

การจำแนกหญ้าไชย่ง (*Rottboellia cochinchinensis* Lour. W. Clayton)

โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิค AFLP

Classification of Itchgrass Using Morphological Traits and AFLP Techniques

สุญญาตา เมฆสวัสดิ์^{1/}

Sunyata Meksawat^{1/}

ทศพล พรพรหม^{1/}

Tosapon Pornprom^{1/}

ABSTRACT

Classification of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) using morphological traits and AFLP techniques was conducted in the Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, and DNA Technology Laboratory, BIOTEC at Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom province during October, 2007 – December, 2008. Itchgrass was collected from 3 sites of a farmer's field in Jae Hom district, Lampang province, the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom province, and the experiment field at National Corn and Sorghum Research Centre, Pak Chong district, Nakhon Ratchasima province. Then morphological traits of itchgrass were observed. The results indicated that itchgrass from the farmer's field in Jae Hom district, had some morphological traits was different from at the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, and from the experiment field at National Corn and Sorghum Research Centre, Pak Chong district. The colour of leaf blade, leaf sheath, stem and root of itchgrass from the farmer's field in Jae Hom district was darker and its trichomes were softer than in the other 2 sites. In addition, analysis of the genetic relationship of itchgrass using AFLP was investigated. The results indicated that itchgrass can be divided into 2 groups. The first group consists of itchgrass from the experiment field at National Corn and Sorghum Research Centre district, Nakhon Ratchasima and from the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University,

^{1/} ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

^{1/} Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Sean Campus, Kamphaeng Sean district, Nakhon Pathom 73140

Kamphaeng Saen Campus. The second group is itchgrass from the farmer's field in Jae Hom district. It was apparent that the similarity index in the first group was 0.98, whereas in the second group it was 0.23. It is suggested that classification of itchgrass using morphological traits has a relationship with analysis of the genetic relationship of itchgrass using AFLP. This can be used to assess the genetic diversity of itchgrass.

Key words: itchgrass, *Rottboellia cochinchinensis*, morphological traits, AFLP

บทคัดย่อ

การจำแนกหญ้าไชย่งโดยการใช่วิธีทางสัณฐานวิทยาและเทคนิค AFLP ได้ดำเนินการศึกษาที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน และห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอ เทคโนโลยี ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม ในช่วงเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2550 - เดือนธันวาคม พ.ศ. 2551 โดยใช้หญ้าไชย่งจาก 3 แหล่ง ประกอบด้วยหญ้าไชย่งจากสภาพแปลงเกษตรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง หญ้าไชย่งจากแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.

นครปฐม และหญ้าไชย่งจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง ในการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าไชย่ง พบว่าหญ้าไชย่งจากแปลงเกษตรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการที่แตกต่างจากหญ้าไชย่งของแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน และแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา คือ หญ้าไชย่งจากแปลงเกษตรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง มีสีของแผ่นใบ กาบใบ ลำต้นและราก ที่เข้มกว่า และมีขนที่นุ่มกว่าหญ้าไชย่งจาก 2 พื้นที่ดังกล่าว นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหญ้าไชย่งโดยใช้เทคนิค AFLP พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างของหญ้าไชย่งได้เป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย หญ้าไชย่งจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา และแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ส่วนกลุ่มที่ 2 ได้แก่ หญ้าไชย่งจากแปลงเกษตรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง เพียง 1 พื้นที่เท่านั้น โดยภายในกลุ่มที่ 1 มีความเหมือน 0.98 ส่วนในกลุ่มที่ 2 มีความเหมือน 0.23 จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การจำแนกหญ้าไชย่งโดยการใช่วิธีทางสัณฐานวิทยามีความสัมพันธ์กับการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของ

หญ้าไซยงโดยใช้เทคนิค AFLP ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าไซยงได้ต่อไป

คำหลัก: หญ้าไซยง ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เทคนิค AFLP

คำนำ

หญ้าไซยง (*itchgrass, Rottboellia cochinchinensis* Lour. W. Clayton) จัดเป็น 1 ใน 18 วัชพืชร้ายแรงของโลก (Hall and Patterson, 1992) เป็นวัชพืชพวงกวัดหญ้าฤดูเดียว ชอบขึ้นในที่ดอนแห้ง มีความสามารถในการแข่งขันสูงในสภาพไร่ ในช่วงที่ผ่านมาได้มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของหญ้าไซยงที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบบางชนิด เช่น ข้าว (Casini *et al.*, 1998) และหัวผักกาด (*Raphanus sativus* L. var. *radicula*) (Kobayashi *et al.*, 2008) ซึ่งในประเทศไทยได้มีการรายงานจากเกษตรกรในเขตพื้นที่ อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง ว่ามีการนำหญ้าไซยงมาใช้ในการควบคุมวัชพืชในระบบการผลิตพืชผักชนิดต่าง ๆ โดยที่ในช่วงปีแรกของฤดูกาลเพาะปลูก เกษตรกรจะปลูกหญ้าไซยงโดยทำการหว่านเมล็ดลงไปในพื้นที่ในช่วงต้นฤดูฝน (เดือนพฤษภาคม) หลังจากที่หญ้าไซยงเริ่มออก เจริญเติบโตเป็นต้นกล้า จนกระทั่งติดเมล็ด จะปล่อยให้เมล็ดหลุดร่วงลงไปบนดิน ต่อมาเกษตรกรจะทำการล้มต้นหญ้าไซยงในช่วงต้นเดือนตุลาคม โดยใช้มีนาบ และใช้มีดตัดโคน

