ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐานของหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv) กับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช Quinclorac

Relationship between Morphology Characteristics of Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv) and Quinclorac Resistance

จรัญญา ปิ่นสุภา[1/*] อุษณีย์ จินดากุล[2/] เอกรัฐ ธนูทอง[2/] เทอดพงศ์ มหาวงษ์[2/] สุพรรณิกา อินต๊ะนนท์[3/]

Jarunya Pinsupa[1/*] Aussanee Chindakul[2/] Akekarat Tanutong[2/] Terdpong Mahawong[2/]

Suphannika Intanon[3/]

Received 27 Sep. 2021/Revised 27 Nov. 2021/Accepted 29 Dec. 2021

ABSTRACT

Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv) is a problematic weed in rice field. Quinclorac herbicide has been used by Thai farmers for controlling barnyardgrass for more than 20 years. However, in the past 4-5 years, farmers have reported the problem of controlling barnyardgrass by using quinclorac. This study aimed to investigate the relationship between morphological traits of barnyardgrass and quinclorac resistance. The study was conducted from 2017 to 2019 by first collecting 15 barnyardgrass populations from rice fields in 10 provinces of Thailand in 2017. They were then grown in the greenhouse of Weed Science and Research Group and their morphological characteristics were recorded. Quinclorac was applied at the recommended rate on all populations to evaluate herbicide resistance. Cluster analysis was performed using qualitative and quantitative morphological traits of barnyardgrass. Results revealed that 8 barnyardgrass populations were resistant to Quinclorac while the remaining 7 were susceptible. All resistant populations had historical records of being exposed to quinclorac application. Quinclorac resistant populations had lower number of seeds per panicle compared to susceptible populations ($p < 0.05$). At least 87.5% of resistant populations had 1.4-2.6 cm awn length, 113-124 cm plant height, green basal stem, green leaf margin, and awn color in green or reddish green. Susceptible populations (85.7%) had 6.3-13.8 cm awn length, 131-157 cm plant height and red basal stem, red leaf margin, and red awn. Cluster analysis using morphological traits confirmed the groupings of susceptible and resistant populations. This study demonstrates that morphological characteristics can be

[1/] สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร 50 พหลโยธิน ลาดยาว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

[1/] Field and Renewable Energy Crops Research Institute, Department of Agriculture, 50 phahonyothin Rd. Lat Yao Chatuchak Bangkok 10900

[2/] กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ, 10900

[2/] Weed Science and Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, 50 phahonyothin Rd. Lat Yao Chatuchak Bangkok 10900

[3/] ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ.พิษณุโลก

[3/] Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok

***Corresponding author: pinsupa.j@gmail.com**

helpful in identifying quinclorac resistant populations of barnyardgrass in the field for controlling in timely manner.

Keywords: barnyardgrass, fitness cost, herbicide resistant weeds, quinclorac

บทคัดย่อ

หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv) เป็นวัชพืชที่เป็นปัญหาในนาข้าว สารกำจัดวัชพืช quinclorac ถูกนำมาใช้ในการควบคุมกำจัดหญ้าข้าวนกมาเป็นระยะเวลากว่า 20 ปี แต่ในช่วง 4-5 ปี ที่ผ่านมาไม่สามารถควบคุมได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานของหญ้าข้าวนกที่มีความสัมพันธ์กับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac ดำเนินการทดลองเก็บเมล็ดหญ้าข้าวนก จำนวน 15 ประชากร จากพื้นที่ปลูกข้าว 10 จังหวัด นำประชากรหญ้าข้าวนกมาตรวจสอบความต้านทานต่อสาร quinclorac และศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา ในเรือนทดลองกลุ่มวิจัยวัชพืช ในปี พ.ศ. 2560-2562 และวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยเทคนิค cluster analysis โดยใช้ข้อมูลทางสัณฐานวิทยาทั้งด้านคุณภาพและปริมาณ การศึกษาพบว่า ประชากรหญ้าข้าวนกมีความต้านทานและอ่อนแอต่อสาร quinclorac ที่จำนวน 8 และ 7 ประชากร ตามลำดับ โดยประชากรต้านทานพบประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืช quinclorac มาก่อน ประชากรต้านทานให้จำนวนเมล็ดต่อช่อดอกต่ำกว่าประชากรอ่อนแอ และประชากรต้านทานส่วนใหญ่ มากกว่า 87.5% มีหางเมล็ดยาว 1.4-2.6 ซม. ต้นสูง 113-124.3 ซม. โคนต้นและขอบใบสีเขียว และมีหางเมล็ดสีเขียว หรือเขียวปนแดง ในขณะที่ประชากรอ่อนแอ 85.7% มีหางเมล็ดยาว 6.3-13.8 ซม. ต้นสูง 131-157 ซม. มีโคนต้น ขอบใบและหางเมล็ดสีแดง ผลการวิเคราะห์การจัดกลุ่มด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สามารถแบ่งกลุ่มประชากรหญ้าข้าวนกเป็น 2 กลุ่ม สอดคล้องกับผลการตรวจสอบความต้านทาน การศึกษานี้ให้ข้อมูลการสังเกตลักษณะประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานต่อสาร quinclorac ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรจัดการกับปัญหาวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชได้ทันเหตุการณ์

คำสำคัญ: หญ้าข้าวนก, ความเหมาะสมในการอยู่รอด, วัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช, ควินคลอแรก

บทนำ

หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv) เป็นวัชพืชที่เป็นปัญหาหลักในนาข้าว (Malik *et al*., 2010) หากปล่อยให้มีหญ้าข้าวนกขึ้นมากกว่า 40 ต้น/ตร.ม. จะส่งผลให้ผลผลิตข้าวลดลง (ไชยยศ และคณะ, 2536) หญ้าข้าวนกเป็นวัชพืชอายุปีเดียว (annual weed) ลำต้นตั้งตรงแตกเป็นกอ มีความสูง 100-200 ซม. ลำต้นสามารถแตกแขนงได้ ข้อต่อระหว่างกาบใบและใบไม่มีเยื่อกันน้ำฝน (ligule) ความยาวใบ 10-50 ซม. ความกว้างใบประมาณ 1.5 ซม. ดอกมีรูปร่างผันแปรออกดอกตลอดปี ความยาวช่อดอก 10-20 ซม. ขยายพันธุ์ด้วยเมล็ด ผลิตเมล็ดได้เป็นจำนวนมากสูงถึง 47,000 เมล็ด/ต้น เมล็ดมีความหลากหลายตั้งแต่ไม่มีหาง (awn) หางสั้นและหางยาว (สมาคมวัชพืชแห่งประเทศไทย, 2545; Noda *et al*., 1994; Malik *et al*., 2003) การจัดการหญ้าข้าวนกในนาข้าว เกษตรกรส่วนใหญ่ใช้สารกำจัดวัชพืช quinclorac มีกลไกการเข้าทำลายหญ้าข้าวนกโดยไปกระตุ้นการทำงานหรือชักนำให้มีการสังเคราะห์ ACC (1-amino-cyclopropane-1-carboxylic acid) โดยเอนไซม์ ACC synthase เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิต ethylene ทำให้มีการสร้าง ethylene เพิ่มมากขึ้น พืชสามารถสังเคราะห์เอทิลีนได้จากกรดอะมิโน methionine โดยเปลี่ยนรูปมาเป็น

