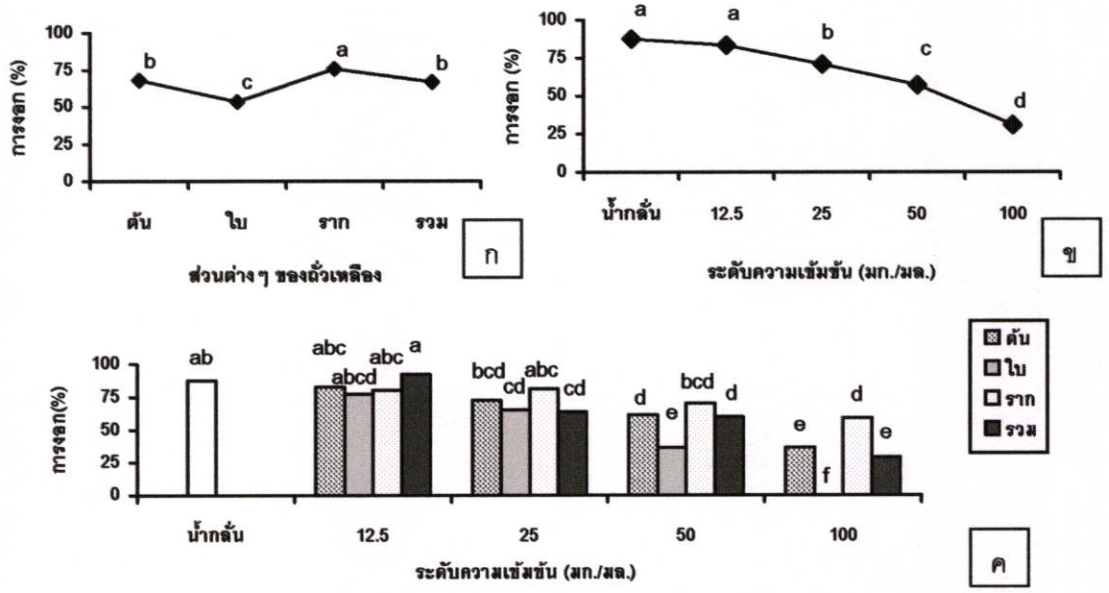
A = สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลือง B = ระดับความเข้มข้นของสารสกัด

AB = ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย A และ B

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ **แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ผลต่อการงอก หลังการเพาะเมล็ด 5 วัน สารสกัดจากส่วนของใบให้ผลในการยับยั้งมากที่สุด รองลงมาคือรวมทุกส่วนและต้น ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนสารสกัดจากรากมีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหัวน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.4 ก) การใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น

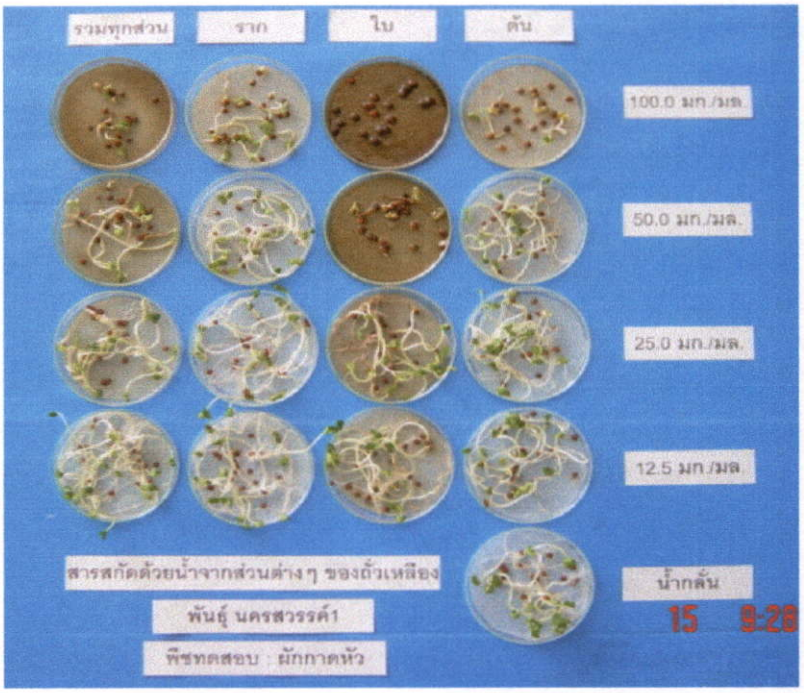
12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรให้ผลไม่แตกต่างจากการใช้น้ำกลั่น แต่การเพิ่มระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป สามารถยับยั้งการงอกของผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.4 ข) สำหรับผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองปรากฏว่าการใช้สารสกัดจากต้น ใบ รากและรวมทุกส่วนที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และการใช้สารสกัดจากต้นและรากที่ระดับความเข้มข้น 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลไม่แตกต่างจากการเพาะด้วยน้ำกลั่น ในขณะที่สารสกัดจากใบและรวมทุกส่วนที่ระดับความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร สามารถยับยั้งการงอกได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นขึ้นเป็น 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร สารสกัดจากใบสามารถยับยั้งการงอกผักกาดหัวได้มากที่สุด ซึ่งการงอกถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์ เมื่อใช้ความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร (ภาพที่ 4.4 ค และ 4.5)



ภาพที่ 4.4 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์1 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด (ก. อิทธิพลของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ข. อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด ค. อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากส่วนต่างๆ และระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p = 0.05)

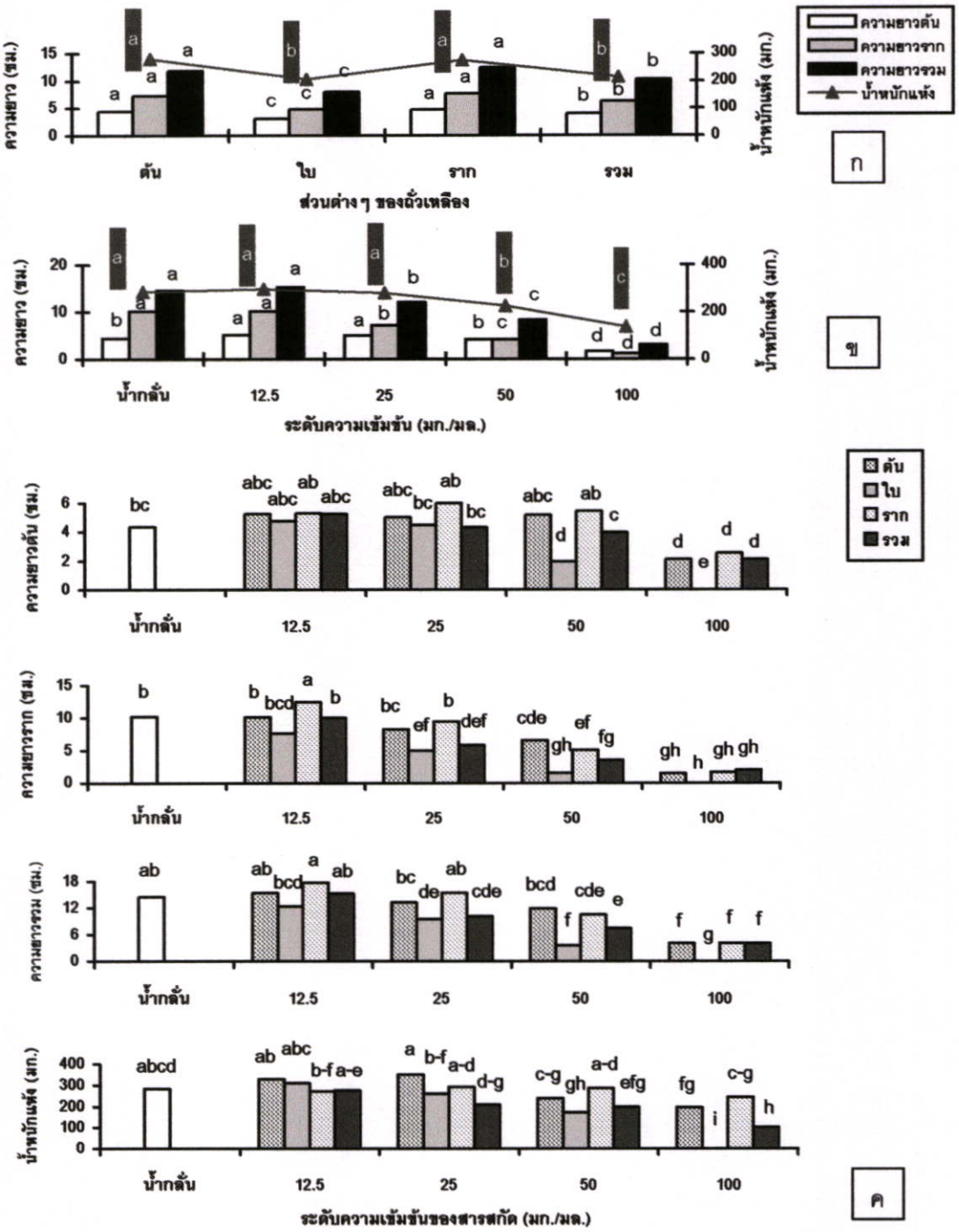
ผลต่อการเจริญเติบโต พบว่าในวันที่ 5 หลังการเพาะเมล็ดผักกาดหัว สารสกัดจากใบยับยั้งความยาวต้นกล้าผักกาดหัวได้มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากส่วนอื่นๆ (ภาพที่

4.6 ก) ในด้านความเข้มข้นของสารสกัดพบว่ามีเพียงที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่านั้นที่สามารถยับยั้งความยาวต้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.6 ข) ส่วนผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเพียงสารสกัดจากส่วนใบเท่านั้นที่สามารถยับยั้งความยาวต้นผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งยับยั้งได้ 55.15 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น การเพิ่มความเข้มข้นเป็น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้สารสกัดจากส่วนใบยับยั้งความยาวต้นได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่สารสกัดจากส่วนอื่นๆ ยับยั้งความยาวต้นได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.6 ค)



ภาพที่ 4.5 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์1 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวหลังการเพาะ 5 วัน

เมื่อพิจารณาความยาวราก ปรากฏว่าสารสกัดจากส่วนใบยับยั้งความยาวรากได้มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากรวมทุกส่วน และสารสกัดจากต้นและรากซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 4.6 ก) ส่วนผลของระดับความเข้มข้นพบว่าสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลไม่แตกต่างจากการใช้น้ำกลั่น การใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขึ้นไปจึงสามารถยับยั้งความยาวรากผักกาดหัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.6 ข) ส่วนอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง พบว่าการใช้สารสกัดจากรากที่



ภาพที่ 4.6 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์1 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด (ก. อิทธิพลของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ข. อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด ค. อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากส่วนต่างๆ และระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p = 0.05$)

ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลส่งเสริมให้ความยาวรากเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นขึ้นไปเป็น 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีเพียงการใช้สารสกัดจากใบและรวมทุกส่วนที่สามารถยับยั้งความยาวรากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสามารถยับยั้งได้ 50.79 และ 43.01 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากส่วนต่างๆ สามารถยับยั้งความยาวรากได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.6 ค)

ในส่วนผลต่อความยาวรวมของต้นกล้าพบว่า สารสกัดจากใบยับยั้งได้มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนผสมรวมทุกส่วน ขณะที่สารสกัดจากต้นและรากมีผลยับยั้งน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.6 ก) ส่วนผลของระดับความเข้มข้นพบว่าการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรให้ผลไม่แตกต่างจากการใช้น้ำกลั่น การเพิ่มระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป ทำให้ความยาวรวมผักกาดหัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.6 ข) สำหรับอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองปรากฏว่า การใช้สารสกัดจากใบและรวมทุกส่วนที่ระดับความเข้มข้น 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป มีผลยับยั้งความยาวรวมอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่สารสกัดจากรากต้องใช้ที่ระดับความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไปจึงจะยับยั้งความยาวรวมได้ ส่วนการใช้สารสกัดจากต้นมีเพียงที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่านั้น จึงมีผลยับยั้งความยาวรวมต้นกล้าผักกาดหัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.6 ค)

ส่วนผลต่อน้ำหนักแห้งของผักกาดหัวพบว่า สารสกัดจากใบถั่วเหลืองพันธุ์นครสวรรค์1 ทำให้น้ำหนักแห้งลดลงมากกว่าสารสกัดจากต้นและราก แต่ให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติจากสารสกัดรวมทุกส่วน (ภาพที่ 4.6 ก) ในส่วนผลของระดับความเข้มข้นพบว่า การใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลไม่แตกต่างจากการใช้น้ำกลั่น การเพิ่มความเข้มข้นเป็น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป มีผลให้น้ำหนักแห้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.6 ข) ส่วนผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองปรากฏว่ามีเพียงการใช้สารสกัดจากใบและรวมทุกส่วนที่ระดับความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป จึงจะมีผลให้น้ำหนักแห้งลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น (ภาพที่ 4.6 ค)

ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่าง ๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่4

อิทธิพลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่4 ระดับความเข้มข้นของสารสกัดและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง มีผลต่อการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตทางด้านความยาวต้น ความยาวราก ความยาวรวม และน้ำหนักแห้งของผักกาดหัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 4 โดยใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

Source of Variation	df	Mean Square				
		การงอก	ความยาวต้น	ความยาวราก	ความยาวรวม	น้ำหนักแห้ง
Treatment	19	1987.42**	5.37**	43.96**	68.48**	10302.58**
A	3	4635.31**	12.49**	53.76**	117.81**	22746.52**
B	4	3896.09**	8.88**	152.69**	201.93**	18339.83**
AB	12	689.22**	2.41**	5.27**	11.66*	4512.51**
Error	60	85.10	0.29	1.18	1.92	1343.87
Total	79	542.62	1.51	11.47	17.93	3498.49
C.V. (%)		11.49	11.05	12.09	10.01	18.36

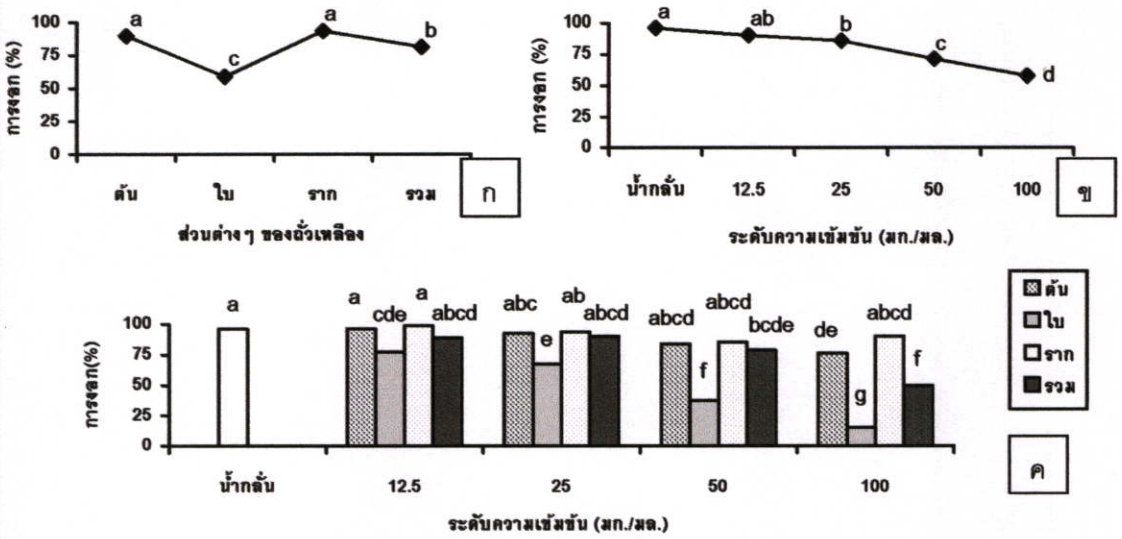
A = สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลือง B = ระดับความเข้มข้นของสารสกัด

AB = ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย A และ B

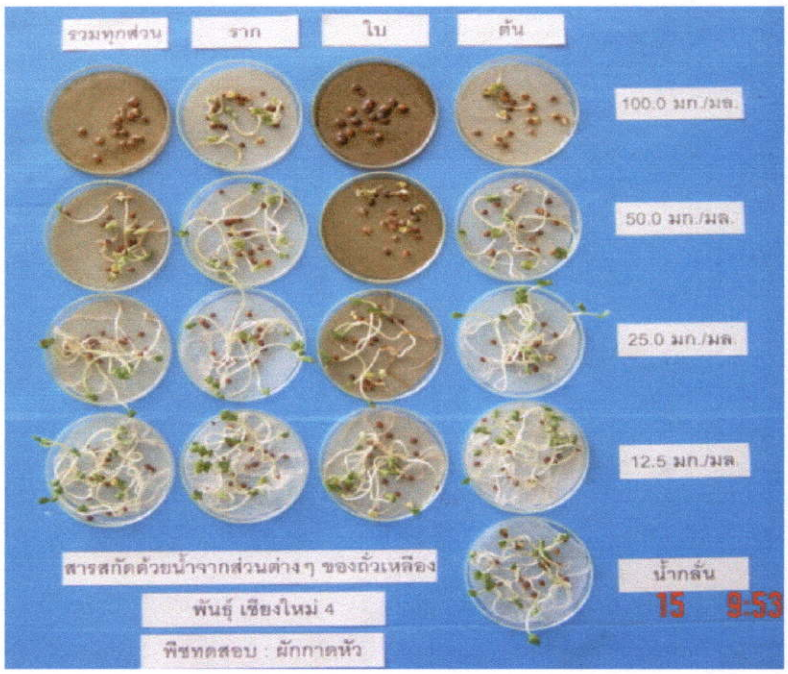
*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ **แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ผลต่อการงอก การเพาะเมล็ดผักกาดหัว ในสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่4 เป็นเวลา 5 วัน ปรากฏว่าสารสกัดจากส่วนของใบให้ผลยับยั้งมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากส่วนผสมรวมทุกส่วน ขณะที่สารสกัดจากต้นและรากยับยั้งน้อยที่สุดและให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 4.7 ก) ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป มีผลยับยั้งการงอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.7 ข) ส่วนอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 12.50 ถึง 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเพียงสารสกัดจากส่วนใบเท่านั้นที่มีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นไปถึง 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบสามารถยับยั้งได้ 84.42 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น (ภาพที่ 4.7 ค และ 4.8)

ผลต่อการเจริญเติบโต สารสกัดจากใบมีผลในการยับยั้งความยาวต้นกล้าผักกาดหัวมากกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.9 ก) การใช้ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 12.50 ถึง 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลส่งเสริมให้ความยาวต้นผักกาดหัวเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามสารสกัดที่ระดับ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรมีผลยับยั้งความยาวต้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งยับยั้งได้ 17.94 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.9 ข) ในด้านผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง พบว่าการใช้สารสกัดจากต้น รากและรวมทุกส่วนที่ระดับความเข้มข้น 12.50 ถึง 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลให้ความยาวต้นเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบ



ภาพที่ 4.7 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่4 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นที่มีต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด (ก. อิทธิพลของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ข. อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด ค. อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากส่วนต่างๆ และระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p = 0.05)



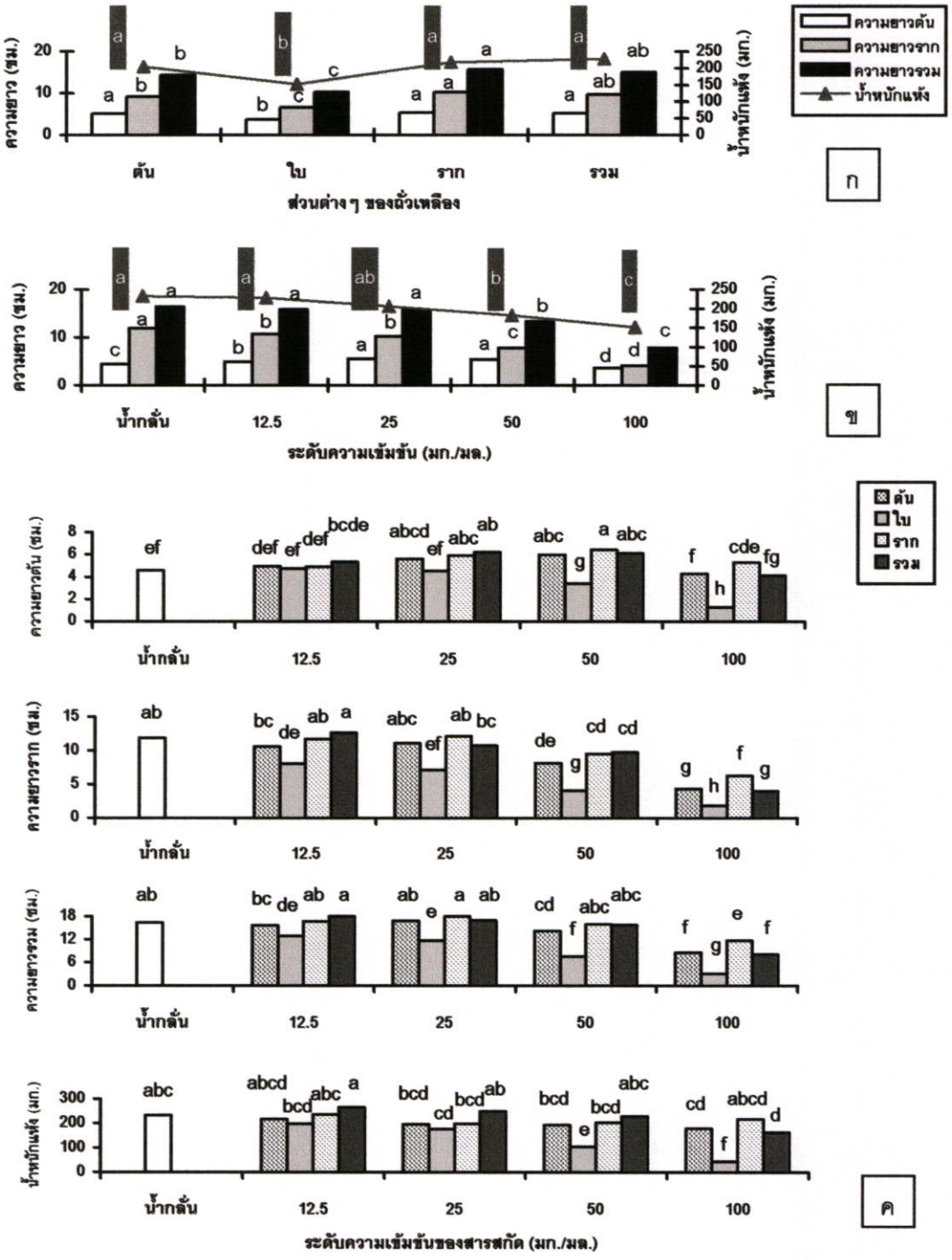
ภาพที่ 4.8 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่4 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวหลังการเพาะ 5 วัน

กับการเพาะด้วยน้ำกลั่น อย่างไรก็ตามที่ระดับ 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบสามารถยับยั้งความยาวต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสามารถยับยั้งได้ 25.55 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบสามารถยับยั้งความยาวต้นผักกาดหัวได้ 72.05 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.9 ค)