ต้นให้ต้นหญ้าปกคลุมผิวดิน แต่ในปัจจุบันนี้การล้มต้นหญ้าไซยงได้เปลี่ยนมาใช้รถไถแทน หลังจากนั้นในช่วงปลายเดือนตุลาคมจะเริ่มทำการปลูกพืชผัก โดยการขุดหลุม หยอดเมล็ด หรือย้ายกล้าผักลงในแปลงที่มีหญ้าไซยงคลุมดินอยู่ โดยไม่มีการไถพรวนดิน และทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตผักชนิดต่าง ๆ ในช่วงเดือนธันวาคม - กุมภาพันธ์ ซึ่งจะแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของพืชปลูก ต่อมาในช่วงเดือนเมษายนเกษตรกรจะทำการไถพรวนกลบเศษซากพืชผักและต้นหญ้าไซยงที่กำลังสลายตัว รวมทั้งเมล็ดหญ้าไซยงที่ร่วงหล่นอยู่บนผิวดิน เพื่อช่วยทำให้เมล็ดหญ้าไซยงที่อยู่ในดินสามารถงอกขึ้นมาใหม่ได้อีก โดยที่ไม่ต้องทำการหว่านเมล็ดของหญ้าไซยงลงไปในพื้นที่เดิมที่จะทำการเพาะปลูกอีกครั้งในฤดูกาลเพาะปลูกของปีต่อไป ซึ่งวิธีการจัดการดังกล่าวนี้ส่งผลทำให้มีวัชพืชขึ้นแข่งขันในแปลงปลูกผักน้อยมาก โดยที่พืชผักสามารถงอกและเจริญเติบโตได้ดีตามปกติ (สุญญาตาและคณะ, 2551)

เนื่องจากหญ้าไซยงเป็นวัชพืชที่เป็นปัญหาในไร่อ้อย ข้าวโพดและสวนผลไม้ พบมากในภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือของประเทศไทย การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological traits) ของวัชพืช เพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะได้ทราบถึงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของวัชพืช สำหรับนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมวัชพืชในระยะยาวต่อไป ในช่วงที่ผ่านมาได้มีการศึกษา

การจำแนกชนิดของวัชพืช โดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของวัชพืชชนิดต่าง ๆ เช่น หญ้าข้าวนก (Azmi *et al.*, 1995; Tabacchi *et al.*, 2006) และวัชพืชตระกูลผักบุ้ง (Bryson *et al.*, 2008) เป็นต้น ในปัจจุบันนี้ได้มีการพัฒนาวิธีการตรวจสอบลักษณะข้อมูลพื้นฐานทางพันธุกรรมของพืชโดยการใช้เทคนิคทางด้านชีวโมเลกุล (molecular biology) โดยที่นิยมใช้วิธีการตรวจสอบจากดีเอ็นเอ (DNA) ซึ่งเป็นวิธีหนึ่ง ที่นิยมใช้มากในการสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมคือ AFLP (amplified fragment length polymorphism) การวิเคราะห์ดีเอ็นเอโดยการใช้เทคนิค AFLP นั้น จะใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นจำนวนน้อย ดีเอ็นเอของตัวอย่างที่ศึกษาไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลลำดับเบสก่อน เมื่อทำการทดลองซ้ำได้ผลคงเดิม นอกจากนี้การใช้เทคนิค AFLP ยังมี polymorphism สูง สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้หลายตำแหน่งพร้อมกัน (สุรินทร์, 2545) ตลอดจนสามารถแยกความแตกต่างของแถบดีเอ็นเอแบบ homozygous และ heterozygous ได้แบบเดียวกับเครื่องหมายดีเอ็นเอแบบ codominance (Vos and Kuioer, 1997) ซึ่งมีรายงานการศึกษาในวัชพืชชนิดต่าง ๆ เช่น jointed goatgrass (*Aegilops cylindrical* L.) (Pester *et al.*, 2003) common bermudagrass (*Cynodon dactylon* L. Pers. var. *dactylon*) (Wu *et al.*, 2004) และพืชสกุล *Echinochloa* (Tabacchi *et al.*, 2006) เป็นต้น ดังนั้นการศึกษานี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทำการ

จำแนกหญ้าโข่งโดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิค AFLP โดยใช้หญ้าโข่งจาก 3 แหล่งที่มีการแพร่ระบาดในสภาพแปลงปลูกพืช ประกอบด้วย หญ้าโข่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง แปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม และแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา (ไร่สุวรรณ) ซึ่งเชื่อว่าหญ้าโข่งที่มีศักยภาพทางอัลลีโลพาธีจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านจัดการวัชพืชในระบบการผลิตพืชผักที่เป็นแบบการเกษตรยั่งยืนได้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าโข่ง