S-adenosyl -L-methionine (SAM) โดยการทำงานของเอนไซม์ methionine-S-adenosyl transferase ต่อมา SAM จะถูกเปลี่ยนเป็น ACC ด้วยเอมไซม์ ACC synthase ในขั้นตอนสุดท้าย ACC จะถูกเปลี่ยนแปลงต่อไปเป็น ethylene ด้วยการทำงานของเอนไซม์ ACC oxidase ในสภาวะที่มีออกซิเจน และนอกจากนี้ ยังเกิดการสังเคราะห์ hydrogen cyanide (Yang and Hoffman, 1984) เมื่อหญ้าข้าวนกได้รับสาร quinclorac ผ่านทางราก ส่งผลให้ ethylene และ cyanide ถูกผลิตบริเวณราก โดย cyanide มีผลยับยั้งการเติบโตของราก ส่วน ethylene จะยับยั้งการทำงานของเอมไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ผนังเซลล์และการยืดยาวของราก (Lamoureux and Rusness, 1995; Koo *et al*., 1997; Grossmann, 1998)

สารกำจัดวัชพืช quinclorac ถูกนำมาใช้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2540 โดยแนะนำให้เกษตรกรใช้ในอัตรา 10-40 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ หลังจากหว่านข้าวนาหว่านน้ำตม 8-15 วัน สามารถควบคุมหญ้าข้าวนกได้ดี (ประสาน, 2540) แต่ปัจจุบันอัตราคำแนะนำดังกล่าวไม่สามารถควบคุมวัชพืชหญ้าข้าวนกได้ ถึงแม้ใช้อัตราสูงถึง 150 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ (จรรยา และคณะ 2560) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าหญ้าข้าวนกเริ่มมีการปรับตัวสามารถต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac และพบว่า พื้นที่ปลูกข้าวนาปรังในเขตภาคกลางส่วนใหญ่ สามารถปลูกข้าวได้ 2-3 ครั้งต่อปี มีการใช้สารกำจัดวัชพืชในพื้นที่ปลูกข้าวติดต่อกันเป็นเวลานาน บางพื้นที่มีการใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดเดิม หรือชนิดอื่นที่มีกลไกการทำลายวัชพืชเหมือนกันซ้ำที่เดิมเป็นเวลาหลายปีติดต่อกัน จึงมีโอกาสที่จะเกิดวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช โดยเฉพาะสารกำจัดวัชพืช quinclorac และในหลายประเทศมีรายงานหญ้าข้าวนกต้านทานสารกำจัดวัชพืช quinclorac ในนาข้าว เช่น ในประเทศสหรัฐอเมริกา บราซิล จีน มาเลเซีย อุรุกวัย และฟิลิปปินส์ เป็นต้น (Qiong *et al*., 2019; Heap, 2021)

วัชพืชที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชบางลักษณะที่ต้องสูญเสียไป เพื่อให้สามารถปรับตัวและมีชีวิตรอดได้ หรือที่เรียกว่า fitness ซึ่งเป็นความสามารถของประชากรวัชพืช (genotype) ที่รอดตายจากการใช้สารกำจัดวัชพืชและสามารถสร้างลูกหลานและถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมไปยังรุ่นต่อไปได้ (จรรยา, 2558) ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับ fitness มีทั้งลักษณะที่ปรากฏและไม่ปรากฏให้เห็น เช่น การงอกของเมล็ด การพักตัว ชีพลักษณ์ (phenology) การเจริญเติบโต การผสมพันธุ์ ขนาดเมล็ด และมวลชีวภาพ (biomass production) Etten *et al.* (2016) รายงานว่า ประชากรของ *Ipomoea purpurea* ที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช glyphosate มีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำ รากสั้น และมีขนาดต้นเล็กเมื่อเทียบกับประชากรอ่อนแอ และ Vila-Aiub *et al*. (2010) พบว่า คาโนล่า (*Brassica napus*) ที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช atrazine มีผลทำให้การผลิตเมล็ดของคาโนล่าลดลง Sheng *et al*. (2019) พบว่า ลักษณะการพักตัว (seed dormancy) ของประชากรหญ้านกสีชมพูที่อ่อนแอ และต้านทานสารกำจัดวัชพืช glyphosate ให้เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ด และการเจริญเติบโตของต้นกล้าใกล้เคียงกันและไม่แตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนั้น ลักษณะทางสัณฐานวิทยาถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการระหว่างชนิด การผสมพันธุ์ของชนิดที่ใกล้เคียงกันและความแปรปรวนของพันธุกรรมภายในชนิดนั้น ๆ (Altop and Mennan, 2011) และ Tasrif *et al*. (2004) รายงานว่า ความสูงต้น ความยาวช่อดอก จำนวนเมล็ดต่อช่อดอก ความยาวหางเมล็ด (awn length) และรวมทั้งลักษณะทางฟีโนไทป์ของหญ้าข้าวนก เป็นลักษณะที่แปรผันได้และมีความแตกต่างกันไปตามสภาพภูมิศาสตร์ของประชากร นอกจากนี้ Altop *et al.*

(2018) ใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาในการจัดกลุ่มชนิดของหญ้าข้าวนก (*Echinochloa* spp.) โดยใช้ความสูงต้น สีโคนต้น สีขอบใบ สีเส้นกลางใบ สีหางเมล็ด (awn color) ความยาวช่อดอก และจำนวนเมล็ดต่อช่อดอก