เมื่อพิจารณาผลต่อความยาวราก ปรากฏว่าความยาวรากถูกยับยั้งมากที่สุดเมื่อใช้สารสกัดจากใบ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากสารสกัดส่วนอื่นๆ รองลงมาคือสารสกัดจากต้น (ภาพที่ 4.9 ก) การใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป สามารถยับยั้งความยาวรากผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น ซึ่งการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งความยาวรากผักกาดหัวได้ 65.43 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น (ภาพที่ 4.9 ข) ในส่วนผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 12.50 และ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีเพียงสารสกัดจากส่วนใบเท่านั้นที่สามารถยับยั้งความยาวรากผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น ขณะที่การใช้สารสกัดจากต้น ราก และรวมทุกส่วน ต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดถึงระดับ 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงจะสามารถยับยั้งความยาวรากผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.9 ค)

ในด้านผลต่อความยาวรวม พบว่าสารสกัดจากส่วนใบสามารถยับยั้งความยาวรวมได้มากที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากสารสกัดส่วนอื่นๆ รองลงมาได้แก่สารสกัดจากต้น ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติจากการใช้สารสกัดจากส่วนผสมรวมทุกส่วน ส่วนสารสกัดจากรากให้ผลการยับยั้งน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.9 ก) ส่วนผลของระดับความเข้มข้นปรากฏว่า การใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 12.50 และ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลไม่แตกต่างจากการใช้น้ำกลั่น อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดสามารถยับยั้งความยาวรวมได้อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4.9 ข) ในส่วนผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 12.50 และ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเพียงสารสกัดจากใบเท่านั้นที่สามารถยับยั้งความยาวรวมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดด้วยน้ำกลั่น ขณะที่สารสกัดจากต้นต้องใช้ที่ระดับความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากรากและรวมทุกส่วนต้องใช้ที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จึงจะสามารถยับยั้งความยาวรวมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.9)

เมื่อพิจารณาผลต่อน้ำหนักแห้ง พบว่าสารสกัดจากส่วนใบเท่านั้นที่มีผลทำให้น้ำหนักแห้งต้นกล้าผักกาดหัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดจากส่วนอื่นๆ (ภาพที่ 4.9 ก) ขณะที่ผลของระดับความเข้มข้นพบว่า มีเพียงสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 50.00



ภาพที่ 4.9 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่4 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด (ก. อิทธิพลของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ข. อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด ค. อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากส่วนต่างๆ และระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p = 0.05$)

และ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เท่านั้นที่มีผลให้น้ำหนักแห้งลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.9 ข) สำหรับผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง ปรากฏว่ามีเพียงสารสกัดจากใบที่ระดับความเข้มข้น 50.00 และ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากส่วนผสมรวมทุกส่วนที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่านั้น ที่สามารถทำให้น้ำหนักแห้งของต้นกล้าลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดด้วยน้ำกลั่น (ภาพที่ 4.9)

ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่าง ๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์ GC10981

อิทธิพลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์ GC10981 ระดับความเข้มข้นของสารสกัดและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง มีผลต่อการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตทางด้านความยาวต้น ความยาวราก ความยาวรวม และน้ำหนักแห้งของผักกาดหัว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 4.4)

ตารางที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์ GC10981 โดยใช้ความเข้มข้น 4 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

Source of Variation	df	Mean Square				
		การงอก	ความยาวต้น	ความยาวราก	ความยาวรวม	น้ำหนักแห้ง
Treatment	19	1692.29**	8.95**	66.66**	108.86**	7786.54**
A	3	1231.15**	4.46**	29.54**	55.02**	9814.41**
B	4	5539.53**	31.05**	276.26**	428.74**	22110.24**
AB	12	525.16**	2.71**	6.07**	15.70**	2505.00**
Error	60	101.15	0.42	1.18	2.27	769.08
Total	79	483.83	2.47	16.93	27.91	2456.82
C.V. (%)		13.27	13.81	12.60	11.19	14.46

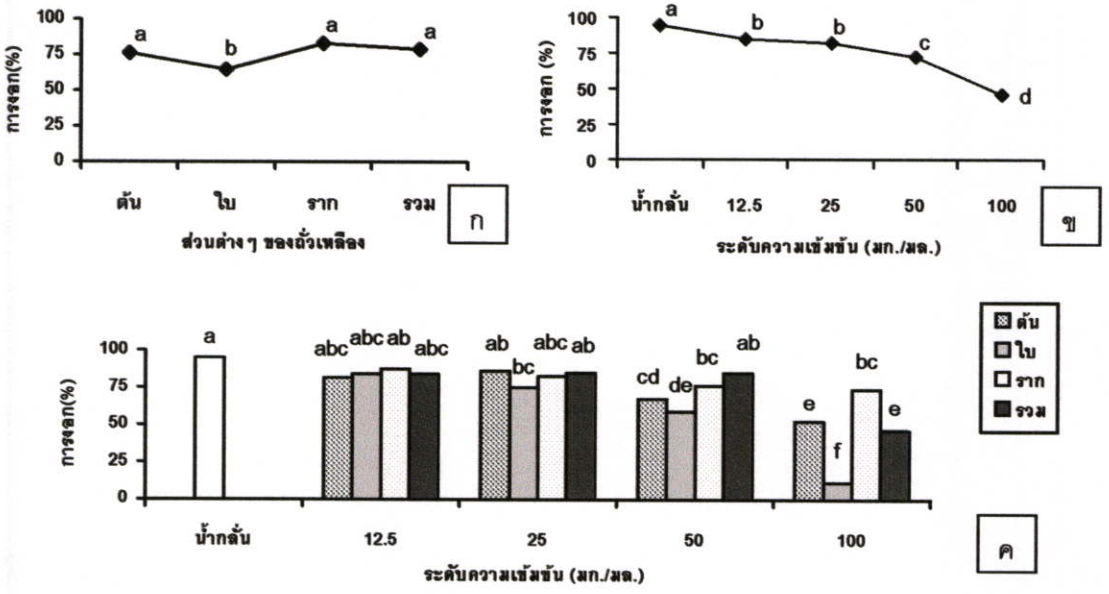
A = สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลือง B = ระดับความเข้มข้นของสารสกัด

AB = ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย A และ B

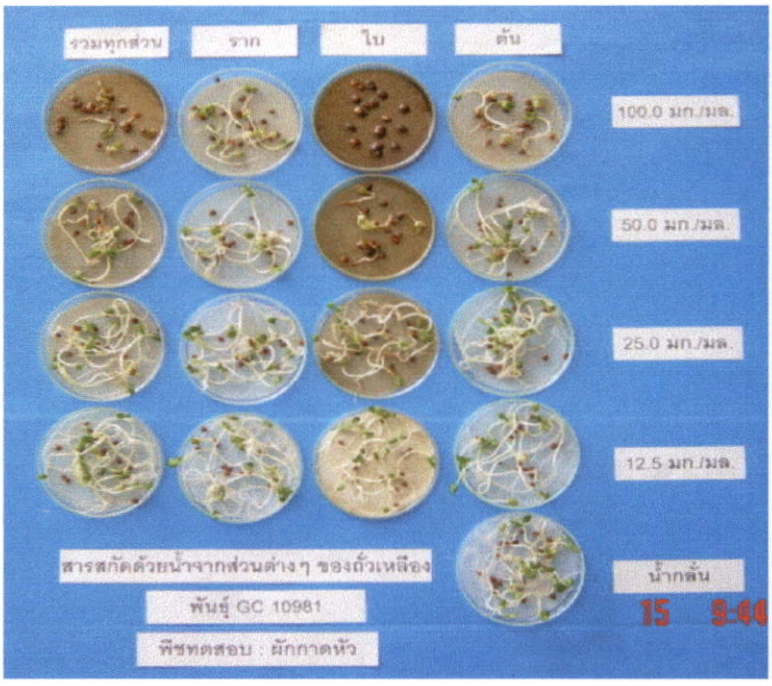
**แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ผลต่อการงอก การใช้สารสกัดจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์GC10981 ต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัวหลังการเพาะ 5 วัน พบว่าสารสกัดจากส่วนใบสามารถยับยั้งการงอกได้ดีที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากส่วนอื่นๆ ขณะที่สารสกัดจากส่วนต้น ราก และรวมทุกส่วนมีผลต่อ

การงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 4.10 ก) ส่วนผลของระดับความเข้มข้นปรากฏว่าการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 12.50 และ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลยับยั้งการงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่มีผลยับยั้งการงอกอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นไปจนถึงที่ระดับ 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดสามารถยับยั้งการงอกได้ 51.64 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะเมล็ดด้วยน้ำกลั่น (ภาพที่ 4.10 ข) สำหรับผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองพบว่าที่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากส่วนต่างๆ ให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติจากการใช้น้ำกลั่น ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่ามีเพียงสารสกัดจากใบเท่านั้นที่ยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารสกัดจากต้นและรากต้องใช้ระดับความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจึงจะสามารถยับยั้งการงอกได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเพิ่มความเข้มข้นเป็น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลให้สารสกัดจากใบยับยั้งการงอกได้ 88.16 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.10 ค และ 4.11)



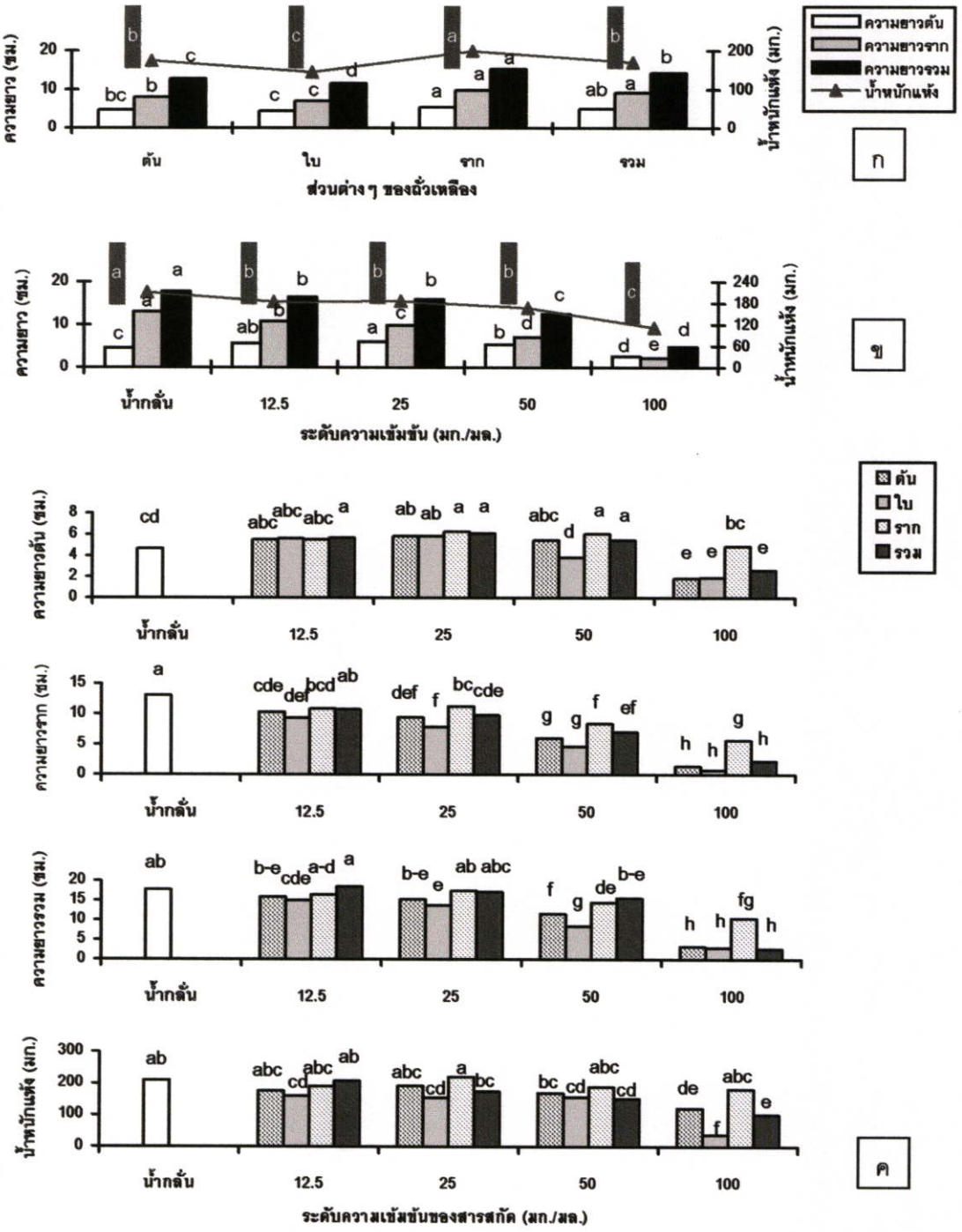
ภาพที่ 4.10 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์GC10981 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นที่มีต่อการงอกของต้นกล้าผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด (ก. อิทธิพลของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ข. อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด ค. อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากส่วนต่างๆ และระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p = 0.05)



ภาพที่ 4.11 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์GC10981 ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวหลังการเพาะ 5 วัน

ผลต่อการเจริญเติบโต หลังการเพาะ 5 วัน พบว่าสารสกัดจากใบของถั่วเหลืองพันธุ์ GC10981 มีผลยับยั้งความยาวต้นกล้าผักกาดหัวมากกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นสารสกัดจากต้น (ภาพที่ 4.12 ก) ในส่วนผลของระดับความเข้มข้นพบว่ามีเพียงสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่านั้น ที่มีผลยับยั้งความยาวต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่สารสกัดที่ระดับความเข้มข้นอื่นๆ มีผลส่งเสริมความยาวต้น เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.12 ข) สำหรับอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง ปรากฏว่า การใช้สารสกัดส่วนต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นต่ำกว่า 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีแนวโน้มส่งเสริมให้ความยาวต้นผักกาดหัวเพิ่มขึ้น ยกเว้นการใช้สารสกัดจากใบที่ความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีผลยับยั้งความยาวต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามการใช้สารสกัดจากต้น ใบ และรวมทุกส่วนที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งความยาวต้นผักกาดหัวได้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสามารถยับยั้งได้ 59.87 58.80 และ 44.64 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.12 ค)

ในส่วนของผลต่อความยาวรากพบว่า สารสกัดจากใบสามารถยับยั้งความยาวรากได้มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากต้น ส่วนสารสกัดจากรากให้ผลการยับยั้งน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.12 ก) ขณะที่ระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นมีผลยับยั้งความยาวรากได้มากขึ้น โดยการใช้สารสกัดที่ระดับ



ภาพที่ 4.12 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองพันธุ์GC10981 จำนวน 4 ระดับความเข้มข้นที่มีต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะเมล็ด (ก. อิทธิพลของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ข. อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด ค. อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากส่วนต่างๆ และระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 4 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p = 0.05$)

ความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งได้ 17.64 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นไปถึง 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งความยาวรากผักกาดหัวได้ถึง 83.13 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น (ภาพที่ 4.12 ข) เมื่อพิจารณาอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง พบว่าสารสกัดจากต้น ใบ และราก สามารถยับยั้งความยาวรากได้อย่างมีนัยสำคัญ ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การเพิ่มระดับความเข้มข้นมีผลให้ความยาวรากถูกยับยั้งมากขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากต้น ใบ และราก สามารถยับยั้งความยาวรากได้ 91.72 94.40 และ 56.83 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.12 ค)

ส่วนผลของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ต่อความยาวรวมของต้นกล้าผักกาดหัว พบว่าสารสกัดจากส่วนใบให้ผลยับยั้งมากที่สุดซึ่งมากกว่าสารสกัดจากส่วนอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือสารสกัดจากต้น รวมทุกส่วน และราก ตามลำดับ (ภาพที่ 4.12 ก) การเพิ่มระดับความเข้มข้นมีผลให้สามารถยับยั้งความยาวรวมได้มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.12 ข) สำหรับอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง ปรากฏว่าที่ระดับความเข้มข้น 12.50 และ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเพียงสารสกัดจากใบที่ยับยั้งความยาวรวมได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากต้น ใบ และราก สามารถยับยั้งความยาวรวมได้ 34.97 52.32 และ 18.36 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.12 ค)

สำหรับผลต่อน้ำหนักแห้งของผักกาดหัวพบว่า การใช้สารสกัดจากส่วนใบมีผลทำให้น้ำหนักแห้งลดลงมากกว่าการใช้สารสกัดจากส่วนอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่สารสกัดจากรากให้ผลยับยั้งน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.12 ก) ส่วนผลของระดับความเข้มข้น ปรากฏว่าการใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 12.50 ถึง 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลต่อน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกัน แต่มีผลให้น้ำหนักแห้งลดลงมากกว่าการใช้น้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับสารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลทำให้น้ำหนักแห้งลดลงมากที่สุดคือ 47.24 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.12 ข) ส่วนผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองพบว่าที่ระดับ 12.50 และ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีเพียงสารสกัดจากใบเท่านั้นที่มีผลให้น้ำหนักแห้งของผักกาดหัวลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบและรวมทุกส่วนมีผลให้น้ำหนักแห้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และที่ระดับความเข้มข้น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากต้น ใบ และรวมทุกส่วนทำให้น้ำหนักแห้งลดลง 42.30 81.87 และ 51.24 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เปรียบเทียบกับการใช้น้ำกลั่น (ภาพที่ 4.12 ค)

4.1.2 การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้งและผักกาดหัว

ผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกวางตุ้ง

อิทธิพลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง มีผลต่อการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตทางด้านความยาวต้น ความยาวราก ความยาวรวม และน้ำหนักแห้งของต้นกล้าผักกวางตุ้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองที่มีต่อน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกวางตุ้งที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ โดยใช้ความเข้มข้น 3 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

Source of Variation	df	Mean Square				
		การงอก	ความยาวต้น	ความยาวราก	ความยาวรวม	น้ำหนักแห้ง
Treatment	119	2750.24**	2.90**	5.51**	15.92**	2009.16**
A	29	616.08**	0.73**	0.60**	2.59**	346.40*
B	3	91824.44**	97.68**	203.17**	569.35**	69485.30**
AB	87	390.11**	0.36**	0.33**	1.29**	236.65^{ns}
Error	240	158.13	0.12	0.13	0.39	195.43
Total	359	1017.35	1.04	1.91	5.54	796.64
C.V. (%)		41.30	34.01	29.96	28.16	54.47

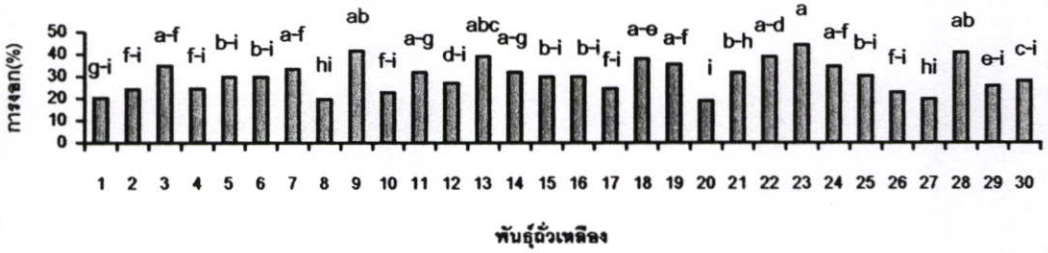
A = สายพันธุ์ถั่วเหลือง B = ระดับความเข้มข้นของสารสกัด

AB = ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย A และ B ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ **แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

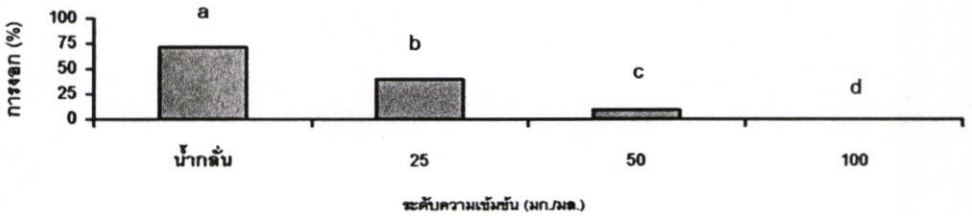
ผลต่อการงอก สารสกัดจากใบถั่วเหลืองทั้ง 30 สายพันธุ์ มีผลยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้ง ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใช้สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์สุโขทัย1 ยับยั้งการงอกได้มากที่สุด รองลงมาคือ สจ.4 ไข่แมงทอง เชียงใหม่60 เชียงใหม่3 และ GC4637 ขณะที่สารสกัดจากสายพันธุ์เชียงใหม่2 ให้ผลการยับยั้งการงอกผักกวางตุ้งน้อยที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์มข.35 #8407 และ GC4120 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.13) การเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดมีผลให้สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้งได้มากขึ้น (ภาพที่ 4.14) สำหรับอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองพบว่า ที่ระดับความ

เข้มข้น 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์สุโขทัย1 ยับยั้งการงอกของผักกวางตุ้งได้มากที่สุด ซึ่งยับยั้งได้ 95.35 เปอร์เซ็นต์เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น รองลงมาได้แก่สายพันธุ์สจ.4 และไข่แมงทอง โดยทั้งสองสายพันธุ์สามารถยับยั้งได้ 90.70 เปอร์เซ็นต์เท่ากัน ส่วนสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ #8407 ให้ผลยับยั้งการงอกน้อยที่สุดซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติจากการใช้น้ำกลั่น ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลการยับยั้งน้อยรองลงมาคือ GC4120 เชียงใหม่2 และ GC2679 เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นเป็น 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบถั่วเหลืองทั้ง 30 สายพันธุ์สามารถยับยั้งการงอกของผักกวางตุ้งได้อย่างสมบูรณ์ (ตารางที่ 4.6)



1.เชียงใหม่60 2.GC10848 3.GC10981 4.สุโขทัย3 5.สจ.2 6.จักรพันธุ์1 7.GC3318 8.สจ.4 9.มข.35 10.GC4637 11.GC11101 12.GC7231 13.GC4120 14.KUSL20004 15.GC9822 16.PK462 17.สจ.1 18.GC2796 19.เชียงใหม่4 20.สุโขทัย1 21.GC10992 22.เชียงใหม่1 23.เชียงใหม่2 24.GC2679 25.นครสวรรค์1 26.เชียงใหม่3 27.ไข่แมงทอง 28.#8407 29.สุโขทัย2 30.สจ.5

ภาพที่ 4.13 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลือง) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



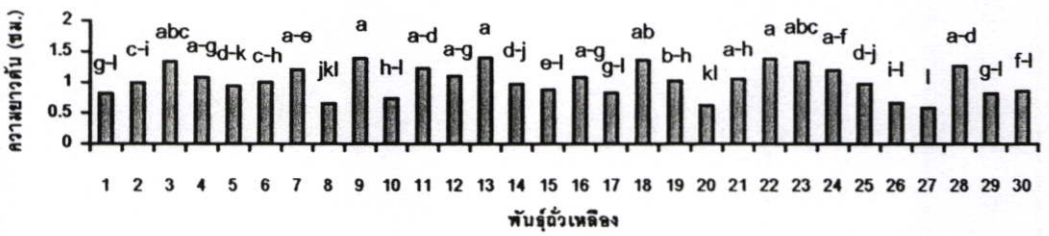
ภาพที่ 4.14 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