ในการศึกษาการจำแนกหญ้าโข่งโดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้ทำการทดลองที่แปลงทดลองของภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม ในช่วงตั้งแต่เดือนเมษายน พ.ศ. 2551 - กันยายน พ.ศ. 2551 โดยใช้หญ้าโข่งจาก 3 แหล่งที่มีการแพร่ระบาดในเขตพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งประกอบด้วย หญ้าโข่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง หญ้าโข่งจากแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

และหญ้าไชยงจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา ทำการเปรียบเทียบวงจรชีวิต (life cycle) ของหญ้าไชยง และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าไชยงจากทั้ง 3 แหล่ง บันทึกการเจริญเติบโตในระยะต่าง ๆ ได้แก่ ระยะงอก (germination) ระยะ 2-3 ใบ (2-3 leaf stage) แตกกอ (tillering) ออกดอก (flowering) และสุกแก่ทางสรีรวิทยา (maturation) โดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าไชยง ได้แก่ ความยาวของช่อดอก (inflorescence length) ความยาวของใบ (leaf length) ความสูงของต้น (plant height) จำนวนเมล็ด/ดอก (number of seeds/inflorescence) น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (1,000 seed weight) ขนาดของเมล็ด (seed size) แผ่นใบ (leaf blade) กาบใบ (leaf sheath) ขน (trichomes) ลำต้น (stem) และราก (root) เป็นต้น

การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหญ้าไชยงโดยใช้เทคนิค AFLP

นำตัวอย่างของหญ้าไชยงจาก 3 แหล่ง เช่นเดียวกับการทดลองในข้างต้น ทำการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหญ้าไชยง โดยใช้เทคนิค AFLP และตรวจสอบผลการวิเคราะห์โดยใช้ denaturing polyacrylamide gel electrophoresis เพื่อศึกษาพื้นฐานทางพันธุกรรมของหญ้าไชยงที่มีการแพร่ระบาดในประเทศไทย ได้ดำเนินการศึกษาที่ห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอเทคโนโลยี ศูนย์พันธุวิศวกรรมและ

เทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม ในช่วงตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2549 - เดือนกันยายน พ.ศ. 2551 ซึ่งมีขั้นตอนในการทดลองดังต่อไปนี้

การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างของหญ้าไชยง ประยุกต์ตามวิธีการของ Doyle และ Doyle (1987) และ Cullings (1992) หลังจากนั้นทำการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ โดยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น โดยใช้ 1 % agarose gel electrophoresis และย้อมแผ่นเจลด้วยสารละลาย ethidium bromide ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอบนแผ่น agarose gel โดยส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต บันทึกผลด้วยการถ่ายภาพทำการสร้างโมเลกุลเครื่องหมาย โดยใช้เทคนิค AFLP ซึ่งประยุกต์ตามวิธีการของ Vos และคณะ (1995) และวิเคราะห์ผล โดยทำการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในแผ่นเจล เปรียบเทียบกันระหว่างตัวอย่างของหญ้าไชยงจากทั้ง 3 แหล่ง ในตำแหน่งเดียวกัน ถ้าปรากฏแถบดีเอ็นเอให้คะแนน 1 ถ้าไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอให้คะแนน 0 โดยจะเลือกให้คะแนนเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏเห็นชัดเจน นำผลการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอดังกล่าว ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างตัวอย่างของหญ้าไชยงจำนวน 3 ตัวอย่าง โดยการคำนวณค่าดัชนีความเหมือนของตัวอย่าง (similarity index) ด้วย Jaccard's coefficient และทำการจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic average)

ด้วยโปรแกรม NTSYSpC สำหรับ Windows Version 2.01e ซึ่งแสดงผลด้วย phylogenetic tree

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าไชย่ง

ในการพิจารณาวงจรชีวิตของหญ้าไชย่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง (Figure 1) หญ้าไชย่งจากแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม และหญ้าไชย่งจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา พบว่าการเจริญเติบโตในระยะต่าง ๆ ของหญ้าไชย่งจากทั้ง 3 แหล่งดังกล่าวข้างต้น มีความใกล้เคียงกันมาก คือระยะของการงอกอยู่ในช่วง 3-4 วันหลังจากปลูก ระยะ 2-3 ใบ อยู่ในช่วง 5-9 วันหลังจากปลูก ระยะเริ่มแตกกออยู่ในช่วง 13-22 วันหลังจากปลูก ระยะแตกกอเต็มที่อยู่ในช่วง 30-33 วันหลังจากปลูก ระยะเริ่มออกดอกอยู่ในช่วง 35-41 วันหลังจากปลูก และระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาอยู่ในช่วง 97-116 วันหลังจากปลูก (Table 1)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าไชย่งจากทั้ง 3 แหล่ง มีความใกล้เคียงกันในส่วนของความยาวของช่อดอก ความยาวของใบ ความสูงของต้น จำนวนเมล็ดต่อช่อดอก น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และขนาดของเมล็ด (Table 2) แต่ในส่วนของสีของแผ่นใบ ลำต้นและราก ในระยะที่เป็นต้น