ดังนั้น การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา หรือลักษณะที่ปรากฏของหญ้าข้าวนกที่สามารถมองเห็นได้ในประชากรต้านทาน (resistant population) และประชากรอ่อนแอ (susceptible population) ต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac ทำให้ได้ข้อมูลลักษณะทางสัณฐานของหญ้าข้าวนกที่บ่งบอกลักษณะประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านสารกำจัดวัชพืช quinclorac ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรสามารถจัดการแก้ปัญหาวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชได้ทันเหตุการณ์

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ

ตัวอย่างประชากรวัชพืช

เก็บเมล็ดหญ้าข้าวนกในปี พ.ศ. 2560 ที่สงสัยว่าต้านทานสารกำจัดวัชพืช quinclorac จำนวน 8 ประชากร จาก จ. ฉะเชิงเทรา ปราจีนบุรี ลพบุรี สระบุรี และอยุธยา โดยมีประวัติการใช้สารกำจัดวัชพืช quinclorac ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557 ในพื้นที่ดังกล่าว ปลูกข้าว 2-3 ครั้งต่อปี ในแต่ละครั้งที่ปลูกข้าวใช้ quinclorac กำจัดหญ้าข้าวนก และเก็บเมล็ดหญ้าข้าวนกที่อ่อนแอ จำนวน 7 ประชากร จากพื้นที่ปลูกข้าวอินทรีย์ จ. น่าน มหาสารคาม ขอนแก่น กาฬสินธุ์ และร้อยเอ็ด เก็บเมล็ดหญ้าข้าวนกในนาข้าวแต่ละพื้นที่ ตามวิธีการของ European Herbicide Resistance Committee (2017) โดยเดินสุ่มเก็บในแนวเส้นทแยงมุม จำนวน 5 จุด ให้ได้เมล็ดรวมกันอย่างน้อย 100 กรัม/แปลง บันทึกพิกัดตำแหน่งที่เก็บ คัดแยกเมล็ดที่สมบูรณ์ แล้วนำมาตากแดดประมาณ 7 วัน ในเรือนทดลอง (อุณหภูมิ 33/27 °ซ. กลางวัน/กลางคืน) และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 2 เดือน เพื่อให้พ้นระยะการพักตัว

ศึกษาระดับความต้านทานของหญ้าข้าวนกต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac

เพาะเมล็ดหญ้าข้าวนกจำนวน 15 ประชากร ๆ ละ 50 เมล็ด ในกระบะขนาด 25x45 ซม. หลังงอกถอนแยกให้เหลือ 25 ต้น/กระบะ ดูแลรักษาจนถึงระยะ 2-3 ใบ อายุประมาณ 10 วัน พ่นสารกำจัดวัชพืช quinclorac ที่อัตรา 120 กรัมสารออกฤทธิ์/ไร่ (กลุ่มวิจัยวัชพืช 2554) เปรียบเทียบกับไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช วางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชด้วยเครื่องพ่นสารแบบถังโยกสะพายหลัง หัวพ่นแบบรูปพัด ปริมาณน้ำที่ใช้ 80 ลิตร/ไร่ นับจำนวนต้นรอดตาย หลังพ่นสาร 15 วัน คำนวณเปอร์เซ็นต์รอดตายเปรียบเทียบในประชากรเดียวกันกับที่ไม่พ่นสาร แบ่งระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช เป็น 3 ระดับ (Llewellyn and Powles, 2001) คือ 1) ประชากรอ่อนแอ (susceptible population) 2) ประชากรที่กำลังพัฒนาความต้านทาน (developing resistant population) และ 3) ประชากรต้านทาน (resistant population) มีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 0, 1-20 และมากกว่า 20% ตามลำดับ ทำการทดสอบ ระหว่าง มี.ค – พ.ค. 2561 ในเรือนทดลองกลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของหญ้าข้าวนกต้านทานและอ่อนแอ

เมล็ดหญ้าข้าวนกรุ่นลูกจากต้นที่รอดชีวิตหลังพ่นสารกำจัดวัชพืชจากข้างต้น และประชากรที่อ่อนแอซึ่งปลูกแยกบริเวณกัน ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 45 ซม. ประชากรละ 30 กระถาง ถอนแยกเหลือ 1 ต้น/กระถาง บันทึกข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological traits) 1) ข้อมูลเชิงปริมาณ (quantitative traits) ได้แก่ วันออกดอก (นับวันออกดอกที่ 50% ของแต่ละประชากร) จำนวนหน่อ/ต้น ที่ระยะ 60 วัน

หลังงอก ส่วนความสูงต้น ความกว้าง และความยาวใบที่ 3 4 และ 5 จากยอด ความยาวช่อดอก และจำนวนเมล็ด/ช่อดอก ความยาวหางเมล็ด โดยสุ่มวัด 100 เมล็ด/ต้น ที่ระยะ 77 วันหลังงอก 2) ข้อมูลเชิงคุณภาพ ได้แก่ สีโคนต้น สีขอบใบ สีหางเมล็ด และสีเกสรตัวเมีย สังเกตที่ระยะ 77 วันหลังงอก บันทึกภาพเดือน ก.ค.–ต.ค. 2562 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Statistical Package for the Social Science (SPSS) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's new multiple range test) ที่ความเชื่อมั่นที่ 95%

การวิเคราะห์จัดกลุ่ม

วิเคราะห์จัดกลุ่ม (cluster analysis) ของลักษณะทางสัณฐานวิทยา ข้อมูลเชิงปริมาณและข้อมูลเชิงคุณภาพ ใช้วิธีวัดความเหมือนแบบ simple matching coefficient คำนวณหาค่าดัชนีความเหมือนของตัวอย่าง (similarity index) ด้วย Jaccard's coefficient และจัดตัวแปรเข้ากลุ่มด้วยวิธี unweighted pair-group method with arithmetic average (UPGMA) (Romesburg, 1984)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ระดับความต้านทานของหญ้าข้าวนกต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac

ประชากรหญ้าข้าวนก จำนวน 7 ประชากร ที่เก็บในนาข้าวอินทรีย์จาก จ.น่าน (P9) จ. มหาสารคาม (P10) จ. ขอนแก่น (P11, P12) กาฬสินธุ์ (P13) และร้อยเอ็ด (P14, P15) ยืนยันว่าเป็นประชากรหญ้าข้าวนกอ่อนแอ เพราะตายทั้งหมด และประชากรหญ้าข้าวนกที่เก็บจาก จ. ฉะเชิงเทรา (P1, P2) ปราจีนบุรี (P3) ลพบุรี (P4) สระบุรี (P5, P6) และอยุธยา (P7) ยืนยันว่าเป็นประชากรที่มีความต้านทาน ต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac มีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 98-100% จะเห็นได้ว่าประชากรหญ้าข้าวนกที่อ่อนแอเป็นประชากรที่พบในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือจากนาอินทรีย์ ในขณะที่ประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานเป็นประชากรหญ้าข้าวนกที่เก็บมาจากพื้นที่ในเขตภาคกลาง (Table 1) อาจเนื่องมาจากระบบการปลูกข้าวของเกษตรกรในแต่ละภูมิภาคแตกต่างกัน การปลูกข้าวในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือส่วนใหญ่จะเป็นการปลูกข้าวนาปี ซึ่งปลูกข้าวได้เพียงครั้งเดียวต่อปี ภาคเหนือมีการปลูกข้าวทั้งนาปีและนาปรัง ส่วนภาคกลางพื้นที่ปลูกข้าวส่วนใหญ่อยู่ในเขตชลประทาน การปลูกข้าวจึงเป็นการปลูกข้าวแบบนาปรัง (Thanawong *et al*, 2014) ทำให้มีโอกาสใช้สารกำจัดวัชพืชในนาข้าวเพื่อกำจัดวัชพืชได้มากกว่า และเกษตรกรใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดเดิมติดต่อกันจึงชักนำให้เกิดวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชได้ (Mallory-Smith and Retzinger, 2003; Talbert and Burgos, 2007; Malik *et al*., 2010; Rahman *et al*., 2010; Qiong *et al*., 2019) สอดคล้องกับการรายงานของ Lopes-Martineset *et al*. (1999) และ Rutledge *et al*. (2000) รายงานว่า การใช้สารกำจัดวัชพืชติดต่อกันในนาข้าวเป็นสาเหตุให้เกิดวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช Juliano *et al*. (2010) รายงานว่า หากใช้สารกำจัดวัชพืชติดต่อกัน 5-10 ปี มีโอกาสชักนำให้เกิดวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช การเกิดความต้านทานของวัชพืชต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac ในข้อมูลระดับ molecular ยังไม่สามารถอธิบายได้ชัดเจนว่าเกิดความต้านทานในตำแหน่งไหนของยีน แต่กระบวนการต้านทานของพืชที่เกิดกับสารกำจัดวัชพืช quinclorac สามารถอธิบายได้ว่า เข้าไปเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ ethylene ซึ่งเกี่ยวข้องกับ 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase (ACS), 1-aminocyclopropane-1- carboxylic acid oxidase (ACO) และกระบวนการขจัดพิษ cyanide (cyanide

Table 1 Sampling locations of barnyardgrass populations in rice fields in 2017 and their percentage of survival and resistance level to quinclorac

Population	Sub-district	District	Province	Coordinates		Planting seasons per year	Herbicide applied	Percentage of survival[1]	Resistance level
				Longitude	Latitude				
P1	Bang Khwan	Bang Nam Priao	Chachoengsao	101.126580	13.862501	2-3	quinclorac	98	R
P2	Pak Song	Phanom Sarakham	Chachoengsao	101.354184	13.749662	2-3	quinclorac	100	R
P3	Khok Pip	Si Mahosot	Prachin Buri	101.406663	13.881663	2-3	quinclorac	100	R
P4	Khlong Ket	Khok Samrong	Lop Buri	100.434747	14.976301	2-3	quinclorac	98	R
P5	Nong Suang	Wihan Daeng	Sara Buri	100.976734	14.340122	2-3	quinclorac	100	R
P6	Phra Phutthabat	Phra Phutthabat	Sara Buri	100.777334	14.714792	2-3	quinclorac	100	R
P7	Nam Tao	Bang Ban	Ayutthaya	100.441262	14.324661	2-3	quinclorac	100	R
P8	Khanon Luang	Bang Pa-in	Ayutthaya	100.585442	14.302306	2-3	quinclorac	98	R
P9	Klang Wiang	Wiang Sa	Nan	100.743197	18.575692	2	-	0	S
P10	Hua Khwang	Kosum Phisai	Maha Sarakham	103.083404	16.268412	1	-	0	S
P11	Tha Krasoem	Nam Phong	Khon Kaen	102.862733	16.631519	1	-	0	S
P12	Tha Krasoem	Nam Phong	Khon Kaen	102.883044	16.587511	1	-	0	S
P13	Yang Talat	Yang Talat	Kalasin	103.384259	16.406705	1	-	0	S
P14	Si Kaeo	Mueang Roi Et	Roi Et	103.540145	16.094310	1	-	0	S
P15	Changhan	Changhan	Roi Et	103.615184	16.164583	1	-	0	S

[1] Level of herbicides resistance: 0% survival = susceptible population, 1-20% survival = developing resistant population; > 20% survival = resistant population (Llewellyn and Powles 2001).

detoxification pathway) (Grossmann, 1998; Matzenbacher *et al*., 2014)

ลักษณะสัณฐานวิทยาของหญ้าข้าวนกต้านทานและอ่อนแอ

ลักษณะข้อมูลเชิงปริมาณมีความแตกต่างกันระหว่างประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานและอ่อนแอ คือ จำนวนเมล็ด/ช่อดอก ($p < 0.05$) และลักษณะส่วนใหญ่ที่แตกต่างกันแต่ไม่พบในทุกประชากรต้านทานและอ่อนแอ ได้แก่ ความยาวหางเมล็ด ความสูงต้น วันออกดอก และความกว้างใบ โดยประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานให้จำนวนเมล็ด 534-882.6 เมล็ด/ช่อดอก ซึ่งต่ำกว่าประชากรหญ้าข้าวนกที่อ่อนแอต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac ในทุกประชากร ซึ่งให้จำนวนเมล็ด 960.9-1,165.9 เมล็ด/ช่อดอก ในขณะที่ความยาวหางเมล็ดของประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทาน 7 ใน 8 ประชากร คิดเป็นร้อยละ 87.5% มีความยาวหางเมล็ด 1.4-2.6 ซม. และมีความสูงในช่วง 113-124.3 ซม. ยกเว้นประชากรต้านทาน P8 ที่เก็บจาก อ. บางปะอิน จ. อยุธยา มีหางเมล็ดยาว 14.2 ซม. ซึ่งให้ความยาวหางเมล็ดไม่แตกต่างทางสถิติกับประชากรหญ้าข้าวนก P11 และ P12 ที่เก็บจาก อ. น้ำพอง จ. ขอนแก่น ที่อ่อนแอต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac ให้ความยาวหางเมล็ด 12.9 และ 13.8 ซม. ตามลำดับ ซึ่งประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานสาร quinclorac ส่วนใหญ่จะมีหางเมล็ดสั้น ต้นเตี้ยเมื่อเทียบกับประชากรอ่อนแอที่มีหางเมล็ดยาว 6.3-13.8 ซม. สูง 131-157 ซม. (Table 2)

วันออกดอกของประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานสาร quinclorac อยู่ระหว่าง 60-63 วันหลังงอก ในขณะที่ประชากรที่อ่อนแอออกดอกที่ 54-60 วันหลังงอก จะเห็นได้ว่า วันออกดอกของประชากรหญ้าข้าวนกต้านทานส่วนใหญ่มีแนวโน้มออกดอกช้ากว่าประชากรหญ้าข้าวนกที่อ่อนแอ ในขณะที่ความกว้างใบของประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานให้ความกว้างใบ 1.2-1.5 ซม. ประชากรหญ้าข้าวนกที่อ่อนแอให้ความกว้างใบต่ำกว่า อยู่ระหว่าง 1.0-1.1 ซม. แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้ จำนวนหน่อ/ต้น ความยาวใบ ความยาวช่อดอกของหญ้าข้าวนกในประชากรที่ต้านทานสารและประชากรอ่อนแอให้ผลทางสถิติไม่แตกต่างกัน (Table 2) สอดคล้องกับการทดลองของ Malik *et al.* (2003) ที่พบว่า ความสูง และจำนวนหน่อ/ต้นของหญ้าข้าวนกที่เป็น biotype ต้านทานสารกำจัดวัชพืช propanil, quinclorac, quinclorac/propanil และ biotype หญ้าข้าวนกอ่อนแอไม่แตกต่างกันทางสถิติ และยังพบว่า หญ้าข้าวนกที่เป็น biotype ต้านทานสารกำจัดวัชพืช quinclorac มีจำนวนเมล็ดเฉลี่ย 12,300 เมล็ด/ต้น น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับ biotype หญ้าข้าวนกอ่อนแอ ซึ่งมีจำนวนเมล็ด 33,690 เมล็ด/ต้น และสอดคล้องกับการรายงานของ Vila-Aiub *et al.* (2010) ที่รายงานว่า ประชากรวัชพืชที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืชจะผลิตเมล็ดได้น้อยกว่าประชากรวัชพืชที่อ่อนแอต่อสารกำจัดวัชพืช

ลักษณะข้อมูลเชิงคุณภาพ สีโคนต้น และสีขอบใบของประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานมีสีเขียวในขณะที่ประชากรหญ้าข้าวนกที่อ่อนแอส่วนใหญ่มีสีแดง (Figure 1) ยกเว้นประชากรข้าวนกอ่อนแอที่เก็บมาจาก ต. กลางเวียง อ. เวียงสา จ. น่าน (P9) มีโคนต้นสีเขียว และประชากรหญ้าข้าวนกจาก ต. ท่ากระเสริม อ. น้ำพอง จ. ขอนแก่น (P12) มีสีขอบใบที่ปรากฏเป็นสีเขียว และส่วนของสีหางเมล็ดของหญ้าข้าวนก พบประชากรอ่อนแอมีสีหางเมล็ดสีแดง แต่ประชากรที่ต้านทานมีทั้งสีเขียวและแดงปะปนกัน เช่นเดียวกับสีของเกสรตัวเมียมีทั้งสีม่วงและสีม่วงอ่อนปะปนกันทั้งในประชากรต้านทานและอ่อนแอ จะเห็นได้ว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่เป็นข้อมูลเชิงคุณภาพที่ปรากฏในประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานและอ่อนแอมีลักษณะที่ไม่แตกต่างกัน แต่โดยส่วนใหญ่

Table 2 Quantitative and qualitative morphological traits of barnyardgrass grown in green house at Weed Science Group during 2018-2019

Population	Quantitative								Qualitative			
	Awn length (cm)	Days to heading	Height (cm)	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Number of tillers	Panicle length (cm)	Seeds/ panicle	Basal stem color	Leaf margin color	Awn color	Stigma color
Resistant population												
P1	1.8 f[1/]	63 a	116.0 ef	45 ab	1.2 bc	24.3 c	18.4 cde	882.6 c	Green	Green	Red	Light purple
P2	2.6 f	63 a	116.0 ef	48 a	1.2 bc	22.0 cde	18.5 cde	680.7 e	Green	Green	Green	Light purple
P3	1.6 f	60 b	113.0 f	37 c	1.5 a	18.7 def	19.2 bcd	858.3 c	Green	Green	Green	Purple
P4	1.4 f	63 a	123.0 def	42 b	1.2 bc	15.0 fg	16.6 ef	557.7 f	Green	Green	Green	Light purple
P5	1.7 f	63 a	124.3 def	43 ab	1.5 a	29.0 ab	16.0 fg	534.0 f	Green	Green	Green	Purple
P6	1.8 f	63 a	113.3 f	38 c	1.4 ab	22.3 cde	16.0 fg	776.0 de	Green	Green	Green,Red	Light purple
P7	1.7 f	60 b	113.7 f	41 b	1.5 a	18.3 ef	18.6 cde	834.5 cd	Green	Green	Green	Purple
P8	14.2 a	63 a	113.0 f	48 a	1.4 ab	18.7 def	20.8 ab	852.5 c	Green	Green	Green,Red	Light purple
Susceptible population												
P9	6.3 e	60 b	132.3 cd	47 a	1.1 c	25.0 bc	21.3 a	1,165.9 a	Green	Red	Red	Light purple
P10	11.8 c	57 c	142.3 bc	43 ab	1.0 c	23.3 cd	18.5 cde	975.8 b	Red	Red	Red	Purple
P11	12.9 abc	60 b	149.7 ab	42 ab	1.1 c	21.7 cde	18.5 cde	999.9 b	Red	Red	Red	Purple
P12	13.8 ab	60 b	157.3 a	39 bc	1.1 c	11.0 g	17.8 def	1,133.9 a	Red	Green	Red	Purple
P13	9.6 d	56 d	128.3 de	41 ab	1.1 c	18.7 def	16.7 ef	1,014.3 ab	Red	Red	Red	Light purple
P14	12.6 bc	54 e	131.7 cd	42 b	1.0 c	30.0 a	14.6 g	960.9 b	Red	Red	Red	Light purple
P15	9.2 d	54 e	131.0 cd	44 ab	1.1 c	16.3 f	20.3 abc	1,041.9 a	Red	Red	Red	Purple
CV (%)	12.8	1.2	6.7	12.6	8.6	12.1	5.8	9.5				