ตารางที่ 4.6 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อการงอกของเมล็ดผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้นของสารสกัด)

พันธุ์ถั่วเหลือง	การงอก (%)[1/]			
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	น้ำกลั่น	25	50	100
เชียงใหม่ 60	71.67 a	10.00 lmnop	0 p	0 p
GC 10848	71.67 a	25.00 ghijklmnop	0 p	0 p
GC10981	71.67 a	46.67 bcdefg	21.67 hijklmnop	0 p
สุโขทัย3	71.67 a	26.67 fghijklmno	0 p	0 p
สจ.2	71.67 a	48.33 abcdefg	0 p	0 p
จักรพันธุ์1	71.67 a	46.67 bcdefg	1.67 op	0 p
GC3318	71.67 a	55.00 abcd	6.67 mnop	0 p
สจ.4	71.67 a	6.67 mnop	0 p	0 p
มข.35	71.67 a	51.67 abcdef	43.33 bcdefghi	0 p
GC4637	71.67 a	20.00 ijklmnop	0 p	0 p
GC11101	71.67 a	41.67 bcdefghij	15.00 klmnop	0 p
GC7231	71.67 a	35.00 bcdefghijk	1.67 op	0 p
GC4120	71.67 a	60.00 ab	25.00 ghijklmnop	0 p
KUSL20004	71.67 a	56.67 abcd	0 p	0 p
GC9822	71.67 a	48.33 abcdefg	0 p	0 p
PK462	71.67 a	46.67 bcdefg	33.33 cdefghijkl	0 p
สจ.1	71.67 a	26.67 fghijklmno	0 p	0 p
GC2796	71.67 a	51.67 abcdef	28.33 efghijklmn	0 p
เชียงใหม่4	71.67 a	53.33 abcde	16.67 klmnop	0 p
สุโขทัย1	71.67 a	3.33 nop	0 p	0 p
GC10992	71.67 a	48.33 abcdefg	6.67 nop	0 p
เชียงใหม่1	71.67 a	51.67 abcdef	31.67 efghijkl	0 p
เชียงใหม่2	71.67 a	60.00 ab	45.00 bcdefgh	0 p
GC2679	71.67 a	58.33 abc	8.33 mnop	0 p
นครสวรรค์1	71.67 a	48.33 abcdefg	1.67 op	0 p
เชียงใหม่3	71.67 a	20.00 ijklmnop	0 p	0 p
ไข่แมงทอง	71.67 a	6.67 mnop	0 p	0 p
#8407	71.67 a	73.33 a	18.33 jklmnop	0 p
สุโขทัย2	71.67 a	31.67 defghijklm	0 p	0 p
สจ.5	71.67 a	36.67 bcdefghijk	3.33 nop	0 p
C.V. (%)	41.30			

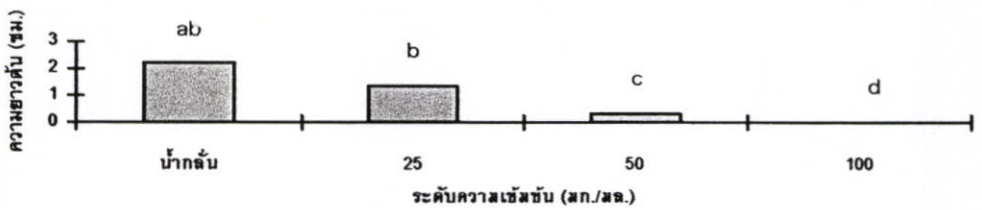
[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

ผลต่อการเจริญเติบโต สารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ไข่แมงทอง มีผลยับยั้งความยาวต้นผักกวางตุ้งได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่สายพันธุ์สุโขทัย1 สจ.4 และเชียงใหม่3 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.15) การใช้ความเข้มข้นที่ระดับ 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีผลให้ความยาวต้นไม่แตกต่างทางสถิติจากการใช้น้ำกลั่น อย่างไรก็ตามความเข้มข้นตั้งแต่ 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป สามารถยับยั้งความยาวต้นผักกวางตุ้งได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.16) สำหรับอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองปรากฏว่าที่ระดับความเข้มข้น25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ไข่แมงทองให้ผลการยับยั้งความยาวต้นผักกวางตุ้งมากที่สุด รองลงมาได้แก่ สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์สุโขทัย1สจ.4 และเชียงใหม่3 โดยสามารถยับยั้งได้ 94.17 87.44 82.06 และ 80.27 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งความยาวต้นน้อยที่สุดคือ มข.35 GC10981 GC2796 และเชียงใหม่1 (ตารางที่ 4.7)



1.เชียงใหม่60 2.GC10848 3.GC10981 4.สุโขทัย3 5.สจ.2 6.จักรพันธุ์1 7.GC3318 8.สจ.4 9.มข.35 10.GC4637 11.GC11101 12.GC7231 13.GC4120 14.KUSL20004 15.GC9822 16.PK462 17.สจ.1 18.GC2796 19.เชียงใหม่4 20.สุโขทัย1 21.GC10992 22.เชียงใหม่1 23.เชียงใหม่2 24.GC2679 25.นครสวรรค์1 26.เชียงใหม่3 27.ไข่แมงทอง 28.#8407 29.สุโขทัย2 30.สจ.5

ภาพที่ 4.15 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวต้นกล้าผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลือง) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



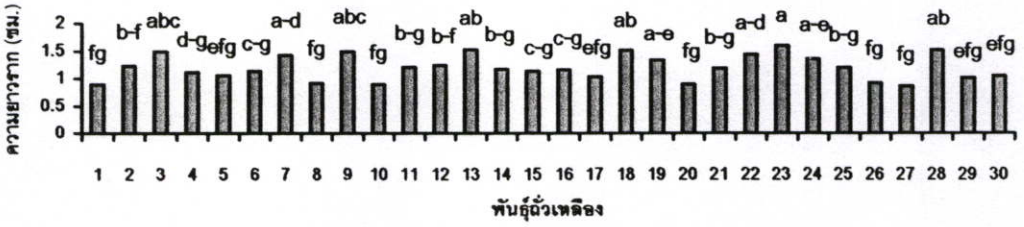
ภาพที่ 4.16 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวต้นกล้าผักกวางตุ้ง (อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

ตารางที่ 4.7 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อความยาวต้นของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้นของสารสกัด)

พันธุ์ถั่วเหลือง	ความยาวต้น (ซม.)[1/]			
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	น้ำกลั่น	25	50	100
เชียงใหม่ 60	2.23 ab	1.03 fghijkl	0 p	0 p
GC 10848	2.23 ab	1.77 abcde	0 p	0 p
GC10981	2.23 ab	2.25 ab	0.88 hijklmn	0 p
สุโขทัย3	2.23 ab	2.13 abc	0 p	0 p
สจ.2	2.23 ab	1.52 cdefgh	0 p	0 p
จักรพันธุ์1	2.23 ab	1.82 abcde	0 p	0 p
GC3318	2.23 ab	2.02 abc	0.58 jklmnop	0 p
สจ.4	2.23 ab	0.40 lmnop	0 p	0 p
มข.35	2.23 ab	2.33 a	1.02 fghijkl	0 p
GC4637	2.23 ab	0.72 ijklmno	0 p	0 p
GC11101	2.23 ab	2.15 abc	0.55 jklmnop	0 p
GC7231	2.23 ab	2.03 abc	0.20 op	0 p
GC4120	2.23 ab	2.15 abc	1.22 efghij	0 p
KUSL20004	2.23 ab	1.65 abcdef	0 p	0 p
GC9822	2.23 ab	1.28 defghi	0 p	0 p
PK462	2.23 ab	1.99 abc	0.13 op	0 p
สจ.1	2.23 ab	1.10 fghijk	0 p	0 p
GC2796	2.23 ab	2.25 ab	0.94 ghijklmn	0 p
เชียงใหม่4	2.23 ab	1.58 bcdefg	0.32 mnop	0 p
สุโขทัย1	2.23 ab	0.28 nop	0 p	0 p
GC10992	2.23 ab	1.61 bcdefg	0.40 lmnop	0 p
เชียงใหม่1	2.23 ab	2.21 ab	1.08 fghijkl	0 p
เชียงใหม่2	2.23 ab	2.11 abc	0.98 fghijklm	0 p
GC2679	2.23 ab	1.90 abcd	0.67 ijklmnop	0 p
นครสวรรค์1	2.23 ab	1.57 bcdefg	6.67E op	0 p
เชียงใหม่3	2.23 ab	0.44 klmnop	0 p	0 p
ไข่แมงทอง	2.23 ab	0.13 op	0 p	0 p
#8407	2.23 ab	2.12 abc	0.73 ijklmno	0 p
สุโขทัย2	2.23 ab	1.05 fghijkl	0 p	0 p
สจ.5	2.23 ab	1.03 fghijkl	0.18 op	0 p
C.V. (%)	34.01			

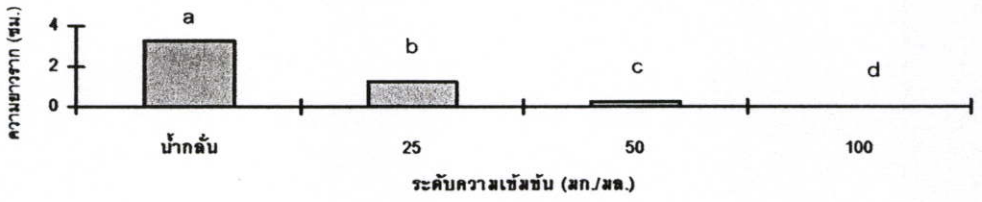
[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

เมื่อพิจารณาผลต่อความยาวราก พบว่าสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่ให้ผลการยับยั้งความยาวรากมากที่สุดมี 3 สายพันธุ์คือ เชียงใหม่60 GC4637 และสุโขทัย1 รองลงมาได้แก่ สจ.4 และ เชียงใหม่ 3 ที่มีผลการยับยั้งความยาวรากได้เท่ากัน (ภาพที่ 4.17) การเพิ่มระดับความเข้มข้นทำให้มีผลยับยั้งความยาวรากได้มากขึ้น (ภาพที่ 4.18) ส่วนอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง พบว่า การใช้สารสกัดจากใบถั่วเหลืองที่ระดับความเข้มข้น 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สายพันธุ์ไข่แมงทองให้ผลยับยั้งความยาวรากผักกวางตุ้งได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่ สุโขทัย1 และ GC4637 ซึ่งให้ผลการยับยั้งเท่ากัน เชียงใหม่60และสจ.4 ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์ที่ให้ผลการยับยั้งน้อยที่สุดได้แก่ #8407 มข.35 GC2796 และ GC10981 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.8)



1.เชียงใหม่60 2.GC10848 3.GC10981 4.สุโขทัย3 5.สจ.2 6.จักรพันธุ์1 7.GC3318 8.สจ.4 9.มข.35 10.GC4637 11.GC11101 12.GC7231 13.GC4120 14.KUSL20004 15.GC9822 16.PK462 17.สจ.1 18.GC2796 19.เชียงใหม่4 20.สุโขทัย1 21.GC10992 22.เชียงใหม่1 23.เชียงใหม่2 24.GC2679 25.นครสวรรค์1 26.เชียงใหม่3 27.ไข่แมงทอง 28.#8407 29.สุโขทัย2 30.สจ.5

ภาพที่ 4.17 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรากของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลือง) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



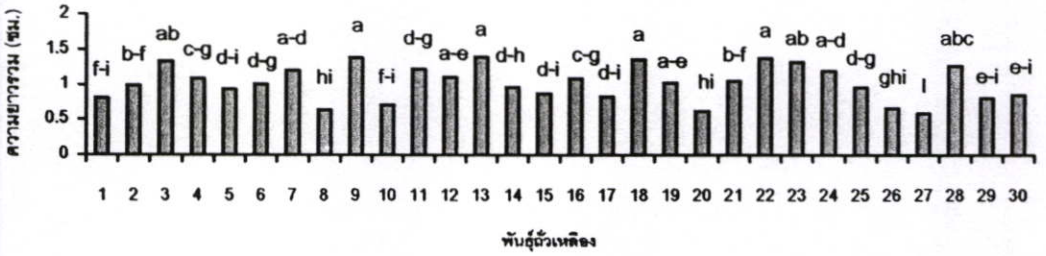
ภาพที่ 4.18 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรากของผักกวางตุ้ง (อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

ตารางที่ 4.8 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อความยาวรากของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้นของสารสกัด)

พันธุ์ถั่วเหลือง	ความยาวราก (ซม.)[1/]			
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	น้ำกลั่น	25	50	100
เชียงใหม่ 60	3.28 a	0.32 nopqr	0 r	0 r
GC 10848	3.28 a	1.65 cdefgh	0 r	0 r
GC10981	3.28 a	2.02 bcd	0.69 klmnopqr	0 r
สุโขทัย3	3.28 a	1.14 fghijklm	0 r	0 r
สจ.2	3.28 a	0.94 hijklmn	0 r	0 r
จักรพันธุ์1	3.28 a	1.26 efghijkl	0 r	0 r
GC3318	3.28 a	1.87 bcde	0.58 lmnopqr	0 r
สจ.4	3.28 a	0.40 nopqr	0 r	0 r
มข.35	3.28 a	2.18 bc	0.58 mnopqr	0 r
GC4637	3.28 a	0.30 nopqr	0 r	0 r
GC11101	3.28 a	1.39 defghijk	0.17 opqr	0 r
GC7231	3.28 a	1.60 cdefghi	6.67E qr	0 r
GC4120	3.28 a	1.90 bcde	0.93 ijklmn	0 r
KUSL20004	3.28 a	1.38 defghijk	0 r	0 r
GC9822	3.28 a	1.29 efghijkl	0 r	0 r
PK462	3.28 a	1.24 efghijklm	0.10 pqr	0 r
สจ.1	3.28 a	0.84 jklmno	0 pr	0 r
GC2796	3.28 a	2.16 bc	0.66 lmnopqr	0 r
เชียงใหม่4	3.28 a	1.66 cdefgh	0.38 nopqr	0 r
สุโขทัย1	3.28 a	0.30 nopqr	0 r	0 r
GC10992	3.28 a	1.42 defghij	2.67E r	0 r
เชียงใหม่1	3.28 a	1.72 cdefg	0.74 jklmnopqr	0 r
เชียงใหม่2	3.28 a	1.01 ghijklmn	2.09 bcd	0 r
GC2679	3.28 a	1.82 bcdef	0.32 nopqr	0 r
นครสวรรค์1	3.28 a	1.41 defghij	6.67E qr	0 r
เชียงใหม่3	3.28 a	0.41 nopqr	0 r	0 r
ไข่แมงทอง	3.28 a	0.15 opqr	0.31 nopqr	0 r
#8407	3.28 a	2.49 b	0 r	0 r
สุโขทัย2	3.28 a	0.77 jklmnopq	0 r	0 r
สจ.5	3.28 a	0.83 jklmnop	8.33E qr	0 r
C.V. (%)	29.96			

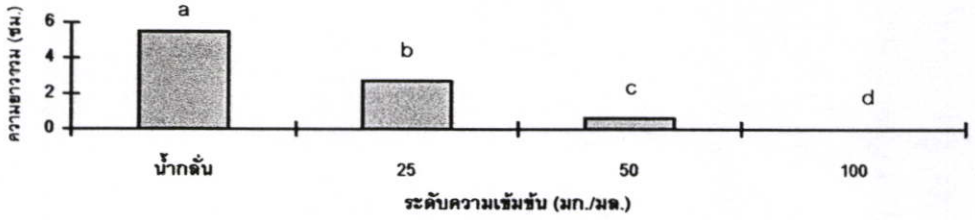
[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

ในส่วนของความยาวรวมของต้นกล้าปรากฏว่า สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ไข่แมงทองยับยั้งความยาวรวมได้มากที่สุด รองลงมาคือ สุโขทัย1 สจ.4 เชียงใหม่3 และ GC4637 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.19) ความยาวรวมของต้นกล้าถูกยับยั้งมากขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.20) ส่วนอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 25.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบถั่วเหลืองพันธุ์ไข่แมงทองยับยั้งความยาวรวมได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่ สุโขทัย1 สจ.4 เชียงใหม่3 และเชียงใหม่60 ขณะที่สายพันธุ์ #8407 มข.35 GC2796 และ GC10981 ยับยั้งได้น้อยที่สุด (ตารางที่ 4.9)



1.เชียงใหม่60 2.GC10848 3.GC10981 4.สุโขทัย3 5.สจ.2 6.จักรพันธุ์1 7.GC3318 8.สจ.4 9.มข.35 10.GC4637 11.GC11101 12.GC7231 13.GC4120 14.KUSL20004 15.GC9822 16.PK462 17.สจ.1 18.GC2796 19.เชียงใหม่4 20.สุโขทัย1 21.GC10992 22.เชียงใหม่1 23.เชียงใหม่2 24.GC2679 25.นครสวรรค์1 26.เชียงใหม่3 27.ไข่แมงทอง 28.#8407 29.สุโขทัย2 30.สจ.5

ภาพที่ 4.19 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรวมของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลือง) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



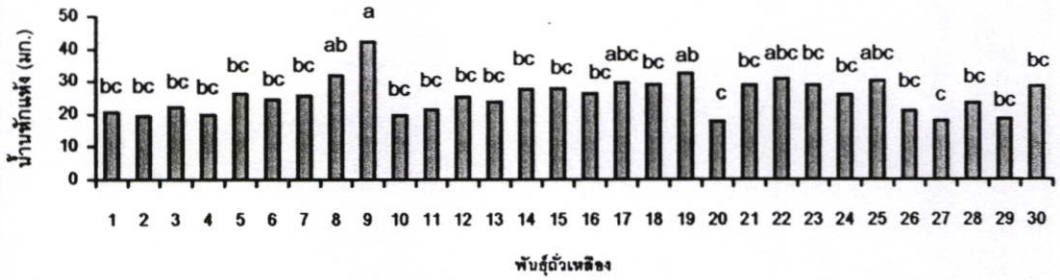
ภาพที่ 4.20 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรวมของผักกวางตุ้ง (อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

ตารางที่ 4.9 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อความยาวรวมของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้นของสารสกัด)

พันธุ์ถั่วเหลือง	ความยาวรวม (ซม.)[1/]			
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	น้ำกลั่น	25	50	100
เชียงใหม่ 60	5.51 a	1.35 nopqrs	0 t	0 t
GC 10848	5.51 a	3.43 bcdefgh	0 t	0 t
GC10981	5.51 a	4.27 abcd	1.57 mnopqr	0 t
สุโขทัย3	5.51 a	3.26 cdefghi	0 t	0 t
สจ.2	5.51 a	2.46 ghijklmn	0 t	0 t
จักรพันธุ์1	5.51 a	3.08 defghij	0 t	0 t
GC3318	5.51 a	3.89 bcde	1.89 mnopqrs	0 t
สจ.4	5.51 a	0.58 rst	0 t	0 t
มข.35	5.51 a	4.52 ab	0.79 pqrst	0 t
GC4637	5.51 a	2.46 efghijkl	0 t	0 t
GC11101	5.51 a	2.37 hijklm	1.54 mnopqr	0 t
GC7231	5.51 a	3.63 bcdefg	1.02 opqrst	0 t
GC4120	5.51 a	4.06 bcde	0.72 qrst	0 t
KUSL20004	5.51 a	3.03 efghijk	0.27 st	0 t
GC9822	5.51 a	2.58 fghijklm	2.14 ijklmno	0 t
PK462	5.51 a	3.22 hijklmn	0 t	0 t
สจ.1	5.51 a	2.28 hijklmn	1.28 nopqrs	0 t
GC2796	5.51 a	4.41 abc	1.6 mnopqr	0 t
เชียงใหม่4	5.51 a	3.24 cdefghij	0.70 qrst	0 t
สุโขทัย1	5.51 a	0.58 rst	0 t	0 t
GC10992	5.51 a	3.03 defghijkl	0.43 rst	0 t
เชียงใหม่1	5.51 a	3.94 bcde	1.81 lmnopq	0 t
เชียงใหม่2	5.51 a	4.20 bcde	2.00 jklmnop	0 t
GC2679	5.51 a	3.72 bcdef	0.98 opqrst	0 t
นครสวรรค์1	5.51 a	2.98 efghijkl	0.13 st	0 t
เชียงใหม่3	5.51 a	0.85 pqrst	0.43 rst	0 t
ไข่แมงทอง	5.51 a	0.28 st	0 t	0 t
#8407	5.51 a	4.61 ab	1.04 opqrst	0 t
สุโขทัย2	5.51 a	1.82 lmnopq	1.62 mnopqrs	0 t
สจ.5	5.51 a	1.85 klmnopq	0.27 st	0 t
C.V. (%)	28.16			

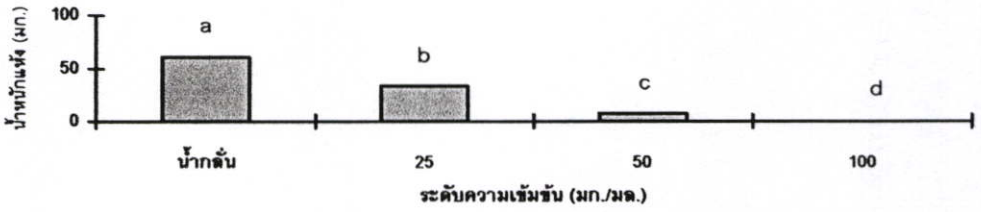
[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

ในด้านผลต่อน้ำหนักแห้งปรากฏว่า สารสกัดจากถั่วเหลืองสายพันธุ์สุโขทัย1 มีผลทำให้น้ำหนักแห้งต้นกล้าผักกวางตุ้งลดลงได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่สายพันธุ์ไข่แมงทอง สุโขทัย2 และ GC10848 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากสายพันธุ์มข.35 มีผลต่อน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด รองลงมาคือ GC10981 และเชียงใหม่1 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.21) การเพิ่มระดับความเข้มข้นมีผลทำให้น้ำหนักแห้งผักกวางตุ้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.22) อย่างไรก็ตามปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองไม่มีผลต่อน้ำหนักแห้งผักกวางตุ้ง (ตารางที่ 4.10)



1.เชียงใหม่60 2.GC10848 3.GC10981 4.สุโขทัย3 5.สจ.2 6.จักรพันธุ์1 7.GC3318 8.สจ.4 9.มข.35 10.GC4637 11.GC11101 12.GC7231 13.GC4120 14.KUSL20004 15.GC9822 16.PK462 17.สจ.1 18.GC2796 19.เชียงใหม่4 20.สุโขทัย1 21.GC10992 22.เชียงใหม่1 23.เชียงใหม่2 24.GC2679 25.นครสวรรค์1 26.เชียงใหม่3 27.ไข่แมงทอง 28.#8407 29.สุโขทัย2 30.สจ.5

ภาพที่ 4.21 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อน้ำหนักแห้งของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลือง) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



ภาพที่ 4.22 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อน้ำหนักแห้งของผักกวางตุ้ง (อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

ตารางที่ 4.10 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อน้ำหนักแห้งของผักกวางตุ้ง 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้นของสารสกัด)