อ่อน (อายุ 5-14 วัน) รวมทั้งสีของกาบใบ ลำต้นและความนุ่มของขนของหญ้าไชย่งจากแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม มีความใกล้เคียงกันมากกับหญ้าไชย่งจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา ในขณะที่หญ้าไชย่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง จะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังกล่าวที่แตกต่างออกไปคือ หญ้าไชย่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง มีสีของแผ่นใบ กาบใบ ลำต้นและรากที่เข้มกว่า และขนที่นุ่มกว่าหญ้าไชย่งจากแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม และหญ้าไชย่งจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา จากข้อมูลดังกล่าวนี้จะเห็นได้ว่า หญ้าไชย่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการที่แตกต่างออกไปจากหญ้าไชย่งจากแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม และหญ้าไชย่งจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Azmi และคณะ (1995) ที่ได้ทำการศึกษาวงจรชีวิตของหญ้าข้าวนกในประเทศมาเลเซีย พบว่าหญ้าข้าวนกสายพันธุ์ *Echinochloa crus-galli* var.

Table 1. Comparison in growth stages of itchgrass from the farmer's field in Jae Hom district, Lampang province, the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom province, and the experiment field at National Corn and Sorghum Research Centre, Pak Chong district, Nakhon Ratchasima province.

Days after planting (DAP)	Growth stage	Itchgrass source		
		Jae Hom district, Lampang province	KU-KPS, Nakhon Pathom province	Suwan farm, Pak Chong district
0	Planting of seeds	–	–	–
–	Germination	3 DAP	4 DAP	4 DAP
5 – 9	2-3 leaves	Long and narrow leaf	Long and narrow leaf	Long and narrow leaf
13 – 22	Early tillering	Second tiller at 15 – 19 DAP	Second tiller at 14 – 20 DAP	Second tiller at 13 – 22 DAP
30 – 33	Tillering	11 tillers	12 tillers	14 tillers
35 – 41	Flowering	First inflorescence at 35 DAP	First inflorescence at 36 DAP	First inflorescence at 34 DAP
97 – 116	Maturation	104 – 112 DAP	107 – 116 DAP	97 – 105 DAP

Table 2. Comparison in morphological characteristics of itchgrass from the farmer's field in Jae Hom district, Lampang province, the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom province, and the experiment field at National Corn and Sorghum Research Centre, Pak Chong district, Nakhon Ratchasima province.

Characteristics	Itchgrass source		
	Jae Hom district, Lampang province	KU-KPS, Nakhon Pathom province	Suwan farm, Pak Chong district
Inoescence length (cm)	11.5 – 17.5	12 – 17	11 – 17.5
Leaf length (cm)	34 – 54	31 – 61	31 – 56
Plant height (cm)	132 – 151	161 – 182	161 – 174
Number of seeds/ inoescence	12 – 20	15 – 21	11 – 18
1,000 seed weight (g)	15.55	17.09	15.78
Seed size:			
length (mm)	3.10 – 3.66	2.63 – 3.72	2.75 – 3.83
width (mm)	1.82 – 2.33	1.62 – 2.22	1.53 – 2.10
Seedling (at 5 – 14 DAP ^{1/}):			
leaf blade colour	Dark green	Green	Green
stem colour	Dark purple	Purple	Purple
root colour	Dark purple	Purple	Purple
Other characteristics			
leaf sheath colour	Dark green	Green	Green
stem colour	Purple green	Green	Green
trichomes	Soft	A little soft	A little soft

^{1/} DAP = days after planting

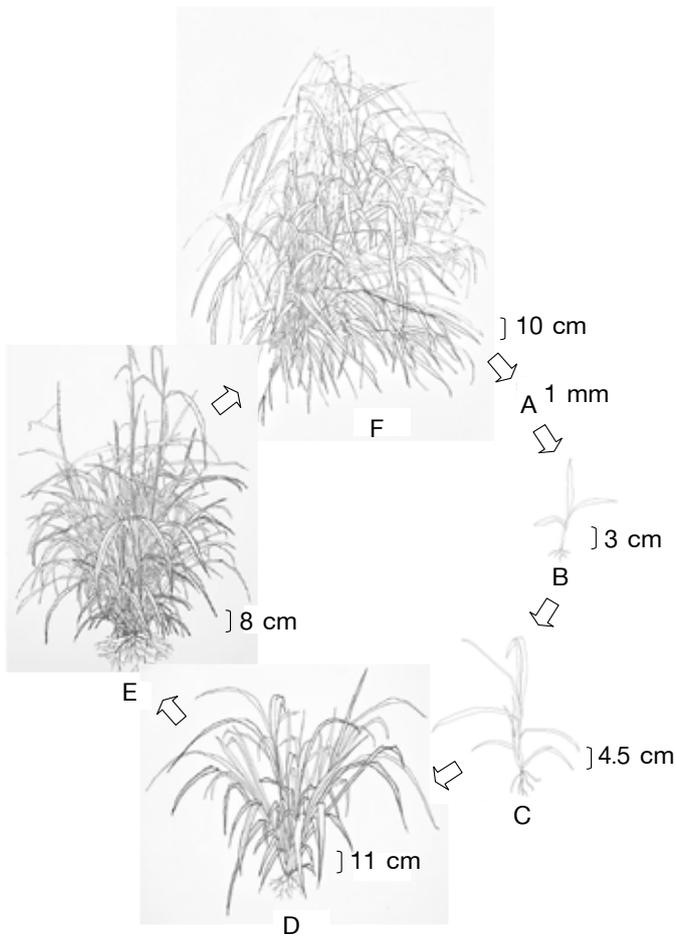


Figure 1. Life cycle of itchgrass in the field condition at Jae Hom district, Lampang province.

