

การใช้เทคนิค HAT-RAPD เพื่อศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมหญ้าขนกสีชมพู
(*Echinochloa colona*) ที่ต้านทานต่อสาร fenoxaprop-*p*-ethyl



ปริญญานิพนธ์
ของ
เพชร สุธิภรณ์

เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม
และการจัดการทรัพยากร
กรกฎาคม 2561

การใช้เทคนิค HAT-RAPD เพื่อศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมหญ้าขนกสีชมพู
(*Echinochloa colona*) ที่ต้านทานต่อสาร fenoxaprop-*p*-ethyl



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากร
กรกฎาคม 2561
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การใช้เทคนิค HAT-RAPD เพื่อศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมหญ้าขนกสีชมพู
(*Echinochloa colona*) ที่ต้านทานต่อสาร fenoxaprop-*p*-ethyl



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากร
กรกฎาคม 2561

เพชร สุธิภรณ์. (2561). การใช้เทคนิค HAT-RAPD เพื่อศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมหญ้าหนูก
สีชมพู (*Echinochloa colona*) ที่ต้านทานต่อสาร fenoxaprop-*p*-ethyl. วิทยานิพนธ์
วท.ม. (เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากร). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัญจน์ ศิลป์ประสิทธิ์, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทนาย ศรียาภัย,
รองศาสตราจารย์ ดร.อรินทน์ งามนิยม.

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้เทคนิค HAT-RAPD สำหรับศึกษาความแตกต่างทาง
พันธุกรรมของหญ้าหนูกสีชมพู (*Echinochloa colona*) ที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-
ethyl ที่ระดับความเข้มข้น 0 90 180 และ 270 มิลลิตรต่อน้ำ 80 ลิตร โดยไพรเมอร์จำนวน 10 ชนิด
ได้แก่ OPAA-01 ถึง OPAA-10 ผลการศึกษาพบว่าไพรเมอร์ OPAA-01 ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์
5'AGACGGCTCC3' สามารถให้แถบดีเอ็นเอที่บ่งชี้การต้านทานต่อ fenoxaprop-*p*-ethyl ในหญ้า
หนูกสีชมพูได้อย่างชัดเจน และมีความแน่นอนในการเกิดแถบดีเอ็นเอ (reproducible) เมื่อนำข้อมูลมา
วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ด้วย Neighbor-Joining method สามารถจัดกลุ่ม *E. colona* ได้ 2 กลุ่ม
ประกอบด้วยกลุ่มที่มีความเข้มข้น 0, 90 และ 180, 270 มิลลิตร ต่อน้ำ 80 ลิตร เมื่อนำไป
ตรวจสอบกับ *E. colona* ที่รวบรวมได้จาก 7 ตำบล ในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี พบว่า
สามารถจัดกลุ่มได้ จำนวน 2 กลุ่ม ประกอบด้วย กลุ่มที่ 1 มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับ *E.*
colona ที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ได้แก่ ตำบลบางแพ (BP) วังเย็น (WY) วัด
แก้ว (WK) และกลุ่มที่ 2 มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับ *E. colona* ที่ไม่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช
fenoxaprop-*p*-ethyl ได้แก่ ตำบลโพหัก (PH) ดอนใหญ่ (DY) ดอนคา (DK) หัวโพ (HP) ดังนั้นสาม
ไพรเมอร์ OPAA-01 ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'AGACGGCTCC3' สามารถใช้เป็นเครื่องหมาย
โมเลกุลเพื่อบ่งชี้การต้านทานสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ใน *E. colona* ได้อย่างมี
ประสิทธิภาพ ถูกต้อง แม่นยำ นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่าง *E. colona* และหญ้าข้าวนก
(*E. crus-galli*) กกขนาก (*C. difformis*) เป็นแบบผกผันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ
95 ในพื้นที่ตำบลบางแพ (BP; -0.465) และตำบลวังเย็น (WY; -0.984)

GENETIC POLYMORPHISM STUDY USING HAT-RAPD IN FENOXAPROP-*p*-ETHYL-
RESISTANT JUNGLE RICE (*Echinochloa colona*)



AN ABSTRACT
BY
PETCH SUTHIPORN

Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master of Degree in Environmental Technology and Resources Management
at Srinakharinwirot University

July 2018

Petch Suthiporn. (2018). *Genetic Polymorphism Study Using HAT-RAPD in Fenoxaprop-*p*-ethyl-resistant Jungle Rice (*Echinochloa colona*)*. Master's thesis, M. Sc. (Environmental Technology and Resources Management). Bangkok: Graduate School, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Asst. Prof. Dr. Kun Silprasit, Asst. Prof. Dr. Thayat Sriyapai, Assoc. Prof. Dr. Arin Ngamniyom.

This study on genetic polymorphism was related to fenoxaprop-*p*-ethyl-resistant of jungle rice (*Echinochloa colona*) and including concentrations of zero, ninety, one eighty and two seventy ml per eighty liters of water using the HAT-RAPD technique. In this study, ten arbitrary primers, ranging from OPAA-01 to OPAA-10. These results revealed that the OPAA-01 primer contained the nucleotides sequence 5'AGACGGCTCC3' and the DNA band indicated the best fenoxaprop-*p*-ethyl-resistant jungle rice (*Echinochloa colona*), which was clear and reproducible. When the data was analyzed to determine the relationship by the Neighbor-Joining method, it was found that they were classified into two groups composed of zero, ninety and one eight milliliters per eight liters of water. When examined with *E. colona* collected from seven areas in the Bang Pae sub districts of Ratchaburi province, which were classified into two groups. Group One were found in Bang Pae (BP), Wang Yen (WY) and Wat Kaew (WK), were genetically related to *E. Colona*, which had a resistance to fenoxaprop-*p*-ethyl and the Group two found in Pho Hak (PH), Don Yai (DY), Don Kha (DK) and Hau Pho (HP), which were genetically related to *E. colona* and susceptible to fenoxaprop-*p*-ethyl. However, *E. colona* was negatively correlated with Baynard grass (*E. cruss-galli*) and Purple nut sedge (*C. diffomis*) at Bang Phae (BP; -0.465) and Wang Yen (WY; -0.984) and significant at a level of 0.01 level (two-tailed).

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

การใช้เทคนิค HAT-RAPD เพื่อศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมของหญ้าหนักรู้ช่มพู่
(*Echinochloa colona*) ที่ต้านทานสาร fenoxaprop-p-ethyl

ของ

เพชร สุธิภรณ์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากร
ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์จักรชัย เอกปัญญาสกุล)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

.....ที่ปรึกษาหลัก

.....ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัญจน์ ศิลป์ประสิทธิ์)

(อาจารย์ ดร.สันทนา นาคะพงศ์)

.....ที่ปรึกษาร่วม

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทนายท ศรียาภัก)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัญจน์ ศิลป์ประสิทธิ์)

.....ที่ปรึกษาร่วม

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อรินทน์ งามนิยม)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทนายท ศรียาภัก)

.....กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.อรินทน์ งามนิยม)

.....กรรมการ

(อาจารย์ ดร.ณภัทร โพธิ์วัน)

ประกาศคุณูปการ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษาหลักปริญญานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัญจน์ ศิลป์ประสิทธิ์ และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ทยาท ศรียาภัย และรองศาสตราจารย์ ดร.อรินทน์ งามนิยม ที่คอยอบรมสั่งสอน ให้คำแนะนำ ชี้แนะแนวทางในการศึกษา การค้นคว้า อนุเคราะห์เวลา เครื่องมือที่จำเป็นสำหรับการทำวิจัยและสถานที่ ตลอดจนช่วยปรับแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆของงานวิจัยให้อย่างดี ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร. สันทนา นาคะพงษ์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก และอาจารย์ ดร. ณภัทร โพธิ์วัน ที่ได้เสียสละเวลามาเป็นคณะกรรมการสอบ อีกทั้งยังให้คำแนะนำข้อบกพร่อง ช่วยแก้ไขปริญญานิพนธ์ฉบับนี้เป็นอย่างดีจนกระทั่งเสร็จความสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณคณาจารย์จาก คณะวัฒนธรรมสิ่งแวดล้อมและการท่องเที่ยวเชิงนิเวศทุกท่าน ที่คอยอบรม ปลุกฝังวิชาความรู้ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ เพื่อน พี่น้องจาก มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ทุกท่านที่มีส่วนให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ครูอาจารย์ เพื่อน และพี่น้อง จากสาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยรามคำแหงทุกๆ ท่านที่คอยให้กำลังใจ ด้วยดีเสมอมา

เพชร สุธิภรณ์

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
ที่มา และความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์การวิจัย	3
กรอบแนวคิดในการวิจัย	3
ความสำคัญของการวิจัย	3
ขอบเขตการวิจัย	4
สมมุติฐานในการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	4
2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
หญ้าข้าวนกสีชมพู	5
สารกำจัดวัชพืช	10
การต้านทานสารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืช	16
เครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD	17
3 วิธีดำเนินการวิจัย	20
การทดสอบการต้านทานต่อสาร fenoxaprop- <i>p</i> -ethyl ในหญ้าข้าวนกสีชมพู	20
การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี	22
สำรวจการระบาดของหญ้าข้าวนกสีชมพูในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี	25
การทดสอบเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD	28
เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี	28
4 ผลการทดลอง	30
การทดสอบการต้านทานต่อสาร fenoxaprop- <i>p</i> -ethyl ในหญ้าข้าวนกสีชมพู	30
ผลการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD	32
สำรวจการระบาดของหญ้าข้าวนกสีชมพูในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี	34
ผลการทดสอบเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD	40

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
5 สรุปผลการทดลอง.....	46
การทดสอบการต้านทานต่อสาร fenoxaprop- <i>p</i> -ethyl ในหญ้านกสีกมพู.....	46
การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD.....	46
สำรวจการระบาดของหญ้าข้าวนกสีกมพูในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี....	47
การทดสอบเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD.....	48
ข้อเสนอแนะ.....	48
บรรณานุกรม.....	50
ภาคผนวก.....	55
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	73

บัญชีตาราง

ตาราง		หน้า
1	ค่าความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช.....	22
2	ไพโรเมอร์ และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ศึกษา.....	24
3	ตำแหน่ง GPS พื้นที่ศึกษา.....	26
4	จำนวนประชากรที่ต้านทาน (resistant) และอ่อนแอ (susceptible).....	30
5	วัชพืชที่พบทั่วไปนาข้าวอำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี.....	35
6	ค่าความหลากหลายวัชพืชที่พบทั่วไป 7 ตำบล อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี.....	37
7	ค่าความหลากหลายของวัชพืช Jungle rice (<i>Echinochloa colona</i> L. Link).....	38
8	การใช้สารกำจัดวัชพืช.....	38
9	ความสัมพันธ์ของวัชพืชที่ใช้นาข้าว.....	39
10	RAPD วัชพืชที่ใช้นาข้าว.....	45
11	ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลดอนคา.....	67
12	ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลดอนใหญ่.....	67
13	ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลบางแพ.....	68
14	ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลโพหัก.....	68
15	ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลวัดแก้ว.....	69
17	ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลวังเย็น.....	69
18	ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลหัวโพ.....	70
19	Shannon-Wiener's Index และ Simpson dominance Index	70

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 ลักษณะสัณฐานวิทยาหญ้าข้าวนกสีชมพู.....	6
2 วงชีวิต และการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกสีชมพู.....	8
3 ระยะการเจริญหญ้าข้าวนกสีชมพู.....	9
4 สูตรโครงสร้าง Fenoxaprop- <i>p</i> -ethyl	14
5 แผนภาพการสังเคราะห์กรดไขมันในเซลล์พืช.....	15
6 แผนผังการกลไกการทำงานออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ ACCase.....	16
7 กลไกของ RAPD	19
8 การเพาะเมล็ดหญ้านกสีชมพู.....	21
9 แผนผังการวางแผนสำรวจวัชพืช.....	25
10 พื้นที่ศึกษา.....	26
11 หญ้านกสีชมพูต้านทานสาร fenoxaprop- <i>p</i> -ethyl ในสภาพโรงเรือน.....	31
12 จำนวนร้อยละประชากรที่ต้านทาน (resistant) และอ่อนแอ (susceptible).....	31
13 RAPD ของหญ้านกสีชมพูในสภาพโรงเรือน.....	32
14 Dendrogram หญ้านกสีชมพูในสภาพโรงเรือน.....	33
15 หญ้านกสีชมพูที่ย้ายปลูกลงกระถางหลังจากพ้นสาร fenoxaprop- <i>p</i> -ethyl 21 วัน..	33
16 แผนภูมิแท่งแสดงความหลากหลายวัชพืชในนาข้าว.....	35
17 หญ้านกสีชมพู (<i>Echinochloa colona</i> (L). Link) จากนาข้าว.....	36
18 RAPD ของหญ้านกสีชมพู ไพรเมอร์ OPAA-01.....	41
19 RAPD ของหญ้านกสีชมพู ไพรเมอร์ OPAA-09.....	42
20 RAPD ของหญ้านกสีชมพู ไพรเมอร์ OPAA-10.....	43
21 dendrogram หญ้านกสีชมพูจากนาข้าว.....	44

บทที่ 1

บทนำ

1. ที่มา และความสำคัญของปัญหา

หนึ่งในสามของประชากรโลกมีความต้องการผลผลิตจากข้าว (Labrada R. 1996:3-5) ซึ่งจากการคาดการณ์ของสหประชาชาติพบว่าจะมีประชากรโลกเพิ่มขึ้นเป็นจำนวน 9.1 หมื่นล้านคนในปี ค.ศ. 2050 ส่งผลให้ความต้องการทางด้านอาหารจากภาคการเกษตรเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 70 (Balmford A.; et al. 2012:2714-2724) วัชพืชเป็นศัตรูอีกชนิดของพืชปลูกที่ทำให้ผลผลิตทางการเกษตรลดลงได้ร้อยละ 30-35 อันเนื่องมาจากสามารถดูดธาตุอาหารได้ปริมาณที่มากกว่าพืชปลูก และเร็วกว่าในโดยเฉพาะพืชปลูกที่เป็นพืชล้มลุก (Moody K. 1989:422) นอกจากนั้นยังเป็นที่อยู่อาศัยของโรค และแมลง (กรมวิชาการเกษตร.2545:42) ทำให้วัชพืชส่งผลกระทบให้ผลผลิตต่อภาคการเกษตรทั่วโลก จากงานของ Holm L. G. และคณะ ในปี ค.ศ. 1997 พบว่าหญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona*) เป็นวัชพืชที่ร้ายแรงสอดคล้องกับรายงานของพรชัย เหลืองอาภาพงศ์ ในปี พ.ศ. 2540 และ กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ได้รายงานในปี ค.ศ. 2001 ถึง ค.ศ. 2003 ว่าหญ้านกสีชมพูทำให้ผลผลิตจากข้าวสาลี (*Triticum aestivum*) ข้าว (*Oryza sativa*) ข้าวโพด (*Zea mays*) มันฝรั่ง (*Solanum tuberosum*) ถั่วเหลือง (*Glycine max*) และฝ้าย (*Gossypium hirsutum*) ลดลงถึงร้อยละ 23.0 37.1 40.3 30.2 37.0 และ 35.9 ตามลำดับ ส่งผลให้สารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืชถูกนำมาใช้ในปริมาณที่เพิ่มขึ้นทุกๆ ปี ในภาคการเกษตรสูงประมาณสามเท่า (Oerke E.C. 2006:31-43, Robert J.; et al. 2007:23) สอดคล้องกับประเทศไทยพบว่ามีการใช้สารเคมีกำจัดวัชพืช (herbicide) สูงถึงร้อยละ 77.16 (ศูนย์สารสนเทศกรมส่งเสริมการเกษตร. 2556) ส่วนมากเป็นเพื่อควบคุมการงอกของเมล็ดวัชพืช (pre-emergence) กำจัดต้นอ่อนวัชพืชที่งอกแล้วแต่ต้นยังเล็ก (early post-emergence) และกำจัดต้นวัชพืชที่ต้นโตแล้ว (post-หรือ late post-emergence) การใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชอย่างไม่ถูกวิธีจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงประชากร ความหนาแน่น และความหลากหลายของสังคมวัชพืช เมื่อได้รับสารในปริมาณที่เป็นอันตรายซ้ำๆ ในที่มากขึ้นวัชพืชจะเกิดกลไกการตอบสนองเรียนรู้เพื่อต้านทานต่อสารเคมีกำจัดวัชพืชก่อให้เกิดการต้านทานสารเคมีกำจัดวัชพืชในวัชพืช (weed resistance) ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ ระบบนิเวศทั้งระบบ และเกิดการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมถึงร้อยละ 99.9 ของสารเคมีที่ถูกใช้ (David Pimentel. 1995: 17-29) ตกค้างสะสมในผลผลิตทางการเกษตร ซึ่งเป็นอันตรายแก่ผู้บริโภคได้

อย่างไรก็ตามสารเคมีกำจัดวัชพืชที่เลือกใช้จัดเป็นปัญหาสำคัญระดับโลก ปัจจุบันพบ 247 ชนิด ประกอบด้วยวัชพืชใบเลี้ยงคู่ 144 ชนิด และวัชพืชใบเลี้ยงเดี่ยว 103 ชนิด ใน 86 พื้นที่เพาะปลูกจาก 66 ประเทศ (Heap I. 2015) *E. colona* จัดเป็นวัชพืชวงศ์หญ้าร้ายแรงพบถึงร้อยละ 82.3 ในพื้นที่เพาะปลูกทั่วโลกโดยเฉพาะอย่างยิ่งพื้นที่เพาะปลูกข้าว (Holm L.G.; et al. 1997:609); (Mercado B.L.; & Talatala R.T. 1997:161-16); (Plaza G.; & Hernández F. A. 2014:591-599) มีรายงานว่าในพื้นที่ประเทศสาธารณรัฐเวียดนาม ฟิลิปปินส์ และไทย (Lap N.; et al. 2013: 423-429) ทำให้ผลข้าวผลิตลดลงได้ร้อยละ 27 ถึง 57 (Fischer; A. J. & Ramírez; A. 1993:354-357) และในประเทศอินโดนีเซียพบว่าทำให้ข้าวผลผลิตลดลงถึงร้อยละ 92 (Castro; & Almario. 1990:37-41) สารกำจัดวัชพืชฟีนอกซาพروب-พารา-เอทิล (fenoxaprop-*p*-ethyl) เป็นสารกลุ่ม diclofopmethyl และ aryloxyphenoxypropionate (AOPP) ใช้สำหรับควบคุมวัชพืชหลังการงอกซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างเอนไซม์อะซีทิลโคเอคาร์บอกซิเลส (Acetyl co-enzyme A carboxylase; ACCase) :ซึ่งใช้ในกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันที่จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของพืช (Pornprom T.; et al. 2006:1109-1115) ปัจจุบันทั่วโลกพบวัชพืชที่มีการต้านทานสารกำจัดวัชพืชกลุ่มนี้จำนวน 42 ชนิด (Lingxu Li; et al. 2013:118-121)

โดยทั่วไกวินิจฉัยวัชพืชที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชจะใช้วิธี Bioassay ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ระยะเวลานาน ส่งผลให้ประชากรวัชพืชเกิดการดื้อยา มีการเปลี่ยนแปลงยากต่อการจัดการ เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA Markers) เป็นเทคนิคการใช้ลำดับเบสเพียงช่วงหนึ่งของดีเอ็นเอในการบ่งชี้ความเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต ซึ่งมีตำแหน่งบนโครโมโซมของนิวเคลียส (nuclear DNA) หรือในออร์แกเนลล์ (mitochondria DNA หรือ chloroplast DNA) สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ การจัดเรียงตัวของเบสในโมเลกุลดีเอ็นเอทำให้เกิดรูปแบบทางพันธุกรรม หรือโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphisms) ที่ความแตกต่างกันเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิตแต่ละสายพันธุ์ สามารถนำมาประยุกต์ใช้เพื่อเป็นเครื่องหมายโมเลกุล และแยกความแตกต่างของวัชพืชที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช โดยอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัวดีเอ็นเอ หรือ เทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction (PCR)) ซึ่งใช้ปริมาณ DNA เพียงเล็กน้อย ไม่จำเป็นต้องทราบอายุของพืช สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ตั้งแต่หนึ่งจนถึงหลายร้อยตัวอย่างภายในหนึ่งวัน เป็นอีกทางเลือกสำหรับการบริหารจัดการปัญหาวัชพืชที่มีประสิทธิภาพ ถูกต้อง รวดเร็ว และแม่นยำ ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการบริหารจัดการปัญหาวัชพืชได้ ตลอดเป็นอีกช่องทางช่วยเพิ่มผลผลิตจากภาคการเกษตร