พันธุ์ถั่วเหลือง	น้ำหนักแห้ง (มล.)[1/]			
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	น้ำกลั่น	25	50	100
เชียงใหม่ 60	61.13	21.57	0	0
GC 10848	61.13	17.57	0	0
GC10981	61.13	27.70	0	0
สุโขทัย3	61.13	18.80	0	0
สจ.2	61.13	44.20	0	0
จักรพันธุ์1	61.13	37.67	0	0
GC3318	61.13	33.93	8.37	0
สจ.4	61.13	40.30	26.53	0
มข.35	61.13	53.57	54.53	0
GC4637	61.13	17.90	0	0
GC11101	61.13	22.10	2.77	0
GC7231	61.13	40.40	0	0
GC4120	61.13	25.27	8.83	0
GC10992	61.13	36.90	13.20	0
GC9822	61.13	50.20	0	0
PK462	61.13	44.20	0	0
สจ.1	61.13	57.57	0	0
GC2796	61.13	34.87	20.60	0
KUSL20004	61.13	68.80	0	0
สุโขทัย1	61.13	10.07	0	0
#8407	61.13	42.07	12.33	0
เชียงใหม่1	61.13	33.97	28.5	0
เชียงใหม่2	61.13	40.10	14.6	0
GC2679	61.13	33.17	9.8	0
นครสวรรค์1	61.13	47.47	12.33	0
เชียงใหม่3	61.13	23.77	0	0
ไข่แมงทอง	61.13	10.80	0	0
เชียงใหม่4	61.13	28.83	3.53	0
สุโขทัย2	61.13	13.17	0	0
สจ.5	61.13	43.47	9.2	0
C.V. (%)	54.47			

[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

ผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัว

อิทธิพลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ ระดับความเข้มข้นของสารสกัดและปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสอง มีผลต่อการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตทางด้านความยาวต้น ความยาวรวมและน้ำหนักแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองที่มีต่อความยาวต้นและความยาวรวม ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดเท่านั้นที่มีอิทธิพลต่อความยาวราก (ตารางที่ 4.11)

ตารางที่ 4.11 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าผักกาดหัวที่เพาะในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ โดยใช้ความเข้มข้น 3 ระดับ เปรียบเทียบกับการเพาะในน้ำกลั่น

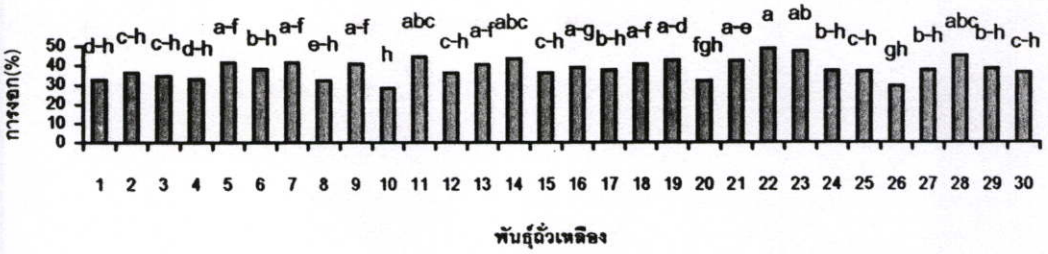
Source of Variation	df	Mean Square				
		การงอก	ความยาวต้น	ความยาวราก	ความยาวรวม	น้ำหนักแห้ง
Treatment	119	3871.10**	12.04**	63.46**	126.24**	26989.36**
A	29	289.10**	1.16**	1.58 ns	5.25*	2242.08*
B	3	144323.03**	443.43**	2472.15**	4861.06**	990725.96**
AB	87	221.93**	0.79 ns	1.03 ns	3.30 ns	2006.16*
Error	240	104.72	0.60	1.37	3.17	1284.50
Total	359	1353.19	4.39	21.95	43.97	9805.05
C.V. (%)		26.49	33.03	29.34	28.08	33.47

A = สายพันธุ์ถั่วเหลือง B = ระดับความเข้มข้นของสารสกัด

AB = ปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย A และ B ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

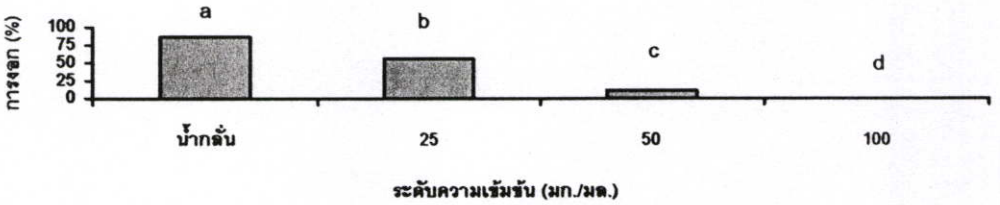
*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ **แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

ผลต่อการงอก หลังการเพาะเมล็ด 5 วัน ผลปรากฏว่าสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ GC4637 สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหัวได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่สายพันธุ์เชียงใหม่ 3 สุโขทัย1 สจ.4 และ เชียงใหม่60 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.23) การเพิ่มระดับความเข้มข้นมีผลให้สามารถยับยั้งการงอกได้มากขึ้น (ภาพที่ 4.24) ส่วนปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองพบว่า เมื่อใช้ที่ระดับความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์สจ.4 และ GC4637 ให้ผลยับยั้งได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่เชียงใหม่3และสุโขทัย1 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดจากสายพันธุ์ KUSL20004 ยับยั้งการงอกได้น้อยที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากสายพันธุ์ GC10992 เชียงใหม่1 #8407และเชียงใหม่4 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.12)



1.เชียงใหม่60 2.GC10848 3.GC10981 4.สุโขทัย3 5.สจ.2 6.จักรพันธุ์1 7.GC3318 8.สจ.4 9.มข.35 10.GC4637 11.GC11101 12.GC7231 13.GC4120 14.KUSL20004 15.GC9822 16.PK462 17.สจ.1 18.GC2796 19.เชียงใหม่4 20.สุโขทัย1 21.GC10992 22.เชียงใหม่1 23.เชียงใหม่2 24.GC2679 25.นครสวรรค์1 26.เชียงใหม่3 27.ไข่แมงทอง 28.#8407 29.สุโขทัย2 30.สจ.5

ภาพที่ 4.23 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลือง) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



ภาพที่ 4.24 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

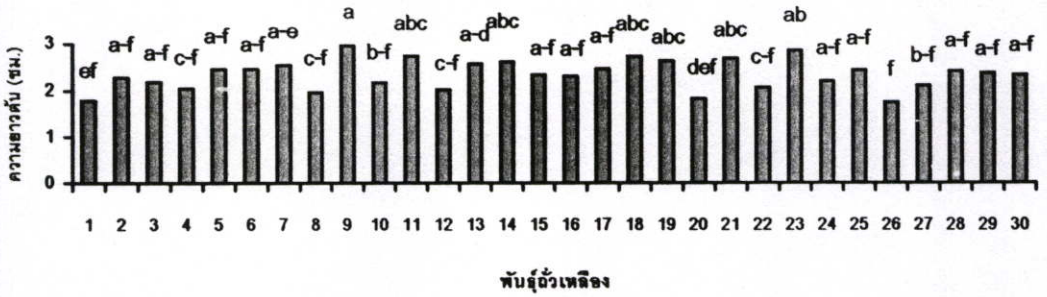
ผลต่อการเจริญเติบโต สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่3 ยับยั้งความยาวต้นผักกาดหัวได้มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากสายพันธุ์เชียงใหม่60 สุโขทัย1 และสจ.4 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.25) ความยาวต้นถูกยับยั้งมากขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.26) อย่างไรก็ตามปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองไม่มีผลต่อความยาวต้น (ตารางที่ 4.13)

ในส่วนผลต่อความยาวรากพบว่าอิทธิพลระหว่างสายพันธุ์ไม่มีผลต่อความยาวรากผักกาดหัว (ภาพที่ 4.27) ขณะที่สารสกัดมีผลยับยั้งความยาวรากมากขึ้น เมื่อระดับความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้น (ภาพที่ 4.28) ส่วนปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองไม่มีผลต่อความยาวรากผักกาดหัว (ตารางที่ 4.14)

ตารางที่ 4.12 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อการงอกของเมล็ดผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้นของสารสกัด)

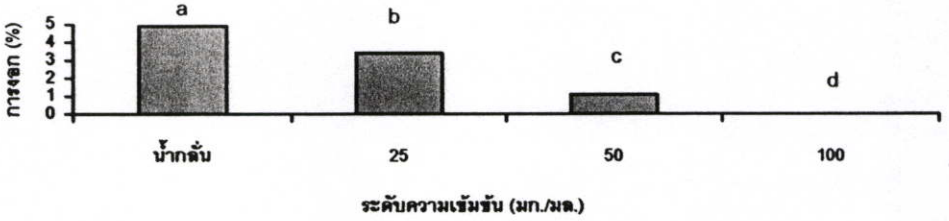
พันธุ์ถั่วเหลือง	การงอก (%)[1/]			
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	น้ำกลั่น	25	50	100
เชียงใหม่ 60	86.67 a	43.33 fghijkl	1.67 rs	0 s
GC 10848	86.67 a	60.00 bcdefgh	0 s	0 s
GC10981	86.67 a	53.33 cdefghij	0 s	0 s
สุโขทัย3	86.67 a	46.67 efghijk	0 s	0 s
สจ.2	86.67 a	65.00 bcde	36.67 ijklmn	1.67 rs
จักรพันธุ์1	86.67 a	65.00 bcde	1.67 rs	0 s
GC3318	86.67 a	63.33 bcdef	16.67 opqrs	0 s
สจ.4	86.67 a	25.00 lmnopq	18.33 nopqrs	0 s
มข.35	86.67 a	48.33 defghijk	30.00 klmonop	0 s
GC4637	86.67 a	25.00 lmnopq	3.33 rs	0 s
GC11101	86.67 a	56.67 cdefgh	35.00 jklmno	0 s
GC7231	86.67 a	58.33 cdefgh	1.67 rs	0 s
GC4120	86.67 a	61.67 bcdefg	15.00 pqrs	0 s
KUSL20004	86.67 a	78.33 ab	6.67 qrs	0 s
GC9822	86.67 a	55.00 cdefghi	5.00 qrs	0 s
PK462	86.67 a	56.67 cdefgh	13.33 pqrs	0 s
สจ.1	86.67 a	58.33 cdefgh	6.67 qrs	0 s
GC2796	86.67 a	55.00 cdefghi	21.67 mnopqr	0 s
เชียงใหม่4	86.67 a	68.33 abcd	25.00 lmnopq	0 s
สุโขทัย1	86.67 a	40.00 hijklm	1.67 rs	0 s
GC10992	86.67 a	73.33 abc	15.00 pqrs	0 s
เชียงใหม่1	86.67 a	73.33 abc	6.67 qrs	0 s
เชียงใหม่2	86.67 a	66.67 abcde	41.67 ghijkl	0 s
GC2679	86.67 a	56.67 cdefgh	6.67 qrs	0 s
นครสวรรค์1	86.67 a	48.33 defghijk	11.67 pqrs	1.67 rs
เชียงใหม่3	86.67 a	30.00 klmnop	1.67 rs	0 s
ไข่แมงทอง	86.67 a	65.00 bcde	0 s	0 s
#8407	86.67 a	70.00 abc	11.67 pqrs	1.67 rs
สุโขทัย2	86.67 a	55.00 cdefghi	11.67 pqrs	0 s
สจ.5	86.67 a	56.67 cdefgh	3.33 rs	0 s
C.V. (%)	26.49			

[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



1.เชียงใหม่60 2.GC10848 3.GC10981 4.สุโขทัย3 5.สจ.2 6.จักรพันธุ์1 7.GC3318 8.สจ.4 9.มข.35 10.GC4637 11.GC11101 12.GC7231 13.GC4120 14.KUSL20004 15.GC9822 16.PK462 17.สจ.1 18.GC2796 19.เชียงใหม่4 20.สุโขทัย1 21.GC10992 22.เชียงใหม่1 23.เชียงใหม่2 24.GC2679 25.นครสวรรค์1 26.เชียงใหม่3 27.ไข่แมงทอง 28.#8407 29.สุโขทัย2 30.สจ.5

ภาพที่ 4.25 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวต้นของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลือง) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



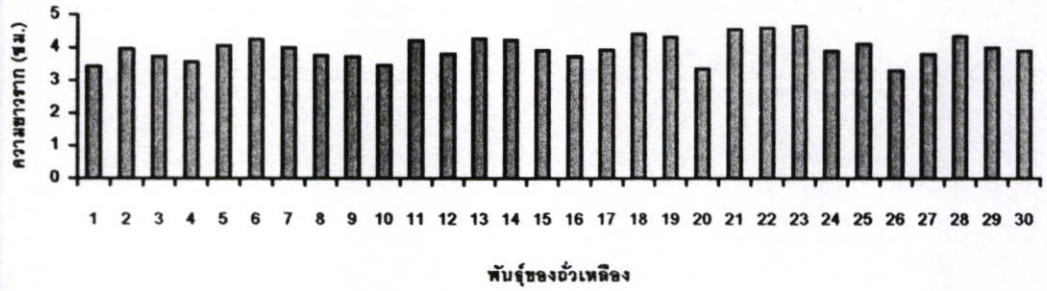
ภาพที่ 4.26 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวต้นของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

ขณะที่ผลต่อความยาวรวมปรากฏว่าสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่3 ยับยั้งความยาวรวมต้นกล้าผักกาดหัวได้มากที่สุด รองลงมาคือสายพันธุ์สุโขทัย1 เชียงใหม่60 และสุโขทัย3 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.29) ระดับความเข้มข้นที่มากขึ้นมีผลยับยั้งความยาวรวมเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.30) อย่างไรก็ตามปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองไม่มีผลต่อความยาวรวมของผักกาดหัว (ตารางที่ 4.15)

ตารางที่ 4.13 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ต่อความยาวต้นของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้นของสารสกัด)

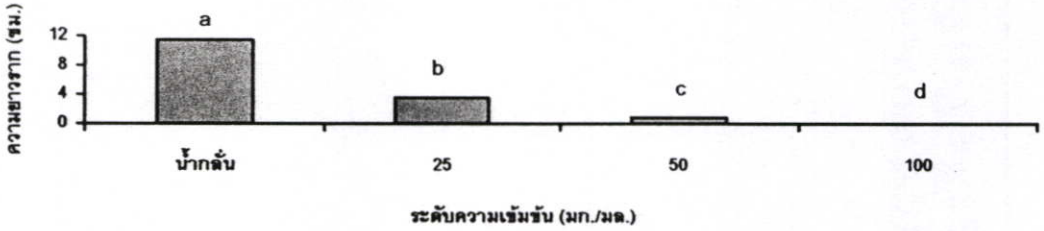
พันธุ์ถั่วเหลือง	ความยาวต้น (ซม.)[1/]			
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	น้ำกลั่น	25	50	100
เชียงใหม่ 60	4.93	2.27	0	0
GC 10848	4.93	4.23	0	0
GC10981	4.93	2.32	1.56	0
สุโขทัย3	4.93	3.31	0	0
สจ.2	4.93	3.18	1.69	0.13
จักรพันธุ์1	4.93	3.24	1.70	0
GC3318	4.93	3.59	1.66	0
สจ.4	4.93	2.32	0	0
มข.35	4.93	4.85	2.11	0
GC4637	4.93	3.37	0.47	0
GC11101	4.93	4.04	2.04	0
GC7231	4.93	3.11	0.13	0
GC4120	4.93	2.92	2.48	0
KUSL20004	4.93	4.18	1.44	0
GC9822	4.93	3.55	0.93	0
PK462	4.93	2.92	1.42	0
สจ.1	4.93	4.25	0.71	0
GC2796	4.93	3.56	2.48	0
เชียงใหม่4	4.93	3.96	0.79	0
สุโขทัย1	4.93	2.30	0.13	0
GC10992	4.93	4.00	1.56	0
เชียงใหม่1	4.93	2.24	1.13	0
เชียงใหม่2	4.93	4.33	2.19	0
GC2679	4.93	3.52	0.40	0
นครสวรรค์1	4.93	3.07	1.31	0.5
เชียงใหม่3	4.93	1.86	0.27	0
ไข่แมงทอง	4.93	3.53	0	0
#8407	4.93	4.31	1.52	0
สุโขทัย2	4.93	3.43	1.17	0
สจ.5	4.93	3.42	0.97	0
C.V. (%)	33.03			

[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



1.เชียงใหม่60 2.GC10848 3.GC10981 4.สุโขทัย3 5.สจ.2 6.จักรพันธุ์1 7.GC3318 8.สจ.4 9.มข.35 10.GC4637 11.GC11101 12.GC7231 13.GC4120 14.KUSL20004 15.GC9822 16.PK462 17.สจ.1 18.GC2796 19.เชียงใหม่4 20.สุโขทัย1 21.GC10992 22.เชียงใหม่1 23.เชียงใหม่2 24.GC2679 25.นครสวรรค์1 26.เชียงใหม่3 27.ไข่แมงทอง 28.#8407 29.สุโขทัย2 30.สจ.5

ภาพที่ 4.27 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรากของผักกาดหัว (อิทธิพลของสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลือง) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



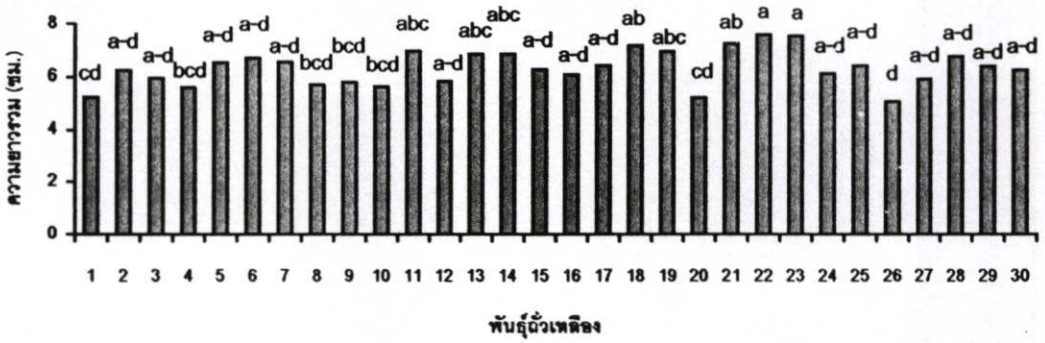
ภาพที่ 4.28 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรากของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

ส่วนผลต่อน้ำหนักแห้งพบว่า สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่3 มีผลให้น้ำหนักแห้งลดลงมากที่สุด รองลงมาคือ GC4637 สุโขทัย3 และสุโขทัย1 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.31) น้ำหนักของต้นกล้าลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อความเข้มข้นเพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 4.32) ในด้านอิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยทั้งสองพบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์สจ.4 มีผลให้น้ำหนักแห้งลดลงมากที่สุด รองลงมาคือเชียงใหม่3

ตารางที่ 4.14 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ต่อความยาวรากของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้นของสารสกัด)

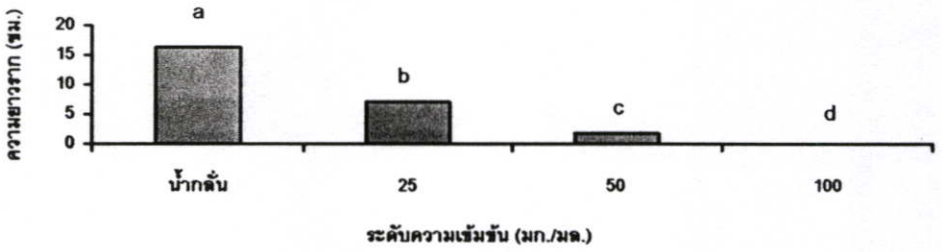
พันธุ์ถั่วเหลือง	ความยาวราก (ซม.)[ν]			
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	น้ำกลั่น	25	50	100
เชียงใหม่ 60	11.47	2.30	0	0
GC 10848	11.47	4.40	0	0
GC10981	11.47	3.50	0	0
สุโขทัย3	11.47	2.80	0	0
สจ.2	11.47	3.14	1.44	0.17
จักรพันธุ์1	11.47	4.11	1.47	0
GC3318	11.47	3.76	0.85	0
สจ.4	11.47	2.47	1.14	0
มข.35	11.47	2.74	0.76	0
GC4637	11.47	2.25	0.18	0
GC11101	11.47	4.05	1.41	0
GC7231	11.47	3.75	0.07	0
GC4120	11.47	3.61	2.08	0
KUSL20004	11.47	4.81	1.07	0
GC9822	11.47	4.15	0.08	0
PK462	11.47	2.74	0.84	0
สจ.1	11.47	3.79	0.57	0
GC2796	11.47	4.42	1.82	0
เชียงใหม่4	11.47	5.53	0.42	0
สุโขทัย1	11.47	1.98	0.07	0
GC10992	11.47	4.56	0.97	0
เชียงใหม่1	11.47	5.17	1.84	0
เชียงใหม่2	11.47	5.67	1.56	0
GC2679	11.47	3.81	0.38	0
นครสวรรค์1	11.47	3.35	1.15	0
เชียงใหม่3	11.47	1.64	0.17	0
ไข่แมงทอง	11.47	3.78	0	0
#8407	11.47	5.61	1.22	0
สุโขทัย2	11.47	4.18	0.44	0
สจ.5	11.47	4.05	0.18	0
C.V. (%)	29.34			

[ν] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



1.เชียงใหม่60 2.GC10848 3.GC10981 4.สุโขทัย3 5.สจ.2 6.จักรพันธุ์1 7.GC3318 8.สจ.4 9.มข.35 10.GC4637 11.GC11101 12.GC7231 13.GC4120 14.KUSL20004 15.GC9822 16.PK462 17.สจ.1 18.GC2796 19.เชียงใหม่4 20.สุโขทัย1 21.GC10992 22.เชียงใหม่1 23.เชียงใหม่2 24.GC2679 25.นครสวรรค์1 26.เชียงใหม่3 27.ไข่แมงทอง 28.#8407 29.สุโขทัย2 30.สจ.5

ภาพที่ 4.29 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรวมของผักกาดหัว (อิทธิพลของสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลือง) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



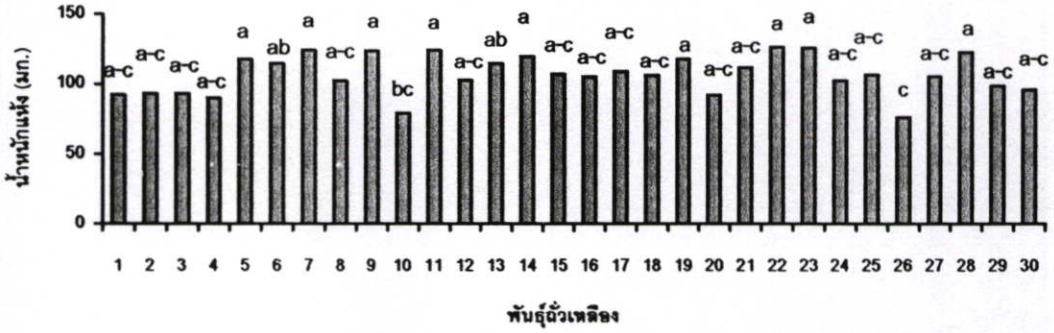
ภาพที่ 4.30 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อความยาวรวมของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

GC4637 และสุโขทัย1 ซึ่งทำให้น้ำหนักแห้งลดลง 66.69 65.09 59.80 และ 45.40 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น ส่วนสารสกัดจากสายพันธุ์เชียงใหม่4 มีผลให้น้ำหนักแห้งลดลงน้อยที่สุด รองลงมาได้แก่ KUSL20004 จักรพันธุ์1 และ GC3318 โดยทำให้น้ำหนักแห้งลดลง 1.06 10.77 10.99 และ 11.62 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับการเพาะด้วยน้ำกลั่น (ตารางที่ 4.16)