A = seed, B = 3 leaf stage (5 – 7 days after planting, DAP), C = first tiller stage (15 – 19 DAP), D = maximum tillering (30 – 33 DAP), E = flowering (35 – 41 DAP), and F = maturation (104 – 112 DAP)

formosensis และ *Echinochloa crus-galli* var. *crus-galli* มีวงจรชีวิตและลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการที่แตกต่างกันคือ ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาของ *E. crus-galli* var. *formosensis* อยู่ในช่วง 90-95 วันหลังจากปลูก ส่วน *E. crus-galli* var. *crus-galli* อยู่ในช่วง 85-90 วันหลังจากปลูก ลักษณะการแตกกอของ

E. crus-galli var. *formosensis* แตกกอหนาแน่นกว่า และมีขนาดของเมล็ดและน้ำหนักเมล็ดมากกว่า *E. crus-galli* var. *crus-galli* แสดงให้เห็นว่า หญ้าข้าวнок 2 สายพันธุ์ดังกล่าวมีความแตกต่างกัน เช่นเดียวกับรายงานของ Tabacchi และคณะ (2006) ที่ได้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืชสกุล *Echinochloa* จำนวน 80 สายพันธุ์ จากนาข้าวในประเทศอิตาลี พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มของพืชสกุล *Echinochloa* ทั้ง 80 สายพันธุ์ได้เป็น 2 กลุ่ม

ผลการศึกษาในครั้งนี้ สามารถนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์ในการหาวิธีการควบคุมวัชพืชในระยะยาวได้ต่อไป เพื่อให้การตรวจสอบลักษณะพื้นฐานทางพันธุกรรมของหญ้าโขยงที่นำมาใช้ในการศึกษามีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น การศึกษาในขั้นตอนต่อไป จึงควรมีการพิจารณาลักษณะทางพันธุกรรมของหญ้าโขยงจากทั้ง 3 แหล่ง โดยการใช้เทคนิค AFLP ซึ่งเป็นเทคนิคที่นิยมนำมาศึกษาเกี่ยวกับการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม การจัดจำแนกชนิดและพันธุ์ ความหลากหลายทางพันธุกรรม และสามารถบอกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตที่เป็นชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์ได้ ตลอดจนพิจารณาผลทางอัลลีโลพาธีของหญ้าโขยงต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบบางชนิด เพื่อที่จะสามารถนำผลทางอัลลีโลพาธีของหญ้าโขยงไปใช้ในการพัฒนาการจัดการวัชพืชต่อไป

การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหญ้าโขยงโดยใช้เทคนิค AFLP

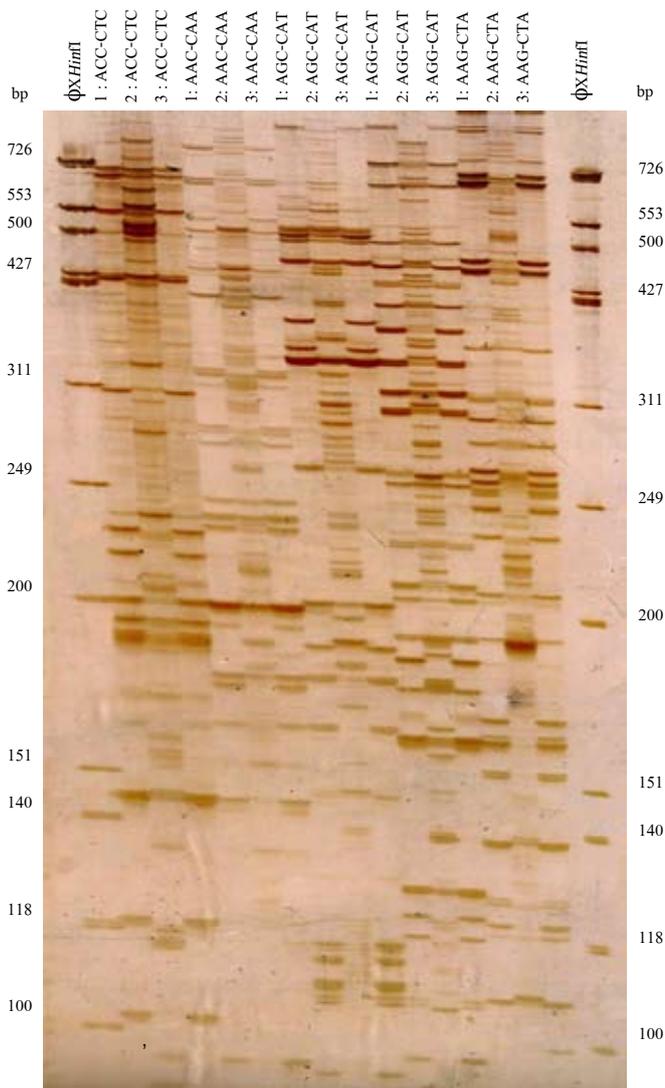


Figure 2. Genetic identity of itchgrass from the farmer's field in Jae Hom district, Lampang province, the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom province, and the experiment field at National Corn and Sorghum Research Centre (Suwan farm), Pak Chong district, Nakhon Ratchasima province.