1/ Means in the same columns followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

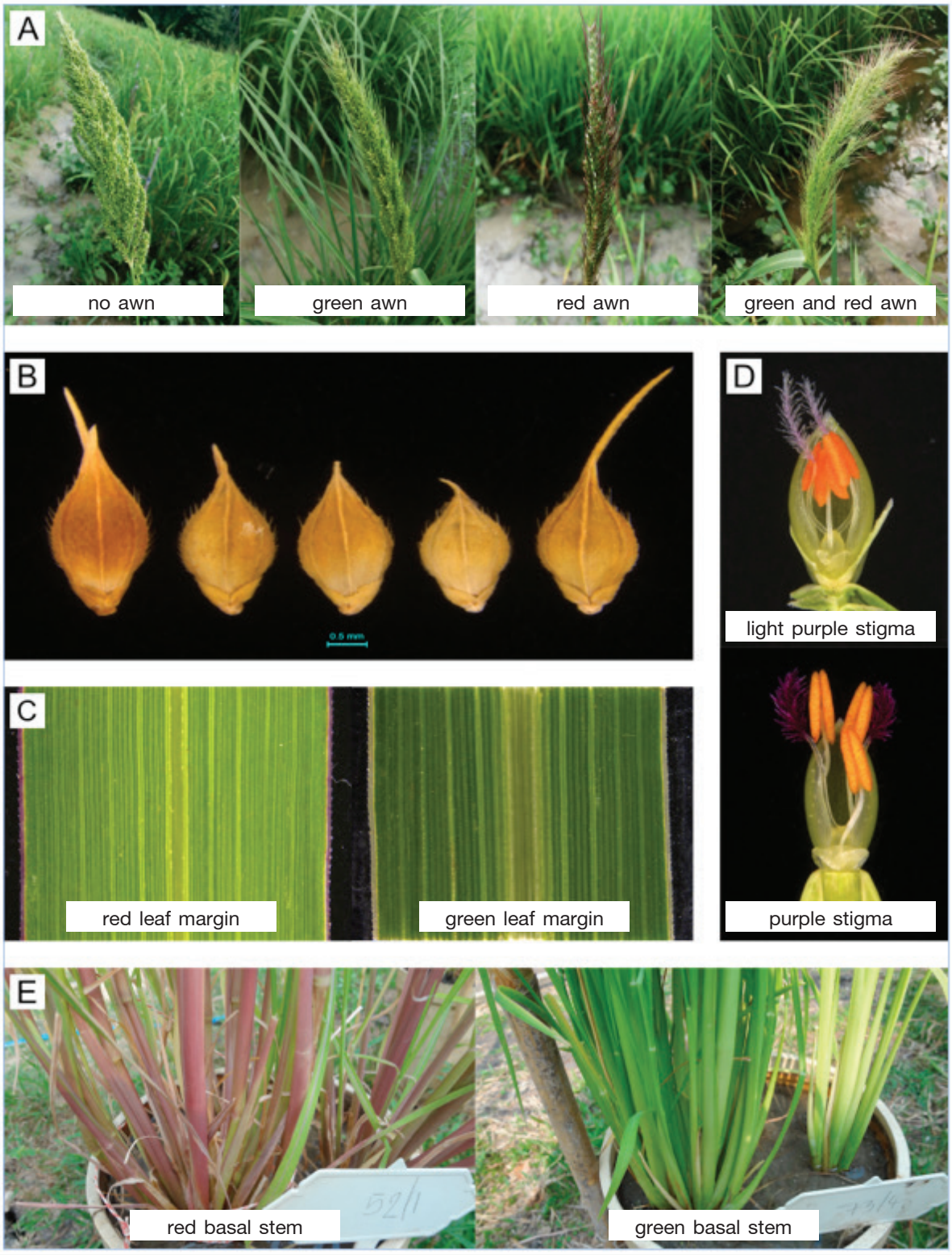

Figure 1 Patterns of morphological variation observed in barnyardgrass: at 77 days after germination (A); awn color (B); awn length in caryopsis (C); leaf margin color (D); stigma color (E) basal stem color

ประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานจะมีสีโคนต้น สีขอบใบ สีหางเมล็ดเป็นสีเขียว

การวิเคราะห์จัดกลุ่ม

ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมอยู่ที่ 0.58 สามารถยืนยันการแบ่งกลุ่มประชากรหญ้าข้าวนกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยประชากรหญ้าข้าวนก จำนวน 8 ประชากร ได้แก่ P1-P8 ซึ่งเป็นประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านสารกำจัดวัชพืช quinclorac และกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยประชากรหญ้าข้าวนก จำนวน 7 ประชากร ได้แก่ P9-P15 ซึ่งเป็นประชากรหญ้าข้าวนกที่อ่อนแอต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac (Figure 2) สอดคล้องกับการประเมินระดับความต้านทานของหญ้าข้าวนกต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac และพบว่า จำนวนเมล็ด/ช่อดอก ความยาวหางเมล็ด วันออกดอก ความสูงต้น ความกว้างใบ สีโคนต้น สีขอบใบ และสีหางเมล็ด สามารถแบ่งกลุ่มประชากรส่วนใหญ่ได้ชัดเจน ส่วนความยาวใบ จำนวนหน่อ/ต้น ความยาวช่อดอก และสีเกสรตัวเมีย แตกต่างกันไม่ชัดเจนระหว่างประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานและอ่อนแอต่อสาร quinclorac ซึ่งจะเห็นได้ว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาทั้งข้อมูลเชิงปริมาณและคุณภาพสามารถจัดกลุ่มประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานและอ่อนแอได้ แต่มีบางประชากรของหญ้าข้าวนก เช่น P9 ที่อยู่ในกลุ่มประชากรอ่อนแอควรมีสีโคนต้นสีแดง แต่มีสีโคนต้นสีเขียว และ P12 อยู่ในกลุ่มประชากรอ่อนแอควรมีสีขอบใบเป็นแดง แต่มีสีขอบใบเป็นสีเขียว นั้น อาจเป็นเพราะการกลายพันธุ์หรือความแตกต่างของพันธุกรรมที่เกิดขึ้นได้จากความแตกต่างของสภาพภูมิศาสตร์ และระบบนิเวศของประชากรหญ้าข้าวนกที่เก็บมา (Tasrif *et al*., 2004) สอดคล้องกับงานวิจัยของ

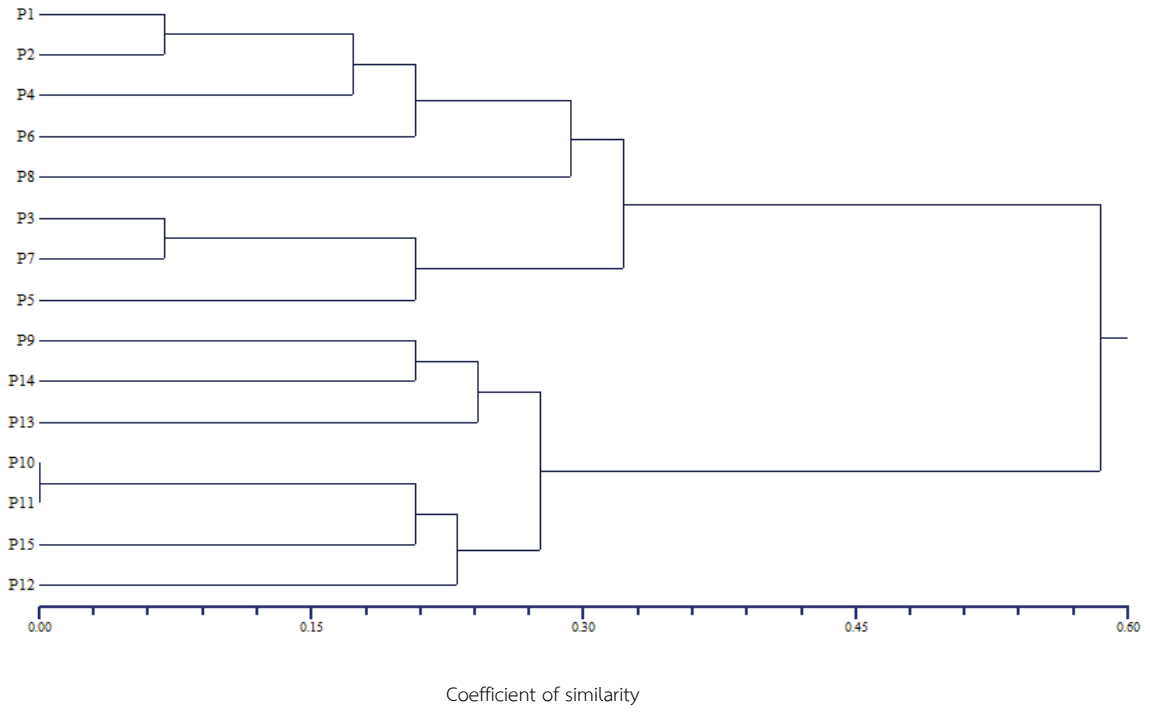

Figure 2 Dendrograms derived from a UPGMA cluster analysis of coefficient of similarity of barnyard grass (groups 1, P1-P8= quinclorac resistant populations; groups 2, P9-P12= quinclorac susceptible populations)

Juraimi *et al.* (2005) ที่พบว่า บางลักษณะของ phenotypes ของหญ้าข้าวนก จะมีรูปร่างลักษณะหลายรูปแบบเกิดขึ้นได้ตามสภาพแวดล้อมของพื้นที่ที่หญ้าข้าวนกนั้นอาศัยอยู่ ซึ่งเกิดจากการปรับตัวของประชากรของหญ้าข้าวนกให้เหมาะสมกับสภาพท้องถิ่นนั้น ๆ และการจัดการวัชพืชที่แตกต่างกัน

สรุปผลการทดลอง

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทาน มีจำนวนเมล็ดต่อช่อดอกต่ำกว่าประชากรหญ้าข้าวนกที่อ่อนแอต่อสารกำจัดวัชพืช quinclorac และโดยส่วนใหญ่หญ้าข้าวนกที่ต้านทาน ออกดอกช้ากว่าประชากรหญ้าข้าวนกอ่อนแอ มีความสูงของต้น และความยาวหางเมล็ดต่ำกว่าประชากรหญ้าข้าวนกที่อ่อนแอ แต่มีความกว้างใบมากกว่า รวมทั้งลักษณะของสีโคนต้น สีขอบใบ และสีหางเมล็ด ซึ่งโดยส่วนใหญ่ประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานมีสีเขียว ส่วนลักษณะความยาวใบ จำนวนหน่อต่อต้น ความยาวช่อดอก และสีเกสรตัวเมียไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างประชากรหญ้าข้าวนกที่ต้านทานและอ่อนแอต่อสาร quinclorac

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2554. *คำแนะนำการควบคุมวัชพืชและการใช้สารกำจัดวัชพืช*. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 149 หน้า.

จรรยา มณีโชติ. 2558. *วัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืช* (*Herbicides Resistant Weed*). เอกสารประกอบการฝึกอบรม หลักสูตร การจำแนก การจัดการ และการใช้สารกำจัดวัชพืชอย่างปลอดภัย, 30 มีนาคม- 1 เมษายน 2558. กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

จรรยา มณีโชติ ปรัชญา เอกฐิน และยุรวรรณ อนันตนมณี. 2560. *พื้นที่เสี่ยงต่อการระบาดของหญ้าข้าวนกที่มีกลไกความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชแบบ multiple resistance ในนาข้าว*. แหล่งข้อมูล: https://www.doa.go.th/research/attachment.php?aid=2646. สืบค้น: 19 พฤศจิกายน 2564.

ไชยยศ สุพัฒนกุล และเบญจพล สุวรรณสิงห์. 2536. การเบียดเบียนของหญ้าข้าวนกที่มีความหนาแน่นต่าง ๆ กัน ต่อต้นข้าว. หน้า 1-17. *ใน: ผลงานวิจัยปี 2536 กลุ่มงานวิทยาการวัชพืช*. กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร.

ประสาน วงศาโรจน์. 2540. *การจัดการวัชพืชในนาข้าว*. กองพฤกษศาสตร์และวัชพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ. 156 หน้า.

สมาคมวัชพืชแห่งประเทศไทย. 2545. *วัชพืชสามัญภาคกลาง*. หจก. ฟันนี่พับบลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ. 135 หน้า.

Altop, E.K., K. Jabran and H. Mennan. 2018. Determination of morphological and genetic diversity of ALS (acetolactate synthase)-herbicide-resistant *Echinochloa oryzoides* biotypes in rice. Available at: http://www.fspublishers.org/published__papers/32215.pdf. Accessed: June 10, 2021.

Altop, E.K. and H. Mennan. 2011. Genetic and morphologic diversity of *Echinochloa crus-galli* populations from different origins. Available at: https://www.researchgate.net/publication/225753176. Accessed: June 10, 2021.

European Herbicide Resistance Committee. 2017. Committee European Guidelines to conduct herbicide resistance tests. Available at: http://hracglobal.com/europe/files/docs/Europe__Guidelines__Herbicide__Resistance-tests__13Oct17.pdf. Accessed: December 13, 2017.

Etten, M.L.V, A. Kuester, S.M. Chang and R.S. Baucom. 2016. Fitness costs of herbicide

resistance across natural populations of the common morning glory, *Ipomoea purpurea*. *Evolution*. 70(10): 2199-2210.

Grossmann, K. 1998. Quinclorac belongs to a new class of highly selective auxin herbicides. *Weed Sci.* 46:707-716.

Heap, I.M. 2021. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Available at: http://www.weedscience.org/Pages/RecentCases.aspx. Accessed: September 16, 2021.

Julianoa, L.M., M.C. Casimerob and R.S.Llewellync. 2010. Multiple herbicide resistance in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in direct-seeded rice in the Philippines. International *J. Pest Management*. 56(4): 299-307.

Juraimi, A.S., A. Tasrif, J. Kadir, S.S. Sastroutomo and S. Napis. 2005. Morphological and RAPD variability among Malaysian ecotypes of barnyard grass (*Echinochloa crus-galli var. crus-galli* (L) P.Beauv.). *Plant Prot. Q.* 20(2):52.

Koo, S.J., J.C. Neal and J.M. DiTomaso. 1997. Mechanism of Action and Selectivity of Quinclorac in Grass Roots. *Pestic. Biochem. Physiol.* 57:44-53.

Llewellyn, R.S. and S.B. Powles. 2001. High levels of herbicide resistance in rigid rye-grass *(Lolium rigidum*) in the wheat belt of Western Australia. *Weed Technology*. 15(2):242-248.

Lopes-Martines, N., A.P. Salva, R.P. Finch and R.D. Prado. 1999. Molecular markers indicate intraspecific variation in the control of *Echinochloa* spp. with quinclorac. *Weed Sci.* 47(3): 310-315.

Lamoureux, G. and D. Rusness. 1995. Quinclorac absorption, translocation, metabolism, and toxicity in leafy spurge (*Euphorbia esula*). *Pest. Biochem. and Physio.* 53(3): 210-226.

Malik, M.S., N.R. Burgos and R.E. Talbert. 2010. Confirmation and control of propanil-resistant and quinclorac-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in rice. *Weed Technol.* 24(3):226–233.

Malik, M.S., R.E. Talbert, N.R. Burgos, B.V. Ottis and A.T. Ellis. 2003. Characterization of herbicide resistant biotypes of barnyardgrass. *AAES Research Series* 517:116-121.

Mallory-Smith, C. A. and E. J. Retzinger. 2003. Revised classification of herbicides by site of action for weed resistance management strategies. *Weed Technol.* 17(3):605–619.

Matzenbacher, F.O., E.D. Bortoly, A. Kalsing and A. Merotto. 2014. Distribution and analysis of the mechanisms of resistance of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) to imidazolinone and quinclorac herbicides. *J. Agric. Sci.* 153(6):1044-1058.

Noda K., M., Teerawatsakul C., Prakongvongs and L. Chaiwiratnukul 1994. Major Weeds in Thailand. Revised, Enlarged Third Edition Chatuchak, Bangkok. 164 p.

Qiong, P.E., H.A. Heping, Y.A. Xia, B.A. Lianyang, Y.U. Qin and S.B. Powles. 2019. Quinclorac Resistance in *Echinochloa crus-galli* from China. *Rice Sci.* 26(5):300-308.

Rahman, M.M., I.B. Sahid and A.S. Juraimi. 2010. Study on resistant biotypes of *Echinochloa crus-galli* in Malaysia. *Aust. J. Crop Sci.* 4(2):107-115.

Romeburg, C.H. 1984. Cluster Analysis for Researchers. Wadsworth, Inc. USA. 344 p.

Rutledge, J., R.E. Talbert and C.H. Sneller. 2000. RAPD analysis of genetic variation among propanil-resistantand susceptible *Echinochloa crus-galli* populations in Arkansas. *Weed Sci.* 48:669-674.

Sheng, G.S., M. Vila-Aiub, R. Busi, D. Goggin and S.J. Powles. 2019. Physiological fitness cost associated with glyphosate resistance in *Echinochloa colona*: seed germination ecology. *J Trop. Plant Physio*. 11(2):1-12.

Thanawong, K., S.R. Perret and C. Basset-Mens. 2014. Eco-effificiency of paddy rice production in Northeastern Thailand: a comparison of rain-fed and irrigated cropping systems. *J. Clean. Prod*. 73:204-217.

Talbert, R.E. and N. R. Burgos. 2007. History and management of herbicide-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Arkansas rice. *Weed Technol*. 21(2): 324–331

Tasrif, A., A.S. Juraimi, J. Kadir, S.S. Sastroutomo and S. Napis. 2004. Genetic diversity of *Echinochloa crusgalli* var. *crus-galli* (L.) Beauv. (Barnyardgrass: Poaceae) ecotypes in Malaysia and Indonesia as revealed by RAPD markers. Asian *J. Plant Sci.* 3:231–238.

Vila-Aiub, M.M., P. Neve and S.B. Powles. 2010. Fitness Costs of Evolved Herbicide Resistance. Available at: https://www.researchgate.net/publication/255823329__Evolved__Herbicide__Resistance__Fitness__Costs. Accessed: May 26, 2021.

Yang, S.F. and N.E. Hoffman. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Ann. Review Plant Physio.* 35, 155-189.