ตารางที่ 4.15 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ต่อความยาวรวมของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้นของสารสกัด)

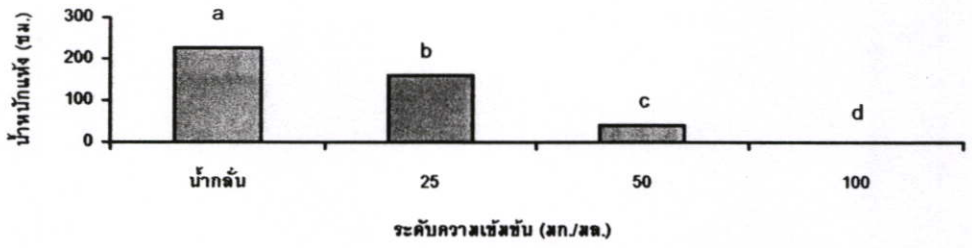
พันธุ์ถั่วเหลือง	ความยาวรวม (ซม.)[1/]			
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	น้ำกลั่น	25	50	100
เชียงใหม่ 60	16.39	4.57	0	0
GC 10848	16.39	8.64	0	0
GC10981	16.39	6.50	0	0
สุโขทัย3	16.39	4.96	0	0
สจ.2	16.39	6.32	3.13	0.3
จักรพันธุ์1	16.39	7.35	3.17	0
GC3318	16.39	7.36	2.51	0
สจ.4	16.39	4.79	1.14	0
มข.35	16.39	4.96	2.87	0
GC4637	16.39	5.62	0.65	0
GC11101	16.39	8.09	3.45	0
GC7231	16.39	6.86	0.20	0
GC4120	16.39	6.53	4.56	0
KUSL20004	16.39	9.00	2.50	0
GC9822	16.39	7.70	1.02	0
PK462	16.39	5.66	2.26	0
สจ.1	16.39	8.04	1.28	0
GC2796	16.39	7.98	4.30	0
เชียงใหม่4	16.39	9.49	1.21	0
สุโขทัย1	16.39	4.28	0.20	0
GC10992	16.39	8.57	2.53	0
เชียงใหม่1	16.39	10.02	3.95	0
เชียงใหม่2	16.39	9.99	3.74	0
GC2679	16.39	7.33	0.78	0
นครสวรรค์1	16.39	6.43	2.46	0.5
เชียงใหม่3	16.39	3.49	0.43	0
ไข่แมงทอง	16.39	7.31	0	0
#8407	16.39	9.49	2.74	0
สุโขทัย2	16.39	7.61	1.62	0
สจ.5	16.39	7.47	1.15	0
C.V. (%)	28.08			

[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



1.เชียงใหม่60 2.GC10848 3.GC10981 4.สุโขทัย3 5.สจ.2 6.จักรพันธุ์1 7.GC3318 8.สจ.4 9.มข.35 10.GC4637 11.GC11101 12.GC7231 13.GC4120 14.KUSL20004 15.GC9822 16.PK462 17.สจ.1 18.GC2796 19.เชียงใหม่4 20.สุโขทัย1 21.GC10992 22.เชียงใหม่1 23.เชียงใหม่2 24.GC2679 25.นครสวรรค์1 26.เชียงใหม่3 27.ไข่แมงทอง 28.#8407 29.สุโขทัย2 30.สจ.5

ภาพที่ 4.31 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อน้ำหนักแห้งของผักกาดหัว (อิทธิพลของสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลือง) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)



ภาพที่ 4.32 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ต่อน้ำหนักแห้งของผักกาดหัว (อิทธิพลของระดับความเข้มข้นของสารสกัด) ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

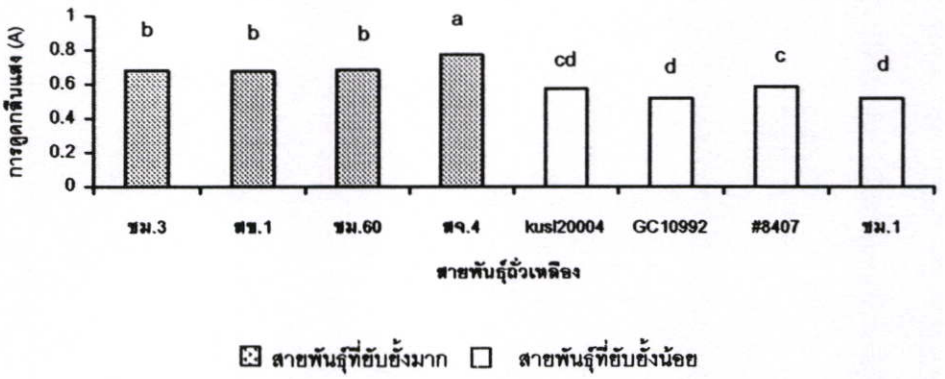
ตารางที่ 4.16 ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ต่อน้ำหนักแห้งของผักกาดหัว 5 วันหลังการเพาะ (อิทธิพลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารสกัดจากสายพันธุ์ถั่วเหลืองและระดับความเข้มข้นของสารสกัด)

พันธุ์ถั่วเหลือง	ความยาวรวม (ซม.)[1/]			
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)			
	น้ำกลั่น	25	50	100
เชียงใหม่ 60	227.27 a	143.63 cdefghij	0 s	0 s
GC 10848	227.27 a	148.13 cdefghi	0 s	0 s
GC10981	227.27 a	75.70 jklmnopqr	0 s	0 s
สุโขทัย3	227.27 a	135.83 cdefghijkl	0 s	0 s
สจ.2	227.27 a	199.13 abc	46.33 opqrs	0 s
จักรพันธุ์1	227.27 a	202.30 abc	30.33 qrs	0 s
GC3318	227.27 a	200.87 abc	70.10 lmnopqrs	0 s
สจ.4	227.27 a	183.67 abcde	72.43 klmnopqr	0 s
มข.35	227.27 a	153.83 bcdefgh	114.90 efghijklmno	0 s
GC4637	227.27 a	91.37 hijklmnopq	0 s	0 s
GC11101	227.27 a	169.87 abcdefg	101.50 ghijklmnop	0 s
GC7231	227.27 a	185.50 abcde	0 s	0 s
GC4120	227.27 a	174.77 abcdef	58.90 mnopqrs	0 s
KUSL20004	227.27 a	202.80 abc	50.10 nopqrs	0 s
GC9822	227.27 a	182.03 abcdef	20.10 qrs	0 s
PK462	227.27 a	140.00 cdefghijk	53.77 nopqrs	0 s
สจ.1	227.27 a	177.57 abcdef	31.57 pqrs	0 s
GC2796	227.27 a	137.67 cdefghijkl	60.47 mnopqrs	0 s
เชียงใหม่4	227.27 a	224.87 ab	20.97 qrs	0 s
สุโขทัย1	227.27 a	124.13 defghijklm	19.00 rs	0 s
GC10992	227.27 a	172.97 abcdef	47.87 nopqrs	0 s
เชียงใหม่1	227.27 a	168.40 abcdefg	110.60 fghijklmno	0 s
เชียงใหม่2	227.27 a	160.00 abcdefgh	117.13 efghijklmn	0 s
GC2679	227.27 a	165.03 abcdefg	20.03 qrs	0 s
นครสวรรค์1	227.27 a	134.73 cdefghijkl	57.77 mnopqrs	8.00 rs
เชียงใหม่3	227.27 a	79.33 ijklmnopqr	0 s	0 s
ไข่แมงทอง	227.27 a	195.60 abcd	0 s	0 s
#8407	227.27 a	192.50 abcd	71.17 lmnopqrs	0 s
สุโขทัย2	227.27 a	133.80 cdefghijkl	33.53 pqrs	0 s
สจ.5	227.27 a	142.00 cdefghijk	14.83 rs	0 s
C.V. (%)	33.47			

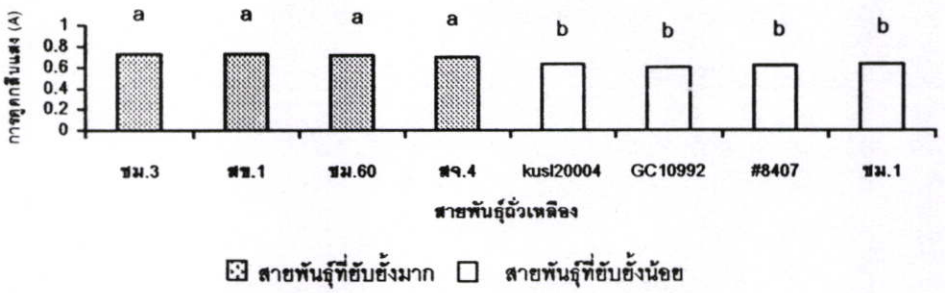
[1/] ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 3 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05)

4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาความสัมพันธ์ของการผลิตสารเฟลโวนอยด์ในใบถั่วเหลืองและผลทางด้านอัลลีโลพาทีโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง

จากการทดลองที่ 1.2 นำสารสกัดจากใบแห้งของถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือก 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ให้ผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบมากที่สุด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ เชียงใหม่3 สุโขทัย1 เชียงใหม่60 และสจ.4 และสายพันธุ์ถั่วเหลืองกลุ่มที่ให้ผลการยับยั้งน้อยที่สุด 4 สายพันธุ์ได้แก่ KUSL20004 GC10992 #8407 และเชียงใหม่1 มาศึกษาความสัมพันธ์ของการผลิตสารเฟลโวนอยด์และผลด้านอัลลีโลพาทีของสารสกัดจากใบ โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ ซึ่งสารแคลโคน ออโรน เฟลวาโนน และไอโซเฟลโวนอยด์ ใช้ระดับความเข้มข้นของสารสกัด 10.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารเฟลโวน เฟลโวนอล แอนโธไซยานิน และแทนนิน ใช้ระดับความเข้มข้น 20.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลปรากฏว่าสารสกัดจากใบถั่วเหลืองกลุ่มของสายพันธุ์ที่ให้ผลการยับยั้งพืชทดสอบมาก มีค่าการดูดกลืนแสงของสารแคลโคนไอโซไลเควอริทิเจนิน มากกว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.33) ในทำนองเดียวกันค่าการดูดกลืนแสงของสารออโรนซัลฟูเรติน ในสารสกัดจากใบถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งมากทุกสายพันธุ์มีค่ามากกว่าในถั่วเหลืองทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่ให้ผลยับยั้งน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.34)

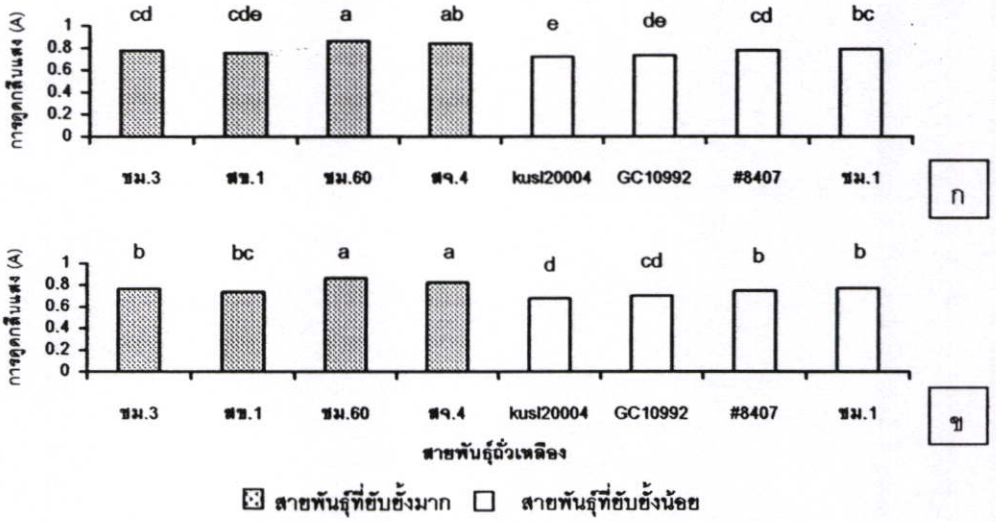


ภาพที่ 4.33 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารแคลโคนไอโซไลเควอริทิเจนิน ในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ที่ 372 นาโนเมตร โดยใช้ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05) C.V. = 6.07%



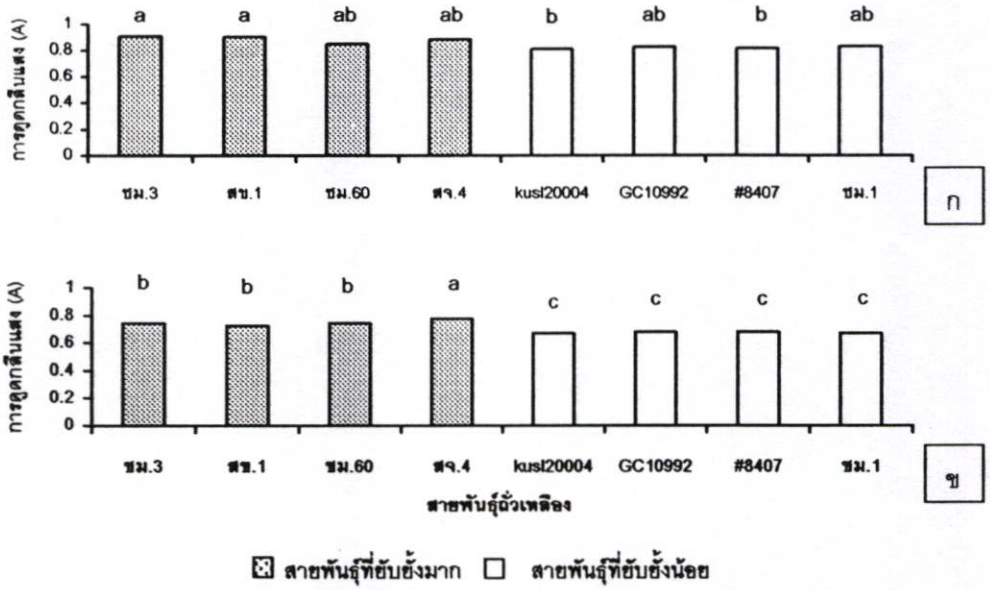
ภาพที่ 4.34 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารออโรนซัลฟูเรตินในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ที่ 399 นาโนเมตร โดยใช้ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05) C.V. = 3.41%

สำหรับสารกลุ่มเฟลวาโนน ปรากฏว่าสารสกัดจากสายพันธุ์เชียงใหม่60 มีค่าการดูดกลืนแสงของสารนาริงจินินมากที่สุด แต่ไม่แตกต่างจากสายพันธุ์สจ.4 ทางสถิติ ในขณะที่สายพันธุ์ KUSL20004 มีค่าการดูดกลืนแสงน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.35 ก.) ส่วนสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่60 และสจ.4 มีค่าการดูดกลืนแสงของสารเฮสเพอริตินมากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่สายพันธุ์KUSL20004 มีค่าการดูดกลืนแสงน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.35 ข.)



ภาพที่ 4.35 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเฟลวาโนนในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก. สารนาริงจินินที่ 330 นาโนเมตร ข. สารเฮสเพอริตินที่ 300 นาโนเมตร ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05) C.V. ก = 3.93% และ ข = 3.11%

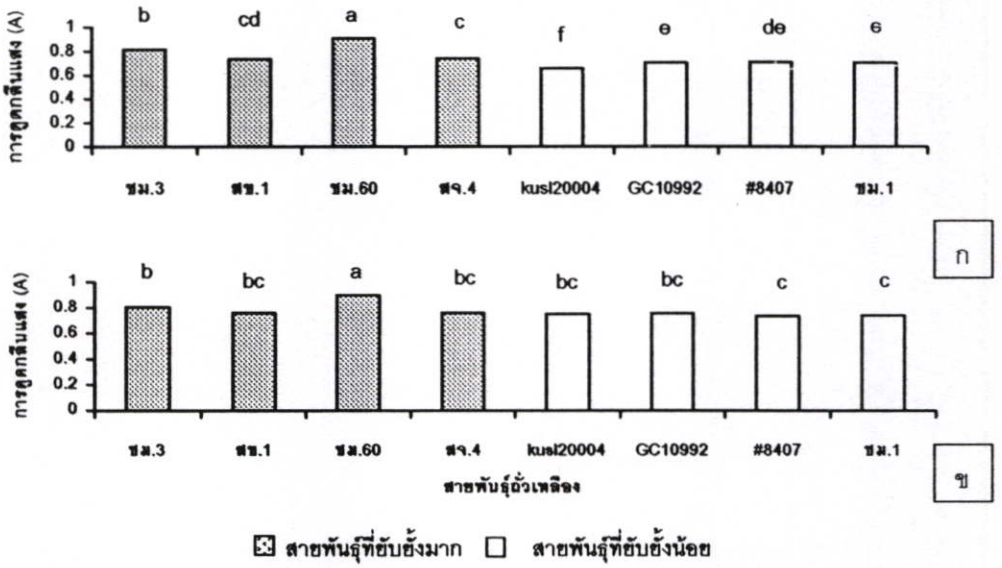
การดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มเฟลโวนพบว่า สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งมาก มีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าสารสกัดจากสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งน้อยเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่ามีเพียงค่าการดูดกลืนแสงของสารลูทิโอลินในสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่3 และสุโขทัย1 ที่มีค่ามากกว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองสายพันธุ์ KUSL20004 และ #8407 อย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4.36 ก.) ส่วนในสารอะพิจินิน ปรากฏว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งมากทั้ง 4 สายพันธุ์ มีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสายพันธุ์สจ.4 มีค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด รองลงมาคือเชียงใหม่3 สุโขทัย1 และเชียงใหม่60 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.36 ข.)



ภาพที่ 4.36 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเฟลโวนในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก. สารลูทิโอลินที่ 350 นาโนเมตร ข. สารอะพิจินินที่ 336 นาโนเมตร ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT ($p=0.05$) C.V. ก = 5.12% และ ข = 2.19%

ในทำนองเดียวกัน สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่มีผลยับยั้งมาก มีค่าการดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มไอโซเฟลโวนอยด์มากกว่าสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งน้อย โดยพบว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งมากมีค่าการดูดกลืนแสงของสารเดียดซีนมากกว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองในกลุ่มที่มีผลยับยั้งน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งในถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่60 ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากที่สุด รองลงมาได้แก่สายพันธุ์เชียงใหม่3 ขณะที่ในสายพันธุ์KUSL20004 มีค่าการดูดกลืนแสงน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.37 ก.) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสาย

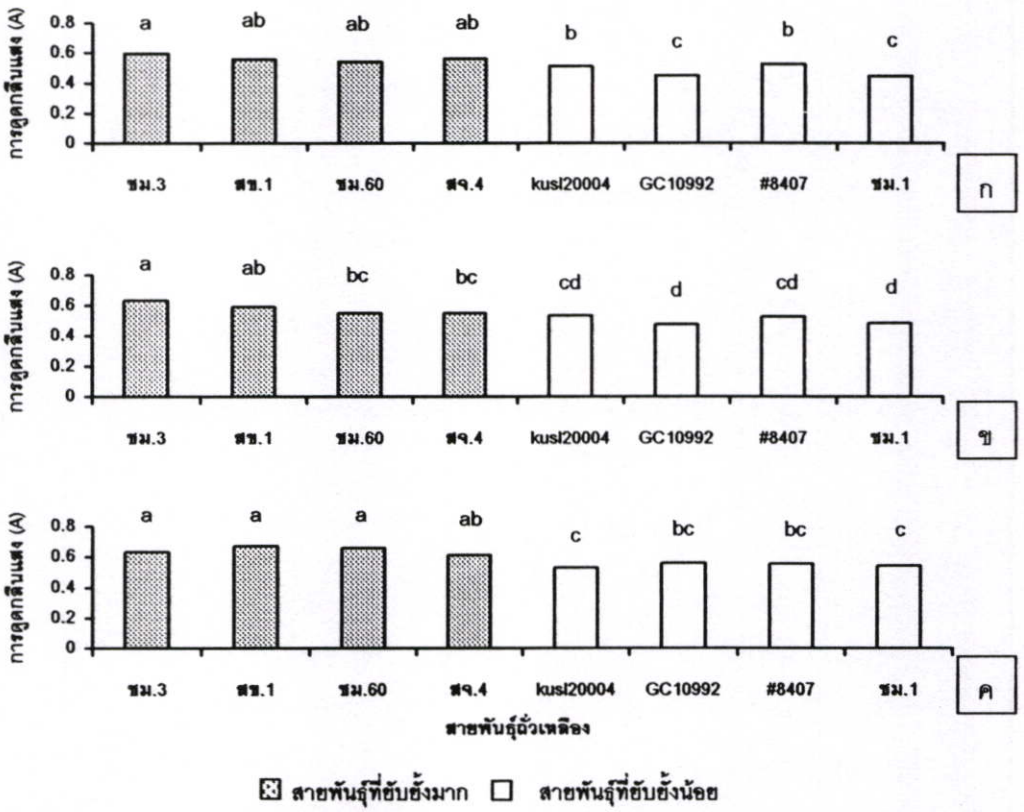
พันธุ์เชียงใหม่60 ให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารจีนิสทีนมากกว่าถั่วเหลืองทุกสายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือสายพันธุ์เชียงใหม่3 ส่วนสารสกัดจากสายพันธุ์ #8407 และเชียงใหม่1 มีค่าการดูดกลืนแสงน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.37 ข.)