1 = Itchgrass from Suwan farm, Pak Chong district.

2 = Itchgrass from Jae Hom, Lampang province.

3 = Itchgrass from KU-KPS. Nakhon Pathom province

การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหญ้าไซย่งที่มีการแพร่ระบาดในประเทศไทย โดยนำตัวอย่างของหญ้าไซย่งมาจาก 3 แหล่ง ได้แก่ หญ้าไซย่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง หญ้าไซย่งจากแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม และหญ้าไซย่งจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา โดยใช้เทคนิค AFLP ได้ข้อมูลของแถบดีเอ็นเอทั้งหมด 230 แถบ จากคู่ไพรเมอร์จำนวน 5 คู่ ประกอบด้วย ER-ACC: MS-CTC, ER-AAC: MS-CAA, ER-AGC: MS-CAT, ER-AGG: MS-CAT และ ER-AAG: MS-CTA พบว่ามีแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันจำนวน 116 แถบ และแถบดีเอ็นเอที่เหมือนกันจำนวน 114 แถบ (Figure 2) แล้วนำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหญ้าไซย่ง โดยการคำนวณค่าดัชนีความเหมือนของตัวอย่าง (similarity index) ด้วยโปรแกรม NTSYSpc สำหรับ Windows Version 2.01e ซึ่งสามารถจัดกลุ่มตัวอย่างโดยใช้ข้อมูลดังกล่าวแสดงในรูปของ phylogenetic tree

เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความเหมือนของหญ้าไซย่งจาก 3 แหล่ง พบว่ามีค่าดัชนีความเหมือนอยู่ในช่วงระหว่าง 0.230435 – 0.982609 สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างของหญ้าไซย่งได้เป็น 2 กลุ่ม (Figure 3) โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย หญ้าไซย่งจากแปลงทดลองที่

ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา และแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม ภายในกลุ่มตัวอย่างของหญ้าไชยง จากทั้ง 2 พื้นที่นี้มีค่าดัชนีความเหมือน 0.982609 สำหรับกลุ่มที่ 2 จะเป็นหญ้าไชยงจากแปลงเกษตรกรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง เพียง 1 พื้นที่เท่านั้น ซึ่งมีค่าดัชนีความเหมือน 0.230435 ความแตกต่างทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นนี้อาจเป็นไปได้ว่า การเจริญเติบโตในแต่ละท้องถิ่นของหญ้าไชยงจะแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับปัจจัยทางสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น แสง สมบัติทางกายภาพของดิน อินทรีย์วัตถุในดิน และค่าปฏิกิริยาดิน (pH) เนื่องจากในแต่ละสภาพพื้นที่จะมีปัจจัยทาง

สภาพแวดล้อมที่มีความแตกต่างกัน (Hall and Patterson, 1992) ซึ่งอาจจะส่งผลทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าไชยงเกิดขึ้นได้ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาผลจากการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหญ้าไชยงร่วมกับลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่ามีแนวโน้มที่สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (Table 2) คือหญ้าไชยงในกลุ่มที่ 1 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ใกล้เคียงกันในขณะที่หญ้าไชยงในกลุ่มที่ 2 มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการที่แตกต่างออกไป ได้แก่ สีของแผ่นใบ กาบใบ ลำต้น และราก ซึ่งจะมีสีที่เข้มกว่า และขนมีที่นุ่มกว่าของหญ้าไชยงในกลุ่มที่ 1 ถึงแม้ว่าหญ้าไชยงในกลุ่มที่ 1 จะมาจากต่างพื้นที่ แต่อย่างไรก็ตาม ได้มีการนำเมล็ดจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพด

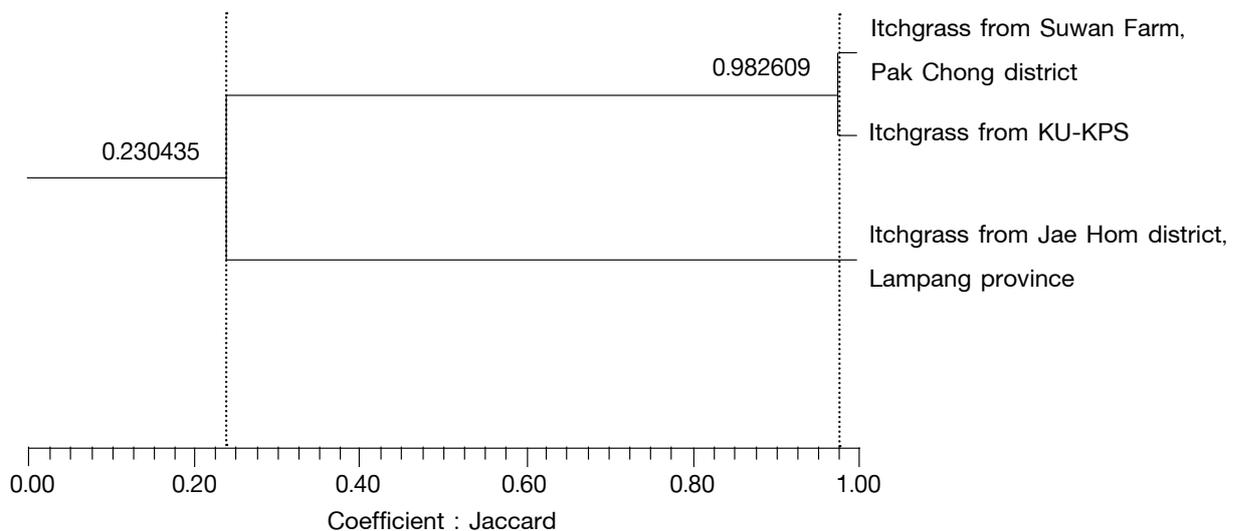


Figure 3. Phylogenetic tree of itchgrass from the farmer's field in Jae Hom district, Lampang province, the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom province, and the experiment field at National Corn and Sorghum Research Centre, Pak Chong district, Nakhon Ratchasima province.

และข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา มาปลูกหรือทดลองในแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม จึงทำให้มีค่าดัชนีความเหมือนจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน ส่วนหญ้าไชย่งในกลุ่มที่ 2 นั้น มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา และลักษณะทางพันธุกรรมที่แตกต่างจากกลุ่มที่ 1 จึงทำให้มีค่าดัชนีความเหมือนที่แตกต่างไป เมื่อนำผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรมมาเปรียบเทียบกับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Amirian และคณะ (2007) ที่ได้ทำการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *Aegilops tauschii* โดยใช้การประเมินจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการใช้เทคนิค AFLP มีความคล้ายคลึงกัน เช่นเดียวกับการรายงานของ Schmidt-Leubn และคณะ (2005) ที่ได้ทำการประเมินลักษณะของ *Suessenguthia* (Acanthaceae) จากลักษณะทางสัณฐานวิทยา และข้อมูล AFLP สามารถจัดกลุ่มได้ใกล้เคียงกัน ซึ่งแตกต่างไปจากรายงานของ Tabacchi และคณะ (2006) ที่ได้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมายทางโมเลกุล เพื่อจำแนกพืชสกุล *Echinochloa* จากนาข้าวในประเทศอิตาลี พบว่าเมื่อวิเคราะห์ลักษณะทางสัณฐานวิทยา จะสามารถแยกพืชสกุล *Echinochloa* ได้ 2 กลุ่ม แต่เมื่อวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค AFLP สามารถแยกได้เป็น 3 กลุ่ม ซึ่งมีความแตกต่างไปจากการจำแนกทางสัณฐานวิทยา จากการรายงานเกี่ยวกับการใช้เทคนิค AFLP ในการ

ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของพืชชนิดต่าง ๆ แสดงว่าเทคนิค AFLP สามารถบอกความแตกต่างของพืชชนิดเดียวกัน แต่ต่างสายพันธุ์กันได้

การศึกษาในครั้งนี้แสดงว่า การจำแนกหญ้าไชย่งโดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยามีความสัมพันธ์กับการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหญ้าไชย่งโดยใช้เทคนิค AFLP ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าไชย่งและประยุกต์ใช้ในด้านการจัดการวัชพืชได้ โดยเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมทางอัลลีโลพาธีคือ พิจารณาหญ้าไชย่งที่คาดว่าน่าจะมีศักยภาพทางอัลลีโลพาธีในการควบคุมวัชพืช ที่มีการขึ้นแพร่ระบาดอยู่ในพื้นที่ที่แตกต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม หากพบว่าหญ้าไชย่งที่นำมาจำแนกโดยการใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและซีโมเลกุล มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม แสดงว่าสามารถนำหญ้าไชย่งที่มีศักยภาพทางอัลลีโลพาธีไปใช้ประโยชน์ในด้านการจัดการวัชพืชได้ต่อไป ในขณะที่หญ้าไชย่งที่ไม่มีศักยภาพทางอัลลีโลพาธี (ที่เป็นวัชพืช) ก็ควรที่จะทำการควบคุมกำจัดทิ้งไป อย่างไรก็ตามการศึกษาในขั้นตอนต่อไป ควรมีการศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมทางอัลลีโลพาธีของหญ้าไชย่ง ในการควบคุมวัชพืชในระบบการผลิตพืชผักชนิดต่าง ๆ เช่น ถั่วแขก ถั่วลันเตา ถั่วเหลืองฝักสด ถั่วลิสง กวางตุ้งฝักกาดเขียวปลี มะเขือเทศ มะเขือเปาะและข้าวโพด เป็นต้น รวมทั้งศึกษากิจกรรมทางอัลลีโลพาธีของหญ้า

โขย่งในการควบคุมวัชพืชชนิดต่าง ๆ ที่เป็น ปัญหาในแปลงปลูกพืชผัก เช่น หญ้าเห็บ หญ้า แพรก หญ้าตีนนก หญ้าขน หญ้าหนงสีชมพู หญ้า ปากควาย ก้นจ้ำขาว ไมยราบและแห้วหมู เป็นต้น เพื่อที่จะได้นำไปใช้ประโยชน์ให้แก่ เกษตรกรในด้านการจัดการวัชพืชในระบบการ ผลิตพืชผักที่เป็นแบบการเกษตรยั่งยืน โดยที่ไม่ ต้องพึ่งพาการใช้สารกำจัดวัชพืช ซึ่งจะเป็นการ ช่วยลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีทางการเกษตร ได้ เพื่อความปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม และสิ่ง มีชีวิตต่อไป

สรุปผลการทดลอง

1. หญ้าโขย่งจากแปลงเกษตรกรในเขต พื้นที่ อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง มีลักษณะทางสัณฐาน วิทยาบางประการคือ มีสีของแผ่นใบ กาบใบ ลำต้นและราก ที่เข้มกว่าและมีขนที่นุ่มกว่า ซึ่ง แตกต่างไปจากหญ้าโขย่งของแปลงทดลองที่ภาค วิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม และแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าว ฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา

2. การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทาง พันธุกรรมของหญ้าโขย่งโดยใช้เทคนิค AFLP สามารถแบ่งกลุ่มตัวอย่างของหญ้าโขย่งได้เป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วย หญ้าโขย่งจาก แปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่าง แห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา และ แปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม ภายในกลุ่มมี ค่าดัชนีความเหมือน 0.98 ส่วนกลุ่มที่ 2 ได้แก่ หญ้าโขย่งจากแปลงเกษตรกรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง ซึ่งมีค่าดัชนีความเหมือน 0.23

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัย จากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์

เอกสารอ้างอิง

- สุญญาตา เมฆสวัสดิ์ สุเทพ ทองมา และ ทศพล พรพรหม. 2551. ผลทางอัลลี โลพาทีของหญ้าโขย่งต่อการเจริญเติบโต ของพืชทดสอบบางชนิด. *วารสาร วิทยาศาสตร์เกษตร*. 39 (1): 115-130.
- สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. *จีโนมและ เครื่องหมายดีเอ็นเอ ปฏิบัติการ อาร์เอพี ดีและเอเอฟแอลพี*. ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 272 หน้า.
- Amirian, R., M.R. Naghavi, A.A. Shahnejat and M. Omid. 2007. Evaluation of genetic diversity in *Aegilops tauschii* accessions using morphological and AFLP markers. *Pak. J. Biol. Sci.* 10(20): 3713-3717.
- Azmi, M., M. Mashhor, K. Itoh and H. Watanabe. 1995. Life cycle and

- seed longevity of *Echinochloa crus-galli* complex in direct seeded rice in Malaysia, Pages 506-511. In : *The 15th APWSS Conference Proceeding*, 24-28 July, 1995. Tsukuba, Japan.
- Bryson C.T., K.N. Reddy and I.C. Burke. 2008. Morphological comparison of morningglory (*Ipomoea* and *Jacquemontia* spp.) populations from the Southeastern United States. *Weed Sci.* 56: 692-698.
- Casini, P., V. Vecchio and I. Tamantini. 1998. Allelopathic interference of itchgrass and cogongrass: germination and early development of rice. *Trop. Agric. (Trinidad)* 75(4): 445-451.
- Cullings, K.W. 1992. Design and testing of a plant-specific PCR primer for ecological and evolutionary studies. *Molec. Ecol.* 1: 233-240.
- Doyle, J.J. and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19: 11-15.
- Hall, D.W. and D.T. Patterson. 1992. Itchgrass-stop the trains?. *Weed Technol.* 6: 239-241.
- Kobayashi, K., D. Itaya, P. Mahatamnuchoke and T. Pornprom. 2008. Allelopathic potential of itchgrass (*Rottboellia exaltata* Lour. W. Clayton) power incorporate into soil. *Weed Biol. and Manag.* 8: 64-68.
- Pester, T.A., S.M. Ward and P. Westra. 2003. Genetic diversity of jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) determined with RAPD and AFLP markers. *Weed Sci.* 51: 287-293.
- Schmidt-Lebuhn, A.N., M. Kessler and J. Muller. 2005. Evolution of *Suessenguthia* (Acanthaceae) inferred from morphology, AFLP data and ITS rDNA sequences. *Organisms, Diversity and Evolution.* 5: 1-13.
- Tabacchi, M., R. Mantegazza and A. Ferrero. 2006. Morphological traits and molecular markers for classification of *Echinochloa* species from Italian rice fields. *Weed Sci.* 54: 1086-1093.
- Vos, P. and M. Kuiper. 1997. AFLP analysis. Pages 115-131. In : *DNA Markers: Protocols* (eds.), G. Caetano-Anolles and P.M. Gresshoff Applications and Overviews. Wiley Liss, Inc., New York, USA.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M.

Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Fritjers, J. Pot., J. Peleman, M. Kuiper and M. Zabeau. 1995. AFLP: a new concept for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407-4414.

Wu, Y.Q., C.M. Taliaferro, G.H. Bai and M.P. Anderson. 2004. AFLP analysis of *Cynodon dactylon* (L.) Pers. var. *dactylon* genetic variation. *Genome* 47: 689-696.