สำหรับการศึกษานี้ได้เลือกใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอด้วยเทคนิค high annealing temperature random amplified polymorphic DNA (HAT-RAPD) (Anutalabhochai; et al. 2000) ซึ่งเป็นเทคนิคที่พัฒนามาจากเทคนิค random amplified polymorphic DNA (RAPD) แบบธรรมดา แต่ให้ความแม่นยำสูงกว่า สามารถทำซ้ำแล้วให้ผลเหมือนเดิม อีกทั้งขั้นตอนไม่ยุ่งยากซับซ้อนและใช้ต้นทุนที่ถูกสุดเมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องหมายโมเลกุลชนิดอื่นๆ

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 2.1 เพื่อคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD ที่สามารถบ่งชี้การต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ในหญ้าข้าวนกขมิ้น
- 2.2 เพื่อสำรวจการระบาดของหญ้าข้าวนกขมิ้นในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี
- 2.3 เพื่อทดสอบเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD กับหญ้าข้าวนกขมิ้นในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

3. กรอบแนวคิดการวิจัย

การเปลี่ยนแปลงของสารพันธุกรรมในโมเลกุลของดีเอ็นเอ บริเวณที่เป็นยีนโดยเกิดการสูญหายไป หรือเพิ่มเข้ามาของส่วนของยีน หรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในยีน อันเป็นผลจากการเหนี่ยวนำ (induced mutation) โดยสิ่งที่ก่อกลายพันธุ์ (mutagen) ชักนำให้เกิดความผิดปกติของโครโมโซม ส่งผลกระทบต่อสารพันธุกรรมและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหรือทำลายดีเอ็นเอซึ่งเป็นการชักนำที่อาจนำไปสู่การกลายพันธุ์ สภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงตลอดเวลาเป็นปัจจัยหลักให้พืชปรับตัวเพื่อการอยู่รอดส่งให้ต่อรูปแบบทางพันธุกรรมมีความแตกต่างจากเดิม ซึ่งมีบทบาทสำคัญยิ่งต่อการวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิต

4. ความสำคัญของการวิจัย

การศึกษานี้จะทำทราบถึงสถานการณ์การระบาดของหญ้าข้าวนกขมิ้นในพื้นที่การเพาะปลูกข้าวในพื้นที่อำเภอบางแพ และทำให้ได้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD ที่สามารถนำไปใช้วินิจฉัยประชากรวัชพืชที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl และสามารถนำข้อมูลการวินิจฉัยที่ได้ไปใช้ประกอบในการวางแผนเพื่อการบริหารจัดการกับวัชพืชที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ อันจะเกิดประโยชน์แก่เกษตรกร หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนผู้ที่

สนใจ สามารถลดค่าใช้จ่ายจากการใช้สารเคมีในภาคการเกษตร ช่วยลดปัญหาการตกค้างสารของพิษที่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

5. ขอบเขตของการวิจัย

ทดสอบการต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ใน *E. colona* ในสภาพโรงเรือน เพื่อคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD ที่สามารถบ่งชี้การต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช สำหรับการระบาดของ *E. Colona* ในนาข้าวพื้นที่ อ. บางแพ จังหวัดราชบุรี เพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพ เครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD

6. สมมุติฐานในการวิจัย

เครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD จะสามารถใช้บ่งชี้การต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ในหญ้าข้าวนกสีชมพูได้

7. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

ได้เครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD จะสามารถใช้บ่งชี้การต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ในหญ้าข้าวนกสีชมพูได้ ทำให้ได้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD ที่สามารถนำไปใช้วินิจฉัยประชากรวัชพืชที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl และสามารถนำข้อมูลการวิจัยที่ได้ไปใช้ประกอบในการวางแผนเพื่อการบริหารจัดการกับวัชพืชที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ อันจะเกิดประโยชน์แก่เกษตรกร หน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ตลอดจนผู้ที่สนใจ สามารถลดค่าใช้จ่ายจากการใช้สารเคมีในภาคการเกษตร ลดปัญหาการตกค้างสารของพิษที่เป็นอันตรายต่อผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสาร และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และได้นำเสนอตามหัวข้อต่อไปนี้

1. หญ้าข้าวนกสีชมพู
 - 1.1 อนุกรมวิธานหญ้าข้าวนกสีชมพู
 - 1.2 ชีววิทยาของหญ้าข้าวนกสีชมพู
 - 1.3 วงชีวิต และการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกสีชมพู
 - 1.4 นิเวศวิทยา และการแพร่กระจาย
2. สารกำจัดวัชพืช
 - 2.1 ประเภทสารกำจัดวัชพืช
 - 2.2 กลไกการนำสารกำจัดวัชพืชเข้าสู่พืช
 - 2.3 สารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl
3. การต้านทานสารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชฟรีโนซาพروبพาราเอทิล
4. เครื่องหมายโมเลกุล RAPD

1. หญ้าข้าวนกสีชมพู

1.1 อนุกรมวิธานหญ้าข้าวนกสีชมพู

Kingdom Plantae (Metaphyta)

Division Tracheophyta

Class Liliopsida

Order Poales

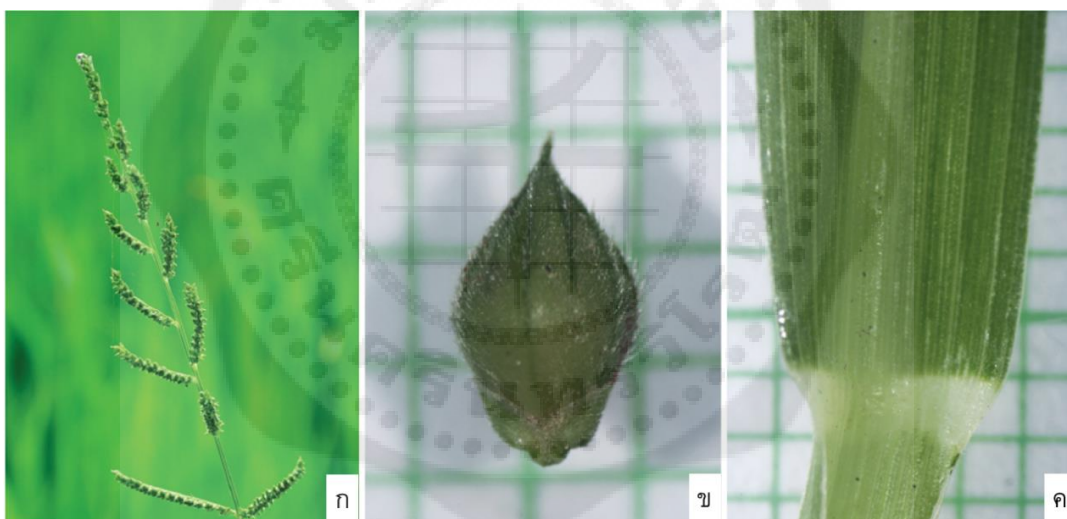
Family Poaceae (Gramineae)

Genus Echinochloa

Species colona

1.2 ชีวิตวิทยาของหญ้าข้าวนกสีชมพู

หญ้าข้าวนกสีชมพูเป็นหญ้าประเภทกอ ลำต้นตั้งตรง หรือทอดชุกยอด (decumbent) สูง 30-80 เซนติเมตร ผิวเกลี้ยงเรียบไม่มีขน ลำต้นสีม่วงเรื่อๆ ข้อที่อยู่ใกล้ชิดผิวดินมักพบราก ใบเรียวยาว 3-15 เซนติเมตร กว้าง 2-10 มิลลิเมตร ระหว่างกาบใบ และแผ่นใบไม่มีเยื่อหุ้ม (ligule) ขอบใบคมมีขนเล็กน้อยตามข้อและริมใบใกล้กาบใบ เส้นกลางใบทางด้านหลังมีสีม่วงแดง ช่อดอกแบบแยกแขนง (panicle) ยาว 5-15 เซนติเมตร สีเขียวหรือแดง กลุ่มดอกย่อย (spikelet) มักจะจัดเรียงเป็น 4 แถว มีปลายยื่นยาวออกไปเป็นหนวด (awn less) ยาว 2-3.5 มิลลิเมตร ช่อดอกย่อยยาว 1-2 เซนติเมตร ปลายกาบล่างของดอกย่อยล่างไม่มีรยางค์แข็ง กลุ่มดอกมีสีม่วงปนเขียวเกสรเพศผู้มีสีม่วงเข้ม (สายัณห์ ทัดศรี. 2548:281-282); (Holm; et al. 1977:32-46); (Kim. 1994:17-18); (Watanyoo Klinneam; & Chatchai Ngernsaruy, Prasart Kermanee. 2014:5-13)



ภาพประกอบ 1 ลักษณะสัณฐานวิทยาหญ้าข้าวนกสีชมพู

- ก. ช่อดอก
- ข. ดอกย่อย
- ค. ไม่มีลิ้นใบ

ที่มา: Klinneam, W.; Ngernsaengsaruy, C.; & Kermanee P. (2014) *Morphology and anatomy of the genus Echinochloa P. Beauv. (Poaceae) in Thailand. Thai Journal of Botany*. 6 (special issue): 5-13

1.3 วงชีวิต และการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกสีชมพู

ระยะการเจริญเติบโตตลอดวงจรชีวิตของหญ้านกสีชมพูใช้เวลาประมาณ 94 วัน ประกอบด้วย 4 ระยะดังนี้ (ดวงพร สุวรรณกุล. 2544:147-181)

ระยะที่ 1 เป็นระยะที่มีการเปลี่ยนจากเมล็ดเป็นกล้า (germination stage) ระยะนี้ใช้เวลาประมาณ 7 วัน โดยเมล็ดจะแทงรากปฐมภูมิ (primary root) ลงสู่ดินเป็นงอกแบบไฮโปเจียล (hypogeal germination) หลังจากเนื้อเยื่อที่หุ้มยอดแรก (coleoptile) จะยืดตัวขึ้นเหนือดินแล้วมีผลใบจริงจนกระทั่งใบจริงมีจำนวน 2 ใบ สามารถสังเคราะห์แสงเองได้

ระยะที่ 2 เป็นระยะการเจริญเติบโตของลำต้น และใบ (vegetative stage) ระยะนี้จะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในใช้เวลาประมาณ 21 วัน เริ่มตั้งใบจริงมีจำนวน 2 ใบ สามารถสังเคราะห์แสงได้ ลำต้นเจริญตั้งตรงหรือแผ่ทอดไปตามพื้นแตกออกเป็นข้อสั้นๆ บางต้นอาจสูงได้ถึง 50 เซนติเมตร บริเวณฐานของลำต้นอาจมีสีแดงจนถึงสีม่วง ใบเป็นรูปหอก (lanceolate) ขอบใบเรียบ (entire) ไม่มีลิ้นใบ (absent ligule) แผ่นใบไม่มีขน

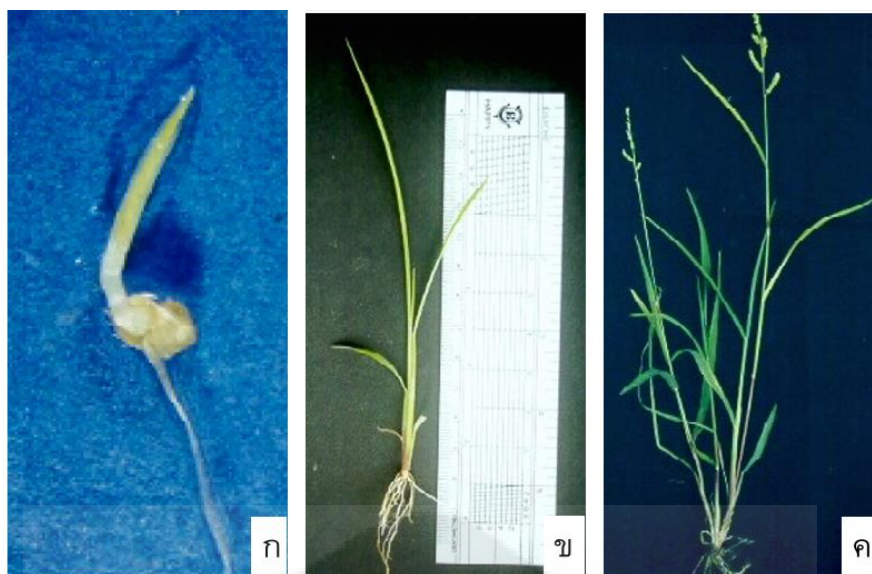
ระยะที่ 3 เป็นระยะการสร้างดอก (flowering stage) ระยะนี้ใช้ระยะเวลาประมาณ 16 วัน ระยะนี้เริ่มตั้งแต่ปรากฏช่อดอกแรกในกาบใบจนกระทั่งดอกบาน ช่อดอกเป็น แบบช่อแขนงเชิงลด (spike like raceme) อยู่ตรงปลายกิ่งออกดอกด้านเดียวกัน เป็นดอกสมบูรณ์เพศ หรือดอกแยกเพศ ดอกเจริญอยู่เดี่ยว หรือเป็นคู่

ระยะที่ 4 เป็นระยะเปลี่ยนแปลงจากดอกสู่เป็นเมล็ดจนกระทั่งตาย (senescence stage) ในระยะนี้จะชะลอการเจริญเติบโตใช้เวลาประมาณ 9 วัน เริ่มตั้งแต่ดอกแรกบานจนกระทั่งลำต้นเริ่มเหลืองแห้งตาย เมล็ดสุกแก่เจริญเต็มที่มีสีเหลืองฟางข้าว ความยาวของเมล็ดเฉลี่ยยาว 1.5-2 มิลลิเมตร



ภาพประกอบ 2 วงชีวิต และการเจริญเติบโตของหญ้าข้าวนกสีชมพู

ที่มา: ดวงพร สุวรรณกุล. (2544). ชีวิตวิทยาของหญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link). การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39:147-181



ภาพประกอบ 3 ระยะการเจริญหญ้าข้าวนกสีชมพู

ก. Germination stage

ข. Vegetative stage

ค. Flowering stage

ที่มา: ดวงพร สุวรรณกุล. (2544). ชีววิทยาของหญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link). ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39. 147-181

1.4 นิเวศวิทยา และการแพร่กระจาย

หญ้านกสีชมพู มีชื่อวิทยาศาสตร์ *Echinochloa colona* (L.) Link หรือชื่อสามัญ jungle rice (Radananchaless; & Maxwell. 1997:286) เป็นวัชพืชพื้นของประเทศอินเดีย ปัจจุบันมีรายงานพบมากกว่า 60 ประเทศ ในเขตร้อน และกึ่งเขตร้อน ตั้งแต่ 45°N-40°S พื้นที่ใต้เส้นละติจูด 30°N ของเอเชีย เขตอบอุ่นบางส่วนของออสเตรเลีย หมู่เกาะแปซิฟิก จัดเป็นวัชพืชหลักที่การรุกรานในพื้นที่เพาะปลูก ข้าว อ้อย ข้าวโพด ฝ้าย และข้าวฟ่าง สามารถปรับตัวได้ในระบบนิเวศการเพาะปลูกโดยเฉพาะพื้นที่เพาะปลูกข้าว เมล็ดสามารถงอกได้ตลอดวงจรการเพาะปลูก เติบโตอย่างรวดเร็วในช่วงฤดูฝน หรือเมื่อความชื้นในดินเพียงพอและตายออกมาในช่วงฤดูแล้ง (Holm L.; et al. 1977:32-46); (Kim K. U.; & Park J. E. 1997:185-191) สามารถเจริญเติบโตในเขตเพาะปลูกทุ่งหญ้า ชายคลอง คูน้ำ แอ่งน้ำ พื้นที่โล่ง ไม่ค่อยพบในที่ที่เป็นร่มเงา (Ramakrishnan P. S. 1960:73-92) ภายใต้สภาวะที่น้ำท่วมที่ระดับความลึกประมาณ 10 เซนติเมตร ต้นกล้าของต้นกล้าของหญ้าข้าวนกสีชมพูจะหยุดการยืดตัว (Yabuno T. 1983:307-318)

2. สารกำจัดวัชพืช

2.1 ประเภทสารกำจัดวัชพืช

สารกำจัดวัชพืช (Herbicides) หรือที่เรียกโดยทั่วไปว่า “ยาฆ่าหญ้า” มีการใช้กันอย่างแพร่หลายมานานแล้ว และมีแนวโน้มจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ปัจจุบันมีการแบ่งกลุ่มของสารเคมีกำจัดวัชพืชหลายแบบ เช่น การแบ่งตามลักษณะการใช้งาน ได้แก่ สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการเตรียมดินก่อนปลูกพืช (pre-planting) สารกำจัดวัชพืชที่ใช้หลังหว่านพืช (pre-emergence) และสารกำจัดวัชพืชที่ใช้หลัง จากพืชงอกพ้นดินแล้ว (post-emergence) หรือการแบ่งตามกลไกการเกิดพิษต่อพืช ได้แก่ สารกำจัดวัชพืชที่มีฤทธิ์เฉพาะเจาะจงในการทำลายพืชบางชนิด (selective) สารกำจัดวัชพืชที่ทำลายพืชเมื่อสัมผัสถูกใบ (contact) และสารกำจัดวัชพืชที่ทำลายพืชเมื่อถูกดูดซึมเข้าไปในระบบการลำเลียงน้ำ และอาหารของพืช (translocated) นอกจากนี้ยังมีการแบ่งตามโครงสร้างของสารเคมีโดยการจำแนกสารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในการเกษตรใช้หลักการดังนี้

2.1.1 การจำแนกตามขอบเขตของวัชพืชที่ถูกควบคุม ได้แก่ สารกำจัดวัชพืชเลือกทำลาย (selective herbicide) จะมีคุณสมบัติทำลายวัชพืชบางชนิด แต่ไม่ทำลายวัชพืชอื่น หรือพืชปลูก สารกำจัดวัชพืชวัชพืชใบแคบ เช่น propanil fenoxaprop-*p*-ethyl สารกำจัดวัชพืชวัชพืชใบกว้าง เช่น 2,4-D bensulfuron-methyl metuslfuron-methyl สารกำจัดวัชพืชไม่เลือกทำลายมีคุณสมบัติในการทำลายวัชพืชอย่างกว้าง ครออลคลุ่มวัชพืชทุกชนิดไม่เฉพาะเจาะจง เช่น glyphosate paraquat glufosinate-ammonium

2.1.2 การจำแนกตามความเคลื่อนย้ายของสารเคมีในวัชพืช สารกำจัดวัชพืชซึมผ่านเข้าไปในส่วนใดส่วนหนึ่งของวัชพืชแล้วจะเคลื่อนย้ายไปยังส่วนอื่นๆอาจจะใช้เวลา 1-2 สัปดาห์ จึงจะเห็นผลเช่น glyphosate, 2, 4-D, fenoxaprop-*p*-ethyl หรือสารกำจัดวัชพืชทำลายเซลล์บริเวณสัมผัสไม่มีการเคลื่อนย้ายไปไหน เช่น paraquat glufosinate-ammonium propanil

2.1.3 การจำแนกตามช่วงเวลาการใช้สารกำจัดวัชพืช ได้แก่ สารกำจัดวัชพืชก่อนปลูก พ้นก่อนการเตรียมดินฆ่าวัชพืชที่ขึ้นอยู่ก่อนแล้ว เช่น paraquat, glyphosate และ glufosinate-ammonium สารกำจัดวัชพืชก่อนงอก (pre-emergence herbicide) ใช้หลังปลูกพืชก่อนวัชพืชงอก จะทำลายส่วนของเมล็ด ราก และยอดอ่อนใต้ดิน เช่น butachlor pretilachlor oxadiazon และสารกำจัดวัชพืชหลังงอก (post-emergence herbicide) ใช้พ่นหลังจากวัชพืชงอกแล้ว เช่น glyphosate paraquat glufosinate-ammonium propanil fenoxaprop-*p*-ethyl

2.1.4 การจำแนกตามลักษณะการใช้ สารกำจัดวัชพืชใช้พ่นทางใบ เช่น glyphosate paraquat glufosinate-ammonium propanil สารกำจัดวัชพืชที่เข้าทำลายส่วนที่อยู่ใต้ดินของวัชพืช เช่น butachlor oxadiazon pretilachlor

2.1.5 การจำแนกตามองค์ประกอบโครงสร้างทางเคมี สารกำจัดวัชพืชไม่มีธาตุคาร์บอนเป็นองค์ประกอบในโมเลกุล เช่น sulfuric acid arsenic acid copper sulfate potassium chloride sodium chloride

2.1.6 การจำแนกตามลักษณะการทำลาย (mode of action) ได้แก่ สารกำจัดวัชพืชที่ออกฤทธิ์ต่อความสมดุลย์ของฮอร์โมน (Growth regulators) ได้แก่ Phenoxy carboxylic acids (2, 4-D 2,4-DB) Benzoic acids (dicamba) Pyridine carboxylic acids (picloram triclopyr) Quinoline carboxylic acids (quinclorac) สารกำจัดวัชพืชที่ออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เฉพาะเจาะจง ในการป้องกันการสร้างกรดอะมิโน (Amino acid synthesis inhibitors) ซึ่งเป็นสารประกอบที่สำคัญในการเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ Imidazolinones (imazapyr imazethapyr) Sulfonylureas (bensulfuron-methyl metsulfuron-methyl) สารกำจัดวัชพืชที่มีผลต่อการยับยั้งการสร้างกรดไขมัน (Lipid synthesis inhibitors) ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญของเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ Aryloxyphenoxypropionates (quizalofop fenoxaprop propaquizafop haloxyfop-R-methyl) Thiocarbamates (benthiocarb molinate) สารกำจัดวัชพืชที่ออกฤทธิ์รบกวนการงอกของพืช (Seedling growth inhibitors) โดยยับยั้งการเจริญเติบโตของราก หรือลำต้น ได้แก่ Dinitroanilines (butralin pendimethalin) สารกำจัดวัชพืชที่ออกฤทธิ์ยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์แสง (Photosynthesis inhibitors) โดยการจับกับบริเวณจำเพาะในคลอโรพลาสต์ ได้แก่ Triazines (ametryn atrazine dimethametryn hexazinone matribuzin) Uracils (bromacil) Ureas (diuron linuron) Amides (propanil) และ Benzothiadiazinone (bentazon) สารกำจัดวัชพืชที่ออกฤทธิ์ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane disrupters) เนื้อเยื่อของพืช โดยการทำให้มีการแตกสลายของ cell membrane ได้แก่ Bipyridyliums (paraquat) Diphenylethers (fomesafen oxyfluorfen) และ Oxidizoles (oxadiazon) สารกำจัดวัชพืชสารที่ออกฤทธิ์โดยการยับยั้งการสร้างรงควัตถุ (Pigment inhibitors) ที่จำเป็นในการสังเคราะห์แสง ได้แก่ Nicotinamides (diflufenican) สารกำจัดวัชพืชสารที่ออกฤทธิ์ โดยการยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ (Cell wall synthesis inhibitors) ยับยั้งการสร้าง cellulose

2.2 กลไกการนำสารกำจัดวัชพืชเข้าสู่พืช

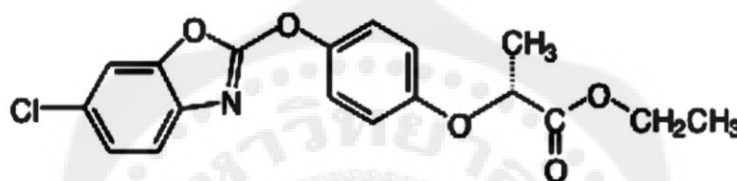
สารกำจัดวัชพืชที่ละลายในน้ำ หรือสารที่มีขี้ผึ้งจะผ่านเข้าทางช่องว่างที่เป็นรอยแยกของชั้นคิวติเคิล (cuticle) สู่เซลล์ (cell wall) ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (plasma membrane) สู่ไซโทพลาสซึม (cytoplasm) แล้วเคลื่อนย้ายไปยังตำแหน่ง หรือจุดที่ออกฤทธิ์ สารกำจัดวัชพืชที่ละลายในไขมัน หรือสารที่ไม่มีขี้ผึ้ง จะผ่านเข้าไปทางไขมันที่แทรกอยู่ในชั้นคิวติเคิล โดยสารกำจัดวัชพืชเข้าสู่ต้นพืชได้ทั้ง 2 ทาง คือ ส่วนที่อยู่เหนือดิน ได้แก่ ใบพืช ลำต้น ตา ดอก ผล และส่วนที่อยู่ใต้ดิน ได้แก่ หัว เหง้า ราก เมื่อสารกำจัดวัชพืชที่ผสมน้ำถูกฉีดพ่นไปสารกำจัดวัชพืชจะเป็นผลึกติดอยู่ที่ผิวใบทำให้ไม่ซึมผ่านเข้าในผิวใบแต่เมื่อได้รับความชื้นผลึกอาจเปลี่ยนเป็นของเหลวแล้วซึมผ่านเข้าสู่ผิวใบไปยังลำต้นของพืช โดยเคลื่อนย้ายผ่านเข้าสู่ผิวใบได้ 3 ทาง คือ สารกำจัดวัชพืชที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจะเคลื่อนย้ายผ่านไปทางช่องว่างของผนังเซลล์ สารกำจัดวัชพืชที่ละลายในไขมัน หรือสารที่ไม่มีขี้ผึ้งจะผ่านเข้าไปทางไขมันที่แทรกอยู่ในชั้นคิวติเคิล ซึ่งการเคลื่อนย้ายของสารกำจัดวัชพืชผ่านชั้น cuticle เข้าสู่ภายในใบพืชขึ้นอยู่กับ การเปียกของผิว ถ้าใบเปียกมากสารกำจัดวัชพืชก็จะเข้าสู่ใบพืชได้มากขึ้นกับ ขนาดโมเลกุล โครงสร้างทางเคมี ความเข้มข้น pH สารลดแรงตึงผิว (surfactant) ความแก่อ่อนของใบ การจัดเรียงตัวของใบ ระยะระหว่างแถว สภาพแถวปลูกแคบ พืชปลูกจะอ่อนแอต่อสารกำจัดวัชพืชมากกว่า เนื่องจากได้รับแสงน้อยการสร้าง cuticle ก็จะน้อยด้วยแต่อย่างไรก็ตามพืชปลูกที่มีแถวปลูกแคบๆ อาจจะทำให้วัชพืชได้รับสารกำจัดวัชพชน้อยลงได้ ปริมาณน้ำที่ใช้ผสม สารกำจัดวัชพืชพวกสัมผัสตายต้องใช้น้ำปริมาณมาก (100-200 ลิตรต่อไร่) ส่วนสารพวกเคลื่อนย้ายได้อาจจะใช้น้ำในปริมาณน้อยลงปัจจัยทาง สภาพแวดล้อม เช่น แสงแดด ทำให้สารละลายที่ฉีดพ่นแห้งและถูกทำลายลงได้ ความเข้มข้นแสงสูงจะทำให้ละอองสารที่ผิวใบระเหยได้เร็วขึ้น และที่อุณหภูมิปานกลางสารจะซึมเข้าสู่ใบพืชได้ดีกว่าที่อุณหภูมิสูง หรืออุณหภูมิต่ำ ความชื้นในอากาศ ความชื้นต่ำ การซึมผ่านของสารเข้าสู่ภายในของใบพืชจะน้อยลง ฝน และลมเป็นตัวที่ทำให้สารเคมีตกพลาตเป้าหมายสารแต่ละชนิดต้องการระยะเวลาปลอดฝนไม่เท่ากัน เช่น glyphosate และ dalaphon ต้องการระยะปลอดฝน 4-6 ชั่วโมง สารพวกสัมผัสตายต้องการระยะปลอดฝนน้อยกว่า เช่น paraquat ใช้เวลาเพียง 15 นาทีในการเข้าสู่ต้นพืช ลม ควรฉีดพ่นสารในช่วงไม่มีลม สารกำจัดวัชพืชสามารถเคลื่อนย้ายจากผนังเซลล์หนึ่งไปยังอันหนึ่งได้อย่างอิสระ การเคลื่อนย้ายของสารกำจัดวัชพืชผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ มี 3 ลักษณะ คือ เมื่อสารกำจัดวัชพืชผสมกับเยื่อหุ้มเซลล์ก็จะเกิดรูรั่วแล้วสารกำจัดวัชพืชก็ผ่านทะลุนั้นเข้าสู่ไซโทพลาสซึมซึ่งเป็นรูที่มีอยู่แล้ว รูชั่วคราวเมื่อสารกำจัดวัชพืชเคลื่อนย้ายสัมผัสกับเยื่อหุ้มเซลล์จะเกิดรูขึ้นเมื่อสารกำจัดวัชพืชผ่านเข้าไปแล้วรูนั้นก็ปิด ผ่านสารตัวนำเข้าสู่ข้างในโดยผ่าน เยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งเป็นแนวทางที่มีการเชื่อมติดมากกว่าแนวทาง

อื่นๆ ส่วนที่อยู่ใต้ดินจะได้รับสารกำจัดวัชพืชโดยอาศัยน้ำเป็นตัวพา หรือมีการแพร่กระจายของสาร (diffusion) แบบค่อยเป็นค่อยไป ซึ่งเกิดกับสารกำจัดวัชพืช ที่ระเหยได้ง่าย โดยสารกำจัดวัชพืชจะค่อยๆ กระจายไปสัมผัสกับส่วนของพืชที่อยู่ใต้ดินผ่านขนราก (root hair) ผ่านทางช่อง plasmodesmata ระบบการเคลื่อนย้ายของสารกำจัดวัชพืชภายในต้นพืชเกิดขึ้นได้ในระบบที่มีชีวิตของพืช (symplastic movement) การเคลื่อนย้ายภายในส่วนที่มีชีวิตภายใน หรือส่วนที่ห่อหุ้มด้วยเยื่อ membrane เป็นการเคลื่อนย้ายภายในโปรโตพลาสซึม (protoplasm) ปกติส่วนของ โปรโตพลาสซึมของแต่ละเซลล์จะแยกกันอยู่เชื่อมต่อระหว่างเซลล์ด้วยช่อง plasmodesmata และโมเลกุลของสารสามารถเคลื่อนย้ายจากเซลล์หนึ่งไปสู่อีกเซลล์ผ่านระบบท่ออาหาร (phloem) และท่อลำเลียงอาหาร (phloem) การเคลื่อนย้ายในระบบที่ไม่มีชีวิตของพืช (apoplastic movement) ผ่านผนังเซลล์ช่องว่างระหว่างเซลล์ (intercellular space) ระบบท่อน้ำ (xylem) และช่องว่างระหว่างเซลล์ในชั้น cortex วิธีหรือทิศทางของการเคลื่อนย้ายของสารกำจัดวัชพืชในต้นพืชเกิดขึ้นได้ 2 ทิศทาง คือ การเคลื่อนย้ายขึ้นสู่ส่วนบนของลำต้นพืช (acropetal movement) และการเคลื่อนย้ายลงสู่ส่วนล่างของต้นพืช (basipetal movement)

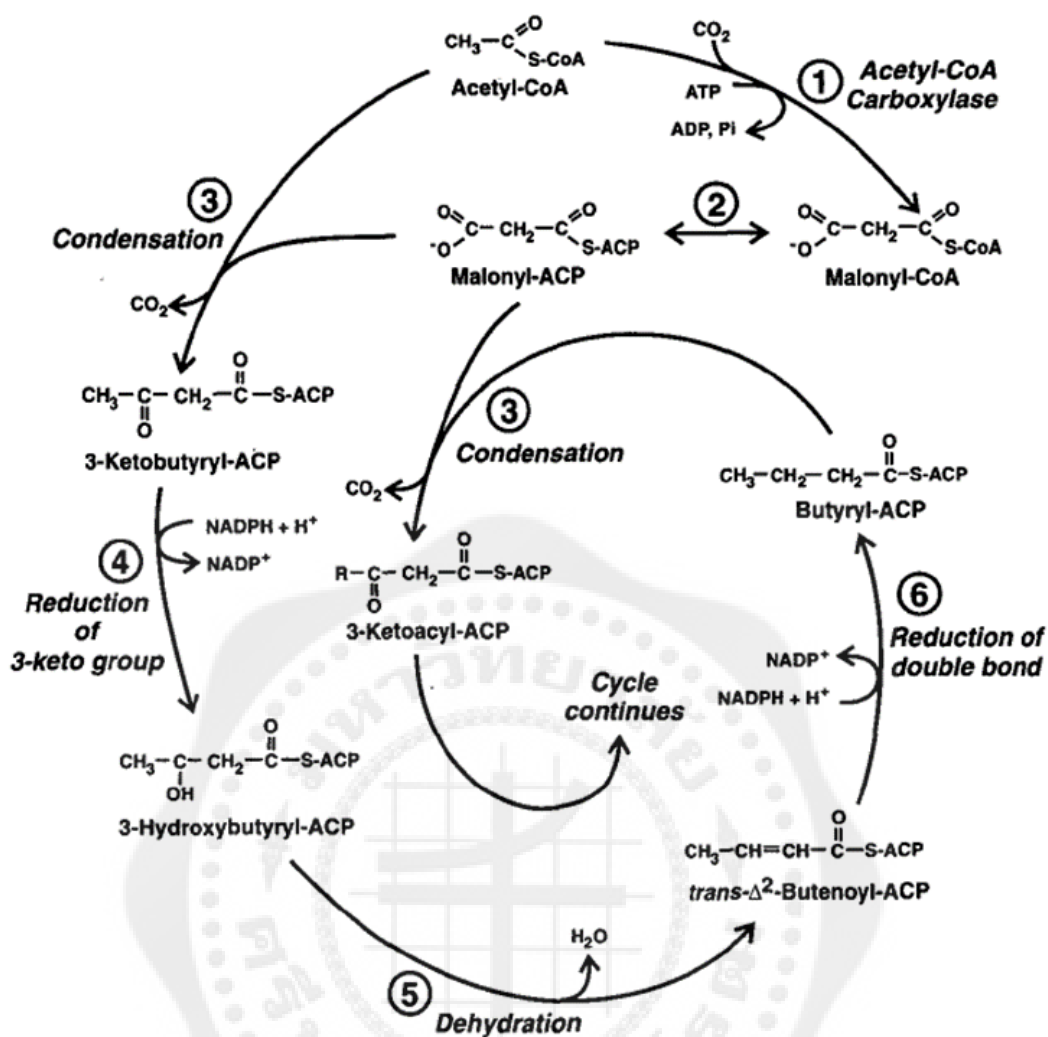
2.3 สารกำจัดวัชพืชฟรินโซนาพروبาราเอทิล

สารกำจัดวัชพืชฟรินโซนาพروبาราเอทิล เป็นสารกำจัดวัชพืชหลังออกในกลุ่ม aryloxyphenoxy propionate (AOPP) ชื่อ IUPAC (*R*)-2-[4-(6-chlorobenzoxazol-2-yl)oxy]phenoxy]propionic acid ethyl ester สูตรเคมี $C_{18}H_{16}ClNO_5$ น้ำหนักโมเลกุล 333.7 ชื่อทางการค้าต่าง ๆ ได้แก่ Whip Option Fure และ Horizon จุดเดือด 84 ถึง 85 องศาเซลเซียส ความสามารถในการละลาย (กรัมต่อตอกิโลกรัมที่ 25 องศาเซลเซียส) น้ำ 0.9 mg/L acetone มากกว่า 500 mg/L ethanol และ cyclohexane มากกว่า 10 mg/L ethylacetate มากกว่า 200 mg/L toluene มากกว่า 300 mg/L ความเสถียร มีความคงทนเป็นเวลา 6 เดือนที่ 50 องศาเซลเซียส คงทนต่อแสง ย่อยสลายโดยกรด และด่าง คุณสมบัติเลือกทำลาย ใช้ควบคุมวัชพืชตระกูลหญ้า วัชพืชใบกว้าง ทั้งวัชพืชฤดูเดียว (annual weeds) และวัชพืชข้ามปี (perennial weeds) ได้แก่ หญ้าตีนนก (*Digitaria* spp.) หญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium*) หญ้าข้าวนก (*E. crus-galli*) และหญ้านกสีชมพู (*E. colona*) ที่อยู่ในระยะการเจริญ 2 ใบ จนถึงระยะแตกกอเต็มที่ในแปลงเพาะปลูกอันได้แก่ ข้าวสาลี ถั่วเหลือง ตลอดจนนาข้าว (Cocker; et al. 1995:169-180); (Chen; et al. 2011:50-53) มีกลไกการทำงานออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะซิetyl-CoA คาร์บอกซิเลทในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) โดยการลำเลียงสารเข้าสู่ทางใบ และกาบใบ เอนไซม์อะซิetyl-CoA คาร์บอกซิเลทเป็นเอนไซม์ตัวแรกในการเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์กรดไขมันประเภทฟอสโฟลิปิดที่จำเป็นสำหรับการ

เจริญเติบโตของพืชการสังเคราะห์กรดไขมันเกิดขึ้นที่คลอโรพลาสต์ บริเวณพลาสติด (plastid) โดยที่ acetate และ pyruvate ทำปฏิกิริยาทางเคมีได้ acetyl-CoA คาร์บอนของ acetyl-CoA ถูกเร่งปฏิกิริยาโดยเอนไซม์ ACCase ได้ malonyl-CoA ต่อจากนั้น acetyl-CoA และ malonyl-ACP (ACP = acyl-carrier protein) เกิดปฏิกิริยาการควบแน่น (condensation) ร่วมกับ fatty acid synthetase complex (FAS) ได้ palmitic acid และ stearic acid และกรดไขมันจะต่อกันเป็นโซ่ยาว ซึ่งจะถูกนำไปใช้สร้างเป็นพวกไข (wax) ซูเบอร์อิน (suberin) และคิวทิน (cutin) ต่อไป (Pornprom; et al. 2006:1109-1115)

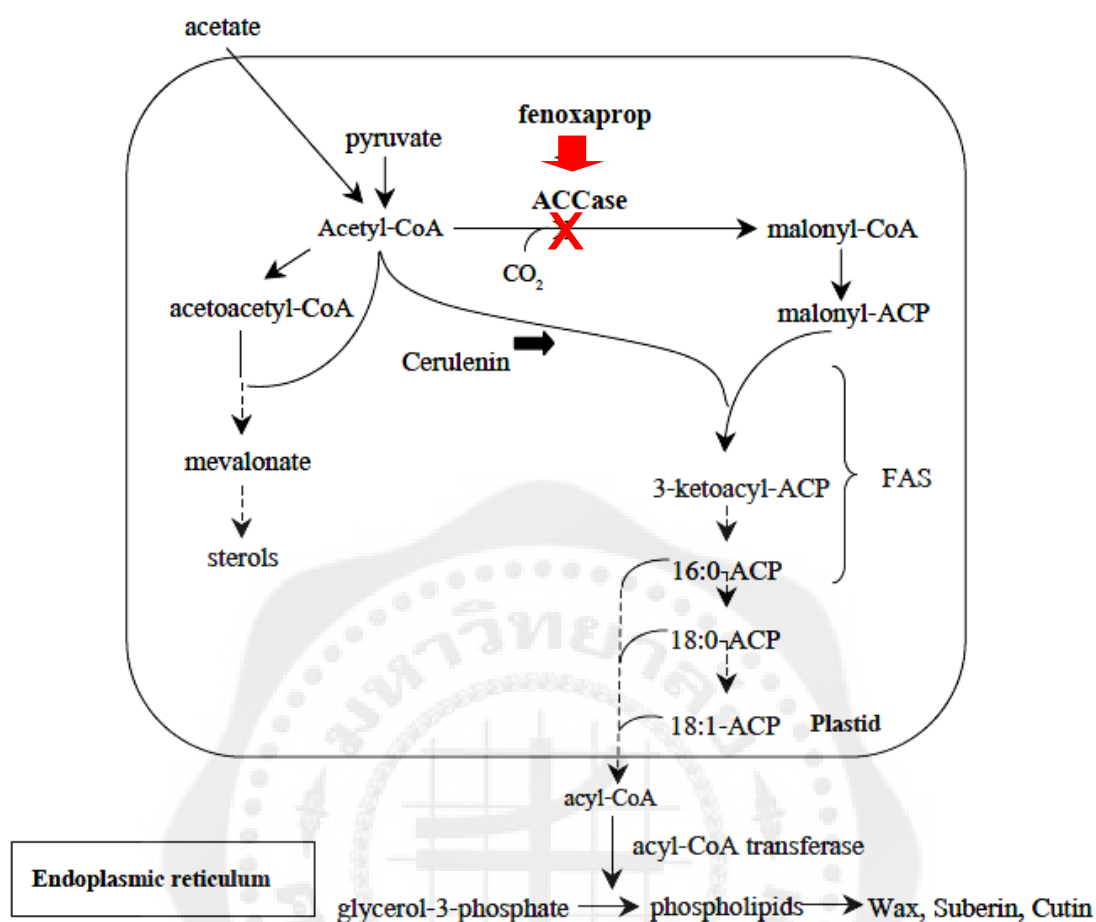


ภาพประกอบ 4 สูตรโครงสร้าง Fenoxaprop-*p*-ethyl



ภาพประกอบ 5 แผนภาพการสังเคราะห์กรดไขมันในเซลล์พืช

ที่มา: Ohlroggeav, J.; & Browse, J. (1995). *Lipid Biosynthesis*. American Society of Plant Physiologists. *The Plant Cell*. (7): 957-970



ภาพประกอบ 6 แผนผังการกลไกการทำงานออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของ ACCase

ที่มา: Pimentel, D. (1995). *Amounts of Pesticides Reaching Target Pests.*

Environmental Impacts and Ethics. Journal of Agricultural and Environmental Ethics. 8(1): 17-29.

3. การต้านทานสารกำจัดวัชพืช

การต้านทานสารกำจัดวัชพืชในวัชพืช (herbicide-resistant weeds) เป็นความสามารถที่เกิดกับประชากรในบางส่วนของวัชพืชชนิดนั้นที่มีชีวิตอยู่รอด และสามารถขยายพันธุ์ต่อไปได้ในสภาพธรรมชาติ ภายหลังจากได้รับสารกำจัดวัชพืชที่มีการใช้ในอัตราปกติ (Valverde; et al. 2000) ส่วนความทนทานต่อสารกำจัดวัชพืช (herbicide-tolerant weeds) เป็นความสามารถของวัชพืชในประชากรทั้งหมดของวัชพืชชนิดนั้น สามารถมีชีวิตอยู่รอด และสามารถขยายพันธุ์ต่อไปได้ในสภาพ

ธรรมชาติ ภายหลังที่ได้รับสารกำจัดวัชพืชที่มีการใช้ในอัตราปกติ (Valverde; et al. 20000) ส่วนความอ่อนแอ (susceptible) เป็นการขาดความสามารถที่จะต้านทานต่อการได้รับสารกำจัดวัชพืชซึ่งทำให้พืชได้รับความเสียหายจากการได้รับสารนั้น (Holt & Le Beron. 1990)

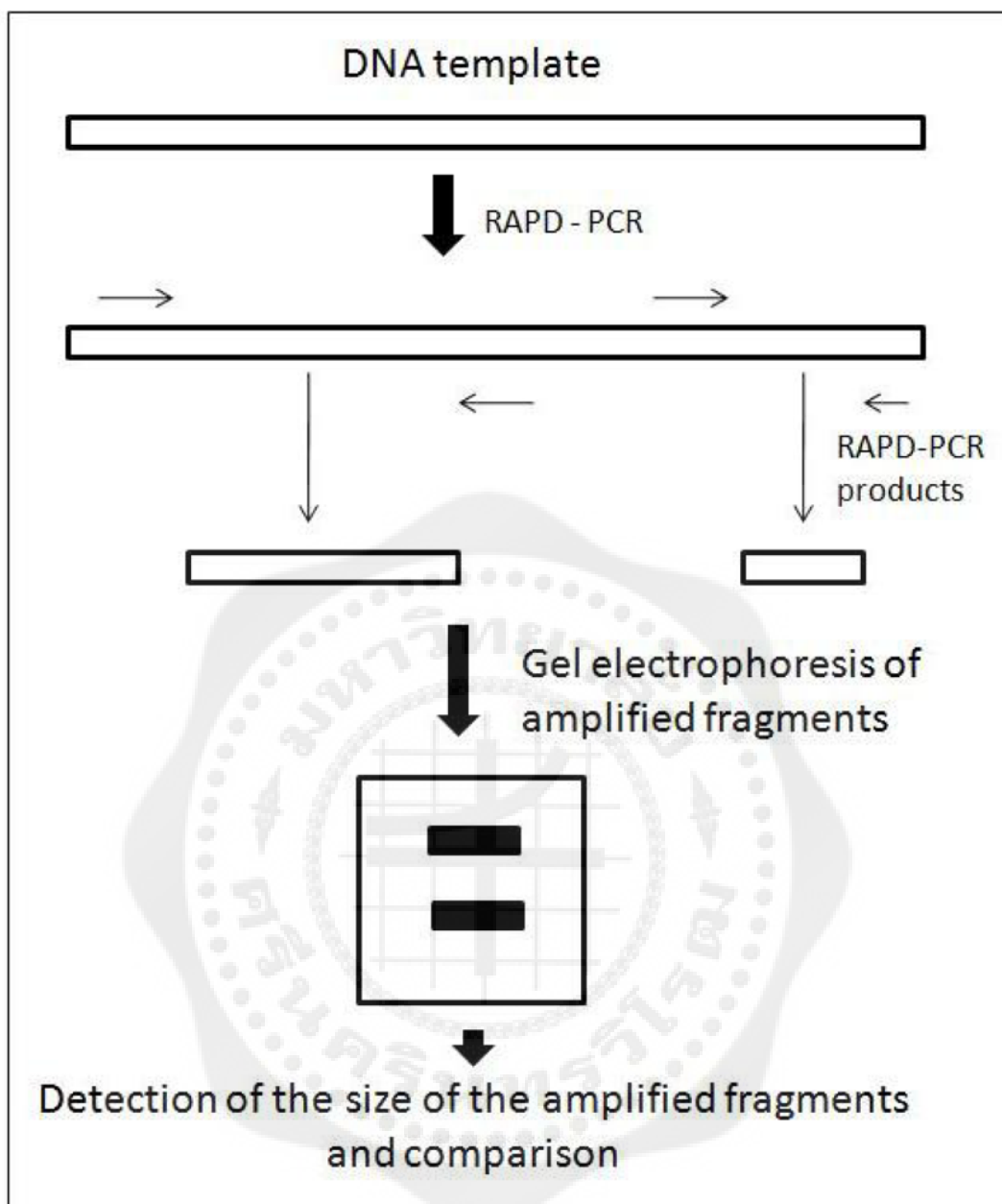
3.1 สถานการณ์การต้านทานสารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl

ความทนทานต่อสารกำจัดวัชพืชในวัชพืชจัดเป็นความสามารถของวัชพืชจากจำนวนประชากรทั้งหมดของวัชพืชชนิดนั้น ที่มีชีวิตอยู่รอดสามารถขยายพันธุ์ต่อไปได้ในสภาพธรรมชาติ ภายหลังจากการได้รับสารกำจัดวัชพืชที่มีการใช้ในอัตราปกติ (Valverde, E.B.; & C.R. Riches, J.C. Caseley 2000:123) พบรายงานความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช triazine ในครั้งแรกช่วงต้นทศวรรษที่ 70 ในวัชพืช *Senecio vulgaris* (Ryan G.F. 1970:614-616) หลังจากนั้นก็ได้มีรายงานการความต้านทานต่อสารในกลุ่ม APP และ CHD ใน *Avena fatua* ซึ่งทำให้เอนไซม์ ACCase ไม่สามารถทำงานได้ และยังสามารถถ่ายทอดลักษณะที่ต้านทานโดยมีการถ่ายยีน (gene flow) ไปสู่เมล็ด ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญในการแพร่กระจายของพันธุ์ที่ต้านทาน (Andrews T.S.; & J.N. Morrison, G.A. Penner 1998:196-199) หลังจากนั้นมีการใช้สาร diclofop-methyl ติดต่อกันหลายปีเพื่อควบคุมวัชพืช *Lolium multiflorum* ในแปลงข้าวสาลีพบว่าวัชพืชยังคงมีชีวิตอยู่ได้ถึงร้อยละ 100 เมื่อใช้สารออกฤทธิ์อัตรา 5,760 กรัมต่อเฮกตาร์ (Prado D.R.; et al. 2000:311-318) ในปีเดียวกันพบว่าวัชพืช *E. oryzoides* และ *E. phyllopogon* มีความต้านทานต่อสาร bispyribac-sodium fenoxaprop-ethyl molinate และ thiobencarb แต่ไม่มีความต้านทานต่อสารโปรพานิล และยังพบว่าข้าวโอ๊ตป่าสามารถมีชีวิตรอดจากสาร fenoxaprop-*p*-ethyl และ flamprop ได้ประมาณร้อยละ 43-88 57-83 และ 44-77 ตามลำดับ (Fischer A.J.; et al. 2002:225-230)

4. เครื่องหมายทางพันธุกรรม RAPD

เครื่องหมายทางพันธุกรรม (Genetic Markers) เป็นเครื่องหมายที่มีความเฉพาะเจาะจงสามารถนำมาใช้แยกความแตกต่างทางพันธุกรรม และเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่ใช้กันมานานแล้ว คือ เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (morphological markers) ได้แก่ ลักษณะรูปพรรณสัณฐานพืชที่มีความแตกต่างกัน เช่น ความสูง ลักษณะทรงพุ่ม สีของลำต้น ขนาด รูปร่างและสีของเมล็ด อายุวันออกดอก และวันเก็บเกี่ยว เป็นต้น อย่างไรก็ตามพบว่าการเปรียบเทียบลักษณะภายนอกนี้ยังไม่สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์พืชบางชนิด และลักษณะดังกล่าวมักผันแปรไปตามสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป ต่อมาได้มีการพัฒนาเครื่องหมายโปรตีน (protein marker) เข้ามา

เพื่อช่วยในการบ่งชี้ความแตกต่างของสายพันธุ์พืช (varietal identification) โดยใช้ความแตกต่างของโมเลกุลโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของพืชมาเป็นเครื่องบ่งชี้ ซึ่งถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสายพันธุ์ แต่จำกัดของเครื่องหมายโปรตีน คือ จำนวนยีนที่ใช้ตรวจสอบน้อย และยีนที่นำมาศึกษาต้องมีการแสดงออก (gene expression) ด้วย ซึ่งจะต้องเลือกเนื้อเยื่อพืช และระยะการเจริญเติบโตที่เหมาะสม ผลการตรวจสอบยังขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมทำให้โอกาสการตรวจพบความแตกต่างในระดับโปรตีนมีค่าต่ำกว่าที่เป็นจริง จากข้อจำกัดดังกล่าวทำให้เกิดการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA Markers) โดยใช้ลำดับเบสช่วงหนึ่งของดีเอ็นเอซึ่งมีตำแหน่งบนโครโมโซม ในนิวเคลียส (nuclear DNA) หรือใน ออร์แกเนลล์ (mitochondria DNA หรือ chloroplast DNA) ที่มีความเป็นเอกลักษณ์การจัดเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอเกิดความแตกต่าง หรือโพลิมอร์ฟิซึม (polymorphisms) ที่สามารถนำไปใช้เป็นเครื่องหมายพันธุกรรมที่บ่งชี้เอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิตได้ (สุริพร เกตุงาม. 2546: 37-49) วิธีอาร์เอฟดีเป็นเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้วิธีวิเคราะห์ลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่มที่ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย โดยทำการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ด้วยไพรเมอร์ที่ไม่จำเพาะเจาะจง (arbitrary primer) ขนาดสั้น 10 - 20 นิวคลีโอไทด์ แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจะเป็นผลจากการที่ไพรเมอร์เข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอ 2 บริเวณที่อยู่ไม่ไกลกันมาก โดยเกาะกับดีเอ็นเอคนละสายในทิศทางเข้าหากัน (5'-->3') จะสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณดังกล่าวได้ แต่ถ้าไพรเมอร์เกาะกับดีเอ็นเอสายเดียวกันในทิศทางเดียวกัน หรือเกาะกับดีเอ็นเอคนละสายแต่ทิศทางแยกจากกันทำให้ไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้



ภาพประกอบ 8 กลไกของ RAPD

ที่มา: Ibrahim A. Arif; et al. (2010). *A Brief Review of Molecular Techniques to Assess Plant Diversity. Int. J. Mol. Sci.*: 2079-2096.

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้

1. ทดสอบการต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ในหญ้านกสีชมพู
2. การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี
3. สำรวจการระบาดของหญ้าข้าวนกสีชมพูในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี
4. การทดสอบเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี

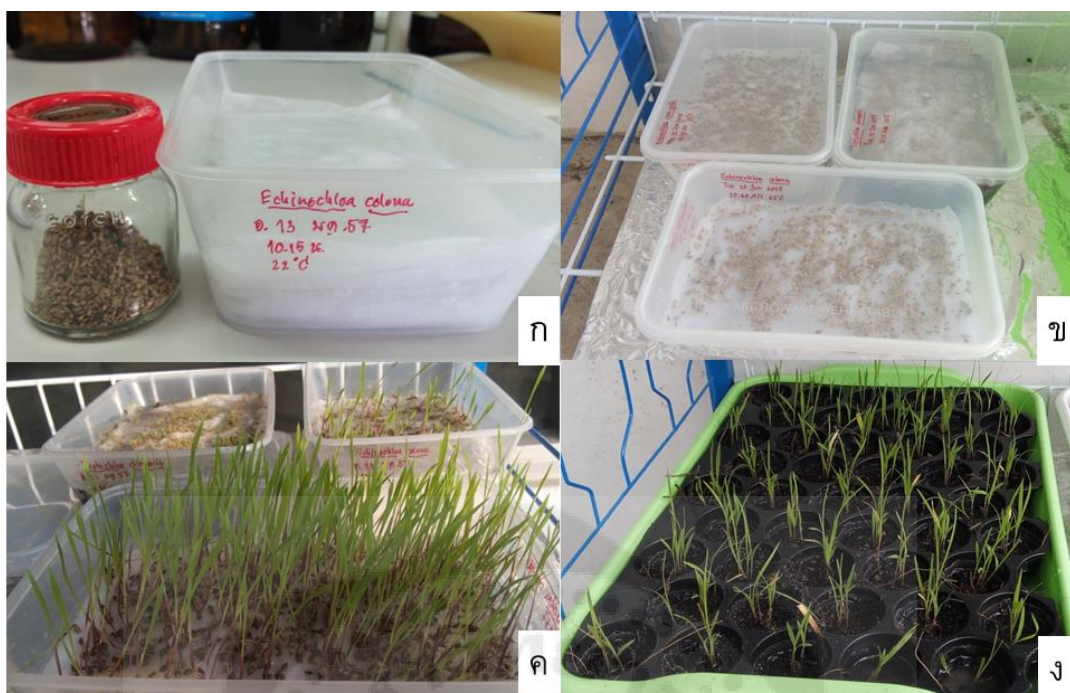
1. ทดสอบการต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ในหญ้านกสีชมพู

1.1 การคัดเลือกตัวอย่างเมล็ดหญ้านกสีชมพู

เก็บเมล็ดสีเหลืองฟางทั้งต้นในแปลงที่สงสัยว่าเกิดวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชจากอำเภองครักษ์ จังหวัดนครนายกใช้เทคนิคการสุ่มตัวอย่าง (random sampling) ด้วยมือ (Lang Pan; et al. 2014: 123-130) เลือกแปลงนาข้าวที่มีความหนาแน่นของวัชพืชมากกว่า 50% ของพื้นที่และมีความกระจายตัวสม่ำเสมอทั่วแปลงในระยะข้าวออกรวงระบุมักัดด้วยเครื่องกำหนดตำแหน่งบนโลก (GPS; Global Positioning System) ยี่ห้อ Garmin รุ่น GPSmap 64s ซึ่งสามารถพบวัชพืชได้ทั้งส่วนดอก ช่อดอก เมล็ด ใบ และลำต้น) จำนวน 7 จุด (Silprasit K.; et al. 2016:137-146) ประมาณ 100 รวง (Panicle)) บรรจุในถุงพลาสติกใสแยกต้นเพื่อนำเมล็ด และตัวอย่างที่ได้มาตรวจสอบ และระบุชนิดโดยเทียบกับคู่มือในต่างประเทศ (William L. Halvorson. 2002:4-23) ถึงรายงานการศึกษาศึกษาในวารสารต่าง ๆ (วทัญญู กลิ่นนิยม; จัตรชัย เงินแสงสรวย และประศาสตร์ เกื้อมณี. 2557:5-13; สายัณห์ ทัดศรี. 2548:281-283; ดวงพร สุวรรณกุล. 2544:147-181) นำไปผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงรวมเมล็ดทั้งหมดบรรจุลงในถุงพลาสติกแล้วเขย่าเพื่อคลุกเคล้ากันเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

1.2 การเตรียมต้นพืชเพื่อทดสอบการต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl

แช่เมล็ดหญ้านกสีชมพูในน้ำกลั่นเพื่อการทำลายการพักตัวของเมล็ดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำเมล็ดมาเพาะบนกระดาษชำระในกล่องพลาสติกให้ความชื้น ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้แสง 12 ชั่วโมง ต่อวัน เมื่อต้นกล้าระยะเจริญ 1-2 ใบ ย้ายปลูกลงดินในถาดหลุมๆละ 5 ต้น โดยใช้ดินปลูกเพื่อการค้า นำไปเพาะเลี้ยงในโรงเรือนรดน้ำให้ชุ่มวันละครั้งในตอนเช้า เมื่อต้นกล้าเจริญอยู่ในระยะ 3-4 ใบ จึงพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl เมื่อต้นกล้าเจริญอยู่ในระยะ 4-5 ใบ นำมาพ่นด้วยสารกำจัดวัชพืชฟีโนซาพروبพาราเอทิล (ยี่ห้อ Furare จากบริษัท Bayer Crop Science AG Germany) ที่ 3 ระดับความเข้มข้น 0x 0.5x 1x และ 2x (0, 135, 180, 270 มล.ต่อน้ำ 80 ลิตร) จำนวน 3 ซ้ำ



ภาพประกอบ 8 การเพาะเมล็ดหว่านกลีสมพู

- ก. เมล็ดหว่านกลีสมพู
- ข. การเพาะหว่านกลีสมพู
- ค. ต้นอ่อนหว่านกลีสมพู
- ง. หว่านกลีสมพูที่ย้ายลงหลุมปลูก

1.3 ทำการรดน้ำให้ชุ่มวันละครั้งในตอนเช้า บันทึกผลการทดลองโดยการบันทึกภาพถ่าย ทุกๆสัปดาห์ และหลังจากนั้น 21 วัน นับจำนวนต้นที่รอดตาย (ต้นด้านทาน) และเก็บตัวอย่างไป สกัดดีเอ็นเอ ย้ายต้นที่รอดตาย และตัวอย่างอย่างควบคุมบางส่วนลงปลูกในกระถางใหม่

1.4 คัดเลือกประชากรดีเยี่ยมหลังจาก 7 วัน นับจำนวนต้นรอดตายในแต่ละประชากร คำนวณร้อยละระดับความต้านทานดังตาราง 1

ตาราง 1 ค่าความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช

ร้อยละของประชากรที่การรอดตาย	ระดับความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช
0	ประชากรอ่อนแอ (Susceptible population)
1-20	ประชากรที่กำลังพัฒนาความต้านทาน (Developing resistant population)
21-50	ประชากรต้านทาน (Resistant population)
51-100	ประชากรต้านทานระดับสูง (Highly resistant population)

2. การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดี

2.1 การสกัดดีเอ็นเอ

เก็บใบอ่อนของหญ้านกสีชมพูหลังพ้นสารกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชฟีโนซาพروبาราเอทิล 21 วัน ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น (fenoxaprop-*p*-ethyl resistance) และต้นที่ไม่ได้รับการพ่น fenoxaprop-*p*-ethyl susceptible) มาสกัดดีเอ็นเอแต่ละต้นโดยใช้น้ำยาสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป GenUP™ Plant DNA Kit ของบริษัท biotechrabbit จากประเทศเยอรมนี (GenUP™ Plant DNA protocols. 2014:1-12) โดยมีขั้นตอนการสกัดดังนี้

2.1.1 นำใบพืชประมาณ 50-100 มิลลิกรัมมาบดให้ละเอียดในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

2.1.2 เติมนสารละลายบัฟเฟอร์ PL3 ปริมาตร 400 ไมโครลิตร และ Protinase K ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยไมโครปิเปต

2.1.3 นำไปบ่มในแผ่นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที

2.1.4 จากนั้นนำมาเติมนสารละลายบัฟเฟอร์ตกตะกอน (Buffer precipitation) ปริมาตร 400 ไมโครลิตร แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารเป็นเวลา 5 วินาที

2.1.5 นำบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นตกตะกอน ความเร็วสูงที่ระดับความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

2.1.6 ตูดสารละลายที่ได้ใส่ pre column filter แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นตกตะกอน ความเร็วสูงที่ระดับความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที

2.1.7 ทิ้ง pre column filter นำของเหลวใสที่ได้มาเติม Rnase A ปริมาตร 4 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยไมโครปิเปต แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

2.1.8 นำมาเติมนสารละลาย Buffer binding PL ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย ไมโครปิเปต

2.1.9 ย้ายสารละลายที่ได้ใส่ mini filter spin column แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นตกตะกอนความเร็วสูงที่ระดับความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที

2.1.10 ทิ้งสารละลายที่อยู่ในหลอด collection tube แล้วนำ mini filter spin column มาใส่ใน collection tube ใหม่

2.1.11 นำมาเติมสารละลาย buffer wash ปริมาตร 650 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นตกตะกอนความเร็วสูงที่ระดับความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที

2.1.12 ทิ้งสารละลายที่อยู่ในหลอด collection tube แล้วนำ mini filter spin column collection tube ใหม่แล้วนำไปปั่นแห้ง ด้วยเครื่องปั่นตกตะกอนความเร็วสูงที่ระดับความเร็ว 14,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 2 นาที

2.1.13 ทิ้งหลอด collection tube แล้วนำ mini filter spin column collection ใส่ในหลอดไมโครเซนทริฟิวจันใหม่ แล้วนำเติมสารละลาย Buffer elution ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที

2.1.14 นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นตกตะกอนความเร็วสูงที่ระดับความเร็ว 8,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 นาที จะได้จีโนมิกดีเอ็นเอ นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อนำมาใช้ศึกษาในขั้นต่อไป

2.2 การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลด้วยเทคนิค High Annealing Temperature Random amplified Polymorphic DNA (HAT-RAPD)

2.2.1 นำจีโนมิกดีเอ็นเอข้าวหมกซมพูที่สกัดจากข้อที่ 3.4 มาเพิ่มปริมาณด้วยเทคนิค HAT-RAPD เพื่อคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถบ่งชี้ความแตกต่างการต้านทานกำจัดวัชพืชสารกำจัดวัชพืชฟิโนซาฟรอปพาราเอทิล โดยใช้ RAPD primer ที่มีความยาว 10 นิวคลีโอไทด์ จำนวน 10 ชนิด รายละเอียดดังตารางที่ 1 (Arifine,T.; et.al. 2004:231-238)

2.2.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในหลอดทดลองใช้ 2X standard Go Taq® Green Master Mix (Promega Corporation standard protocol.2012:2) โดยเตรียมปฏิกิริยาพีซีอาร์ใช้ทั้งหมดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย Nuclease-free water จำนวน 5 ไมโครลิตร 5µM RAPD primer จำนวน 4 ไมโครลิตร 2XGo Taq® Green Master Mix จำนวน 10 ไมโครลิตร จีโนมิกดีเอ็นเอข้าวหมกซมพู จำนวน 1 ไมโครลิตร นำส่วนผสมทั้งหมดของปฏิกิริยาพีซีอาร์ นำเข้าเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในหลอดทดลอง จำนวนทั้งหมด 35 รอบ (ขั้นตอนที่ 2-4) โดยกำหนดอุณหภูมิ และเวลาในแต่ละขั้นดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 Initial denaturation ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

ขั้นตอนที่ 2 Denaturation ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที

ขั้นตอนที่ 3 Annealing ใช้อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที

ขั้นตอนที่ 4 Extension ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที

ขั้นตอนที่ 5 Final extension ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที
 ขั้นตอนที่ 6 อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คงที่ตลอด

ตาราง 2 ไพรมเมอร์ และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ศึกษา

ลำดับ	ไพรมเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'→ 3'
1	OPAA-01	5'AGACGGCTCC3'
2	OPAA-02	5'GAGACCAGAC3'
3	OPAA-03	5'TTAGCGCCCC3'
4	OPAA-04	5'AGGACTGCTC3'
5	OPAA-05	5'GGCTTTAGCC3'
6	OPAA-06	5'GTGGGTGCCA3'
7	OPAA-07	5'CTACGCTCAC3'
8	OPAA-08	5'TCCGCAGTAG3'
9	OPAA-09	5'AGATGGGCAG3'
10	OPAA-10	5'TGGTCGGGTG3'

2.2.3 ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์เทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานความยาว 100 bp DNA (Promega) ด้วยวิธี electrophoresis ใช้ 1.5% agarose ใน 0.5x TAE buffer ที่ความต่างศักย์ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที ย้อมด้วย Ethidium bromide ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ถ่ายภาพเพื่อนำมาวิเคราะห์หาแถบดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่าง (polymorphism) คัดเลือกไพรมเมอร์ RAPD ที่สามารถบ่งชี้ความหลากหลายที่ด้านทานสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl อย่างชัดเจน

2.3 การวิเคราะห์รูปแบบแถบดีเอ็นเอ และคัดเลือกไพรมเมอร์

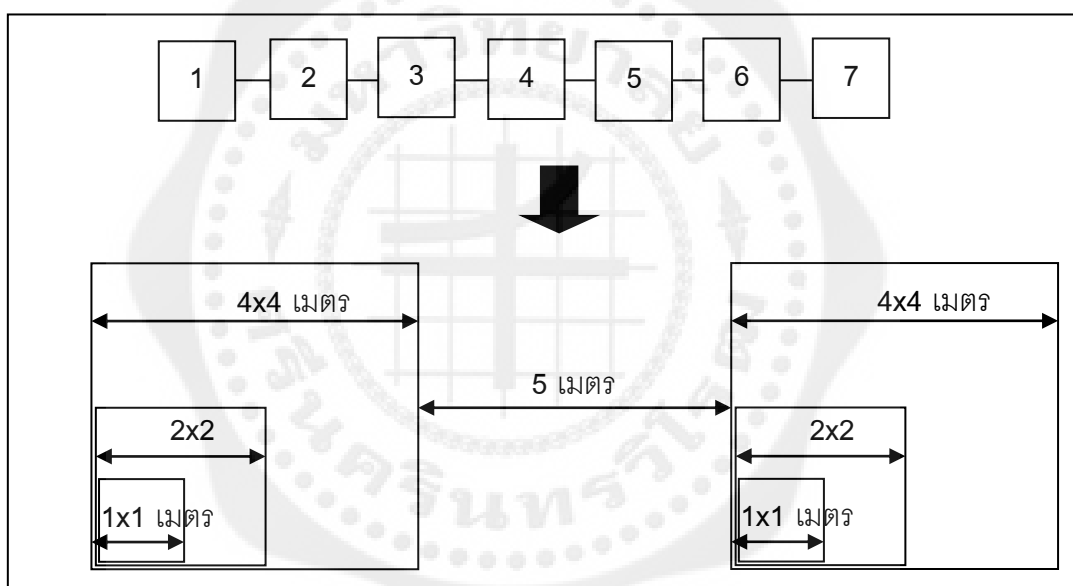
ดำเนินการทดสอบเครื่องหมายโมเลกุลตามขั้นตอนดังที่กล่าวมาแล้วในข้อที่ 2 การวิเคราะห์แถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน (polymorphism) ระหว่างในพืชนกขมพูที่ไม่ต้านทาน และต้านทานต่อสารกำจัด fenoxaprop-*p*-ethyl รวมทั้งตัวอย่างจากพื้นที่ศึกษา แล้ววิเคราะห์ข้อมูลให้ตำแหน่งที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 1 และตำแหน่งที่ไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอมีค่าเท่ากับ 0 วิเคราะห์ความสัมพันธ์แบบ Neighbor-Joining method โดยใช้ MEGA version 5.2 หาคำร้อยละ polymorphic loci

$$\text{ค่าร้อยละ polymorphic band} = \frac{\text{polymorphic bands}}{\text{Total of band}} \times 100$$

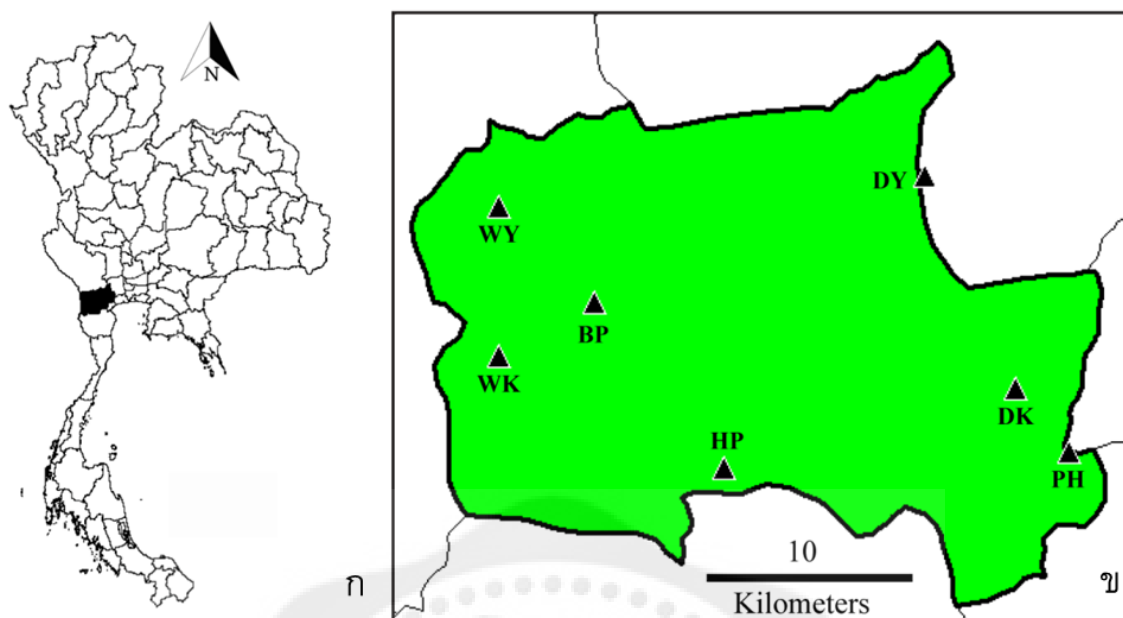
3. สำรวจการระบาดของหญ้าข้าวนกสีชมพูในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

3.1 การศึกษาความหลากหลายของวัชพืช

การศึกษาความหลากหลายของวัชพืชโดยการวางแผนแปลงขนาดกว้าง 4 เมตร ยาว 4 เมตร ระยะห่างแต่ละแปลง 5 เมตร จำนวนทั้งหมด 7 แปลงต่อหนึ่งจุดสำรวจ สุ่มนับจำนวนชนิดวัชพืชในแปลงย่อยขนาดกว้าง 1 เมตร ยาว 1 เมตร



ภาพประกอบ 9 แผนผังการวางแผนสำรวจวัชพืช



ภาพประกอบ 10 พื้นที่ศึกษา

ตาราง 3 ตำแหน่ง GPS พื้นที่ศึกษา

ตำบล	ตำแหน่งGPS	ความสูงเหนือระดับน้ำทะเล(เมตร)
1. ดอนคา	13°39'55.54"N 100°02'51.14"E	5
2. ดอนใหญ่	13°43'08.2"N 100°01'28.17"E	4
3. บางแพ	13°41'26.65"N 99°66'28.40"E	17
4. โพหัก	13°38'57.95"N 100°03'39.97"E	13
5. วัดแก้ว	13°40'24.63"N 99°55'00.84"E	13
6. วังเย็น	13°42'40.42"N 99°55'01.34"E	10
7. หัวโพ	13°38'42.41"N 99°58'26.51"E	5

3.2 การวิเคราะห์ค่าความหลากหลายของวัชพืช

นำข้อมูลวัชพืชที่สำรวจได้ในแต่ละแปลงมาคำนวณหาค่าดังต่อไปนี้

3.2.1 ความหนาแน่นของวัชพืช (Density; D)

Density = $\frac{\text{จำนวนต้นทั้งหมดของชนิด A ที่ปรากฏในแปลงตัวอย่าง}}{\text{หน่วยพื้นที่ทั้งหมดของแปลงตัวอย่างที่สำรวจ}}$

3.2.2 ความถี่ของวัชพืช (Frequency; F)

$$\text{Frequency} = \frac{\text{จำนวนแปลงตัวอย่างที่ชนิดวัชพืชนั้นปรากฏ}}{\text{จำนวนแปลงตัวอย่างทั้งหมดที่สำรวจ}} \times 100$$

3.2.3 ความหนาแน่นสัมพัทธ์ของวัชพืช (Relative density; RD)

$$\text{RD} = \frac{\text{ความหนาแน่นของวัชพืชชนิด A}}{\text{ความหนาแน่นของวัชพืชทุกชนิดในสังคม}} \times 100$$

3.3.4 ความถี่สัมพัทธ์ของวัชพืช (Relative frequency; RF)

$$\text{RF} = \frac{\text{ความถี่ของวัชพืชชนิด A}}{\text{ผลรวมของความถี่ของวัชพืชทุกชนิดใน}}$$

3.4.5 ชนิดเด่นของวัชพืช (Dominant species; SDR)

$$\text{SDR} = \frac{\text{RD} + \text{RF}}{2}$$

3.4.6 ดัชนีของแซนนอน-เวียเนอร์ (Shannon-Wiener's Index; H) (จิรากรณ์ คชเสนี. 2553:257-262)

$$H = -\sum_{i=1}^S (P_i) (\ln P_i)$$

เมื่อ H = ดัชนีความหลากหลาย

S = จำนวนชนิด

P_i = สัดส่วนระหว่างจำนวนวัชพืชชนิด i ต่อจำนวนวัชพืชทั้งหมด

3.4.7 ค่าความสม่ำเสมอ (Evensness Index; E_H) (Clarke and Warwick, 1994)

$$E_H = H / \ln S$$

เมื่อ H = ดัชนีความหลากหลายของแซนนอน-เวียเนอร์

S = จำนวนวัชพืชชนิดทั้งหมด

3.4.8 ดัชนีชนิดเด่นซิมป์สัน (Simpson dominance Index; D)

$$D = -\sum (P_i)^2$$

4. การทดสอบเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอฟดี

4.1 การเก็บตัวอย่างหญ้านกสีชมพู

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง (random sampling) หญ้าสีชมพูจำนวน 5 ต้นในแต่ละจุดสำรวจบรรจุในถุงถุงซิปล็อค (Lang Pan; et al. 2014:123-130) เพื่อตรวจสอบและระบุชนิด บรรจุในถุงพลาสติกโดยแยกตัวอย่างแต่ละต้นบรรจุในถุงซิปล็อคสำหรับนำไป ตรวจสอบโดยให้รู้ปริมาณเปรียบเทียบเอกสาร อ้างอิงต่าง ๆ คู่มือในต่างประเทศ (William L. Halvorson. 2002:4-23) ถึงรายงานการศึกษาการศึกษาในวารสารต่าง ๆ (วทัญญู กลิ่นนิยม; จัตรชัย เงินแสงสรวาย และประศาสตร์ เกื้อมณี. 2557:5-13; สายัณห์ ทัดศรี.2548:281-283; ดวงพร สุวรรณกุล. 2544:147-181) โดยเก็บใบอ่อนของหญ้านกสีชมพูแต่ละต้นบรรจุในถุงซิปล็อคบรรจุในกล่องน้ำแข็ง

4.2 ทดสอบเครื่องหมายโมเลกุล

นำใบอ่อนของหญ้านกสีชมพูที่เก็บได้จาก 7 ตำบลๆ ละ 1 ตัวอย่าง สกัดดีเอ็นเอแต่ละต้นโดยใช้น้ำยาสกัดดีเอ็นเอสำเร็จรูป GenUP™ Plant DNA Kit ของบริษัท biotech rabbit จากประเทศเยอรมนี (GenUP™ Plant DNA protocols. 2014:1-12) ตามขั้นตอนในข้อ 2 ทดสอบเครื่องหมายโมเลกุลตามขั้นตอนในข้อ 3

5. เครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี

5.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 5.1.1 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในหลอดทดลอง (thermal cycler)
- 5.1.2 เครื่องปั่นตกตะกอนความเร็วสูง (micro centrifuge)
- 5.1.3 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical Balances)
- 5.1.4 แผ่นให้ความร้อน (heat box)
- 5.1.5 เครื่องดูดจ่ายสารละลายปริมาณน้อย (micropipette)
- 5.1.6 เครื่องแยกสารพันธุกรรมในแนวนอน (agarose gel electrophoresis)
- 5.1.7 ตู้แช่อุณหภูมิต่ำ (deep freezer)
- 5.1.8 ชุดถ่ายภาพเจล (gel documentation system)
- 5.1.9 กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ (stereo microscope)
- 5.1.10 กล่องพลาสติก

- 5.1.11 กระดาษปลุกต้นไม้
- 5.1.12 ดินปลูก
- 5.1.13 บัวรดน้ำ
- 5.1.14 กระบอกแบบหัวฉีด
- 5.1.15 กล้องถ่าย
- 5.1.16 เตาไมโครเวฟ (microwave oven)
- 5.1.17 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ (autoclave)
- 5.1.18 หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ (micro centrifuge tube) ขนาด 0.2 ไมโครลิตร
- 5.1.19 หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ (micro centrifuge tube) ขนาด 1.5 ไมโครลิตร
- 5.1.20 กล่องเก็บไมโครทิวป์ (microtube storage box)
- 5.1.21 ที่ใส่ไมโครทิวป์พลาสติก (microtube rack)
- 5.1.22 กระบอกตวง (cylinder)
- 5.1.23 บีกเกอร์ (beaker)
- 5.1.24 ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)
- 5.1.25 เครื่องเขย่าสาร (vortex mixers)
- 5.1.26 ปิเปตทิป (Pipette tips) ขนาด 20 200 และ 1,000 ไมโครลิตร

5.2 สารเคมี

- 5.2.1 Invitrogen Agarose (Bio Basic Science)
- 5.2.2 Gen UP™ Plant DNA kit
- 5.2.3 DNA ladder (biotech rabbit)
- 5.2.4 Ethanol
- 5.2.5 Ethidium bromide
- 5.2.6 10x TAE buffer
- 5.2.7 Nuclease-free water
- 5.2.8 Oligonucleotide primer
- 5.2.9 PCR mastermix (Promega)
- 5.2.10 Rnase A
- 5.2.11. น้ำกลั่น
- 5.2.12. สารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ผลการทดลองในงานวิจัยนี้ประกอบด้วยหัวข้อดังต่อไปนี้

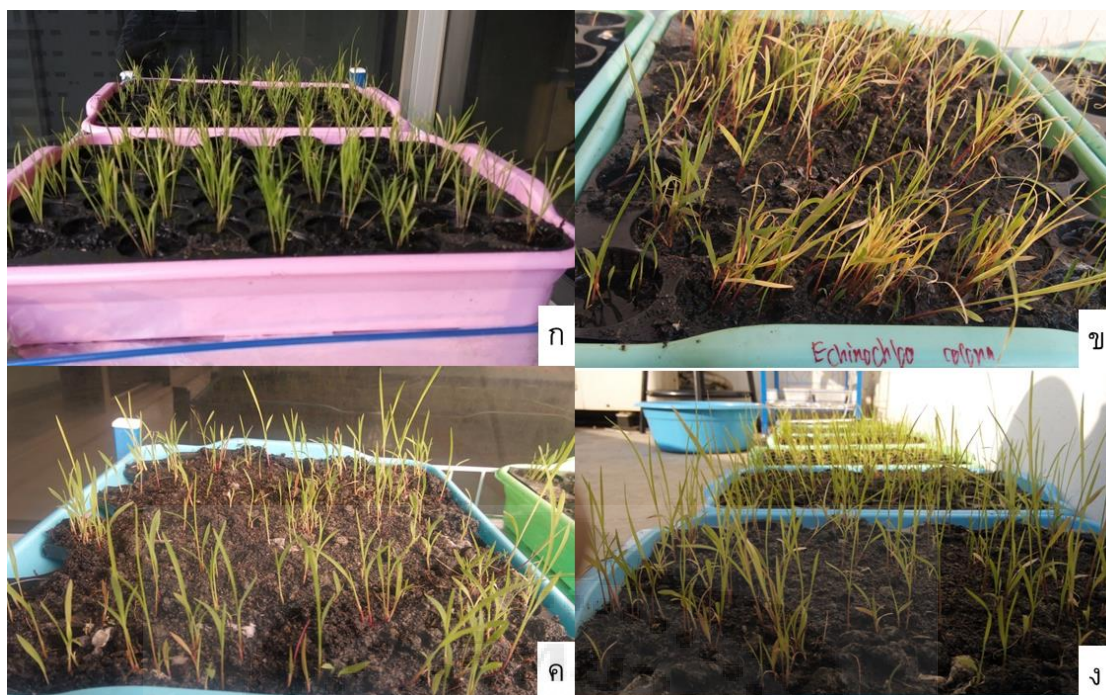
- 1.ผลการทดสอบการต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ในหญ้านกสีชมพู่
- 2.ผลการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลอาร์เอพีดีจากหญ้านกสีชมพู่ที่ต่อต้านทานต่อสาร fenoxaprop-*p*-ethyl
- 3.ผลการสำรวจการระบาดของหญ้านกสีชมพู่ในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี
- 4.การทดสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถบ่งชี้การต้านทานสารกำจัดวัชพืชฟีโนซาพรอปพาราเอทิลในหญ้านกสีชมพู่ในพื้นที่
ซึ่งแต่ละผลการทดลองมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. ผลการทดสอบการต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ในหญ้านกสีชมพู่

จากการทดสอบการต้านทานทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl (บริษัท Bayer Crop Science) ยี่ห้อ Furare ซึ่งอยู่ในกลุ่มสาร Arylophenoxypropionate ใช้เพื่อกำจัดวัชพืชใบแคบเช่นหญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* L. Beauv) หญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees) หลังการงอก (post emergence) ในอัตรา 100 มิลลิลิตร ผสมน้ำ 90 ลิตรพื้นที่ 1 ไร่ หลังหว่านข้าว 20 วัน ที่ 3 ระดับความเข้มข้นกับหญ้านกสีชมพู่ (*Echinochloa colona* (L.) Link) พบประชากรที่ต้านทานจำนวนทั้งหมด 151 ต้น (94.87%) พบประชากรที่ต้านทาน (resistant) 59 ต้น (36.88%) 50 ต้น (36.88%) และ 42 ต้น (21.11%) ประชากรที่อ่อนแอ (susceptible) 101 ต้น (63.13%) 136 ต้น (73.12%) และ 157 ต้น (78.89%) ตามลำดับ (ตาราง 4)

ตาราง 4 จำนวนประชากรที่ต้านทาน(resistant) และอ่อนแอ (susceptible)

ปริมาณสาร	จำนวนประชากรหญ้านกสีชมพู่ (<i>Echinochloa colona</i>)		
	ทั้งหมด	ต้านทาน (%)	อ่อนแอ (%)
fenoxaprop- <i>p</i> -ethyl			
90 มล.ต่อไร่ 80 ลิตร	160	59 (36.88)	101 (63.13)
180 มล.ต่อไร่ 80 ลิตร	186	50 (36.88)	136 (73.12)
270 มล.ต่อไร่ 80 ลิตร	199	42 (21.11)	157 (78.89)



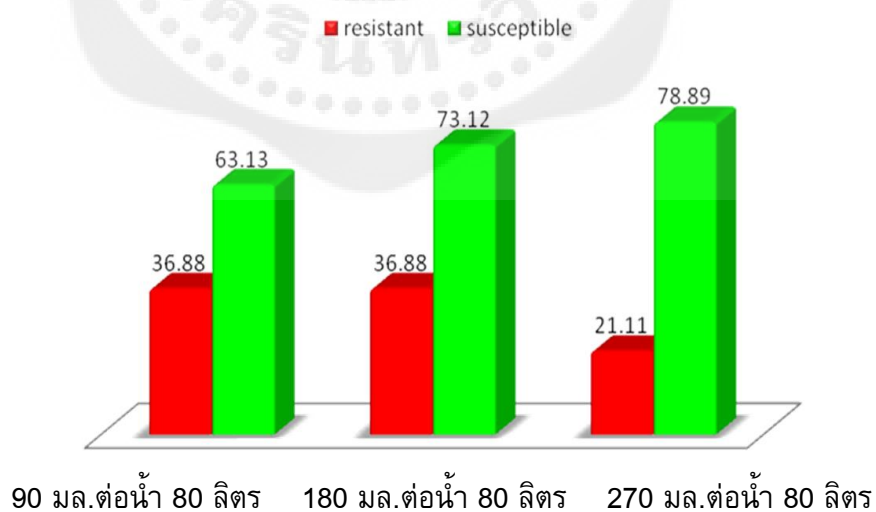
ภาพประกอบ 11 หน้ำนกสีชมพูต้านทานสาร fenoxaprop-p-ethyl ในสภาพโรงเรือน

ก.หน้ำนกสีชมพูก่อนพ่นสาร fenoxaprop-*p*-ethyl

ข.หน้ำนกสีชมพูหลังพ่นสาร fenoxaprop-*p*-ethyl

ค.หน้ำนกสีชมพูต้านทานสาร fenoxaprop-*p*-ethyl 7 วัน

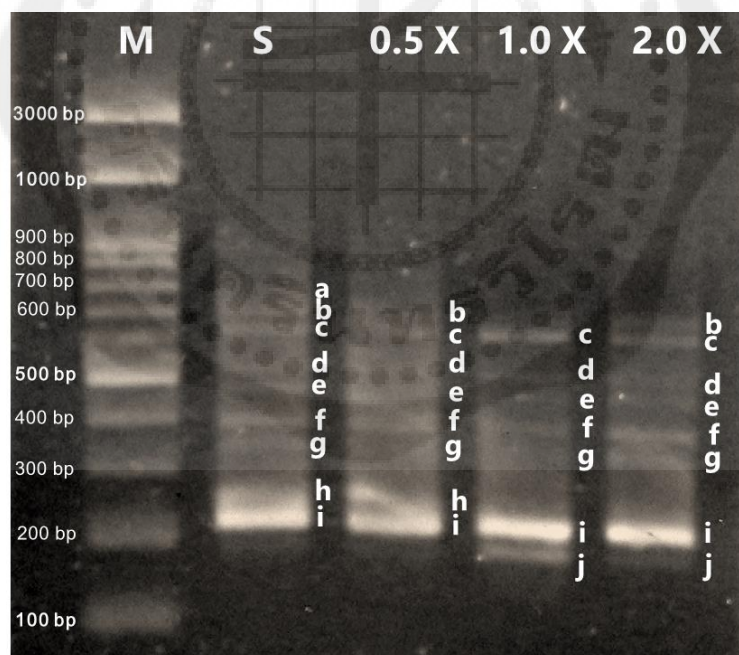
ง.หน้ำนกสีชมพูต้านทานสาร fenoxaprop-*p*-ethyl 14 วัน



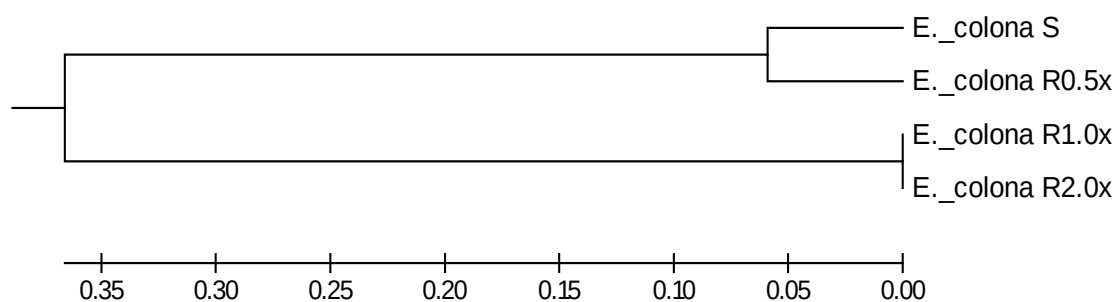
ภาพประกอบ 12 จำนวนร้อยละประชากรที่ต้านทาน (resistant) และอ่อนแอ (susceptible)

2. ผลการคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD

เมื่อนำ *E. colona* ต้านทานต่อสาร fenoxaprop-*p*-ethyl 21 วัน มาศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรม เปรียบเทียบประชากรควบคุมที่ไม่มีการพ่นสาร fenoxaprop-*p*-ethyl ด้วยเทคนิค HAT-RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ จำนวน 10 เส้น พบว่า ไพรเมอร์ OPAA-01 ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'AGACGGCTCC3' ให้แถบดีเอ็นเอที่มีความแน่นอน ขนาด 200-700 bp จำนวน 10 แถบ เมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์แบบ Neighbor-Joining method สามารถจัดกลุ่ม *E. colona* ได้ 2 กลุ่ม ประกอบด้วย กลุ่มที่ 1 ได้แก่ประชากรควบคุมไม่มีการพ่นสาร fenoxaprop-*p*-ethyl และพ่นสาร fenoxaprop-*p*-ethyl ซึ่งมีความความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์เป็น 0.5x (90 มล. น้ำ 80 ลิตร:ไร่) ซึ่งพบแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 700 bp (a) และมีการหายไปของแถบดีเอ็นเอขนาด 700 bp (a) ตามลำดับจัดอยู่ในกลุ่มประชากรที่อ่อนแอ (susceptible) กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ประชากรพ่นสาร fenoxaprop-*p*-ethyl ซึ่งมีความความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์เป็น 1.0x (180 มล.น้ำ 80 ลิตร:ไร่) 2.0x (270 มล.น้ำ 80 ลิตร:ไร่) ซึ่งไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 700 bp (a) แต่พบแถบดีเอ็นเอที่ขนาดประมาณ 200 bp (j) จัดอยู่ในกลุ่มประชากรต้านทาน (resistant)



ภาพประกอบ 13 RAPD ของหญ้านกสีชมพูในสภาพโรงเรือน



ภาพประกอบ 14 Dendrogram ฐานกสิกรรมพืชในสาขาโรงเรียน



ภาพประกอบ 15 ฐานกสิกรรมพืชที่ย้ายปลูกลงกระถางหลังจากพ่นสาร fenoxaprop-*p*-ethyl 21 วัน

ก. ตัวอย่างควบคุม

ข. 90 มล. สารออกฤทธิ์ ผสมน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

ค. 180 มล. สารออกฤทธิ์ ผสมน้ำ 80 ลิตร ต่อไร่

ง. 270 มล. สารออกฤทธิ์ ผสมน้ำ 80 ลิตรต่อไร่

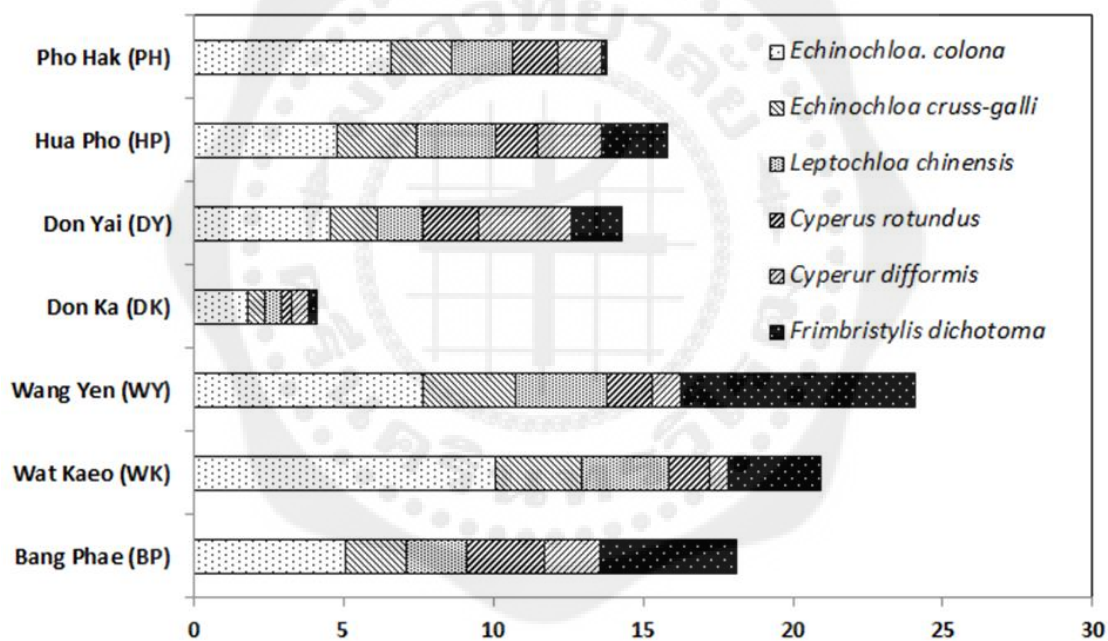
3. ผลการสำรวจการระบาดของหญ้านกสีชมพูในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

ผลการสำรวจการระบาดของวัชพืชในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี ระหว่างเดือน ธันวาคม 2558 ถึง เดือนมิถุนายน 2559 ในพื้นที่นาข้าวหวานน้ำตม ของอำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี จำนวน 7 ตำบล ได้แก่ บางแพ (Bang Phae; BP), ดอนใหญ่ (Don Ka; DK) ดอนคา (Don Yai; DY) หัวโพ (Hua Pho; HP), โพหัก (Pho Hak; PH) วังเย็น (Wang Yen; WY) และวัดแก้ว (Wat Kaeo; WK) พบวัชพืชหลักจำนวน 6 ชนิด ที่มีการระบาดในทุกตำบล ประกอบด้วย วัชพืชวงศ์หญ้า (Poaceae) 3 ชนิด ได้แก่ หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link) หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* L. Beauv) และหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees) วัชพืชวงศ์กก (Cyperaceae) 3 ชนิด ได้แก่ กกขนาก (*Cyperus difformis* L.) หญ้าเหหัวหมู (*Cyperus rotundus* L.) และ หญ้านิ้วหนู (*Fimbristylis dichotoma* (L.) Vahl) เป็นวัชพืชปีเดียว (annual weed)

จากการสำรวจการระบาดของวัชพืชในนาข้าวหวานน้ำตม ในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี ครอบคลุมทั้ง 7 ตำบล จำนวน 1 จุดสำรวจโดยการวางแปลงกลางนาขนาด 4x4 เมตร จำนวน 7 แปลงระยะห่างระหว่างแปลง .5 เมตร ค่าดัชนีความหลากหลาย ค่าความสม่ำเสมอของวัชพืชในพื้นที่อำเภอบางแพมีค่าสูงสุดที่ตำบลโพหัก (PH; 1.254, 0.34) รองลงมาคือตำบลบางแพ (BP; 0.747, 4.22) ดอนใหญ่ (DY; 0.723, 0.44) วังเย็น (WY ;0.685, 0.38) ดอนคา (DK; 0.677, 0.38) วัดแก้ว (WK; 0.601, 0.34) และหัวโพ (WK; 0.517, 0.29) ตามลำดับ ความสัมพันธ์ของหญ้านกชมพูกับความหลากหลายทางชีวภาพของวัชพืชในนาข้าวบริเวณพื้นที่อำเภอบางแพทั้ง 7 ตำบล พบว่า มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญแบบผกผันกับ กับหญ้าข้าวนก (*E. crus-galli*) ในพื้นที่ตำบลบางแพ (BP; -0.406) กกขนาก (*C. difformis*) พื้นที่ตำบลวังเย็น (WY; -0.984) หญ้าเหหัวหมู (*C. rotundus*.) พื้นที่ตำบลบางแพ (BP; -0.465) ตำบลวังเย็น (WY; -0.984) และกกขนาก (*C. difformis*) พื้นที่ตำบลดอนคา (DK; 0.399) ตำบลหัวโพ (PH; 0.477) หญ้าเหหัวหมู (*C. rotundus*.) ในพื้นที่พื้นที่ตำบลดอนคา (DK; 0.399)

ตาราง 5 วัชพืชที่พบทั่วไปนาข้าวอำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

Common name	Scientific name	Family	Life from
Jungle rice	<i>Echinochloa colona</i> (L). Link.	Poaceae	Annual
Baynard Grass	<i>Echinochloa crus-galli</i> L.Beauv.	Poaceae	Annual
Chinese sprangletop	<i>Leptochloa chinensis</i> (L.) Nees.	Poaceae	Annual
Small flowered	<i>Cyperus difformis</i> L.	Cyperaceae	Annual
Purple nut sedge	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Cyperaceae	Annual
Fringe sedge	<i>Fimbristylis dichotoma</i> L.	Cyperaceae	Annual



ภาพประกอบ 16 แผนภูมิแท่งแสดงความหลากหลายวัชพืชในนาข้าว



ภาพประกอบ 17 หญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colona* (L.) Link) จากนาข้าว

ก. ลำต้น

ข. ช่อดอก

ตาราง 6 ค่าความหลากหลายวัชพืชที่พบทั่วไป 7 ตำบล อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

Weeds and diversity indices	Locations						
	BP	DK	DY	HP	PH	WK	WY
<i>E. cruss-galli</i>	56	27	43	74	57	80	86
<i>L. chinensis</i>	56	27	43	74	57	80	86
<i>C. difformis</i>	73	27	87	59	41	17	27
<i>C. rotundus</i>	52	17	51	39	41	38	42
<i>F. dichotoma</i>	127	14	47	62	62	87	218
<i>E. colona</i>	143	90	129	135	185	283	215
Total	507	202	400	443	443	585	674
Evenness (E)	4.22	0.38	0.44	0.29	0.7	0.34	0.38
Shannon-Wiener index	0.747	0.677	0.723	0.517	1.254	0.601	0.685

หมายเหตุ: ตำบลบางแพ (Bang Phae; BP), ดอนใหญ่ (Don Ka; DK) ดอนคา(Don Yai; DY) หัวโพ (Hua Pho; HP), โพหัก (Pho Hak; PH) วังเย็น (Wang Yen; WY) และวัดแก้ว (Wat Kaeo; WK)

ตาราง 7 ค่าความหลากหลายของวัชพืช Jungle rice (*Echinochloa colona* L. Link)

Jungle rice (<i>Echinochloa colona</i> L. Link)							
	BP	DK	DY	HP	PH	WK	WY
Density (D)	5.107	3.124	4.607	4.821	6.607	10.107	7.679
Dominant species (DS)	13.084	23.188	17.307	16.373	22.865	27.24	18.22
Relative frequency (RF)	25.275	44.776	34.426	31.616	1.577	52.602	14.075
Relative density (RD)	0.902	1.599	1.194	1.129	44.153	1.8795	0.503
Importance Value (IMP)	39.261	72.687	51.921	49.118	68.595	81.7215	32.798

หมายเหตุ: ตำบลบางแพ (Bang Phae; BP), ดอนใหญ่ (Don Ka; DK) ดอนคา (Don Yai; DY) หัวโพ (Hua Pho; HP), โพหัก (Pho Hak; PH) วังเย็น (Wang Yen; WY) และวัดแก้ว (Wat Kaeo; WK)

ตาราง 8 สารกำจัดวัชพืชที่ใช้ในพื้นที่

สารกำจัดวัชพืช	ตำบล						
	BP	DK	DY	HP	PH	WK	WY
glyphosate	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
bispyribac-sodium	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
fenoxaprop- <i>p</i> -ethyl	✓	not	✓	not	not	✓	✓
lomazone+propanil	✓	✓	✓	not	✓	✓	✓
paraquat	✓	not	not	✓	✓	✓	✓
pretilachor	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

หมายเหตุ: (✓) หมายถึง พบกำจัดวัชพืช และ (not) หมายถึง ไม่ใช้กำจัดวัชพืช ตำบลบางแพ (Bang Phae; BP), ดอนใหญ่ (Don Ka; DK) ดอนคา (Don Yai; DY) หัวโพ (Hua Pho; HP), โพหัก (Pho Hak; PH) วังเย็น (Wang Yen; WY) และวัดแก้ว (Wat Kaeo; WK)

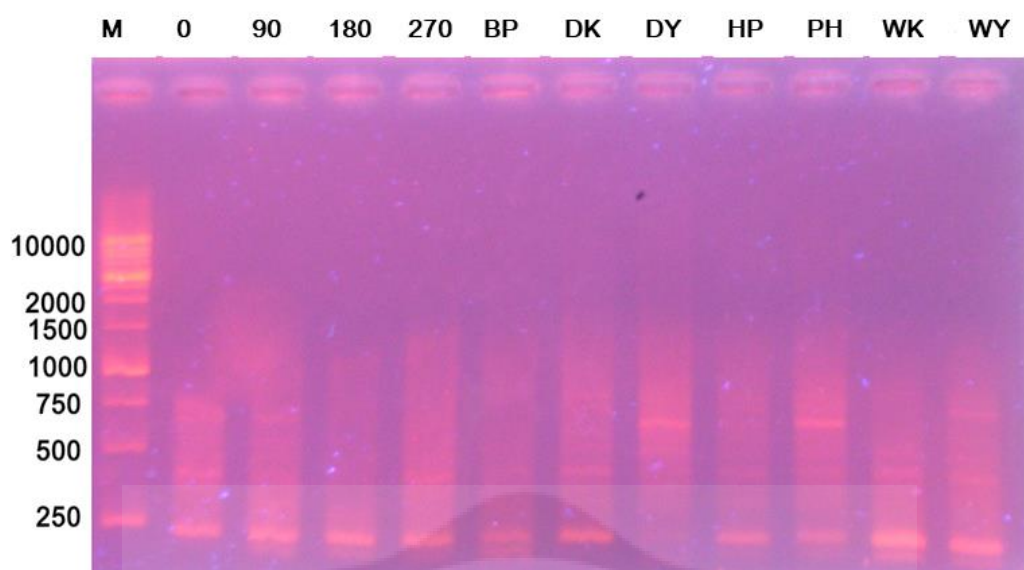
ตาราง 9 ความสัมพันธ์ของวัชพืชที่ใช้ในนาข้าว

ตำบล	<i>E. colona</i>			
	<i>E.cruss-galli</i>	<i>L.chinensis</i>	<i>C. diformis</i>	<i>C. rotundus</i>
BP	-0.406**	not	not	-0.465**
DK	not	not	0.399*	0.456*
DY	not	not	not	not
HP	not	not	0.474*	not
PH	not	not	not	not
WK	not	not	not	not
WY	not	not	-0.984*	-0.984*

หมายเหตุ: ตำบลบางแพ (Bang Phae; BP), ดอนใหญ่ (Don Ka; DK) ดอนคา (Don Yai; DY) หัวโพ (Hua Pho; HP), โพหัก(Pho Hak; PH) วังเย็น (Wang Yen; WY) และวัดแก้ว (Wat Kaeo; WK)

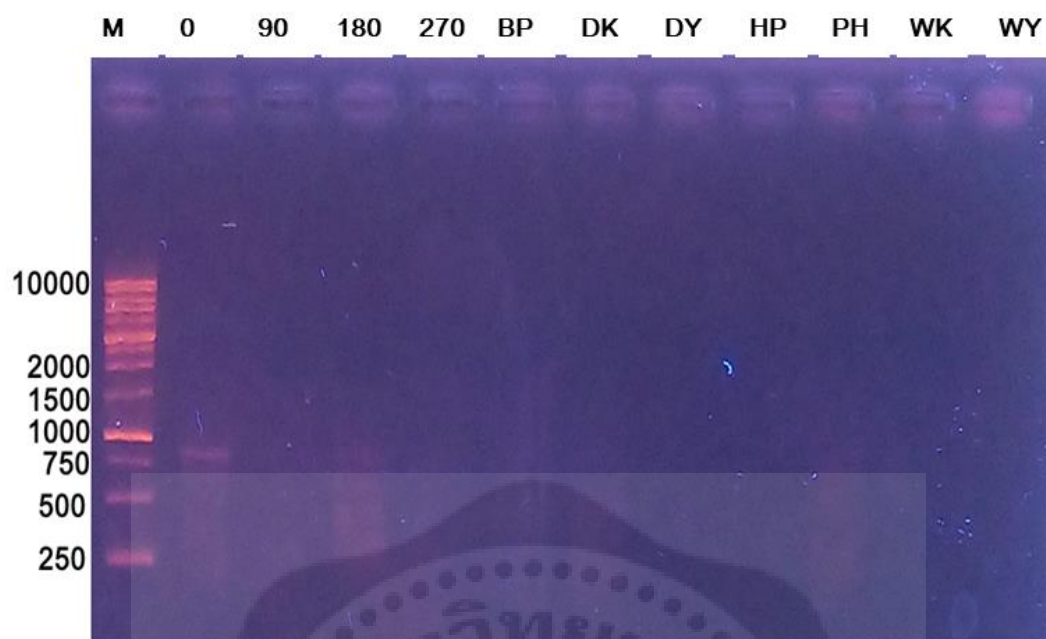
4. ผลการทดสอบเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD

เมื่อทดสอบเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถบ่งชี้การต้านทานสารกำจัดวัชพืชฟิโนซาพรอบ พาราเอทิลในหน่อกษมพู่ในพื้นที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่อำเภอบางแพ ครอบคลุม 7 ตำบลมาสังกัดดี เอนเอด้วยเทคนิค HAT-RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ OPAA-01 ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'AGACGGCTCC3' ที่คัดเลือกได้เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมจากห้องปฏิบัติการแล้วนำข้อมูล ไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์แบบ Neighbor-Joining method แสดงผลแผนภาพ dendrogram สามารถจัดกลุ่มหน่อกษมพู่จาก 7 ตำบล ในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี ได้เป็น 2 กลุ่ม ประกอบด้วย กลุ่มที่ 1 ได้แก่ พื้นที่ตำบลบางแพ (BP) วังเย็น (WY) และ วัดแก้ว (WK) มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรม กับหน่อกษมพู่ที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ที่ระดับความเข้มข้น 1X ของสารออกฤทธิ์ (180 มล. สารออกฤทธิ์ผสมน้ำ 80 ลิตร ต่อไร่) และ 2X (270 มล. สารออกฤทธิ์ผสมน้ำ 80 ลิตรต่อไร่) และกลุ่มที่ความใกล้ชิดทางพันธุกรรมในลักษณะเดียวกับ หน่อกษมพู่ที่ต้านทานสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ที่ระดับความเข้มข้น 0.5X ของสารออกฤทธิ์ (90 มล. สารออกฤทธิ์ผสมน้ำ 80 ลิตรต่อไร่) กลุ่มที่ 2 ได้แก่พื้นที่ตำบลโพหัก (PH) ดอนใหญ่ (DY) ดอนคา (DK) หัวโพ (HP) มีความใกล้ชิดทางพันธุกรรมกับหน่อกษมพู่ที่ไม่ต้านทาน สาร fenoxaprop-*p*-ethyl (*E. colona* susceptible)



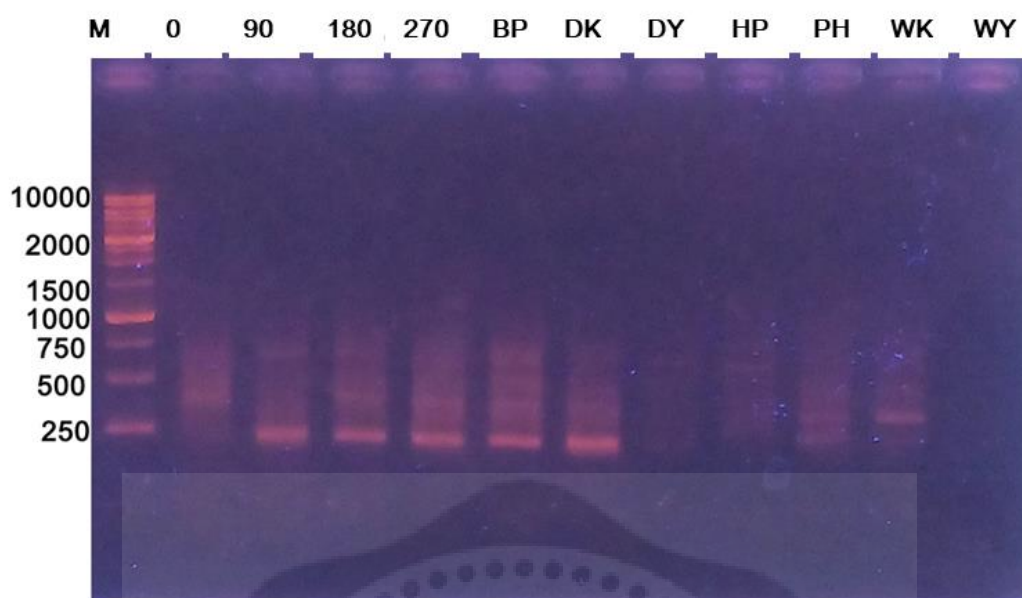
ภาพประกอบ 18 RAPD ของหุ้ำนกสีชมพู ไพร์เมอร์ OPAA-01

หมายเหตุ: ตำบลบางแพ (Bang Phae; BP), ดอนใหญ่ (Don Ka; DK) ดอนคา (Don Yai; DY) หัวโพ (Hua Pho; HP), โพหัก (Pho Hak; PH) วังเย็น (Wang Yen; WY) และวัดแก้ว (Wat Kaeo; WK)



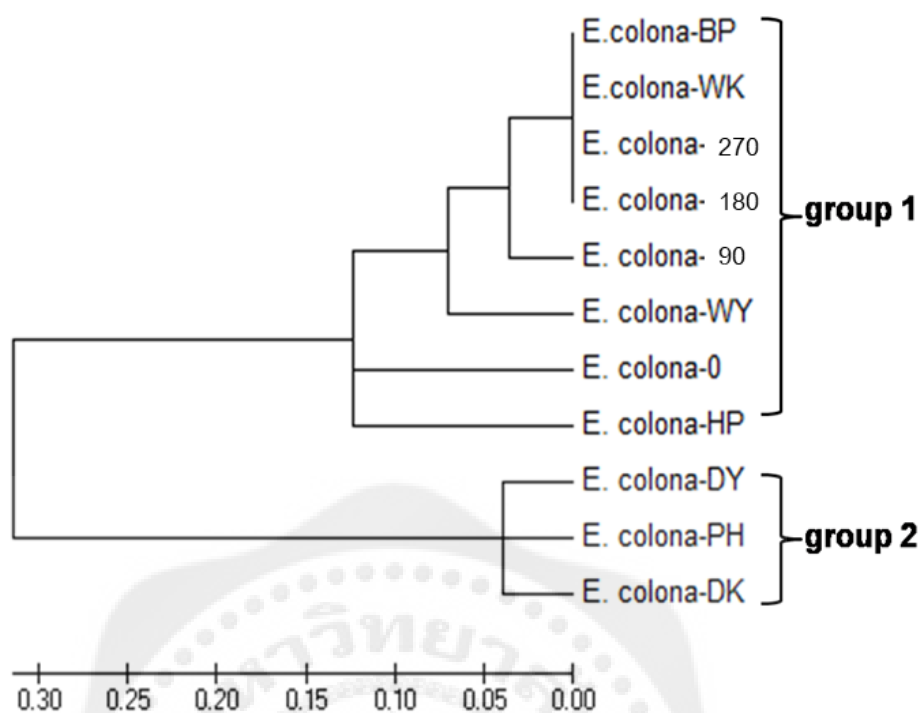
ภาพประกอบ 19 RAPD ของหญ้านกสีชมพู ไพร์เมอร์ OPAA-09

หมายเหตุ: ตำบลบางแพ (Bang Phae; BP), ดอนใหญ่ (Don Ka; DK) ดอนคา (Don Yai; DY) หัวโพ (Hua Pho; HP), โพหัก (Pho Hak; PH) วังเย็น (Wang Yen; WY) และวัดแก้ว (Wat Kaeo; WK)



ภาพประกอบ 20 RAPD ของหุ้ำนกสีชมพู ไพร์เมอร์ OPAA-10

หมายเหตุ: ตำบลบางแพ (Bang Phae; BP), ดอนใหญ่ (Don Ka; DK) ดอนคา (Don Yai; DY) หัวโพ (Hua Pho; HP), โพหัก (Pho Hak; PH) วังเย็น (Wang Yen; WY) และวัดแก้ว (Wat Kaeo; WK)



ภาพประกอบ 21 dendrogram ฐานกีสซึมพูนจากนาข้าว

หมายเหตุ: ตำบลบางแพ (Bang Phae; BP), ดอนใหญ่ (Don Ka; DK) ดอนคา (Don Yai; DY) หัวโพ (Hua Pho; HP), โพหัก (Pho Hak; PH) วังเย็น (Wang Yen; WY) และวัดแก้ว (Wat Kaeo; WK)

ตาราง 10 RAPD วัชพืชที่ใช้ในนาข้าว

ฐานกลีชมพู	Total band	Unique band	Monomorphic band	Polymorphic band	Polymorphic band (%)
1. 0 มล.	11	0	4	4	36.37
2. 90 มล.	9	0	0	6	66.67
3. 180 มล.	8	0	1	7	87.50
4. 270 มล.	8	0	1	7	87.50
5. BP	8	0	1	7	87.50
6. WY	8	0	1	7	87.50
7. PH	15	2	8	0	0.00
8. DY	13	0	6	2	15.39
9. DK	13	0	6	2	15.39
10. HP	11	0	4	4	30.77
11. WK	8	0	1	7	87.50
	112	2	33	53	

หมายเหตุ: ตำบลบางแพ (Bang Phae; BP), ดอนใหญ่ (Don Ka; DK) ดอนคา (Don Yai; DY) หัวโพ (Hua Pho; HP), โพหัก (Pho Hak; PH) วังเย็น (Wang Yen; WY) และวัดแก้ว (Wat Kaeo; WK)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1. การทดสอบการต้านทานต่อสาร fenoxaprop-*p*-ethyl ในหญ้านกสีชมพู

จากการศึกษาสามารถแบ่งความต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop-*p*-ethyl ในหญ้านกสีชมพู เป็น 2 ระดับ คือ ประชากรต้านทานระดับสูง (Highly resistance) ประชากรต้านทาน (Resistance) ได้แก่ 59 ต้น (36.88%) 50 ต้น (36.88%) และ 42 ต้น (21.11%) ตามลำดับ สอดคล้องกับการศึกษาการพัฒนาต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืช fenoxaprop หญ้าดอกขาว ในนาหว่านน้ำตมในหลายพื้นที่ ได้แก่ จังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดนครปฐม จังหวัดฉะเชิงเทรา และพื้นที่สะพานสูง จังหวัดกรุงเทพมหานคร (Maneechote C.; et al. 2005:209-297, Pornprom T.; et al. 2006:1109-1115) เนื่องจากวัชพืชใบแคบจึงมีโอกาสมากที่วัชพืชต้านทานจะแพร่ระบาดไปในแหล่งปลูกข้าวนาชลประทาน การใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวที่ไม่สะอาด และรถรับจ้างเกี่ยวข้าวเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้มีการแพร่กระจายของเมล็ดวัชพืช นอกจากนี้ยังพบว่าพื้นที่ตำบลบางแพ ดอนใหญ่ และดอนคา มีการใช้สารกำจัดวัชพืชชนิดเดียวกัน คือ bispyribac-sodium

2. การคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD

จากการทำปฏิกิริยา HAT-RAPD โดยใช้ไพรเมอร์ 10 ชนิด ตรวจสอบโดยใช้ 1.5% agarose gel electrophoresis พบว่า ไพรเมอร์ OPAA-01 ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'AGACGGCTCC3' สามารถให้แถบดีเอ็นเอ (polymorphism) ที่สามารถบ่งชี้ความแตกต่างระหว่างหญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colana* (L.) Link) ที่ต้านทานต่อสารกำจัดวัชพืชได้ อย่างไรก็ตามก็มีการใช้เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ที่ไม่จำเพาะเจาะจง (arbitrary primer) และมีขนาดสั้นๆ 10 - 20 นิวคลีโอไทด์ จึงเป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบสุ่ม แล้วแยกขนาดดีเอ็นเอด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิสและตรวจสอบโดยการย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ ในทางปฏิบัติต้องทดลองใช้ไพรเมอร์หลายๆ ชนิด เพื่อดูว่าไพรเมอร์ใดสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นเป็นผลจากการที่ไพรเมอร์เข้าไปเกาะกับดีเอ็นเอ 2 บริเวณที่อยู่ไม่ไกลกันมาก โดยเกาะกับดีเอ็นเอคนละสายในทิศทางเข้าหากัน (5' --> 3') จะสามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในบริเวณดังกล่าวได้ แต่ถ้าไพรเมอร์เกาะกับดีเอ็นเอสายเดียวกันในทิศทางเดียวกัน หรือเกาะกับดีเอ็นเอคนละสายแต่ทิศทางแยกจากกัน จะไม่สามารถเพิ่มปริมาณได้ ดังนั้นการใช้เครื่องหมายแฮตอาร์เอฟดีอาศัยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่หรือพีซีอาร์เป็นเทคนิคที่ไวต่อปัจจัยภายนอกมาก บางครั้งอาจทำให้ได้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอไม่คงที่ควรมีการทำซ้ำอย่างน้อยสามครั้งเพื่อตรวจสอบความ

คงที่ของลายพิมพ์ดีเอ็นเอ ควรควบคุมปัจจัยที่อาจจะส่งผลต่อปฏิกิริยาได้แก่เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม การใช้ปิเปตอัตโนมัติอีกทั้งในการเตรียมในการเตรียมปฏิกิริยาอุกโชเมื่อเติม เอนไซม์ Taq DNA polymerase แล้วควรปรับนำลงเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมทันทีเนื่องจากเอนไซม์สามารถทำงานได้ที่อุณหภูมิห้องอาจทำให้เกิดแถบดีเอ็นเอที่ไม่ถูกต้องได้ ในการวิเคราะห์ผลหากมีการใช้จำนวนยีนที่มากเพิ่มค่าใช้จ่ายที่สูงขึ้น ดังนั้นเพื่อให้เกิดประสิทธิภาพและเกิดประโยชน์สูงสุดเพื่อการลดค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

3. การสำรวจการระบาดของหญ้าข้าวนกสีชมพูในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

จากการสำรวจการระบาดของวัชพืชในนาข้าวหวานน้ำตม ในพื้นที่อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรีครอบคลุมทั้ง 7 ตำบล จำนวน 1 จุดสำรวจโดยการวางแปลงกลางนาขนาด .4x4 เมตร จำนวน 7 แปลงระยะห่างระหว่างแปลง .5 เมตร พบการระบาดของวัชพืชหลักจำนวน 2 วงศ์ 4 สกุล 6 ชนิด เป็นวัชพืชวงศ์หญ้า (Poaceae) ทั้งหมดเป็นวัชพืชปีเดียว (annual weed) ซึ่งจัดว่าเป็นวัชพืชร้ายแรงสอดคล้องกับการรายงานของพรชัยในปี 2540 พบว่าหญ้านกสีชมพูมีค่าความหนาแน่น (215 ต้น: 49 ตร.ม.) ค่าความเด่น (27.24) ดัชนีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ (H) มีค่าระหว่าง 0.517-1.254 ใกล้เคียงกับงานวิจัยเรื่องความสัมพันธ์ของลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าดอกขาว (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees และความหลากหลายชนิดของวัชพืชในนาข้าวกรณีตำบลลองครักษ์ อำเภอลองครักษ์ จังหวัดนครนายก (Silprasit; K. et al. 2016: 137-146) มีค่าอยู่ระหว่าง 0.598-1.149 แสดงว่าดัชนีความหลากหลายทางชีวภาพต่ำบ่งชี้ถึงความซับซ้อนของระบบนิเวศน้อยโดยพื้นที่ตำบลโพหัก (PH; 1.254) มีค่าสูงสุด และต่ำสุดที่ตำบลหัวโพ (WK; 0.517) แสดงถึงความสามารถในการจัดกับวัชพืชในนาข้าวได้เป็นอย่างดีของเกษตรกรซึ่งใช้สารเคมีร่วมกับการบริหารจัดการน้ำในนาข้าวเป็นหลัก วัชพืชที่มีค่าความถี่สัมพัทธ์สูงแสดงว่าพืชเหล่านั้นมีการกระจายตัวมากจึงสามารถพบได้บ่อยความสัมพันธ์ของหญ้านกสีชมพูกับความหลากหลายทางชีวภาพของวัชพืชในนาข้าวบริเวณพื้นที่อำเภอบางแพที่มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญแบบผกผันกับ กับหญ้านก (E. cruss-galli) ในพื้นที่ตำบลบางแพ (BP; -0.406) กกขนาก (C. difformis) พื้นที่ตำบลวังเย็น (WY; -0.984) หญ้าเหวหมู (C. rotundus.) พื้นที่ตำบลบางแพ (BP; -0.465) ตำบลวังเย็น (WY; -0.984) และกกขนาก (C. difformis) พื้นที่ตำบลดอนคา (DK; 0.399) ตำบลหัวโพ (PH; 0.477) หญ้าเหวหมู (C. rotundus.) ในพื้นที่พื้นที่ตำบลดอนคา (DK; 0.399)

4. การทดสอบเครื่องหมายโมเลกุล HAT-RAPD

E. colona ที่ต้านทาน ต่อสาร fenoxaprop-*p*-ethyl และที่ไม่ต้านทาน (susceptible) สามารถแยกความแตกต่างระหว่าง และแถบดีเอ็นเอด้วยไพรเมอร์ OPAA-01 ซึ่งมีลำดับนิวคลีโอไทด์ 5'AGACGGCTCC3' โดยใช้เทคนิค HAT-RAPD สามารถนำมาช่วยตรวจสอบวัชพืชต้านทานสาร ต่อสารกำจัดวัชพืชเป็นอีกช่องที่ช่วยลดระยะเวลาในการวิเคราะห์ตรวจสอบประชากรวัชพืช ได้อย่าง ได้เร็วยิ่งขึ้นช่วยลดค่าใช้จ่ายในการจัดการกับวัชพืชดื้อยา เป็นช่องอีกช่องทางช่วยเพิ่ม ผลผลิตทางการเกษตร ช่วยลดปัญหาการใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทุกปี ช่วยลดปัญหาสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้

5 ข้อเสนอแนะ

1. ควรทดสอบเทคนิค HAT-RAPD กับวัชพืชชนิดอื่นๆ เพื่อประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้นไป เพราะวัชพืชที่ระบาดมีจำนวนหลายชนิด เนื่องจากว่าเกษตรกรในแต่ละพื้นที่มีการใช้สารกำจัด วัชพืชที่มากกว่าหนึ่งชนิดในรอบการทำนาในแต่ละพื้นที่ ดังนั้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ และ เครื่องหมายโมเลกุลจึงควรที่จะทดสอบกับสารกำจัดวัชพืชหลายๆชนิด

2. ถึงแม้ว่าเครื่องหมายโมเลกุลจะเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพ และแม่นยำแต่ก็ต้องอาศัย เทคนิคและความเชี่ยวชาญเฉพาะทาง การทดลองยังต้องอาศัยเครื่องมือหลายอย่างที่ค่อนข้างมี ราคาแพงซึ่งยากแก่การเข้าถึงของเกษตรกร เพื่อลดปัจจัยจำกัดดังกล่าวควรวิเคราะห์ร่วมกับ เครื่องหมายโมเลกุลทางสถาบันวิทยาร่วมด้วยเพื่อลดรายจ่ายในการใช้เครื่องมือที่มีราคาสูง

3. การแก้ไขปัญหาวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชเป็นเรื่องที่ต้องรีบดำเนินการอย่าง เร่งด่วน เพื่อป้องกันการสูญเสียทางเศรษฐกิจที่รุนแรงของประเทศไทย งานวิจัยเรื่องการจัดการ ปัญหาวัชพืชต้านทานสารกำจัดวัชพืชในนาข้าวนี้ จำเป็นต้องได้รับความร่วมมือจากทุกฝ่าย ทั้ง ภาครัฐ ภาคเอกชน ผู้จำหน่าย และเกษตรกร เพื่อให้ทราบข้อมูลการแพร่กระจายของชนิดวัชพืช ต้านทานว่ามีชนิดใดบ้างจำเป็นต้องมีข้อมูลแนะนำให้เกษตรกรปฏิบัติอย่างถูกต้องเพื่อการควบคุม วัชพืชอย่างมีประสิทธิภาพต่อไป



บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

- กรมวิชาการเกษตร. (2545). เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับข้าวนาชลประทาน. *เอกสารคำแนะนำลำดับที่ 22 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์*. หน้า 42
- ดวงพร สุวรรณกุล. (2544). ชีววิทยาของหญ้าหนักริมทาง (*Echinochloa colona* (L.) Link). ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 39*. หน้า 147-181.
- ชนภัทร ปลื้มพวง; ธงชัย มาลา; และอรุณศิริ กำลัง. (2557). ปริมาณแคดเมียมในข้าวที่ปลูกในดินนาปนเปื้อนแคดเมียมในพื้นที่ลุ่มน้ำแม่ตาบ จังหวัดตาก ประเทศไทย. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์*. 3(2):26-29.
- ศูนย์สารสนเทศกรมส่งเสริมการเกษตร. (2556). สืบค้นเมื่อ 29 พฤศจิกายน 2558. จาก <http://www.agriinfo.doae.go.th>
- สายัณห์ ทัดศรี. (2548). หญ้าอาหารสัตว์และหญ้าพื้นเมืองในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. ประเทศไทย: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- หนูเดือน เมืองแสน. (2552). คู่มือการทำวิจัยทางชีววิทยาระดับโมเลกุล. พิมพ์ครั้งที่ 1. ประเทศไทย: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Andrews; T.S., J.N.; Morrison.; & G.A. Penner. (1998). Monitoring the spread of ACCase inhibitors resistance among wild oat (*Avena fatua*) patches using AFLP analysis. *Weed Science*. 46:196-199.
- Arifin, T.; et al. (2004). Genetic diversity of *Echinochloa crus-galli* var. *crus-galli* (L.) Beauv (barnyardgrass: Poaceae) ecotype in Malaysia and Indonesia as Revealed by RAPD marker. *Asian Journal of Plant Science*. 3(2):231-238.
- Balmford A.; Green R.; & Phalan B. (2012). What conservationists need to know about farming *Proceedings of Biological Sciences the Royal Society*:2714-2724.
- Caseley J.C.; et al. (1997). Herbicides with alternative modes of action for the control of propanil and fenoxaprop-*p*-resistant *Echinochloa colona*. *Proceedings Brighton Crop Protection Conference Weeds*. 1: 215-220.
- Chalobol Wongsawad. (2011). Development of HAT-RAPD marker for detection of *Stellachasmus falcatus*. *Infection*. 2(1): 46-46

- Chen X.; et al. (2011). Residues and dissipation of the herbicide fenoxaprop-p-ethyl and its metabolite in wheat and soil. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 87:50-53.
- Cocker K.M.; Moss S.R.; & Coleman J.O.D. (1999). Multiple mechanisms of resistance to fenoxaprop-p-ethyl in United Kingdom and other European populations of herbicide resistant *Alopecurus myosuroides* (black-grass). *Pesticide Biochem. Physio.* 65:169-180.
- David Pimentel. (1995). Amounts of Pesticides Reaching Target Pests: Environmental Impacts and Ethics. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics.* 8(1):17-29.
- Delye C., Matejcek A.; & Gasquez J. (2002). PCR-based detection of resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides in black-grass (*Alopecurus myosuroides* Huds) and ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud). *Pest Manage Science.* 58:474-478.
- Devine M.D.; & Shimabukuro R.H. (1994). Resistance to Acetyl CoenzymeA Carboxylase Inhibiting Herbicide. Herbicide Resistance in Plant. *Biological and Biochemistry.* CRC Press. Florida.:141-160.
- Ellis R. H.; et al. (1990). Germination of seeds of five cultivars of *Echinochloa colonum* (L.) Link in response to potassium nitrate and white light of varying photon flux density and photoperiod. *Seed Science and Technology.* 18:119-130.
- Fischer A. J.; & Ramírez A. (1993). Mixed-weed infestations: Prediction of crop losses for economic weed management in rice. *International Journal of Pest Management.* 39:354-357.
- Fischer A.J.; et al. (2002). Herbicide-resistant *Echinochloa oryzoides* and *E. phyllolopogon* in California *Oryza sativa* Fields. *Weed Science.* 48:225-230.
- Früsch H. (1999) Fentrazamide-new opportunities for weed control in seeded rice. *Proceedings Brighton Crop Protection Conference Weeds.* 1: 99-104.
- Garro J. E.; R. de la Cruz; & P. J. Shannon. (1991). Propanil resistance in *Echinochloa colona* populations with different herbicide use histories. *Proceedings Brighton Crop Protection Conference-Weeds.* (3):1079-1083.
- Graf B.; & Hill J. (1992). Modelling the competition for light and nitrogen between rice and *Echinochloa crus-galli*. *Agr Syst.* (40):345-35

- Heap I. M.; & Knight R. (1982). A population of ryegrass tolerant to the herbicide diclofop-methyl. *J. Aust. Inst. Agric. Sci.* (48):156-157.
- Heap I. (2015). *The International Survey of Herbicide Resistant Weed*. Relived October 21. from [http://. Weed Science.com](http://Weed Science.com).
- Douglas L. Heckart; Wayne A. Parrott; & Paul L. Rayme. (2010). Obtaining sethoxydim resistance in seashore paspalum. *Crop Science*. 50:2632-2640.
- Holm L.; et al. (1977). *The World's Worst Weeds Distribution and biology*. East-West Center University Press of Hawaii. Honolulu. Hawaii.:32-46.
- John Ohlrogge Ave; & John Browse. (1995) Lipid Biosynthesis. *American Society of Plant Physiologists*. The Plant Cell. (7):957-970.
- Kim K. U.; & J. E. Park. (1997). Selective mechanism of cyhalofop-butyl ester between rice (*Oryza sativa* L.) and *Echinochloa crus-galli* III Uptake, translocation, and metabolism of ¹⁴C-cyhalofop-butyl ester. *Korean Journal of Weed Science*. 17:185-191.
- Kim K. (1994). Ecophysiology of *Echinochloa* species and their management Appropriate weed control in Southeast Asia. *Proceedings of an FAO-CAB International workshop*, Kuala Lumpur, Malaysia, 17-18 May 1994. CAB International, Wallingford, UK. U.:18-26.
- Knights J. S. (1995). The activity of graminicides alone and in mixture for the control of herbicide resistant jungle rice (*Echinochloa colona* (L.) Link). MSc. Project. University of Bath. U.K.:135.
- Lap N.; et al. (2013). Efficacy and rice tolerance to penoxsulam and cyhalofop herbicide mixtures in Asian countries. Proc. 24th Asian-Pacific Weed Science Society Conference. Bandung. Indonesia October 22-25. *Weed Management in Rice*:423-429.
- Labrada R. (1996). Weed control in rice. In B.A. Auld and K.-U. Kim. eds. Weed Management in Rice. Rome: *Food and Agriculture Organization of the United Nations*:3-5

- Lang Pan.; et al. (2014). Detection of the I1781L mutation in fenoxaprop-*p*-ethyl-resistant American sloughgrass (*Beckmannia syzigachne* Steud). Based on the loop-mediated isothermal amplification method. *Pest Manag Sci.* (71):123-130.
- Michael P. W. (1983). Taxonomy and distribution of *Echinochloa* species with special reference to their occurrence as weeds of rice. *Proceeding of the Conference on Weed Control in Rice*, 31 August-4 September 1981, Philippines. International Rice Research Institute Los Baños, Philippines.:291-306.
- Moody K. (1975). Weeds and shifting cultivation. *PANS.* (21):188-194.
- Moody K. (1989). Weeds reported in rice in South and Southeast Asia. *International Rice Research Institute*. Philippines.:442.
- Mujer C.; et al. (1993). Constitutive and inducible aerobic and anaerobic stress proteins in the *Echinochloa* complex and rice. *Plant Physiology.* (101):217-226.
- Oerke E. C. (2006). Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Science.* (144): 31-43.
- Plaza G.; & Hernández F.A. (2014). Effective zone and cropspotatton on *Ischaemum rugosum* and resistance to Bispyribac-sodiumin ariari. *Colobia.* 32(3):591-599.
- Pons T. L. (1982). Factors affecting weed seed germination and seedling growth in lowland rice in Indonesia. *Weed Research.* (22):155-161.
- Pornprom T.; et al. (2006): The role of altered acetyl-CoA carboxylase in conferring resistance to fenoxaprop-*p*-ethyl in Chinese sprangletop (*Leptochloa chinensis* (L.) Nees). *Pest Manag. Sci.* 62:1109-1115.
- Prado D.R.; et al. (2000). Resistance to acetyl CoA carboxylase-inhibiting herbicides in *Lolium multiflorum*. *Weed Sci.* 48:311-318.
- Radananchaless T.; & Maxwell J.M. (1997). List of Weeds Reported in Thailand. Thai Studies in Biodiversity. Work Places. Bangkok: 286
- Ramakrishnan P. S. (1960). Ecology of *Echinochloa colonum* Link. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences.* (11):73-92.
- Riches C. R.; et al. (1994). Resistance of *Echinochloa colona* to ACCase inhibiting herbicides. *Proceedings of the International Symposium on Weed and Crop Resistance to Herbicides*, 3-6 April 1995. University of Cordoba, Spain:14-16.

- Ryan G.F. (1970). Resistance of common groundsel to simazine and atrazine. *Weed Sci.* 18: 614-616.
- Sahid I. B.; & M. S. Hossain (1995). The effects of flooding and sowing depth on the survival and growth of five rice weed species. *Plant Protection Quarterly.* (10): 139-142.
- Seefeldt S. S.; et al. (1995). Log-logistic analysis of herbicide dose response relationships. *Weed Technology.* 9(2):218-227.
- Tabacchi M. R.; et al. (2006). Morphological traits and molecular markers for classification of *Echinochloa* species from Italian rice fields. *Weed Sci.* (54): 1086-1093.
- Todd A. Gaines; et al. (2012). Evolved Resistance to Glyphosate in Junglerice (*Echinochloa colona*) from the Tropical Ord River Region in Australia. *Weed Science Society of America Weed Technology.* 26(3): 480-484.
- Valverde. E.B.; C.R. Riches; & Caseley. J.C. (2000). Prevention and management of herbicide resistant weeds in rice. Experiences from control America with *Echinochloa colona*. *CATIC. Turrialba. Costa Rica.*:123.
- Valverde. E.B. (1996). The case of propanil-R *Echinochloa colona* in jungle rice. Management of herbicide R weeds in Latin America. *In Proc. 2nd International Weed Control Congress.* Copenhagen. Denmark. (2):415-420.
- William K.; et al. (2012). Herbicide Resistance: Toward an Understanding of Resistance Development and the Impact of Herbicide-Resistant Crops. *Weed Science.* Special Issue.:2-30.
- Xiao-Qi Zhang; Stephen B; & Powles. (2006). Six amino acid substitutions in the carboxyl-transferase domain of the plastidic acetyl-CoA carboxylase gene are linked with resistance to herbicides in a *Lolium rigidum* population. *New Phytologist.* 172: 636-645.

ภาคผนวก



ภาคผนวก ก
การลงพื้นที่สำรวจการระบาดของวัชพืช





















ภาคผนวก ข
ผลการวิเคราะห์ความหลากหลายวัชพืช



ตาราง 11 ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลดอนคา อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

Scientific name	Number	Density	Frequency	RD	RF	SDR
<i>Echinochloa colona</i>	90	3.214	321.429	44.776	1.599	23.188
<i>E. crus-galli</i>	27	0.964	96.429	13.433	0.480	6.956
<i>Leptochloa chinensis</i>	26	0.929	92.857	12.935	0.462	6.699
<i>Cyperus rotundus</i>	17	0.607	60.714	8.458	0.302	4.380
<i>C. difformis</i>	27	0.964	96.429	13.433	0.480	6.956
<i>Fimbristylis dichotoma</i>	14	0.500	50.000	6.965	0.249	3.607

ตาราง 12 ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลดอนใหญ่ อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

Scientific name	Number	Density	Frequency	RD	RF	SDR
<i>Echinochloa colona</i>	129	4.607	460.714	1.194	33.420	17.307
<i>E. crus-galli</i>	43	1.536	153.571	0.398	11.140	5.769
<i>Leptochloa chinensis</i>	29	1.036	103.571	0.268	7.513	3.891
<i>Cyperus rotundus</i>	51	1.821	182.143	0.472	13.212	6.842
<i>C. difformis</i>	87	3.107	310.714	0.805	22.539	11.672
<i>Fimbristylis dichotoma</i>	47	1.679	167.857	0.435	12.176	6.306

ตาราง 13 ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลบางแพ อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

Scientific name	Number	Density	Frequency	RD	RF	SDR
<i>Echinochloa colona</i>	143	5.107	510.714	0.902	25.265	13.084
<i>E. crus-galli</i>	56	2.000	200.000	0.353	9.894	5.124
<i>Leptochloa chinensis</i>	73	2.607	260.714	0.461	12.898	6.679
<i>Cyperus rotundus</i>	115	4.107	410.714	0.726	20.318	10.522
<i>C. difformis</i>	52	1.857	185.714	0.328	9.187	4.758
<i>Fimbristylis dichotoma</i>	127	4.536	453.571	0.801	22.438	11.620

ตาราง 14 ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลโพหัก อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

Scientific name	Number	Density	Frequency	RD	RF	SDR
<i>Echinochloa colona</i>	185	6.607	660.714	1.577	44.153	22.865
<i>E. crus-galli</i>	57	2.036	203.571	0.486	13.604	7.045
<i>Leptochloa chinensis</i>	33	1.179	117.857	0.281	7.876	4.079
<i>Cyperus rotundus</i>	41	1.464	146.429	0.349	9.785	5.067
<i>C. difformis</i>	41	1.464	146.429	0.349	9.785	5.067
<i>Fimbristylis dichotoma</i>	62	2.214	221.429	0.528	14.797	7.663

ตาราง 15 ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลวัดแก้ว อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

Scientific name	Number	Density	Frequency	RD	RF	SDR
<i>Echinochloa colona</i>	283	10.107	1010.714	1.879	52.602	27.240
<i>E. crus-galli</i>	80	2.857	285.714	0.531	14.870	7.700
<i>Leptochloa chinensis</i>	33	1.179	117.857	0.219	6.134	3.176
<i>Cyperus rotundus</i>	38	1.357	135.714	0.252	7.063	3.658
<i>C. difformis</i>	17	0.607	60.714	0.113	3.160	1.636
<i>Fimbristylis dichotoma</i>	87	3.107	310.714	0.578	16.171	8.374

ตาราง 16 ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลวังเย็น อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

Scientific name	Number	Density	Frequency	RD	RF	SDR
<i>Echinochloa colona</i>	215	7.679	767.857	1.257	35.188	18.222
<i>E. crus-galli</i>	86	3.071	307.143	0.503	14.075	7.289
<i>Leptochloa chinensis</i>	23	0.821	82.143	0.134	3.764	1.949
<i>Cyperus rotundus</i>	42	1.500	150.000	0.245	6.874	3.560
<i>C. difformis</i>	27	0.964	96.429	0.158	4.419	2.288
<i>Fimbristylis dichotoma</i>	218	7.786	778.571	1.274	35.679	18.477

ตาราง 17 ค่าความหลากหลายของวัชพืชในพื้นที่ตำบลหัวโพ อำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

Scientific name	Number	Density	Frequency	RD	RF	SDR
<i>Echinochloa colona</i>	135	4.821	482.143	1.129	31.616	16.373
<i>E. crus-galli</i>	74	2.643	264.286	0.619	17.330	8.975
<i>Leptochloa chinensis</i>	58	2.071	207.143	0.485	13.583	7.034
<i>Cyperus rotundus</i>	39	1.393	139.286	0.326	9.133	4.730
<i>C. difformis</i>	59	2.107	210.714	0.493	13.817	7.155
<i>Fimbristylis dichotoma</i>	62	2.214	221.429	0.519	14.520	7.519

ตาราง 18 Shannon-Wiener's Index และ Simpson dominance Index ของวัชพืชในแต่ละตำบลของอำเภอบางแพ จังหวัดราชบุรี

พื้นที่ศึกษา	Shannon-Wiener's Index		Simpson dominance Index
	(H)	(E _H)	(D)
1. ตำบลดอนคา	0.677	0.378	3.822
2. ตำบลดอนใหญ่	0.723	0.404	4.744
3. ตำบลบางแพ	0.747	0.417	5.294
4. ตำบลโพหัก	1.254	0.700	3.862
5. ตำบลวัดแก้ว	0.601	0.335	3.620
6. ตำบลวังเย็น	0.685	0.382	0.783
7. ตำบลหัวโพ	0.517	0.289	0.837



ประวัติย่อผู้วิจัย

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ – ชื่อสกุล	นายเพชร สุธิภรณ์
วัดเดือนปีเกิด	8 มิถุนายน 2521
สถานที่เกิด	จังหวัดศรีสะเกษ
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	19/33 หมู่บ้านเศรษฐีวิลล์ ซอยกาญจนาภิเษก 8 ถนนกาญจนาภิเษก แขวงบางแค เขตบางแค กรุงเทพฯ 10160
หน้าที่การงานปัจจุบัน	อาจารย์
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2539	ระดับมัธยมศึกษาตอนปลายโรงเรียนกำแพง
พ.ศ. 2549	วท.ม. (สาขาชีววิทยา) จากมหาวิทยาลัยรามคำแหง
พ.ศ. 2561	วท.ม. (เทคโนโลยีสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากร) จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