ภาพที่ 4.37 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารไอโซเฟลโวนอยด์ในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก. สารเดียดซีนที่ 302 นาโนเมตร ข. สารจีนิสทีนที่ 325 นาโนเมตร ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05) C.V. ก = 2.02% และ ข = 4.02%

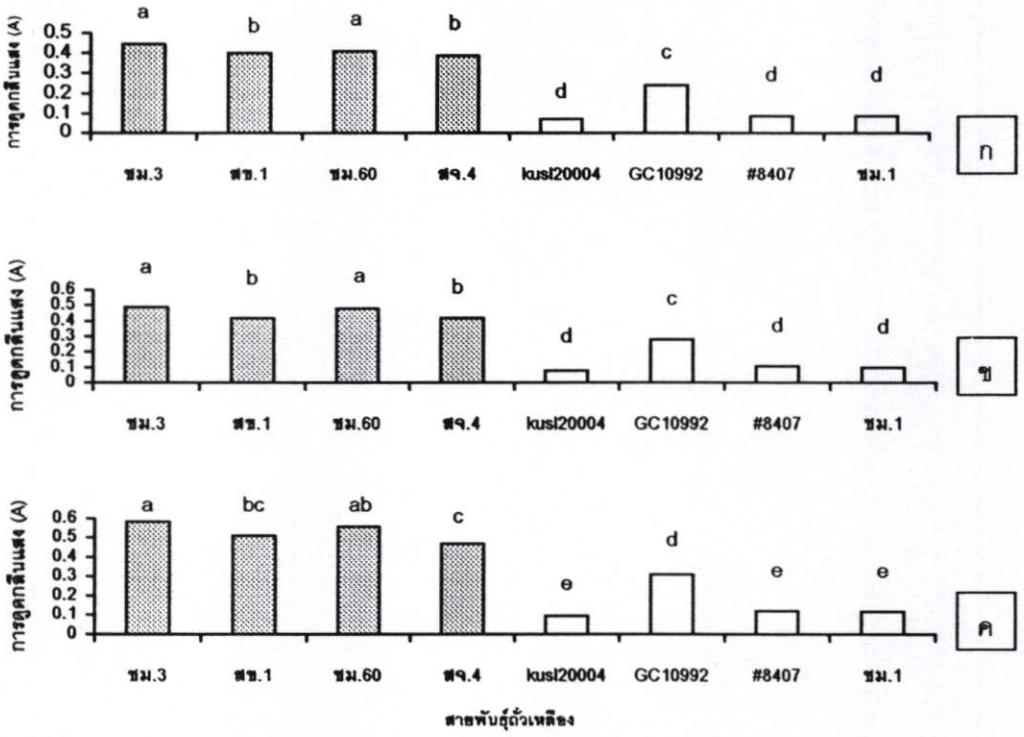
ส่วนในการศึกษาสารกลุ่มเฟลโวนอล ปรากฏว่าสารสกัดจากใบถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งมากมีค่าการดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มนี้มากกว่าสารสกัดจากสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งน้อย โดยสารสกัดจากสายพันธุ์เชียงใหม่3 ให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารเมริเซตินมากกว่าสารสกัดจากทุกสายพันธุ์ ขณะที่ค่าการดูดกลืนแสงของสายพันธุ์เชียงใหม่60 สุโขทัย1 และสจ.4 ให้ผลไม่แตกต่างทางสถิติจากสายพันธุ์ KUSL20004 และ #8407 ส่วนสายพันธุ์เชียงใหม่1 และ GC10992 ให้ค่าการดูดกลืนแสงน้อยที่สุดซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากสายพันธุ์อื่นๆ (ภาพที่ 4.38 ก.) ในลักษณะที่คล้ายกันสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่3 ให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารเควอเซตินมากที่สุดซึ่งมากกว่าสารสกัดจากพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นสายพันธุ์สุโขทัย1 ขณะที่สารสกัดจากสายพันธุ์เชียงใหม่60 และสจ.4 ให้ค่าการดูดกลืนแสงใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างทางสถิติจากสายพันธุ์ KUSL20004 และ #8407 ส่วนสายพันธุ์เชียงใหม่1 และ GC10992 ให้ค่าการดูดกลืนแสงน้อยที่สุด (ภาพที่ 4.38 ข.) ในส่วนของการดูดกลืนแสงของสารเคเอ็มเฟอรอล ปรากฏ

ว่าสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งมากคือสายพันธุ์เชียงใหม่3 เชียงใหม่60 และสุโขทัย1 ให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าสารสกัดจากสายพันธุ์ที่ให้ผลยับยั้งน้อยคือสายพันธุ์ KUSL20004 GC10992 #8407 และเชียงใหม่1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.38 ค.)

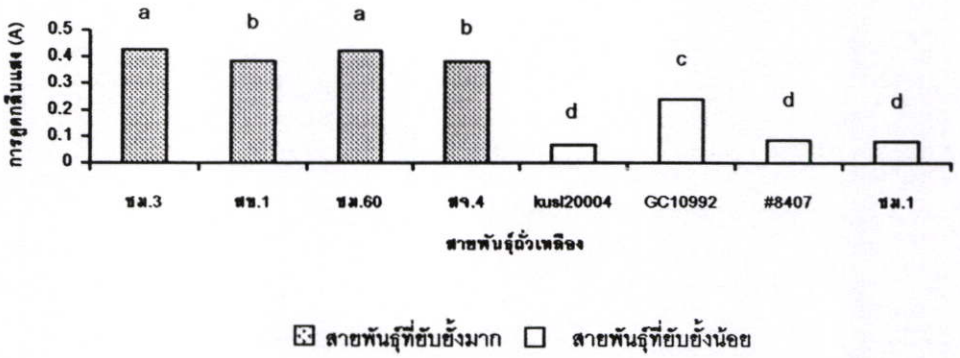


ภาพที่ 4.38 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารเฟลโวนอลในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก. สารเมริเซตินที่ 378 นาโนเมตร ข. สารเควอเซตินที่ 374 นาโนเมตร ค. สารเคเอ็มเฟอรอลที่ 368 นาโนเมตร ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05) C.V. ก = 6.42% ข = 5.91% และ ค = 6.57%

สำหรับการดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มแอนโธไซยานิน ปรากฏว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองในกลุ่มที่ให้ผลยับยั้งมากทั้ง 4 สายพันธุ์ให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารเดลฟินิดิน ไซยานิดินและเพลาโกนิดิน มากกว่าสารสกัดจากใบถั่วเหลือง 4 สายพันธุ์ที่ให้ผลการยับยั้งน้อย อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.39 ก. ข และค.) ในทำนองเดียวกันพบว่าสารสกัดจากใบถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งมากทุกสายพันธุ์ มีค่าการดูดกลืนแสงของสารกัลโลแทนนินมากกว่าถั่วเหลืองที่ให้ผลการยับยั้งน้อยทั้ง 4 สายพันธุ์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 4.40)



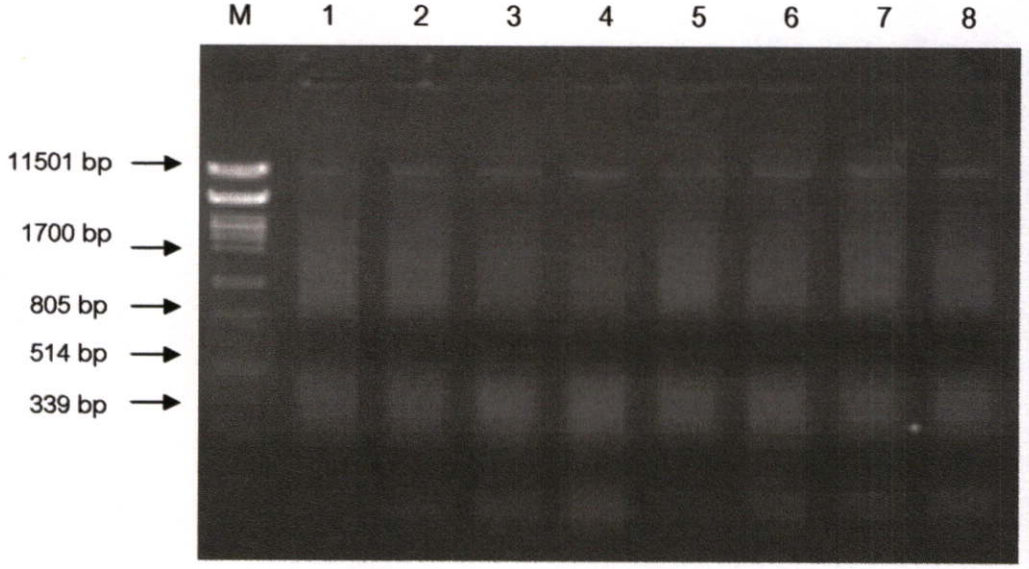
ภาพที่ 4.39 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารแอนโธไซยานินในสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ก. สารเดลฟินิดินที่ 546 นาโนเมตร ข. สารไซยานิดินที่ 535 นาโนเมตร ค. สารเพลาโกนิดินที่ 520 นาโนเมตร ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05) C.V. ก = 6.06% ข = 8.13% และ ค = 13.68%



ภาพที่ 4.40 ผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารกัลโลแทนนิน สารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ที่ 550 นาโนเมตร โดยใช้ระดับความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าเฉลี่ยจากจำนวน 5 ซ้ำ ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยโดย DMRT (p=0.05) C.V. = 6.07%

4.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์โดยวิธี RT-PCR

การสังเคราะห์ cDNA จากอาร์เอ็นเอรวมที่สกัดจากใบอ่อนถั่วเหลืองทั้ง 8 สายพันธุ์ พบว่า cDNA ที่ได้มีคุณภาพดี (ภาพที่ 4.41) ซึ่งนำไปใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 4.41 cDNA ของถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์ (M) = ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1) สายพันธุ์เชียงใหม่3 (2) สายพันธุ์สุโขทัย1 (3) สายพันธุ์เชียงใหม่60 (4) สายพันธุ์สจ.4 (5) สายพันธุ์ KUSL20004 (6) สายพันธุ์GC10992 (7) สายพันธุ์ #8407 (8) สายพันธุ์เชียงใหม่1

4.3.1 การศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างในการแสดงออกของยีน *CHS* ในใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์

จากผลการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของยีน *CHS* ในใบถั่วเหลืองทั้ง 8 สายพันธุ์ ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ปรากฏว่าทั้งหมดให้ผลผลิตที่ตำแหน่งประมาณ 867 bp โดยแต่ละสายพันธุ์มีความเข้มของแถบที่ได้แตกต่างกัน แสดงว่ามีการแสดงออกที่แตกต่างกันด้วย เมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของแต่ละสายพันธุ์ พบว่าในกลุ่มของถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งมากมีเปอร์เซ็นต์การแสดงออกมากกว่าถั่วเหลืองที่ให้ผลการยับยั้งน้อยกว่า (ภาพที่ 4.42 ก.) โดยถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่60 มีการแสดงออกมากที่สุด 99.68 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่สายพันธุ์สจ.4 เชียงใหม่3 และสุโขทัย1 ซึ่งมีการแสดงออก 97.49 93.84 และ 85.57 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ขณะที่ถั่วเหลืองสายพันธุ์#8407 GC10992 KUSL20004 และ เชียงใหม่1 ที่ให้ผลยับยั้งน้อยมีการแสดงออก 28.51 32.08 39.05 และ 41.30 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ที่

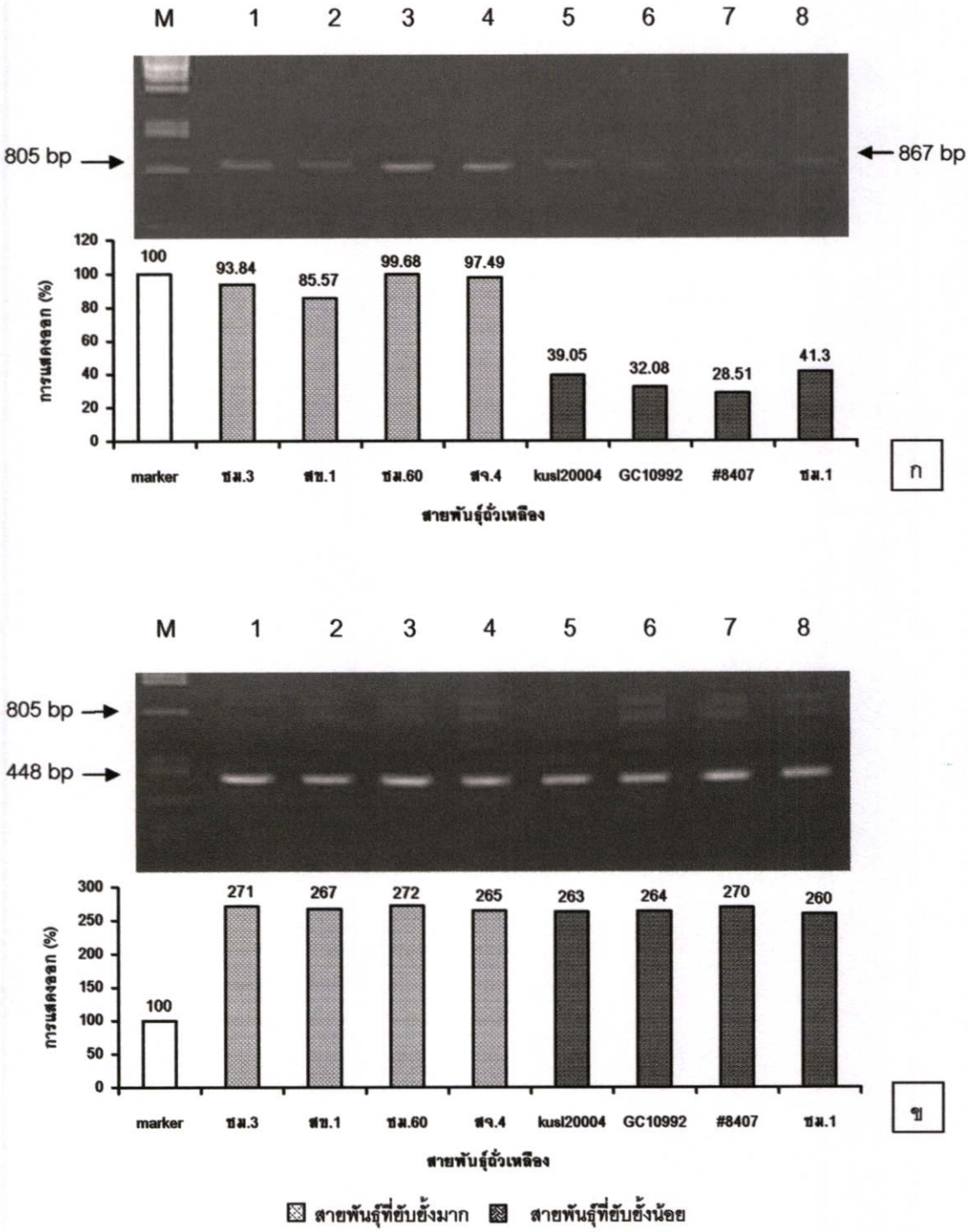
ตำแหน่ง 805 bp และปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นที่ใช้ในปฏิกิริยาเท่ากัน เปรียบเทียบโดยผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์และเปอร์เซ็นต์การแสดงออกของยีน *actin* (ภาพที่ 4.42 ข.)

4.3.2 การศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างในการแสดงออกของยีน *FLS* ในใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์

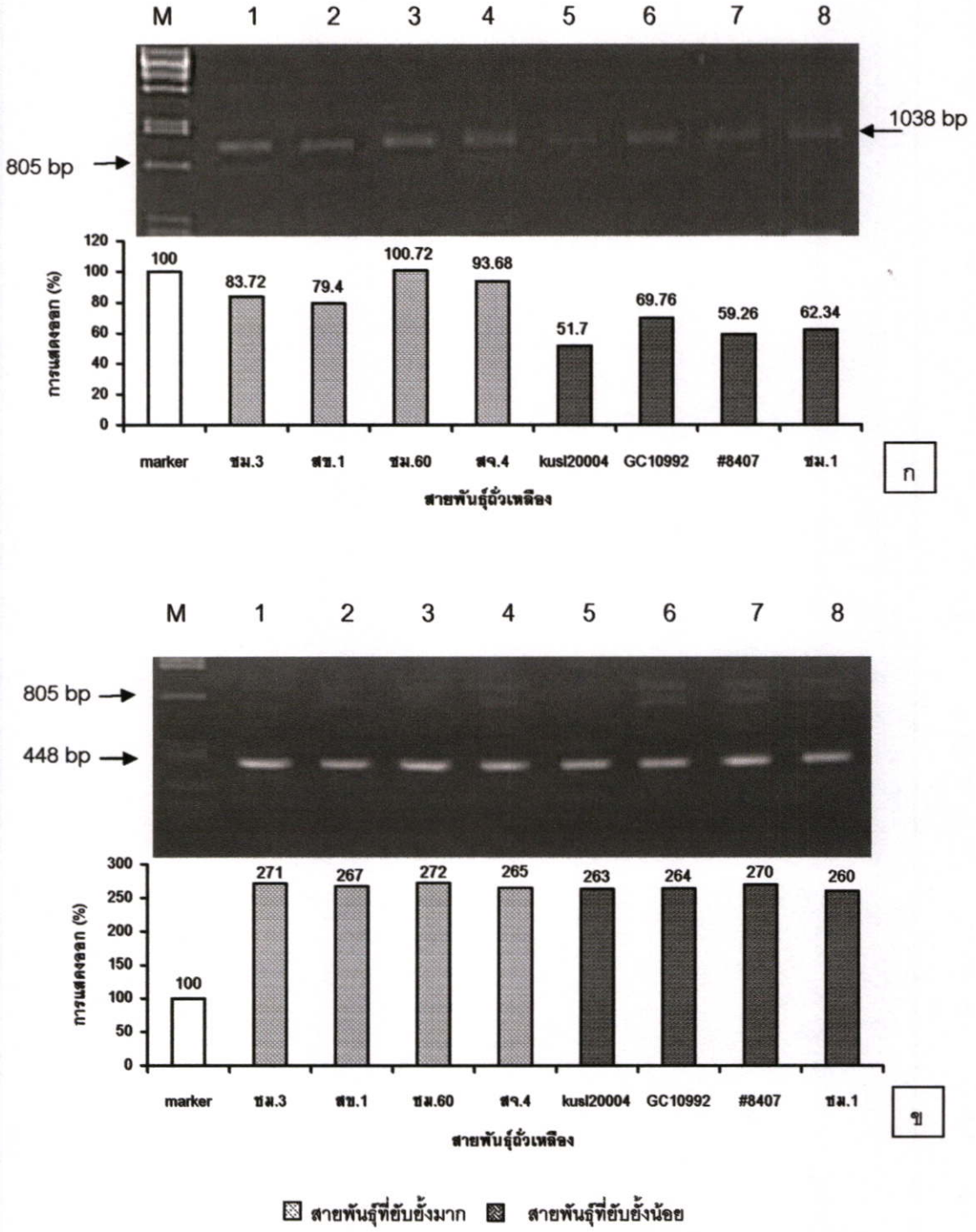
สำหรับการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบขึ้นสำหรับยีน *FLS* พบว่าไม่ปรากฏแถบของผลผลิตพีซีอาร์จากยีน *FLS*

4.3.3 การศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างในการแสดงออกของยีน *DFR* ในใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์

จากผลการเพิ่มปริมาณยีน *DFR* ในใบถั่วเหลืองทั้ง 8 สายพันธุ์ ปรากฏว่าทั้งหมดให้ผลผลิตที่ตำแหน่งประมาณ 1038 bp ซึ่งความเข้มของแถบที่ได้แสดงว่าแต่ละสายพันธุ์มีการแสดงออกที่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบการแสดงออกของแต่ละสายพันธุ์ พบว่าในกลุ่มของถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งมากมีเปอร์เซ็นต์การแสดงออกมากกว่าถั่วเหลืองที่ให้ผลการยับยั้งน้อยกว่า (ภาพที่ 4.43 ก.) โดยถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่60 มีการแสดงออกมากที่สุด 100.72 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่ สายพันธุ์สจ.4 เชียงใหม่3 และสุโขทัย1 ซึ่งมีการแสดงออก 93.68 83.72 และ 79.40 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ขณะที่ถั่วเหลืองสายพันธุ์ KUSL20004 #8407 เชียงใหม่1และ GC10992 ที่ให้ผลยับยั้งน้อยมีการแสดงออก 51.70 59.26 62.34 และ 69.76 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน ที่ตำแหน่ง 805 bp และปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นที่ใช้ในปฏิกิริยาเท่ากัน เปรียบเทียบโดยผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ของยีน *actin* (ภาพที่ 4.43 ข.)



ภาพที่ 4.42 ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์และการแสดงออกจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์โดยใช้ ก. ไพรเมอร์สำหรับเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *CHS* ข. ไพรเมอร์สำหรับเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *actin* (M) ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1) สายพันธุ์เชียงใหม่3 (2) สายพันธุ์สุโขทัย1 (3) สายพันธุ์เชียงใหม่60 (4) สายพันธุ์ สจ.4 (5) สายพันธุ์ KUSL20004 (6) สายพันธุ์ GC10992 (7) สายพันธุ์ #8407 (8) สายพันธุ์เชียงใหม่1



ภาพที่ 4.43 ดีเอ็นเอที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์และการแสดงออกจากใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์โดยใช้ ก. ไพรเมอร์สำหรับเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *DFR* ข. ไพรเมอร์สำหรับเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *actin* (M) ดีเอ็นเอมาตรฐาน (1) สายพันธุ์เชียงใหม่3 (2) สายพันธุ์สุโขทัย1 (3) สายพันธุ์เชียงใหม่60 (4) สายพันธุ์ สจ.4 (5) สายพันธุ์ KUSL20004 (6) สายพันธุ์ GC10992 (7) สายพันธุ์ #8407 (8) สายพันธุ์เชียงใหม่1

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่าง ๆ ของถั่วเหลืองจำนวน 4 สายพันธุ์ ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัว

การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลือง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ มข.35 นครสวรรค์1 เชียงใหม่4 และ GC10981 ที่ระดับความเข้มข้น 12.5 25 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัว โดยใช้น้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ พบว่าสารสกัดจากส่วนใบสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้มากกว่าสารสกัดจาก ต้น ราก และรวมทุกส่วนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้การงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบถูกยับยั้งมากยิ่งขึ้น

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารอัลลีโลพาทีในส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองมีปริมาณที่แตกต่างกัน ซึ่ง An *et al.* (1998) กล่าวว่าสารอัลลีโลพาทีปรากฏอยู่ในทุกส่วนของพืชไม่ว่าจะเป็น ใบ ดอก ผล ลำต้น ราก เหง้า เมล็ดและเกสรของดอก และในแต่ละส่วนของพืชก็จะมีปริมาณของสารแตกต่างกัน ซึ่งการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานการวิจัยในพืชอื่นๆ เช่น Turk and Tawaha (2003) รายงานว่าสารสกัดด้วยน้ำจากชิ้นส่วนใบ ดอก ต้น ราก และส่วนผสมจากทุกส่วนของผักกาดฝรั่ง ยับยั้งการงอก ความยาวรากและน้ำหนักของต้นกล้าข้าวโอ๊ตป่า โดยส่วนที่ยับยั้งมากที่สุดคือใบ รองลงมาคือส่วนผสมจากทุกส่วน ดอก ต้นและราก ตามลำดับ การเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารมีผลทำให้การยับยั้งสูงขึ้น เช่นเดียวกับการทดสอบสารสกัดในพุทธชาติก้านแดง (ดารารัตน์ มณีจันทร์. 2547) ข้าว (Ebana *et al.*, 2001) ข้าวสาลี (Oueslati. 2003) ถั่วท่าพระสไตโล และ Japanese pagoda tree (Khanh *et al.*, 2005) ซึ่งล้วนแต่พบว่าสารสกัดจากส่วนของใบให้ผลยับยั้งมากกว่าส่วนอื่นๆ ของพืชที่ใช้ในการทดสอบ และผลการยับยั้งจะมากขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้น

5.2 การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้งและผักกาดหัว

การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบของถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 25 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้งและผักกาดหัว โดยใช้น้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ ซึ่งพบว่าสารสกัดจากใบถั่วเหลือง

แต่ละสายพันธุ์ให้ผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้แตกต่างกัน ซึ่งสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ ที่สามารถยับยั้งการงอกของผักกวางตุ้งได้มากที่สุดได้แก่ สุโขทัย1 รองลงมาคือ สจ.4 ไข่แมงทอง เชียงใหม่60 และ เชียงใหม่3 ส่วนสายพันธุ์ที่ยับยั้งความยาวต้นได้มากที่สุดได้แก่ ไข่แมงทอง รองลงมาคือ สุโขทัย1 สจ.4 และเชียงใหม่3 ขณะที่สายพันธุ์เชียงใหม่60 GC4637 และสุโขทัย1 ยับยั้งความยาวรากได้มากที่สุด รองลงมาคือ สจ.4 และเชียงใหม่3 ในส่วนของความยาวรวม สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ไข่แมงทองยับยั้งได้มากที่สุด รองลงมาคือ สุโขทัย1และสจ.4 เชียงใหม่3 และ GC4637 สำหรับผลต่อน้ำหนักแห้งปรากฏว่า สารสกัดจากถั่วเหลืองสายพันธุ์สุโขทัย1 มีผลให้ต้นกล้ามีน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด รองลงมาได้แก่ สายพันธุ์ไข่แมงทอง สุโขทัย2 และ GC10848 การใช้สารสกัดตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป สามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้งได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัว พบว่าสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์GC4637 สามารถยับยั้งการงอกของเมล็ดผักกาดหัวได้มากที่สุด รองลงมาได้แก่สายพันธุ์เชียงใหม่3 สุโขทัย1 สจ.4 และ เชียงใหม่60 ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่3 ยับยั้งความยาวต้นกล้าผักกาดหัวได้มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากสายพันธุ์เชียงใหม่60 สุโขทัย1 และสจ.4 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากทุกสายพันธุ์ให้ผลต่อความยาวรากผักกาดหัวไม่แตกต่างกัน ส่วนผลต่อความยาวรวมปรากฏว่าสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่3 ยับยั้งความยาวรวมต้นกล้าผักกาดหัวได้มากที่สุด รองลงมาคือสายพันธุ์สุโขทัย1 เชียงใหม่60 และสุโขทัย3 ตามลำดับ การงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัวถูกยับยั้งได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อใช้สารสกัดตั้งแต่ 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรขึ้นไป

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าถั่วเหลืองแต่ละสายพันธุ์มีศักยภาพทางด้านอัลลีโลพาทีแตกต่างกัน ซึ่งอาจเกิดจากการที่ถั่วเหลืองแต่ละสายพันธุ์มีการผลิตและสะสมสารที่มีผลทางด้านอัลลีโลพาทีในปริมาณที่ไม่เท่ากัน ดังเช่นที่ Xuan *et al.* (2005) กล่าวว่าสารอัลลีโลพาทีหลายๆ ชนิดจะสะสมอยู่ในพืชในปริมาณที่แตกต่างกัน ในพืชชนิดเดียวกันก็มีปริมาณสารที่แตกต่างกัน และแม้แต่พืชชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์ก็มีปริมาณสารที่แตกต่างกันด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ จรรยา มณีโชติ และประทีป กระแสสินธุ์ (2543) ที่ทำการศึกษาศักยภาพของข้าวไร่จำนวน 569 สายพันธุ์ พบว่ามีข้าวไร่จำนวน 4เปอร์เซ็นต์ ของประชากรข้าวทั้งหมด ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของผักกาดหอมได้ 50-75 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่มีข้าวเพียง 0.2 เปอร์เซ็นต์ ที่สามารถลดการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกได้ 50-75 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ Wu *et al.* (2002) รายงานว่าข้าวสาลี จำนวน 58 สายพันธุ์ให้ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของราก annual ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.) แตกต่างกันตั้งแต่ 10 ถึง 91 เปอร์เซ็นต์ ส่วน Chon *et al.* (2005) พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบผักกาดหอม 4 สายพันธุ์แสดงผลการยับยั้งได้

แตกต่างกัน ซึ่งสารสกัดจากใบของสายพันธุ์ cheongchima สามารถยับยั้งความยาวรากถั่วอัลฟัลฟาได้มากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ

จากการประมวลผลโดยรวมเพื่อเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ พบว่า สารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองที่ให้ผลด้านอัลลีโลพาทีสูงจำนวน 4 สายพันธุ์ คือ เชียงใหม่3 สุโขทัย1 เชียงใหม่60 และ สจ.4 และสารสกัดด้วยน้ำที่ให้ผลด้านอัลลีโลพาทีต่ำจำนวน 4 สายพันธุ์คือ KUSL20004 GC10992 #8407 และ เชียงใหม่1

5.3 การศึกษาความสัมพันธ์ของการผลิตสารเฟลโวนอยด์ในใบถั่วเหลืองและผลทางด้านอัลลีโลพาทีโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง

ในการศึกษาปริมาณของสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์ โดยใช้วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นจำเพาะของสารแต่ละชนิด จากสารสกัดด้วยน้ำของใบถั่วเหลืองที่ให้ผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบมากที่สุด 4 สายพันธุ์ได้แก่ เชียงใหม่3 สุโขทัย1 เชียงใหม่60 และ สจ.4 และสารสกัดจากใบถั่วเหลืองให้ผลการยับยั้งน้อยที่สุด 4 สายพันธุ์ได้แก่ KUSL20004 GC10992 #8407 และ เชียงใหม่1 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการผลิตสารเฟลโวนอยด์และผลทางด้านอัลลีโลพาทีของสารสกัดจากใบ โดยสารแอนโธไซยานิน แทนนิน เฟลโวนอล และเฟลโวน ใช้สารสกัดที่ระดับความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนสารไอโซเฟลโวนอยด์ ออโรนและแคลโคนใช้ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลปรากฏว่า สารสกัดจากใบถั่วเหลือง 4 สายพันธุ์ ที่ให้ผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตพืชทดสอบมาก ให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารแคลโคน ออโรน แอนโธไซยานิน และกัลโลแทนนิน มากกว่าค่าการดูดกลืนแสงของถั่วเหลือง 4 สายพันธุ์ที่ให้ผลการยับยั้งน้อยอย่างเด่นชัด ขณะที่การดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มเฟลโวน พบว่ามีเพียงสารอะพิจินินเท่านั้นที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงแตกต่างกันอย่างเด่นชัดในสารสกัดจากถั่วเหลืองทั้งสองกลุ่ม โดยในสารสกัดจากถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งมากให้ค่าการดูดกลืนแสงมากกว่าในถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งน้อย ในทำนองเดียวกันกับสารเดียดซีนซึ่งเป็นสารในกลุ่มไอโซเฟลโวนอยด์ ที่พบว่าในถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ยับยั้งมากมีค่ามากกว่าในกลุ่มถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งน้อยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาสารในกลุ่มเฟลโวนอลและเฟลวาโนนจะพบว่าให้ค่าการดูดกลืนแสงไม่แตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มว่าถั่วเหลืองในกลุ่มที่ให้ผลยับยั้งมากมีค่าการดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์มากกว่าถั่วเหลืองในกลุ่มที่ให้ผลการยับยั้งน้อย

จากผลการทดลองพบว่าในใบถั่วเหลืองแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์แตกต่างกัน โดยในถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ให้ผลการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบมากมีแนวโน้มของปริมาณสารเฟลโวนอยด์มากกว่าในถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ให้ผลการ

ยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบน้อย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานผลการทดลองที่ผ่านๆ มา โดย Wu *et al.* (2000) รายงานว่าสารฟีนอลิค เช่น *p*-hydroxybenziic, vanillic และ *trans*-ferulic acid ที่สกัดได้จากข้าวสาลี 58 สายพันธุ์ มีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของราก annual ryegrass ได้แตกต่างกัน โดยสายพันธุ์ที่มีปริมาณสารฟีนอลิกมากกว่าสามารถยับยั้งได้มากกว่าสายพันธุ์ที่มีปริมาณสารฟีนอลิคน้อยกว่า เช่นเดียวกับการทดลองของ Xuan *et al.* (2004a) ที่พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากเปลือกของสะเดามีปริมาณของสารฟีนอลิกมากกว่าสารสกัดจากใบ จึงทำให้ส่วนของเปลือกสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชปลูกที่ทดสอบคือ อัลฟัลฟ่า ถั่วอะซูกิ แครอท ผักกาดหัว ข้าว และงา และยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของวัชพืชที่ทดสอบคือ หญ้าข้าวนก ขาเขียด และโสน ได้มากกว่าส่วนใบ อย่างไรก็ตามการวัดค่าการดูดกลืนแสงในการทดลองนี้ เป็นการวัดเพื่อดูแนวโน้มของปริมาณสารเฟลโวนอยด์ในถั่วเหลืองสายพันธุ์ต่างๆ อย่างคร่าวๆ เนื่องจากอาจมีการบดบังของสารประกอบตัวอื่นๆ ทำให้ค่าที่ตรวจวัดได้มิใช่ค่าที่ถูกต้องแท้จริง (กนกพร สมพรไพลินและรุทธ์ มณีประเสริฐ. 2547) การจำแนกชนิดของสารที่ให้ผลถูกต้องและสมบูรณ์จะต้องวัดคุณสมบัติอย่างอื่นและเปรียบเทียบกับข้อมูลที่ได้กับแหล่งข้อมูลที่มีมาก่อน (Williams and Harborne. 1989)

5.4 การศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์โดยวิธี RT-PCR

การศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างในการแสดงออกของยีน *CHS* ในใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์

จากผลการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของยีน *CHS* ในใบถั่วเหลืองทั้ง 8 สายพันธุ์ ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ปรากฏว่าทั้งหมดให้ผลผลิตที่ตำแหน่งประมาณ 867 bp โดยแต่ละสายพันธุ์มีความเข้มของแถบที่ได้แตกต่างกัน แสดงว่ามีการแสดงออกที่แตกต่างกันด้วย โดยการแสดงออกของยีน *CHS* จากใบอ่อนถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่60 มีการแสดงออกมากที่สุด รองลงมาได้แก่พันธุ์สจ. 4 เชียงใหม่3 สุโขทัย1 เชียงใหม่1 KUSL20004 GC10992 และ #8407 ตามลำดับ ซึ่งการแสดงออกของยีน *CHS* ในถั่วเหลืองกลุ่มที่ให้ผลยับยั้งมากมีการแสดงออกมากกว่า 2 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองกลุ่มที่ให้ผลการยับยั้งน้อยกว่า แสดงให้เห็นว่าในใบถั่วเหลืองที่มีการแสดงออกของยีน *CHS* มากกว่ามีการผลิตสารเฟลโวนอยด์มากกว่าถั่วเหลืองที่มีการแสดงออกของยีนน้อยกว่า ซึ่ง Tuteja *et al.* (2004) รายงานการศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีน *CHS* จากราก เปลือก ใบและใบเลี้ยงของถั่วเหลือง พบว่ายีน *CHS* มีการแสดงออกในทุกชิ้นส่วนของถั่วเหลือง แต่จะแสดงออกมากที่สุดในราก ทั้งนี้เนื่องมาจากในพืชตระกูลถั่วรากมีหน้าที่

สังเคราะห์สารเฟลโวนอยด์มากกว่าส่วนอื่นๆ เพื่อชักนำยีนที่ทำให้เกิดปมรากถั่วในการตรึงไนโตรเจน จึงทำให้รากมีการแสดงออกของยีน *CHS* มากกว่าส่วนอื่นๆ

การศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างในการแสดงออกของยีน *FLS* ในใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์

สำหรับการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบขึ้นสำหรับยีน *FLS* พบว่าไม่ปรากฏแถบของผลผลิตพีซีอาร์จากยีน *FLS* อาจจะเนื่องมาจากการออกแบบไพรเมอร์ที่ไม่เหมาะสม เพราะออกแบบมาจากพืชจำนวนน้อยชนิด ทำให้ได้บริเวณอนุรักษ์ (conserve region) ที่ไม่เหมาะสมสำหรับถั่วเหลือง

การศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างในการแสดงออกของยีน *DFR* ในใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์

จากผลการเพิ่มปริมาณยีน *DFR* ในใบถั่วเหลืองทั้ง 8 สายพันธุ์ ปรากฏว่าทั้งหมดให้ผลผลิตที่ตำแหน่งประมาณ 1038 bp ซึ่งความเข้มของแถบที่ได้แสดงว่าแต่ละสายพันธุ์มีการแสดงออกที่แตกต่างกัน โดยถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่60 มีการแสดงออกมากที่สุด รองลงมาได้แก่พันธุ์สจ.4 เชียงใหม่3 สุโขทัย1 GC10992 เชียงใหม่1 #8407 และ KUSL20004 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าในกลุ่มของถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งมากมีการแสดงออกยีน *DFR* มากกว่า1.5 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองในกลุ่มที่ให้ผลการยับยั้งน้อยกว่า ชี้ให้เห็นว่าในใบถั่วเหลืองที่มีการผลิตสารเฟลโวนอยด์มากจะมีการแสดงออกของยีน *DFR* มากกว่าถั่วเหลืองที่มีการผลิตสารเฟลโวนอยด์น้อยกว่า ในทำนองเดียวกับการทดลองของ Xie *et al.* (2004) ที่พบว่าในเนื้อเยื่อของพืชที่มีปริมาณของสารแทนนินมากซึ่งได้แก่ เมล็ดอ่อนและดอกมีการแสดงออกของยีน *DFR* มากกว่าในเนื้อเยื่อที่มีสารแทนนินน้อยกว่า

เมื่อพิจารณาการแสดงออกของยีน *CHS* กับความสัมพันธ์ของค่าการดูดกลืนแสง จะพบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารแคลโคน ออโรน เฟลวาโนน และเฟลโวนอะพิจินิน จากถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่60 และสจ.4 มีค่ามากกว่าถั่วเหลืองสายพันธุ์อื่นๆ และสารทั้ง 4 กลุ่มดังกล่าวเป็นผลผลิตอันดับต้นๆ ของชีวสังเคราะห์เรียงตามลำดับ จึงทำให้ถั่วเหลืองทั้ง 2 สายพันธุ์มีการแสดงออกของยีน *CHS* มากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ เนื่องจากยีน *CHS* เป็นยีนอันดับแรกในชีวสังเคราะห์ของสารเฟลโวนอยด์ เช่นเดียวกับยีน *DFR* เป็นยีนนำเข้าไปสู่การสังเคราะห์สารแอนโธไซยานินและแทนนินซึ่งเป็นการสังเคราะห์สารในช่วงท้ายของชีวสังเคราะห์ เนื่องจากสารที่ได้ยังไม่คงตัวมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา จึงอาจทำให้มีปริมาณสารในช่วงที่ทำการวัดลดลงไป และยังมียีนอีกหลายยีนเข้ามาเกี่ยวข้องในชีวสังเคราะห์นี้อีกด้วย

บทที่ 6
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาเปรียบเทียบสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่าง ๆ ของถั่วเหลืองจำนวน 4 สายพันธุ์ ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัว

การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลือง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ มข.35 นครสวรรค์1 เชียงใหม่4 และ GC10981 ที่ระดับความเข้มข้น 12.5 25 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัว โดยใช้น้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ ปรากฏว่าสารสกัดจากส่วนใบของถั่วเหลืองทั้ง 4 สายพันธุ์ มีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของผักกาดหัวมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารสกัดด้วยน้ำจากส่วนอื่นๆ รองลงมาได้แก่ส่วนผสมจากรวมทุกส่วน ขณะที่สารสกัดด้วยน้ำจากต้นและรากให้ผลไม่แตกต่างกัน การเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดมีผลทำให้การยับยั้งมากขึ้น

การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้งและผักกาดหัว

การศึกษาเปรียบเทียบผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 30 สายพันธุ์ ได้แก่ มข.35 นครสวรรค์1 จักรพันธุ์1 ไข่แมงทอง สุโขทัย1 สุโขทัย2 สุโขทัย3 เชียงใหม่1 เชียงใหม่2 เชียงใหม่3 เชียงใหม่4 เชียงใหม่60 สจ.1 สจ.2 สจ.4 สจ.5 GC2679 GC2796 GC3318 GC4120 GC4637 GC7231 GC9822 GC10848 GC10981 GC10992 GC11101 KUSL20004 PK462 และ #8407 ที่มีต่อการงอกและการเจริญเติบโตของผักกวางตุ้งและผักกาดหัว โดยใช้น้ำกลั่นเป็นวิธีการเปรียบเทียบ พบว่าสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองจำนวน 4 สายพันธุ์ที่ให้ผลด้านอัลลีโลพาทีสูงคือ เชียงใหม่3, สุโขทัย1, เชียงใหม่60 และ สจ.4 และ 4 สายพันธุ์ที่ให้ผลด้านอัลลีโลพาทีต่ำคือ KUSL20004 GC10992 #8407 และเชียงใหม่1

การศึกษาความสัมพันธ์ของการผลิตสารเฟลโวนอยด์ในใบถั่วเหลืองและผลทางด้านอัลลีโลพาทีโดยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง

ในการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดด้วยน้ำจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ให้ผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบมากที่สุด 4 สายพันธุ์ได้แก่ เชียงใหม่3 สุโขทัย1 เชียงใหม่60 และ สจ.4 มีแนวโน้มให้ค่าการดูดกลืนแสงของสารในกลุ่มสารเฟลโวนอยด์ มากกว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองที่ให้ผลการยับยั้งน้อยที่สุด 4 สายพันธุ์ได้แก่ KUSL20004 GC10992 #8407 และ เชียงใหม่1

การศึกษาเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารกลุ่มเฟลโวนอยด์โดยวิธี RT-PCR

การศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างในการแสดงออกของยีน *CHS* ในใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของยีน *CHS* ในใบถั่วเหลืองทั้ง 8 สายพันธุ์ ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ปรากฏว่าทั้งหมดให้ผลผลิตที่ตำแหน่งประมาณ 867 bp โดยในกลุ่มของถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งมากมีการแสดงออกมากกว่าถั่วเหลืองที่ให้ผลการยับยั้งน้อยกว่า

การศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างในการแสดงออกของยีน *FLS* ในใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์

สำหรับการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ด้วยไพรเมอร์ที่ออกแบบขึ้นสำหรับยีน *FLS* พบว่าไม่ปรากฏแถบของผลผลิตลูกโซ่พีซีอาร์จากยีน *FLS*

การศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างในการแสดงออกของยีน *DFR* ในใบถั่วเหลือง 8 สายพันธุ์

การเพิ่มปริมาณยีน *DFR* ในใบถั่วเหลืองทั้ง 8 สายพันธุ์ ปรากฏว่าทั้งหมดให้ผลผลิตที่ตำแหน่งประมาณ 1038 bp ซึ่งพบว่าในกลุ่มของถั่วเหลืองที่ให้ผลยับยั้งมากมีการแสดงออกมากกว่าถั่วเหลืองที่ให้ผลการยับยั้งน้อยกว่า

จากผลการทดลองพบว่าในสารสกัดจากใบถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่มีผลยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบมากมีปริมาณของสารในกลุ่มเฟลโวนอยด์มากกว่า และมีการแสดงออกของยีน *CHS* และ *DFR* มากกว่าในถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่มีผลยับยั้งการงอกและการ

เจริญเติบโตของพืชทดสอบน้อย ดังนั้นสารเฟลโวนอยด์อาจจะเป็นสารหนึ่งที่แสดงศักยภาพทางด้านอัลลีโลพาทีในใบถั่วเหลือง

6.2 ข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของถั่วเหลืองทั้ง 4 สายพันธุ์ และผลของสารสกัดจากส่วนใบของถั่วเหลือง 30 สายพันธุ์ พบว่าสามารถยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบในห้องปฏิบัติการได้ ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไป จึงควรทำการทดลองในสภาพโรงเรือนและแปลงทดลอง โดยอาจนำใบถั่วเหลืองมาสกัดด้วยน้ำใช้รดแทนน้ำหรือใช้ใบคลุกดินปลูกหรือคลุมผิวหน้าดิน เพื่อทดสอบและยืนยันศักยภาพของสารเคมีจากใบถั่วเหลืองในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ

2. ควรจะทำการสกัดและแยกสารเฟลโวนอยด์จากใบถั่วเหลืองให้ได้เป็นสารบริสุทธิ์และนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ทั้งในพืชปลูกวัชพืช ใบเลี้ยงคู่และใบเลี้ยงเดี่ยวต่อไป

3. ควรจะทำการศึกษาต่อไปโดยการโคลนยีนและถ่ายยีนสารเฟลโวนอยด์ที่ได้เข้าไปในถั่วเหลืองสายพันธุ์อื่นๆ เพื่อให้เป็นถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่มีศักยภาพด้านอัลลีโลพาทีสูงและทำการทดลองในพืชปลูกชนิดอื่นๆ ด้วยเช่นเดียวกัน

บรรณานุกรม

กนกพร สมพรไพลิน. 2548. **บทปฏิบัติการวิชาการโคลนยีนในพืช**. กรุงเทพฯ : ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

กนกพร สมพรไพลิน และรุทธ์ มณีประเสริฐ. 2547."การศึกษาสภาวะเครียดที่มีต่อผลชีวสังเคราะห์สารเฟลโวนอยด์ในเนื้อเยื่อพืชโดยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ." **วิทยาศาสตร์ลาดกระบัง**. 13 (1) : 15-24.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2537. **เอกสารวิชาการชุดพืชศาสตร์เรื่องถั่วเหลือง**. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

กองควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร. 2548. **รายงานสรุปการนำเข้าวัสดุอันตรายทางการเกษตร ปี 2541-2547**. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร.

จรรยา มณีโชติ และประทีป กระแสสินธุ์. 2543. "ศักยภาพของข้าวไร่ในการลดการเจริญเติบโตของวัชพืช." หน้า 31-37. ใน **รายงานการประชุมวิชาการเรื่องความก้าวหน้างานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพสมุนไพรและวัชพืช**. นครราชสีมา : กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร.

ชอุ่ม เปรมัษเฐียร และศิริพร ชึงสนธิพร 2543."การศึกษาสารอัลลิโลพาธิกในพืชไร่ตระกูลถั่วบางชนิด : 1. ถั่วเขียว." หน้า 11-16. ใน **รายงานการประชุมวิชาการเรื่องความก้าวหน้างานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพสมุนไพรและวัชพืช**. นครราชสีมา : กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร.

ดนัย บุญยเกียรติและอังศนา อัครพิศาล. 2540. **ชีววิทยาโมเลกุลของเซลล์**. เชียงใหม่ : คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ดารารัตน์ มณีจันทร์ 2546. "ผลทางอัลลีโลพาทีของสารสกัดด้วยน้ำจากใบพืชสกุลมะลิ." ปัญหาพิเศษปริญญาโท สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ดารารัตน์ มณีจันทร์. 2547. "ผลทางอัลลีโลพาทีของพุทธชาติก้านแดง." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ถนอมศรี วงศ์รัตนาสถิตย์. 2536. ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่แสดงฤทธิ์ต่อระบบสืบพันธุ์. หน้า 54-91. ใน "**เภสัชวินิจฉัย : ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เล่ม 2.**" วันดี กฤษณพันธ์. บรรณาธิการ. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

นภา ศิวรังสรรค์. 2547. **ปฏิบัติการทางพันธุวิศวกรรม**. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บุญรอด ชาติยานนท์. 2544. "ผลของสารสกัดจากใบประยงค์ต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชบางชนิด." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ. 2543.**พันธุศาสตร์** พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พัชนี เจริญยิ่ง จรัล ล้อมรัตน์สิริ และวิรัตน์ ภูวิวัฒน์. 2547. ผลของสารสกัดจากผลกำจัดต้นต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ. **วิทยาศาสตร์ลาดกระบัง**. 13 (1) : 25-30.

รังสิต สุวรรณเขตนิคม. 2544. "วัชพืชต้านทานสารและการถ่ายทอดยีนเพื่อให้พืชปลูกทนทานสารกำจัดวัชพืช." **วิทยาการวัชพืช**. 19 (1) : 1-16.

รุจน์ สุทธิศรี. 2549. "สารเอสโตรเจนจากพืช"
[Online]. Available http://www.pharm.chula.ac.th/surachai/miscel/khao-03.htm.

วันดี กฤษณพันธ์. 2536. **เภสัชวินิจฉัย : ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เล่ม 2**. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

วิรัตน์ ภูวิวัฒน์และจำรูญ เล้าสินวัฒนา. 2545. "ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากใบเลี่ยนต่อการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าพืชทดสอบบางชนิด." **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** ฉบับพิเศษ. 33 (4-5) : 139-141.

วิรัตน์ ภูวิวัฒน์ จำรูญ เล้าสินวัฒนาและศุภชัย สถาพร. 2548. "ผลของสารสกัดด้วยน้ำจากส่วนต่างๆ ของต้นสังเครียดใบเล็กต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ 4 ชนิด." **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร** ฉบับพิเศษ. 36 (5-6) : 1002-1005.

ศิริพร ซึงสนธิพร และชอุ่ม เปรมัษเฐียร. 2543. "ผลของเทียนหยดต่อการเจริญเติบโตของไมยราบยักษ์." หน้า 22-30. ใน **รายงานการประชุมวิชาการเรื่องความก้าวหน้างานวิจัยด้านความหลากหลายทางชีวภาพ สมุนไพรและวัชพืช**. นครราชสีมา : กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร.

สมจินตนา ทุมแสน, วรวุฒิ เอี่ยมกำแพง และสุขสันต์ สุทธิผลไพบูลย์. 2546. "นวัตกรรมถั่วเหลืองพันธุ์ดี." **เกษตรก้าวหน้า**. 15 (3) : 69-75.

สุรชัย มัจฉาชีพ. 2538. **วัชพืชในประเทศไทย**. กรุงเทพฯ : แพร่พิทยา.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. **จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ : ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สำนักวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตสารธรรมชาติทางการเกษตร. 2545. การใช้สารสกัดจากพืชแทนสารเคมี. **ข่าวสารเกษตรศาสตร์**. 47 (2) : 37-44.

อภิพรรณ พุกภักดี. 2546. **ถั่วเหลือง : พืชทองของไทย**. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรอนงค์ กังสดาลอำไพ. 2543. "อาหารเสริมสุขภาพ : ถั่วเหลือง." [Online]. Available : http://wwww.pharm.chula.ac.th/clinic101_5/article/soy.html

อัจฉรา อุทโยภาศ, ศรีสมร พิทักษ์ และศรีสุข พูนผลกุล. 2547. **ถั่วเหลืองหนึ่งในพืชเทพเจ้า**. กรุงเทพฯ : เมธีทิปส์.

อุไรวรรณ วิจารณกุล. 2545. **ดีเอ็นเอเทคโนโลยี**. พิษณุโลก : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม.

อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. 2536. **การสกัดและตรวจสอบสารสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ**. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

An, M., Pratley, J. and Haig, T. 1998. "Allelopathy : from Concept to Reality." 563–566. In **Proceedings of the 9th Australian Agronomy Conference**. Wagga Wagga. Australia .

Baruah, N.C., Sarma, J.C., Barua, N.C., Sarma, S. and Sharma, R.P. 1994. "Germination and Growth Inhibitory Sesquiterpene Lactones and Flavone from *Tithonia diversifolia*." **Phytochem.** 36 (1) : 29-36.

Basile, A., Sorbo, S., López-Sáeb, J.A. and Cobianch, C.R. 2003. "Effect of Seven Pure Flavonoids from Mosses on Germination and Growth of *Tortula muralis* HEDW. (Bryophyta) and *Raphanus sativus* L. (Magnoliophyta)." **Phytochem.** 62 (7) : 1145-1152.

Beninger, C.W. and Hall, C. 2005. "Allelopathic Activity of Luteolin 7-*O*-ß-glucuronide Isolated from *Chrysanthemum morifolium* L." **Biochem. System. Eco.** 33 (2) : 103-111.

Bhowmik, P.C. and Inderjit. 2003. "Challenges and Opportunities in Implementing Allelopathy for Natural Weed Management." **Crop Protect.** 22 (4) : 661-671.

Caamal-Maldonado, J.A., Jiménez-Osomio, J.J., Torres-Barragán, A. and Anaya, A.L. 2001. "The Use of Allelopathic Legume Cover and Mulch Species for Weed Control in Cropping Systems." **Agron. J.** 93 (1) : 27-36.

Cannas, A. 2001."Tannins."

[Online]. Available : http://www.ansi.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin.html

Chon, S.U., Choi, S.K., Jung, S., Jang, H.G., Pyo, B.S. and Kim, S.M. 2002. "Effect of Alfalfa Leaf Extracts and Phenolic Allelochemicals on Early Seedling Growth and Root Morphology of Alfalfa and Barnyardgrass." **Crop Protect.** 21 (6) : 1077 – 1082.

Chon, S.U., Jang, H.G., Kim, D.K., Kim, Y.M., Boo, H.O. and Kim, Y.J. 2005. "Allelopathic Potential in Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Plants." **Scientia Hort.** 106 (3) : 309-317.

Chung, I.M., Kim, K.H., Ahn, J,.K. Chun, S.C., Kim, C.S. and Kim, S.H. 2002. "Screening of Allelochemicals on Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) and Identification of Potentially Allelopathic Compounds from Rice (*Oryza sativa*) Variety Hull Extracts." **Crop Protect.** 21 (6) : 913-920.

Chung, I.M., Kim, K.H., Ahn, J.K., Lee, S.B., Kim, S.H. and Hahn, S.J. 2003. "Comparison of Allelopathic Potential of Rice Leaves, Straw, and Hull Extracts on Barnyardgrass." **Agron. J.** 95 (4) : 1063-1070.

Colliver, S.P., Morris, P. and Robbins, M.P. 1997. "Differential Modification of Flavonoid and Isoflavonoid Biosynthesis with an Antisense Chalcone Synthase Construct in Transgenic *Lotus corniculatus*." **Plant Mol. Bio.** 35 : 509-522.

Croy, R. 1998. "cDNA Synthesis - Technical Information." [Online]. Available : http://www.medigenomix.de/molbio3techinfo.html

Davies, K.M. 2000. Plant Colour and Fragrance. 127-145. In "**Metabolic Engineering of Plant Secondary Metabolism.**" Verpoorte, R. and Alfermann, A.W., eds. Netherlands : Kluwer Acadamic Publishers.

Dixon, R.A. and Paiva, N.L. 1995. "Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism." **Plant Cell.** 7 (7) : 1085-1097.

Dixon, R.A. and Steele, C.L. 1999. "Flavonoids and Isoflavonoids : A Gold Mine for Metabolic Engineering." **Trends Plant Sci.** 4 (10) : 394-400.

Ebana, K., Yan, W., Dilday, R.H., Namai, H. and Okuno, K. 2001. "Variation in The Allelopathic Effect of Rice with Water Soluble Extracts." **Agron. J.** 93 (1) : 12-16.

Einhellig, F.A. 1985. Allelopathy : A Natural Protection Allelochemicals. 161-200. In **"Handbook of Natural Pesticides : Methods. Vol. 1."** Mandara, N.B. ed. Florida : CRC Press, Inc.

Ferguson, J.J. and Rathinasabapathi, B. 2003. "Allelopathy : How Plants Suppress Other Plants." [Online]. Available : http://edis.ifas.ufl.edu

Graham, T.L. 1991. "Flavonoid and Isoflavonoid Distribution in Developing Soybean Seedling Tissues and in Seed and Root Exudates." **Plant Physiol.** 95 (2) : 594-603.

Giusti, M.M. and Wrolstad, R.E. 2001. "Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy." [Online]. Available : http://www.wiley.com/legacy/cp/cpfac/facsample.htm

Harborne, J.B. 1998. **Phytochemical Methods : A Guide to Modern Technique of Plant Analysis.** 3rd ed. London : Chapman & Hall.

Harborne, J.B., Boulter, D. and Turner, B.L. 1971. **Chemotaxonomy of The Leguminosae.** London : Acadamic Press.

Harker, C.L., Noel Ellis, T.H. and Coen, E.S. 1990. "Identification and Genetic Regulation of the Chalcone Synthase Multigene Family in Pea." **Plant Cell.** 2 (3) : 185-194.

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 Protect.** 22 (6) : 829-836.

Jasicka-Misiak, I., Wieczorek, P.P. and Kafarski, P. 2005. "Crotonic Acid as a Bioactive Factor in Carrot Seeds (*Daucus carota* L.)." **Phytochem.** 66 (12) : 1485-1491.

Jasieniuk, M., Brule-Babel, A.L. and Morrison, I.N. 1996. "The Evolution and Genetics of Herbicide Resistance in Weeds." **Weed Sci.** 44 (1) : 176-179.

Jones, E., Jessop, R.S. and Sindel, B.M. 2001. "The Potential of Summer Crops to Affect Weed Growth." 12-14. In **Proceedings of the 10th Australian Agronomy Conference.** Hobart. Australia.

Jone, P., Qiu, J. and Rickwood, D. 1994. **RNA Isolation and Analysis.** Oxford : BIOS Scientific Publishers.

Jung, W., Yu, O., Lau, S.C., O'Keefe, D.P., Odell, J. Fader, G. and McGonigle, B. 2000. "Identification and Expression of Isoflavone Synthase, the Key Enzyme for Biosynthesis of Isoflavones in Legumes." **Nature Biotech.** 18 : 208-212.

Kalburtji, K.L. and Mosjidis, J.A. 1992. "Effect of *Serica lespedeza* Residues on Warm Season Grasses." **J. Range Manage.** 45 : 441-444.

Kato-Noguchi, H. 2003a. "Allelopathic Substance in *Pueraria thunbergiana*." **Phytochem.** 63 (5) : 577-580.

Kato-Noguchi, H. 2003b. "Isolation and Identification of an Allelopathic Substance in *Pisum sativum*". **Phytochem.** 62 (7) : 1141-1144.

Kebede, Z. 1994. "Allelopathic Chemicals: Their Potential Uses for Weed Control in Agroecosystems." [Online].Available:http://www.colostate.edu/depts/entomology/courses/en570/papers_1994/kebede.html.

Khanh, T.D., Hong, N.H., Xuan, T.D. and Chung, I.M. 2005. "Paddy Weed Control by Medicinal and Leguminous Plants from Southeast Asia." **Crop Protect.** 24 (5) : 421-431.

Laosinwattana, C., Yoneyama, Takeuchi, Y., Ogasawara, M. and Konnai, M. 1997. "Allelopathic Potential of Manilagrass (*Zoysia matrella* (L.) Merr.)." **J. Jap. Soc. Turfgrass Sci.** 26 (1) : 25-33.

Larrick, J.W., and Siebert, P.D. 1995 . **Reverse Transcriptase PCR.** London : Ellis Horwood.

Lorkowski, S. and Cullen, P. 2003. **Analysing Gene Expression : A Handbook of Methods Possibilities and Pitfalls. Vol. 1.** Weinheim : Wiley-VCH.

Macias, F.A., Molinillo, J.M.G., Torres, A., Varela, R.M. and Castellano, D. 1997. "Bioactive Flavonoids from *Helianthus annuus* Cultivars." **Phytochem.** 45 (4) : 683 – 687.

Macias, F.A., D. Castellano and J.M.G. Molinillo. 2000. "Search for A Standard Phytotoxic Bioassay for Allelochemicals. Selection of standard target species." **J. Agric. Food Chem.** 48 (16) : 2512 – 2521.

Madhuri, G. and Reddy, A.R. 1999. "Plant Biotechnology of Flavonoids." **Plant Biotech.** 16 (3) : 179-199.

McKhann, H.I. and Hirsch, A.M. 1994. "Isolation of Chalcone Synthase and Chalcone Isomerase cDNAs from Alfalfa (*Medicago sativa* L.) : Highest Transcript Levels Occur in Young Roots and Root Tips." **Plant Mol. Bio.** 24 : 767-777.

Meer, I.M. van der, Stuitje, A.R. and Mol., J.N.M. 1993. Regulation of General Phenylpropanoid and Flavonoid Gene Expression.125-155. In **"Control of Plant Gene Expression."** Verma, D.P.S., ed. Boca Raton, Florida : CRC Press.

Muan, M.A. 1977. " Suppressing Effect of Soybeans on Barnyardgrass." **Can. J. Plant Sci.** 57 : 485-490.

Ohno, T., Doolan, K., Zibilske, L.M., Liebman, M., Gallandt, E.R. and Berube, C. 2000. "Phytotoxic Effects of Red Clover Amended Soils on Wild Mustard Seedling Growth." **Agric. Ecosys. Envir.** 78 (2) : 187-192.

Oueslati, O. 2003. "Allelopathy in Two Durum Wheat (*Triticum durum* L.) Varieties." **Agric. Ecosys. Envir.** 96 : 161-163.

Parvez, M.M., Tomita-Yokotani, K., Fujii, Y., Konishi, T. and Iwashina, T. 2004. "Effects of Quercetin and Its Seven Derivatives on the Growth of *Arabidopsis thaliana* and *Neurospora crassa*." **Biochem. System. Eco.** 32 (7) : 631-635.

Rice, E.L. 1984. **Allelopathy** . 2 nd ed. Orlando : Academic Press, Inc.

Rose, S.J., Burnside, O.C., Specht, J.E. and Swisher, B.A. 1984. "Competition and Allelopathy Between Soybean and Weeds." **Agron. J.** 76 (4) : 523-528.

Robbins, M.P., Bavage, A.D., Strudwicke, C. and Morris, P. 1998. "Genetic Manipulation of Condensed Tannins in Higher Plants." **Plant Physiol.** 116 (3) : 1133-1144.

Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T. Erlich, H.A. and Arnheim, N. 1985. "Enzymatic Amplification of Beta-globin Genomic Sequence and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle Cell Anaemia." **Science.** 230 : 1350-1354.

Seigler, D.S. 1996. "Chemistry and Mechanisms of Allelopathic Interactions." **Agron. J.** 88 (6) : 876-885.

Saxena, A., Singh, D.V. and Joshi, N.L. 1996. "Autotoxic Effects of Pearl Millet Aqueous Extracts on Seed Germination and Seedling Growth." **J. Arid Envir.** 33 : 255-260.

Taylor, L.P. and Grotewold, E. 2005. "Flavonoids as Developmental Regulators." **Current Opin. Plant Biol.** 8 : 317-323.

Tsanuo, M.K., Hassanali, A., Hooper, A.M., Khan, Z., Kaberia, F., Pickett, J.A. and Wadhams, L.J. 2003. "Isoflavone from the Allelopathic Aqueous Root Exudate of *Desmodium uncinatum*." **Phytochem.** 64 (1) : 265-273.

Tuteja, J.H., Clough, S.J., Chan, W. and Vodkin, L.O. 2004. "Tissue-Specific Gene Silencing Mediated by a Naturally Occurring Chalcone Synthase Gene Cluster in *Glycine max*." **Plant Cell.** 16 (4) : 819-835.

Turk, M.A. and Tawaha, A.M. 2003. "Allelopathic Effect of Black Mustard (*Brassica nigra* L.) on Germination and Growth of Wild Oat (*Avena fatua* L.)." **Crop Protect.** 22 (6) : 673-677.

Vierstraete, A. 1999. "Principle of the PCR." [Online]. Available : http://user.ugent.be/~avierstr/principle/pcr.html

Viles, A.L. and Reese, R.N. 1996. "Allelopathic Potential of *Echinacea angustifolia* D.C." **Envir. and Exp. Bot.** 36 (1) : 39-43.

Vyvyan, J.R. 2002. "Allelochemicals as Leads for New Herbicides and Agrochemicals." **Tetrahedron.** 58 : 1631-1646.

Williams, C.A. and Harborne, J.B. 1989. Isoflavonoids. 421-449. In **"Methods in Plant Biochemistry : Plant Phenolics. Vol. 1."** Dey, P.M. and Harborne, J.B. eds. London : Academic Press, Inc.

Winkel-Shirley, B. 2001. "Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology." **Plant Physiol.** 126 (2) : 485-493.

Weston, L.A. 1996. "Utilization of Allelopathy for Weed Management in Agroecosystem." **Agron. J.** 88 (6) : 860 – 866.

Wu, H., Haig, T., Pratley, J., Lemerle, D. and An, M. 2000. "Allelochemicals in Wheat (*Triticum aestivum* L.) : Variation of Phenolic Acids in Root Tissues." **J. Agric. Food Chem.** 48 (11) : 5321-5325.

Wu, H., Haig, T., Pratley, J., Lemerle, D. and An, M. 2002. "Biochemical Basis for Wheat Seedling Allelopathy on the Suppression of Annual Ryegrass (*Lolium rigidum*)." **J. Agric. Food Chem.** 50 (16) : 4567 – 4571.

Wyse, D.L. 1994. "New Technologies and Approaches for Weed Management in Sustainable Agriculture System." **Weed Tech.** 8 (2) : 403 – 407.

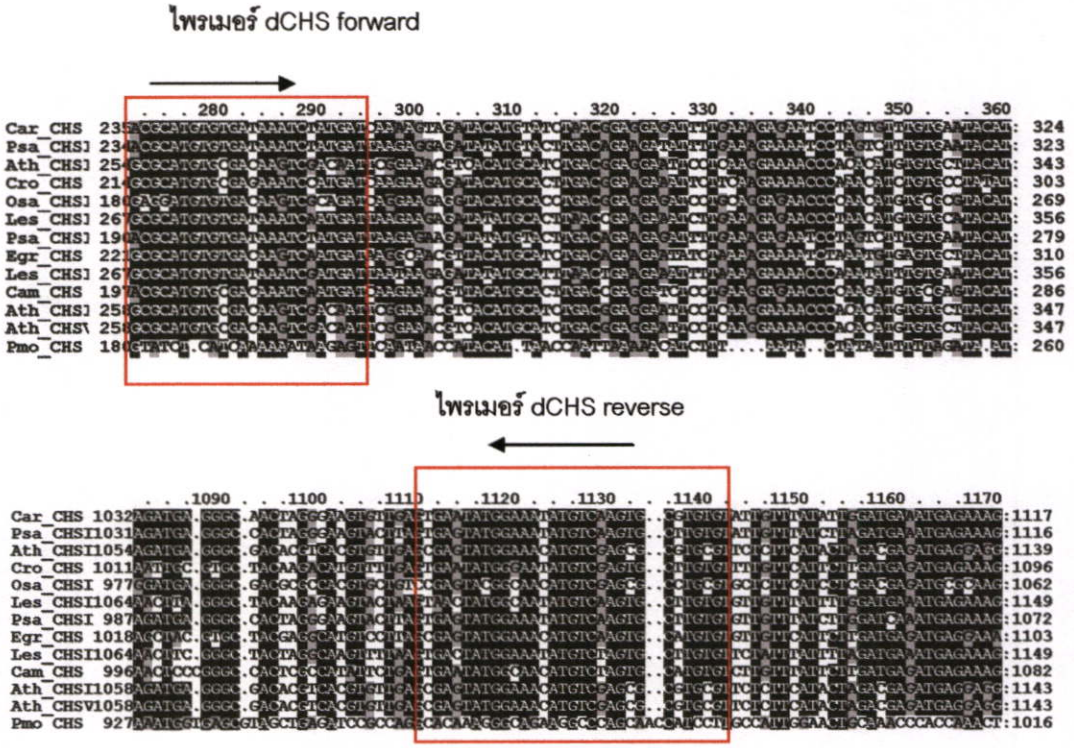
Xie, D.Y., Jackson, A., Cooper, J.D., Ferreira, D. and Paiva N.L. 2004. "Molecular and Biochemical Analysis of Two cDNA Clones Encoding Dihydroflavonol-4-Reductase from *Medicago truncatula*." **Plant Physiol.** 134 (3) : 979-994.

Xuan, T.D., Eiji, T., Hiroyki, T., Mitsuhiro, M., Khanh, T.D. and Chung, I.M. 2004a. "Evaluation on Phytotoxicity of Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) to Crops and Weeds." **Crop Protect.** 23 (4) : 335-345.

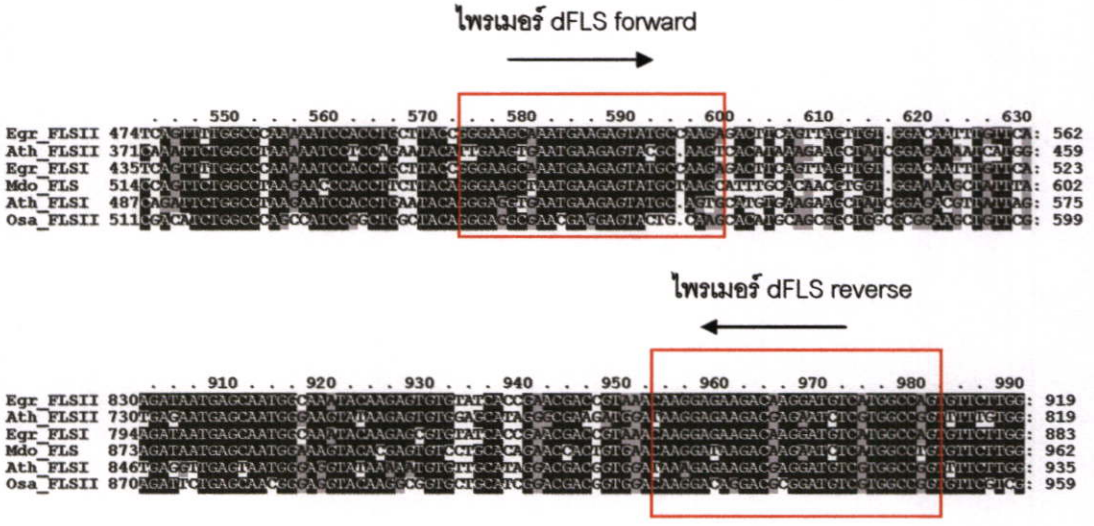
Xuan, T.D., Shinkichi, T., Hong, N.H., Khanh, T.D. and Min, C.I. 2004b. "Assessment of Phytotoxic Action of *Ageratum conyzoides* L. (Billy Goat Weed) on Weeds." **Crop Protect.** 23 (4) : 915-922.

Xuan, T.D., Shinkichi, T., Khanh, T.D. and Chung, I.M. 2005. "Biological Control of Weeds and Plant Pathogens in Paddy Rice by Exploiting Plant Allelopathy : an Overview." **Crop Protect.** 24 (3) : 197-206.

ภาคผนวก



ภาคผนวกที่ 1 แสดงบริเวณอนุรักษ์ของนิวคลีโอไทด์จากพืชชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการออกแบบไพรเมอร์สำหรับยีน *CHS*



ภาคผนวกที่ 2 แสดงบริเวณอนุรักษ์ของนิวคลีโอไทด์จากพืชชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการออกแบบไพรเมอร์สำหรับยีน *FLS*

ประวัติผู้เขียน

นางสาวเอื้ออารีย์ รณเรืองฤทธิ์ เกิดเมื่อวันที่ 27 ธันวาคม พ.ศ. 2518 ที่จังหวัดร้อยเอ็ด สำเร็จการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชสวน จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อปี พ.ศ. 2541

ปี พ.ศ. 2542-2545 ทำงานเป็นลูกจ้างชั่วคราว ตำแหน่งนักวิทยาศาสตร์ ที่โครงการจัดตั้งศูนย์การศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพ คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปี พ.ศ. 2545-2549 ศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน ที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง