



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของหญ้าโขย่งสำหรับการควบคุมวัชพืช
ในการผลิตพืชผัก

โดย รองศาสตราจารย์ ดร.ทศพล พรพรหม
ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

เดือน ปี ที่เสร็จโครงการ

ระยะเวลาโครงการ 3 ปี (2 มีนาคม 2552...ถึงวันที่...29 กุมภาพันธ์ 2555)

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของหญ้าโขงสำหรับการควบคุมวัชพืช
ในการผลิตพืชผัก

ผู้วิจัยโดย รองศาสตราจารย์ ดร.ทศพล พรพรหม
ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนขอขอบพระคุณ ดร.สุเทพ ทองมา สถาบันวิจัยและฝึกอบรมเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา วิทยาเขตภาคพายัพ จ.เชียงใหม่ ที่กรุณาได้ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวก ในการศึกษาวิจัยในสภาพไร่เกษตรกร ในเขตพื้นที่ อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง

Abstract

Project Code : RSA5280004

Project Title : Allelopathic Potential of Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* Lour. W.D. Clayton) for Weed Control in Vegetable Production

Investigator : Associate Prof. Dr. Tosapon Pornprom
Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at
Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen
Campus, Nakhon Pathom 73140

E-mail Address : agrtpp@ku.ac.th

Project Period : 3 years (March 2, 2009 – February 29, 2012)

Herbicides produce a wide range of toxic side effects that pose a potential hazard to the environment. The development of natural allelochemicals is one method of addressing these issues. Here we describe the allelopathic activity of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* Lour. W.D. Clayton) which can inhibit seed germination and growth of weeds. Farmers in Lampang, Northern Thailand, have been cultivating itchgrass and using it as a mulching material to control other weeds in vegetable fields. It has long been observed that itchgrass interfere with the growth of other plants. The density of weed species in the itchgrass-infested areas was lower than that in the itchgrass-uninfested areas. Shoot and root growth of *Bidens pilosa* L., *Mimosa pudica* L., *Ageratum conyzoides* L., *Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv., *Oryza sativa* L. var. RD 6, and *Lactuca sativa* L. var. OP. were significantly reduced in soil previously planted with itchgrass. Water soluble extracts from all parts of itchgrass had inhibitory effects on growth of some test plants. Allelochemicals from itchgrass can inhibit seed germination and plant growth better at 1 cm distance than 3 and 5 cm from the itchgrass. Our results suggest that itchgrass has a strong competitive ability and possible allelopathic activity to other plant species. Allelopathic activity of itchgrass in the soil can influence germination of adjacent species causing reduced growth of seedlings. The genetic diversity of itchgrass was investigated for the classification of the possibility of allelopathy characteristics of itchgrass in diverse areas by means of examination of the main morphological traits and the application of an amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis. The plant materials were collected from 10 different

areas in Thailand. The results indicate that itchgrass can be divided into two groups: the first group consists of itchgrass from Chaehom-Lampang, Si Thep-Phetchabun, Phrom Phiram-Phitsanulok, Amphur Muang-Nakhon Sawan, Kamalasai-Kalasin, Amphur Muang-Chachoengsao and Bang Yai-Nonthaburi, whereas itchgrass from Amphur Muang-Chiang Mai, Pak Chong-Nakhon Ratchasima and Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom constitutes the second group. The correlation of the similarity/distance estimates between AFLP markers (Jaccard coefficient) and morphological traits (Euclidean distance) was significant with $r = -0.84^{**}$. Our finding suggests that classification of itchgrass by morphological traits is related with the analysis of the genetic relationship of itchgrass with AFLP analysis. This can be used to assess the genetic diversity of itchgrass with a potential for allelopathy.

Keywords: allelopathy, itchgrass, food and environmental safety, AFLP analysis, genetic diversity, morphological traits

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : RSA5280004
ชื่อโครงการ : ศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของหญ้าโขย่งสำหรับการควบคุมวัชพืช
ในการผลิตพืชผัก
ชื่อนักวิจัย : รองศาสตราจารย์ ดร.ทศพล พรพรหม
คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140
E-mail Address : agrtpp@ku.ac.th
ระยะเวลาโครงการ : 3 ปี (2 มีนาคม 2552...ถึงวันที่...29 กุมภาพันธ์ 2555)

การใช้สารกำจัดวัชพืช อาจส่งผลทำให้เกิดการปนเปื้อนของสารพิษในผลผลิตทางการเกษตร และการตกค้างในสิ่งแวดล้อม การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับศักยภาพทางอัลลีโลพาธี นับว่าเป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนาสารผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ การศึกษาในครั้งนี้ จึงได้ทำการศึกษาศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของหญ้าโขย่ง (*Rottboellia cochinchinensis* Lour. W.D. Clayton) ที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบบางชนิด ซึ่งในประเทศไทยได้มีการรายงานจากเกษตรกรในเขตพื้นที่ อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง ว่ามีการนำหญ้าโขย่งมาใช้ในการควบคุมวัชพืชในระบบการผลิตพืชผัก โดยที่เกษตรกรจะปลูกหญ้าโขย่งในช่วงฤดูฝน และนำหญ้าโขย่งแห้งมาใช้คลุมดินก่อนทำการปลูกพืชผักชนิดต่าง ๆ ในช่วงฤดูหนาว วิธีการดังกล่าวทำให้มีวัชพืชขึ้นแข่งขันในแปลงปลูกผักน้อย โดยที่พืชผักสามารถงอกและเจริญเติบโตได้ดีตามปกติ ในการศึกษาผลทางอัลลีโลพาธีของดินจากแปลงที่มีหญ้าโขย่งเปรียบเทียบกับดินจากแปลงที่ไม่มีหญ้าโขย่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบบางชนิด ได้แก่ กันจ้ำขาว (*Bidens pilosa* L.) ไมยราบ (*Mimosa pudica* L.) สาบแร้งสาบกา (*Ageratum conyzoides* L.) หญ้าข้าวนก (*Echinochloa crus-galli* (Linn.) P. Beauv.) ข้าว พันธุ์ กข 6 (*Oryza sativa* L. var. RD 6) และ ผักกาดหอม พันธุ์ OP (*Lactuca sativa* L. var. OP) พบว่า ส่วนรากของพืชทดสอบทุกชนิดที่ปลูกในดินจากแปลงที่ใช้หญ้าโขย่งในการควบคุมวัชพืชมีความยาวนานน้อยกว่าที่ปลูกในดินจากแปลงที่ไม่ใช้หญ้าโขย่งในการควบคุมวัชพืช และทำการปลูกหญ้าโขย่งร่วมกับพืชทดสอบกันจ้ำขาว หญ้าข้าวนก ผักกาดหอม พันธุ์ OP และข้าว พันธุ์ กข 6 พบว่า ดินที่มีการปลูกหญ้าโขย่งมีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ โดยที่ระยะห่าง 1 เซนติเมตรจากหญ้าโขย่งมีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ดีกว่าที่ระยะห่าง 3 และ 5 เซนติเมตรจากหญ้าโขย่ง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กิจกรรมทางอัลลีโลพาธีของหญ้าโขย่งในดินมีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบบางชนิดได้ ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าโขย่งที่มีการกระจายพันธุ์จากต่างสถานที่จำนวน 10 พื้นที่ โดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological traits) และการใช้เทคนิค AFLP

(Amplified Fragment Length Polymorphism) เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความเหมือน (similarity index) ของหญ้าไย่ง สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยหญ้าไย่งจาก Chaehom-Lampang (CH-LP), Si Thep-Phetchabun (ST-PB), Phrom Phiram-Phitsanulok (PR-PL), Amphur Muang-Nakhon Sawan (AM-NS), Kamalasai-Kalasin (KL-KS), Amphur Muang-Chachoengsao (AM-CS) และ Bang Yai-Nonthaburi (BY-NB) ซึ่งมีค่าดัชนีความเหมือน เท่ากับ 0.84 สำหรับกลุ่มที่ 2 เป็นหญ้าไย่งจาก Amphur Muang-Chiang Mai (AM-CM), Pak Chong-Nakhon Ratchasima (PC-NR) และ Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom (KPS-NP) มีค่าดัชนีความเหมือน เท่ากับ 0.98 ซึ่งผลจากการวิเคราะห์หา correlation ของ similarity/distance coefficient ที่ได้มาจาก morphological trails และการใช้เทคนิค AFLP มีค่าออกมา คือ $r = -0.8^{**}$ แสดงให้เห็นว่า การจำแนกหญ้าไย่งโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา มีความสัมพันธ์กับการวิเคราะห์ทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค AFLP ซึ่งสามารถนำไปใช้ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าไย่งที่มีศักยภาพทางอัลลิโลพาทีที่มีการแพร่ระบาดในประเทศไทยต่อไป

คำหลัก: อัลลิโลพาที หญ้าไย่ง ความปลอดภัยทางด้านอาหารและสิ่งแวดล้อม การใช้เทคนิคเอเอฟแอลพี ความหลากหลายทางพันธุกรรม ลักษณะทางสัณฐานวิทยา

บทนำ

การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชทางการเกษตร อาจส่งผลให้เกิดการปนเปื้อนของสารพิษในผลผลิตทางการเกษตรและการตกค้างของสารพิษในสิ่งแวดล้อม การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับศักยภาพทางอัลลีโลพาธีในการควบคุมวัชพืช นับว่าเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาระบบการผลิตทางการเกษตร เพื่อให้ได้ผลผลิตของพืชที่มีความปลอดภัยทางด้านอาหารและสิ่งแวดล้อม (food and environmental safety) มากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการจัดการวัชพืชที่จะสามารถช่วยลดการใช้สารเคมีทางการเกษตรได้ อัลลีโลพาธีเป็นปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นทั่วไปในระบบนิเวศเกษตร ผลทางอัลลีโลพาธีเกิดจากการที่พืชชนิดหนึ่งปล่อยสารบางชนิดออกมาสู่สภาพแวดล้อม ซึ่งส่วนใหญ่จะมีการปล่อยสารลงไปในดิน แล้วไปมีผลกระทบในการกระตุ้นหรือการยับยั้งการงอก การเจริญเติบโต หรือการพัฒนาของพืชชนิดอื่น ๆ ที่อยู่ข้างเคียงได้

หญ้าขจรยี่ (*Rottboellia cochinchinensis* Lour. W.D. Clayton) เป็นวัชพืชฤดูเดียวในวงศ์หญ้า จัดเป็น 1 ใน 18 วัชพืชร้ายแรงของโลก หญ้าขจรยี่เป็นวัชพืชที่เป็นปัญหาในไร่อ้อย ข้าวโพด และสวนผลไม้ ขอบขึ้นในที่ดอนแห้ง พบว่าการแพร่ระบาดมากในภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือของประเทศไทย ซึ่งได้มีรายงานการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของหญ้าขจรยี่ที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบชนิดต่าง ๆ เช่น ข้าว (Casini *et al.*, 1998) และ radish (Kobayashi *et al.*, 2008) ในประเทศไทยได้มีการรายงานจากเกษตรกรในเขตพื้นที่ อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง ว่ามีการนำหญ้าขจรยี่มาใช้ในการควบคุมวัชพืชในระบบการผลิตพืชผักชนิดต่าง ๆ โดยที่ในช่วงปีแรกของฤดูการเพาะปลูกเกษตรกรจะปลูกหญ้าขจรยี่โดยทำการหว่านเมล็ดลงไปในพื้นที่ในช่วงต้นฤดูฝน (เดือนพฤษภาคม) หลังจากที่หญ้าขจรยี่เริ่มงอก เจริญเติบโตเป็นต้นกล้า จนกระทั่งติดเมล็ด จะปล่อยให้เมล็ดหลุดร่วงลงไปในดิน ต่อมาเกษตรกรจะทำการล้มต้นหญ้าขจรยี่ในช่วงต้นเดือนตุลาคม โดยใช้ไม้ ناب และใช้มีดตัดโคนต้นให้ต้นหญ้าปักคลุมผิวดิน แต่ในปัจจุบันนี้การล้มต้นหญ้าขจรยี่ได้เปลี่ยนมาใช้รถไถแทน หลังจากนั้นในช่วงปลายเดือนตุลาคมจะเริ่มทำการปลูกพืชผัก โดยการขุดหลุมหยอดเมล็ด หรือย้ายกล้าผักลงในแปลงที่มีหญ้าขจรยี่คลุมดินอยู่โดยไม่มีการไถพรวนดิน และทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตผักชนิดต่าง ๆ ในช่วงตั้งแต่เดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์ ซึ่งจะแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของพืชปลูก ต่อมาในช่วงเดือนเมษายนเกษตรกรจะทำการไถพรวนกลบเศษซากพืชผักและต้นหญ้าขจรยี่ที่กำลังสลายตัว รวมทั้งเมล็ดหญ้าขจรยี่ที่ร่วงหล่นอยู่บนผิวดิน เพื่อช่วยทำให้เมล็ดหญ้าขจรยี่ที่อยู่ในดินสามารถงอกขึ้นมาใหม่ได้อีก โดยที่ไม่ต้องทำการหว่านเมล็ดของหญ้าขจรยี่ลงไปในพื้นที่เดิมที่จะทำการเพาะปลูกอีกครั้งในฤดูการเพาะปลูกของปีต่อไป ซึ่งวิธีการจัดการดังกล่าวนี้ส่งผลทำให้มีวัชพืชขึ้นแข่งขันในแปลงปลูกผักน้อยมาก โดยที่พืชผักสามารถงอกและเจริญเติบโตได้ดีตามปกติ นอกจากนี้หญ้าขจรยี่ที่มีการกระจายพันธุ์จาก

ต่างสถานที่ของประเทศไทย (ซึ่งอาจจะมี genotype ที่แตกต่างกัน) อาจจะมีศักยภาพทางอัลลีโลพาทีต่างกัน อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับศักยภาพทางอัลลีโลพาทีของหญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืชยังไม่ชัดเจนนัก โดยเชื่อว่าการศึกษากิจกรรมของสารอัลลีโลพาทีนี จะนำไปสู่การวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์และสามารถพัฒนาไปเป็นสารต้นแบบในการผลิตสารผลิตภัณฑ์กำจัดวัชพืชจากธรรมชาติที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมมากยิ่งขึ้น ซึ่งจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำเอาผลทางอัลลีโลพาทีจากหญ้าไย่งไปประยุกต์ใช้ทางด้านการจัดการวัชพืชในระบบการผลิตพืชผักต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อทำการสำรวจพื้นที่ของเกษตรกรที่มีการปลูกพืชผัก เกี่ยวกับศักยภาพทางอัลลีโลพาทีของหญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช ในเขตพื้นที่ อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง
2. เพื่อทดสอบศักยภาพทางอัลลีโลพาทีของหญ้าไย่งจาก metabolite ที่ถูกปลดปล่อยจากพืชที่ตายแล้ว และสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของหญ้าไย่งที่มีผลต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบบางชนิด
3. เพื่อศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าไย่งที่มีการกระจายพันธุ์จากต่างสถานที่ของประเทศไทย พิจารณาจากข้อมูล morphological traits และการใช้เทคนิค AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ซึ่งอาจจะมีศักยภาพทางอัลลีโลพาทีต่างกัน สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางพันธุกรรมของหญ้าไย่งที่มีการแพร่ระบาดในประเทศไทย
4. เพื่อผลิตบัณฑิตในระดับปริญญาตรี โท และเอก ให้มีความรู้ความสามารถทางด้านการจัดการวัชพืชและวิธีการพัฒนาในการใช้สารกำจัดวัชพืช เพื่อทำงานวิจัยที่มีคุณภาพสูงสามารถตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในระดับชาติและนานาชาติได้

วิธีการทดลอง

1. การสำรวจศักยภาพทางอัลลีโลพาทีของหญ้าไย่งในสภาพแปลงเกษตรกร

การสำรวจศักยภาพทางอัลลีโลพาทีของหญ้าไย่งในสภาพแปลงเกษตรกร โดยการสำรวจสภาพพื้นที่ และสัมภาษณ์ข้อมูลจากเกษตรกรจำนวน 15 ราย ในเขตพื้นที่ อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง แบบสำรวจข้อมูล ประกอบด้วย (1) ชื่อ นามสกุล อายุ ที่อยู่ของเกษตรกร จำนวนสมาชิกในครอบครัวทั้งหมด และจำนวนสมาชิกในครอบครัวที่ทำการเกษตร (2) พื้นที่ทำการเกษตรทั้งหมด พื้นที่ทำการเกษตรที่ใช้หญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช ชนิดและพันธุ์ของพืชปลูกในพื้นที่ที่ใช้หญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช (Itchgrass-infested area) และในพื้นที่ที่ไม่ใช้หญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช (Itchgrass-uninfested area) ชนิดของวัชพืชในพื้นที่ที่ใช้หญ้าไย่ง และพื้นที่ที่ไม่ใช้หญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช (3) วิธีจัดการวัชพืชที่เกษตรกรปฏิบัติอยู่ใน

ปัจจุบัน ในพื้นที่ที่ใช้หญ้าไย่งและพื้นที่ที่ไม่ใช้หญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช (4) ต้นทุนค่าใช้จ่าย รายได้จากการทำการเกษตร ในพื้นที่ที่ใช้หญ้าไย่งและในพื้นที่ที่ไม่ใช้หญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช และ (5) ความคิดเห็นหรือความพอใจ รวมทั้งปัญหาอุปสรรคหรือข้อจำกัด ในการใช้หญ้าไย่งควบคุมวัชพืช เปรียบเทียบกับการควบคุมวัชพืชด้วยวิธีอื่น ๆ นอกจากนี้ได้ทำการสำรวจความหนาแน่นของจำนวนประชากรวัชพืชชนิดต่าง ๆ ที่ขึ้นในสภาพแปลงที่ใช้หญ้าไย่งและแปลงที่ไม่ใช้หญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช โดยการนับจำนวนวัชพืชต่อตารางเมตร ตลอดจนทำการเก็บตัวอย่างดินและทำการวิเคราะห์ดิน เพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (physicochemical properties) ของดินในสภาพแปลงที่ใช้หญ้าไย่งและแปลงที่ไม่ใช้หญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช

2. ผลทางอัลลิโอฟาธิ์ของหญ้าไย่งต่อการเจริญเติบโตพืชทดสอบบางชนิด

2.1 ผลทางอัลลิโอฟาธิ์จากดินในแปลงที่มีการปลูกหญ้าไย่งต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ เป็นการศึกษาศักยภาพของสารอัลลิโอฟาธิ์ที่ละลายอยู่ในดินที่มีการปลูกและใช้หญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายของหญ้าไย่ง (จาก metabolite ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากพืชที่ตายแล้ว) ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบจำนวน 6 ชนิด ได้แก่ กันจ้ำขาว ไมยราบ สาบแร้งสาบกา หญ้าข้าวนก ข้าวพันธุ กข 6 และผักกาดหอม โดยทำการทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ นำตัวอย่างดินจากแปลงเกษตรกรในเขตพื้นที่ อ.แจ้ห่ม จ. ลำปาง ที่ใช้หญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช ทำการทดสอบเปรียบเทียบกับดินจากแปลงที่ไม่ใช้หญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืช การบันทึกผลการทดลอง โดยทำการวัดความยาวส่วนต้น และส่วนรากของพืชทดสอบ นำมาชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้ง ที่อายุ 7 วันหลังปลูกพืชทดสอบ

2.2 ผลทางอัลลิโอฟาธิ์ของสารสกัดจากหญ้าไย่งต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ เป็นการศึกษาศักยภาพของสารอัลลิโอฟาธิ์ที่สกัดจากส่วนต่าง ๆ ของหญ้าไย่งที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ (เช่นเดียวกับในการทดลองที่ 2.1) ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารสกัดจากหญ้าไย่งที่นำมาจากพื้นที่ 3 แหล่ง ได้แก่ ประกอบด้วย หญ้าไย่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง หญ้าไย่งจากแปลงทดลองของภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม และหญ้าไย่งจากแปลงทดลองศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา

นำต้นหญ้าไย่งมาแบ่งออกเป็น 3 ส่วน ประกอบด้วย ส่วนใบ ลำต้นเหนือดิน และราก บดแยกตัวอย่างพืชในแต่ละส่วนเป็นผงละเอียด นำมาแช่ในน้ำกลั่น ซึ่งใช้เป็นตัวทำละลาย ในสัดส่วนของผงตัวอย่างกับน้ำที่ระดับความเข้มข้น 0, 5, 10, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำมากรองแยกกาก โดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 5 เมื่อได้สารสกัดจากหญ้าไย้งแล้ว นำไปทดสอบกับพืชทดสอบชนิดต่าง ๆ โดยใส่สารสกัดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน จำนวน 4 มิลลิลิตร ในจานแก้วทดลองที่รองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด แล้วนำพืชทดสอบแต่ละชนิด จำนวน 25 เมล็ด วางลงบนกระดาษเพาะเมล็ด ในจานแก้ว และปลูกพืชทดสอบในจานแก้วทดลองที่ใส่น้ำกลั่นจำนวน 4 มิลลิลิตร เพื่อเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ บันทึกผลการทดลอง เช่นเดียวกับในการทดลองที่ 2.1

3. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าไย้ง โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิค AFLP

ทำการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าไย้งที่มีการกระจายพันธุ์จากต่างสถานที่ของประเทศไทย (ซึ่งอาจจะมี genotype ต่างกัน) เปรียบเทียบประชากรของหญ้าไย้งที่นำมาจากพื้นที่ 10 แหล่ง ประกอบด้วยหญ้าไย้งจาก Chaehom-Lampang (CH-LP), Pak Chong-Nakhon Ratchasima (PC-NR), Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom (KPS-NP), Si Thep-Phetchabun (ST-PB), Phrom Phiram-Phitsanulok (PR-PL), Amphur Muang-Nakhon Sawan (AM-NS), Kamalasai-Kalasin (KL-KS), Amphur Muang-Chachoengsao (AM-CS), Bang Yai-Nonthaburi (BY-NB) และ Amphur Muang-Chiang Mai (AM-CM) โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphological traits) ตลอดจนวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหญ้าไย้ง โดยใช้เทคนิค AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ทำการตรวจสอบผลการวิเคราะห์โดยใช้ Denaturing Polyacrylamide Gel Electrophoresis ซึ่งอาจจะมีศักยภาพทางอัลลีโลพาทีต่างกัน สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางพันธุกรรมของหญ้าไย้งที่มีการแพร่ระบาดในประเทศไทยต่อไป

3.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าไย้ง

ทำการเปรียบเทียบวงจรชีวิต (life cycle) ในระยะต่าง ๆ ของหญ้าไย้ง และลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าไย้งจากทั้ง 3 แหล่ง บันทึกการเจริญเติบโตในระยะต่าง ๆ ได้แก่ ระยะงอก (germination) ระยะ 2-3 ใบ (2-3 leaf stage) แตกกอ (tillering) ออกดอก (flowering) และสุกแก่ทางสรีรวิทยา (maturation) โดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าไย้ง ได้แก่ ความยาวของช่อดอก (inflorescence length) ความยาวของใบ (leaf length) ความสูงของต้น (plant height) จำนวนเมล็ดต่อช่อดอก (number of seeds/inflorescence) น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (1,000 seed weight) ขนาดของเมล็ด (seed size) แผ่นใบ (leaf blade) กาบใบ (leaf sheath) ขน (trichomes) ลำต้น (stem) และราก (root) เป็นต้น

3.2 การวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหญ้าไย่งโดยใช้เทคนิค

AFLP

วิธีการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างหญ้าไย่ง ประยุกต์ตามวิธีการของ Doyle และ Doyle (1987) และ Cullings (1992) หลังจากนั้นทำการตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ โดยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น โดยใช้ 1% Agarose Gel Electrophoresis และย้อมแผ่นเจลด้วยสารละลาย ethidium bromide ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอบนแผ่น agarose gel โดยส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต บันทึกผลด้วยการถ่ายภาพ ส่วนการเตรียมดีเอ็นเอต้นแบบ Digestion ใช้ genomic DNA ของตัวอย่างหญ้าไย่ง ประมาณ 200 ng เพื่อทำการสร้างโมเลกุลเครื่องหมาย โดยใช้เทคนิค AFLP ซึ่งประยุกต์ตามวิธีการของ Vos *et al.* (1995) นำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิดคือ EcoRI และ MseI การวิเคราะห์ผล ทำการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในแผ่นเจล เปรียบเทียบกันระหว่างตัวอย่างหญ้าไย่งจำนวน 10 ตัวอย่าง ในตำแหน่งเดียวกัน ถ้าปรากฏแถบดีเอ็นเอ ให้คะแนน 1 ถ้าไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ ให้คะแนน 0 โดยจะเลือกให้คะแนนเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏเห็นชัดเจน นำผลการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอดังกล่าวไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างตัวอย่างหญ้าไย่งจำนวน 10 ตัวอย่าง โดยการคำนวณหาค่าดัชนีความเหมือนของตัวอย่าง (similarity index) ด้วย Jaccard's coefficient และ ทำการจัดกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic average) ด้วยโปรแกรม NTSYSpc สำหรับ Windows Version 2.01e ซึ่งแสดงผลด้วย Phylogenetic tree

ผลและวิจารณ์

1. การสำรวจศักยภาพทางอัลลิโลพาทิของหญ้าไย่งในสภาพแปลงเกษตรกร

เกษตรกรในเขตพื้นที่ ต. บ้านสา อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง ได้มีการนำหญ้าไย่งมาใช้ในการจัดการวัชพืช โดยที่เกษตรกรจะหว่านเมล็ดปลูกหญ้าไย่งเฉพาะในปีแรกเท่านั้น ซึ่งจะเริ่มปลูกช่วงต้นฤดูฝน (เดือนพฤษภาคม) หลังจากหญ้าไย่งติดเมล็ด และหลุดร่วงลงบนดิน เกษตรกรจะล้มต้นหญ้าไย่งในเดือนตุลาคม โดยใช้ไม้ ناب และใช้มีดตัดโคนต้นให้ต้นหญ้าปกคลุมผิวดิน ในปัจจุบันนี้เกษตรกรได้มีการนำธัญญาไม้อื่นมาใช้ในการล้มต้นหญ้าไย่ง หลังจากนั้นในช่วงประมาณกลางเดือนตุลาคมจะเริ่มทำการปลูกพืชผัก โดยการขุดหลุม หยอดเมล็ด หรือย้ายกล้า ผักลงในแปลงที่มีหญ้าไย่งคลุมดินอยู่โดยไม่มีการไถพรวนดิน เกษตรกรอาจปลูกผักหลายชนิดในแปลงเดียวกัน และเริ่มเก็บเกี่ยวผลผลิตผักชนิดต่าง ๆ ในช่วงตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนถึง กุมภาพันธ์ ซึ่งจะแตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดของพืชปลูก และในเดือนเมษายนเกษตรกรจะไถพรวนกลบเศษซากพืชผักและต้นหญ้าไย่งที่กำลังสลายตัว รวมทั้งเมล็ดหญ้าไย่งที่ร่วงหล่นอยู่บนผิวดิน เพื่อให้หญ้าไย่งงอกในปีต่อไป จากการสังเกตพบว่า ในช่วงปีแรกที่มีการปลูกและใช้หญ้าไย่งในการคลุมดินเพื่อควบคุมวัชพืช จะมีวัชพืชชนิดต่าง ๆ ขึ้นกระจายในแปลงปลูกผักอยู่บ้าง เกษตรกรจะใช้วิธีการถอนต้นวัชพืชออกจากแปลงปลูกผัก แต่ในปีต่อมาหลังจากที่มี

การไถพรวนเตรียมดินในเดือนเมษายน หญ้าโขงจะเริ่มงอกในช่วงฝนแรกของเดือนพฤษภาคม ความหนาแน่นและจำนวนประชากรของหญ้าโขงจะเพิ่มขึ้นกระจายปกคลุมเต็มพื้นที่ ไม่มีวัชพืชชนิดอื่นงอกขึ้นมาในแปลงหญ้าโขง หรืออาจจะมียูอยู่ในปริมาณที่น้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ไม่ได้ปลูกหญ้าโขงในบริเวณใกล้เคียง ข้อดีในการใช้หญ้าโขงในการจัดการวัชพืช คือ หญ้าโขงเป็นพืชคลุมดินที่ ช่วยป้องกันไม่ให้วัชพืชขึ้นในแปลง ช่วยรักษาความชื้น และทำให้ดินร่วนซุย ประหยัดค่าใช้จ่ายในการไถพรวนดินและการรดน้ำ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ฟางข้าวคลุมแปลงจะเห็นได้ว่า ในแปลงที่มีการใช้หญ้าโขงจะป้องกันวัชพืชได้ดีกว่า และยังใช้คลุมแปลงปลูกพืชได้นานกว่าการใช้ฟางข้าว เนื่องจากหญ้าโขงมีการสลายตัวได้ช้ากว่าฟางข้าว โดยทั่วไปแล้วเกษตรกรมีความพอใจในการปลูกและใช้หญ้าโขงในการจัดการวัชพืชในระบบการปลูกพืชผักซึ่งเป็นวิธีที่ประหยัดและไม่ต้องใช้สารกำจัดวัชพืช แต่ปัจจุบันเกษตรกรส่วนใหญ่มีพื้นที่ถือครองน้อยลง ถ้าไม่ปลูกหญ้าโขงจะสามารถไถพรวนพื้นที่และปลูกผักชนิดต่าง ๆ หมุนเวียนจำหน่ายได้ตลอดทั้งปี เป็นการใช้พื้นที่ที่มีอยู่ได้คุ้มค่า ในปัจจุบันมีเกษตรกรบางรายที่ยังคงมีการใช้หญ้าโขงในการจัดการวัชพืชในระบบการผลิตพืชผักชนิดต่าง ๆ ส่วนใหญ่จะเป็นเกษตรกรที่มีพื้นที่ถือครองมาก ไม่สามารถใช้ประโยชน์ในพื้นที่ถือครองทั้งหมดพร้อมกันได้ จึงได้มีการปลูกหญ้าโขงทิ้งไว้ในฤดูฝน สำหรับควบคุมวัชพืชในระบบการผลิตพืชผักชนิดต่าง ๆ ในฤดูการถัดมา

จากการสำรวจความหนาแน่นของวัชพืชชนิดต่าง ๆ ที่ขึ้นในสภาพแปลงที่ใช้หญ้าโขงในการควบคุมวัชพืชและแปลงที่ไม่ใช้หญ้าโขงในการควบคุมวัชพืช พบว่า ในแปลงที่ใช้หญ้าโขงในการควบคุมวัชพืชมีผลกระทบต่อความหนาแน่นและจำนวนประชากรของวัชพืชอย่างมาก โดยในแปลงที่ปลูกหญ้าโขงต่อเนื่องมาเป็นระยะเวลา 5 ปี มีจำนวนประชากรของวัชพืชน้อยมาก ในขณะที่แปลงที่ไม่ปลูกหญ้าโขง มีวัชพืชวงศ์หญ้าชนิดต่าง ๆ เช่น หญ้าเห็บ (*Paspalum conjugatum* Berg.) หญ้าแพรก (*Cynodon dactylon* L. Pers.) หญ้าตีนนก (*Digitaria ciliaris* Retz. Koel.) หญ้าขน (*Brachiaria mutica* Frossk. Stapf) หญ้าหนักริมพู่ (*Echinochloa colona* L. Link) และหญ้าปากควาย (*Dactyloctenium aegyptium* L. P. Beauv.) เป็นต้น มีวัชพืชใบกว้างหลายชนิด เช่น ก้นจ้าว (*Bidens pilosa* L.) และไมยราบ (*Mimosa pudica* L.) รวมทั้งมีวัชพืชวงศ์กก เช่น แห้วหมู (*Cyperus rotundus* L.) เป็นต้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ในแปลงที่มีการปลูกและใช้หญ้าโขงในการควบคุมวัชพืชอย่างต่อเนื่อง ทำให้ความหนาแน่นของวัชพืชประเภทต่าง ๆ ลดลงอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับแปลงที่ไม่ใช้หญ้าโขงในการควบคุมวัชพืช

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างดินในแปลงที่ใช้หญ้าโขงในการควบคุมวัชพืชและแปลงที่ไม่ใช้หญ้าโขงในการควบคุมวัชพืช พบว่า มีคุณสมบัติทางเคมีกายภาพไม่แตกต่างกัน กล่าวคือ มีเนื้อดินเป็นดินร่วน ค่าปฏิกิริยาดิน (pH) เป็นกรดปานกลาง ค่าการนำไฟฟ้าต่ำมาก มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ค่อนข้างสูง มีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์สูง และมีปริมาณ

ไนโตรเจนทั้งหมดสูง (ไม่ได้แสดงข้อมูล) แต่อย่างไรก็ตาม ควรจะมีการพิจารณาปริมาณของสารประกอบพวก phenolic ที่อยู่ในสารละลายน้ำในดิน (water-soluble phenolic compounds) ต่อไป ซึ่งอาจจะเป็นไปได้ว่า สารอัลลิโลพาทิกจากหญ้าไซยงที่ปลดปล่อยลงสู่ดินอาจจะมีการเคลื่อนย้ายของสารไปยังสารละลายน้ำที่อยู่ในดิน (soil water)

2. ผลทางอัลลิโลพาทิกของหญ้าไซยงต่อการเจริญเติบโตพืชทดสอบ

2.1 กิจกรรมทางอัลลิโลพาทิกของหญ้าไซยงในดินที่มีผลต่อการงอกของพืช

ทดสอบ

เมื่อพิจารณาจากดินที่ปลูกหญ้าไซยง (itchgrass-infested soil) และดินที่ไม่ปลูกหญ้าไซยง (itchgrass-uninfested soil) พบว่า การงอกของพืชทดสอบกันจำขาว หญ้าข้าวนก ผักกาดหอม พันธุ์ OP และข้าว พันธุ์ กข 6 มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ กล่าวคือ ดินที่ปลูกหญ้าไซยงมีผลในการยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้มากกว่าดินที่ไม่ได้ปลูกหญ้าไซยง เมื่อพิจารณาจากระยะการเจริญเติบโตของหญ้าไซยง (stages of itchgrass) พบว่า การงอกของพืชทดสอบกันจำขาว หญ้าข้าวนก ผักกาดหอม พันธุ์ OP และข้าว พันธุ์ กข 6 มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ กล่าวคือ หญ้าไซยงในระยะต้นกล้ามีผลในการยับยั้งการงอกของพืชทดสอบกันจำขาวได้มากกว่าหญ้าไซยงในระยะงอก และระยะ 2-3 ใบ หญ้าไซยงในระยะ 2-3 ใบ มีผลในการยับยั้งการงอกของพืชทดสอบหญ้าข้าวนก และผักกาดหอม พันธุ์ OP ได้มากกว่าหญ้าไซยงในระยะต้นกล้า และระยะงอก และหญ้าไซยงในระยะ 2-3 ใบ มีผลในการยับยั้งการงอกของพืชทดสอบข้าว พันธุ์ กข 6 ได้มากกว่าหญ้าไซยงในระยะงอก และระยะต้นกล้า นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาระยะห่างของหญ้าไซยงกับพืชทดสอบ พบว่า การงอกของพืชทดสอบกันจำขาว หญ้าข้าวนก และข้าว พันธุ์ กข 6 มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ และการงอกของพืชทดสอบผักกาดหอม พันธุ์ OP มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ กล่าวคือ ที่ระยะห่าง 1 เซนติเมตรจากหญ้าไซยง มีผลในการยับยั้งการงอกของพืชทดสอบกันจำขาวได้มากกว่าที่ระยะ 3 และ 5 เซนติเมตรจากหญ้าไซยง อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างดินและระยะการเจริญเติบโตของหญ้าไซยง ดินและระยะห่างของหญ้าไซยงกับพืชทดสอบ ระยะการเจริญเติบโตของหญ้าไซยงและระยะห่างของหญ้าไซยงกับพืชทดสอบ รวมทั้งปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างดิน ระยะการเจริญเติบโตของหญ้าไซยงและระยะห่างของหญ้าไซยงกับพืชทดสอบ จะเห็นได้ว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ดินที่มีการปลูกหญ้าไซยงมีผลในการยับยั้งการงอกของพืชทดสอบกันจำขาว หญ้าข้าวนก ผักกาดหอม พันธุ์ OP และข้าว พันธุ์ กข 6 ได้ โดยที่ระยะห่าง 1 เซนติเมตรจากหญ้าไซยง มีผลในการยับยั้งการงอกของพืชทดสอบได้ดีกว่าที่ระยะห่าง 3 และ 5 เซนติเมตรจากหญ้าไซยง

เปอร์เซ็นต์ กล่าวคือ ที่ระยะห่าง 1 เซนติเมตรจากหญ้าไย่ง มีผลในการยับยั้งต่อความยาวส่วนต้น ส่วนราก และการสะสมน้ำหนักรากได้มากกว่าที่ระยะ 3 และ 5 เซนติเมตรจากหญ้าไย่ง ส่วนการพิจารณาจำนวนวันหลังจากปลูก พบว่า การเจริญเติบโตของข้าว พันธุ์ กข 6 มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์ กล่าวคือ ที่ 3 วันหลังจากปลูก จะมีผลในการยับยั้งต่อความยาวส่วนต้น ส่วนราก และการสะสมน้ำหนักรากมากที่สุด

จากการศึกษาผลทางอัลลิโอพาธิ์จากดินโดยการปลูกหญ้าไย่งร่วมกับพืชทดสอบบางชนิด จะเห็นได้ว่า ดินที่มีการปลูกหญ้าไย่ง มีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบกันจำข้าว หญ้าข้าวนก ผักกาดหอม พันธุ์ OP และข้าว พันธุ์ กข 6 ซึ่งหญ้าไย่งในระยะงอก ระยะต้นกล้า และระยะ 2-3 ใบ มีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้แตกต่างกัน โดยที่ระยะห่าง 1 เซนติเมตรจากหญ้าไย่ง มีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ดีกว่าที่ระยะห่าง 3 และ 5 เซนติเมตรจากหญ้าไย่ง แสดงให้เห็นว่า หญ้าไย่งมีศักยภาพในการปลดปล่อยสารอัลลิโอพาธิ์ ออกสู่สิ่งแวดล้อม เมื่อสารดังกล่าวนี้ถูกปลดปล่อยออกมาในปริมาณที่มากพอ จะมีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบบางชนิด เช่น กันจำข้าว หญ้าข้าวนก ผักกาดหอม พันธุ์ OP และข้าว พันธุ์ กข 6 ได้ โดยที่ระยะห่างจากหญ้าไย่ง 1 เซนติเมตร จะมีผลในการยับยั้งการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบได้ดีกว่าที่ระยะ 3 และ 5 เซนติเมตรจากหญ้าไย่ง แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาในขั้นตอนต่อไป ควรมีการพิจารณาปัจจัยทางสภาพแวดล้อมต่าง ๆ เช่น สมบัติทางกายภาพของดิน อินทรีย์วัตถุในดิน ค่าปฏิกิริยาดิน (pH) อุณหภูมิ ความชื้น และแสง ว่ามีผลอย่างไรต่อการปลดปล่อยสารอัลลิโอพาธิ์ของหญ้าไย่งต่อไป

3. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าไย่ง โดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน

วิทยาและเทคนิค AFLP

เมื่อพิจารณาวงจรชีวิตของหญ้าไย่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ. แจ้ห่ม จ. ลำปาง หญ้าไย่งจากแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม และหญ้าไย่งจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ. ปากช่อง จ. นครราชสีมา พบว่า การเจริญเติบโตในระยะต่าง ๆ ของหญ้าไย่งจากทั้ง 3 แหล่งดังกล่าวข้างต้น มีความใกล้เคียงกันมาก กล่าวคือ ระยะของการงอกอยู่ในช่วง 3-4 วันหลังจากปลูก ระยะ 2-3 ใบ อยู่ในช่วง 5-9 วันหลังจากปลูก ระยะเริ่มแตกกออยู่ในช่วง 13-22 วันหลังจากปลูก ระยะแตกกอเต็มที่อยู่ในช่วง 30-33 วันหลังจากปลูก ระยะเริ่มออกดอกอยู่ในช่วง 35-41 วันหลังจากปลูก และระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาอยู่ในช่วง 97-116 วันหลังจากปลูก

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของหญ้าไย่งจากทั้ง 3 แหล่ง มีความใกล้เคียงกันในส่วนของความยาวของช่อดอก ความยาวของใบ ความสูงของต้น จำนวนเมล็ดต่อช่อดอก น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และขนาดของเมล็ด แต่ในส่วนของสีของแผ่นใบ ลำต้น และราก ในระยะที่เป็นต้นอ่อน (อายุ 5-14 วัน) รวมทั้งสีของกาบใบ ลำต้น และความนุ่มของขนของหญ้าไย่งจากแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม มีความใกล้เคียงกันมากกับหญ้าไย่งจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา ในขณะที่หญ้าไย่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง จะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาดังกล่าวที่แตกต่างออกไป กล่าวคือ หญ้าไย่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง มีสีของแผ่นใบ กาบใบ ลำต้น และราก ที่เข้มกว่า และขนที่นุ่มกว่าหญ้าไย่งจากแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม และหญ้าไย่งจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา แสดงให้เห็นได้ว่า หญ้าไย่งจากสภาพแปลงเกษตรกรในเขต อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการที่แตกต่างออกไปจากหญ้าไย่งจากแปลงทดลองที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม และหญ้าไย่งจากแปลงทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา

จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค AFLP เมื่อพิจารณาค่าดัชนีความเหมือน (similarity index) ของหญ้าไย่ง สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยหญ้าไย่งจาก Chaehom-Lampang (CH-LP), Si Thep-Phetchabun (ST-PB), Phrom Phiram-Phitsanulok (PR-PL), Amphur Muang-Nakhon Sawan (AM-NS), Kamalasai-Kalasin (KL-KS), Amphur Muang-Chachoengsao (AM-CS) และ Bang Yai-Nonthaburi (BY-NB) ซึ่งมีค่าดัชนีความเหมือน เท่ากับ 0.84 สำหรับกลุ่มที่ 2 เป็นหญ้าไย่งจาก Amphur Muang-Chiang Mai (AM-CM), Pak Chong-Nakhon Ratchasima (PC-NR) และ Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom (KPS-NP) มีค่าดัชนีความเหมือน เท่ากับ 0.98 ซึ่งผลจากการวิเคราะห์หา correlation ของ similarity/distance coefficient ที่ได้มาจาก morphological traits และการใช้เทคนิค AFLP มีค่าออกมา คือ $r = -0.8^{**}$ แสดงให้เห็นว่า การจำแนกหญ้าไย่งโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยามีความสัมพันธ์กับการวิเคราะห์ทางพันธุกรรมโดยใช้เทคนิค AFLP ซึ่งสามารถนำไปใช้ประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าไย่งที่มีศักยภาพทางอัลลิโลพาทีที่มีการแพร่ระบาดในประเทศไทยต่อไป ซึ่งความแตกต่างทางพันธุกรรมที่เกิดขึ้นนี้ อาจเป็นไปได้ว่า การเจริญเติบโตในแต่ละท้องถิ่นของหญ้าไย่งจะแตกต่างกันออกไป ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับปัจจัยทางสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ ความชื้น แสง สมบัติทางกายภาพของดิน อินทรีย์วัตถุในดิน และค่าปฏิกิริยาดิน (pH) เนื่องจากในแต่ละ

สภาพพื้นที่จะมีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่มีความแตกต่างกัน ซึ่งอาจจะส่งผลทำให้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าไย่งเกิดขึ้นได้

การศึกษาศักยภาพทางอัลลีโลพาธิคและจำแนกพันธุกรรมของหญ้าไย่ง โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการวิเคราะห์ AFLP พบว่า สารสกัดหญ้าไย่งจาก อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง แสดงผลทางอัลลีโลพาธิคต่อการเจริญเติบโตในต้นกล้าพืชทดสอบ มากกว่าสารสกัดหญ้าไย่งจาก อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม และ อ.ปากช่อง จ.นครราชสีมา นอกจากนี้ หญ้าไย่งจาก อ.แจ้ห่ม จ.ลำปาง มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการแตกต่างไปจากหญ้าไย่งทั้ง 2 พื้นที่ โดยที่สีของแผ่นใบ กาบใบ ลำต้น และราก มีสีเข้มกว่า และมีขนที่นุ่มกว่าหญ้าไย่งจากทั้ง 2 พื้นที่ การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า การจำแนกหญ้าไย่งโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยามีความสัมพันธ์กับการวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของหญ้าไย่งโดยใช้เทคนิค AFLP ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของหญ้าไย่งและประยุกต์ใช้ในการจัดการวัชพืชได้ โดยเฉพาะที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมทางอัลลีโลพาธิค กล่าวคือ พิจารณาหญ้าไย่งที่คาดว่าจะมีศักยภาพทางอัลลีโลพาธิคในการควบคุมวัชพืช ที่มีการขึ้นแพร่ระบาดอยู่ในพื้นที่ที่แตกต่างกัน แล้วนำมาตรวจสอบเพื่อประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรม หากพบว่าหญ้าไย่งที่นำมาจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวโมเลกุลมีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม แสดงให้เห็นว่า สามารถนำหญ้าไย่งที่มีศักยภาพทางอัลลีโลพาธิคไปใช้ประโยชน์ในการจัดการวัชพืชได้ต่อไป ในขณะที่หญ้าไย่งที่ไม่มีศักยภาพทางอัลลีโลพาธิค (ที่เป็นวัชพืช) ก็ควรที่จะทำการควบคุมกำจัดทิ้งไป

อย่างไรก็ตาม การศึกษาในขั้นต่อไป ควรมีการศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมทางอัลลีโลพาธิคของหญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืชในระบบการผลิตพืชผักชนิดต่าง ๆ เช่น ถั่วแขก ถั่วลิสง ถั่วเหลือง ผักสด ถั่วลิสง กวางตุ้ง ผักกาดเขียวปลี มะเขือเทศ มะเขือเปาะ และข้าวโพด เป็นต้น รวมทั้งศึกษากิจกรรมทางอัลลีโลพาธิคของหญ้าไย่งในการควบคุมวัชพืชชนิดต่าง ๆ ที่เป็นปัญหาในแปลงปลูกพืชผัก เช่น หญ้าเห็บ หญ้าแพรก หญ้าตีนนก หญ้าขน หญ้านกสีชมพู หญ้าปากควาย ก้นจ้าวขาว ไม้ยราบ และแห้วหมู เป็นต้น เพื่อที่จะได้นำไปใช้ประโยชน์ให้แก่เกษตรกรในการจัดการวัชพืชในระบบการผลิตพืชผักที่เป็นแบบการเกษตรยั่งยืน โดยที่ไม่ต้องพึ่งพาการใช้สารกำจัดวัชพืช นอกจากนี้ ควรจะทำการจำแนกองค์ประกอบทางเคมีในหญ้าไย่ง วิเคราะห์หาชนิดของสารอัลลีโลพาธิคที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของวัชพืช แต่ไม่มีผลยับยั้งการงอกหรือการเจริญเติบโตของพืชปลูก เพื่อที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาไปเป็นสารต้นแบบในการผลิตสารผลิตภัณฑ์กำจัดวัชพืชจากธรรมชาติ ซึ่งเป็นการช่วยลดหรือทดแทนการใช้สารเคมีทางการเกษตรที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ซึ่งจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการนำเอาผลทางอัลลีโลพาธิคจากหญ้าไย่งไปประยุกต์ใช้ทางด้านการจัดการวัชพืชในระบบการผลิตพืชผักต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Alloub, H., Juraimi, A.S., Rajan, A., Kadir, J., Saad, M.S., Sastroutomo, S., 2005. Growth behavior of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) in Peninsular Malaysia. *Weed Biology and Management*. 5, 8–13.
- Alves, P.L.C.A., Bachega, M.F., Moro, J.R., Lemos, M.V.F., Alves, E.C.C., Silva, M.A.S., Moro, F.V., 2003. Identification and characterization of different accessions of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*). *Weed Science*. 51, 177–180.
- Aranzana, M.J., Carbo, J., Arus, P., 2003. Using amplified fragment-length polymorphisms (AFLPs) to identify peach cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 128, 672-677.
- Ben-Hammouda, M., Kremer, R.J., Minor, H.C., 1995. Phytotoxicity of Extracts from Sorghum Plant Components on Wheat Seedlings. *Crop Science*. 35, 1652–1656.
- Caamal-Maldonado, J.A., Jimenez-Osornio, J.J., Torres-Barragan, A., Anaya, A.L., 2001. The Use of Allelopathic Legume Cover and Mulch Species for Weed Control in Cropping Systems. *Agronomy Journal*. 93, 27–36.
- Casini, P., Vecchio, V., Tamantini, I., 1998. Allelopathic interference of itchgrass and cogongrass germination and early development of rice. *Tropical Agriculture*. 75, 445–451.
- Duke, S.O., 2007. The emergence of grass root chemical ecology. *PNAS*. 104, 16729–16730.
- Eivazi, A.R., Naghavi, M.R., Hajheidari, M., Pirseyedi, S.M., Ghaffari, M.R., Mohammadi, S.A., Majidi, I., Salekdeh, G.H., Mardi, M., 2007. Assessing wheat (*Triticum aestivum* L.) genetic diversity using quality traits, amplified

- fragment length polymorphisms, simple sequence repeats and proteome analysis. *Annals of Applied Biology*. 152, 81-91.
- Ferriol, M., Pico, B., Nuez, F., 2003. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theor Appl Genet*. 107, 271-282.
- Goulão, L., Monte-Corvo, L., Oliveira, C., 2001. Phenetic characterization of plum cultivars by high multiplex ratio markers: Amplified Fragment Length Polymorphisms and Inter-Simple Sequence Repeats. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences*. 126, 72-77.
- Inderjit, Duke, S.O., 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*. 217, 529–539.
- Kantartzi, S.K., Stewart, J.M., 2008. Association analysis of fibre traits in *Gossypium arboreum* accessions. *Plant Breeding*. 127, 173-179.
- Kato-Noguchi, H., 2001. Effects of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract on germination and seedling growth of six plants. *Acta Physiologiae Plantarum*. 23, 49-53.
- Kato-Noguchi, H., Kosemura, S., Yamamura, S., Mizutani, J., Hasegawa, K., 1994. Allelopathy of oats. I. Assessment of allelopathic potential of extract of oat shoots and identification of an allelochemical. *Journal of Chemical Ecology*. 20, 309-314.
- Kobayashi, K., Itaya, D., Mahatamnuchoke, P., Pornprom, T., 2008. Allelopathic potential of itchgrass (*Rottboellia exaltata* L. f.) powder incorporated into soil. *Weed Biology and Management*. 8, 64–68.
- Laurentin, H., Karlovsky, P., 2007. AFLP fingerprinting of sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: identification, genetic relationship and comparison of AFLP

- informativeness parameters. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 54, 1437–1446.
- Lejeune, K.R., Griffin, J.L., Reynolds, D.B., Saxton, A.M., 1994. Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) interference in soybean (*Glycine max*). *Weed Technology*. 8, 733-737.
- Lencse, R.J., Griffin, J.L., 1991. Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) interference in sugarcane (*Saccharum* sp.). *Weed Technology*. 5, 396-399.
- Meksawat, S., Pornprom, T., 2010, Allelopathic effect of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton) on seed germination and plant growth. *Weed Biology and Management*. 10, 16-24.
- Millhollon, R.W., Burner, D.M., 1993. Itchgrass (*Rottboellia exaltata*) biotypes in world populations. *Weed Science*. 41, 379–387.
- Na, H.R., Kim, C., Choi, H.K., 2010. Genetic relationship and genetic diversity among *Typha* taxa from East Asia based on AFLP markers. *Aquatic Botany* 92, 207–213.
- Nakano, H., Morita, S., Shigemori, H., Hasegawa, K., 2006. Plant Growth Inhibitory Compounds from Aqueous Leachate of Wheat Straw. *Plant Growth Regulation*. 48(3), 215-219.
- Nakano, H., Nakajima, E., Fujii, Y., Yamada, K., Shigemori, H., Hasegawa, K., 2003. Leaching of the allelopathic substance, -tryptophan from the foliage of mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC.) plants by water spraying. *Plant Growth Regulation*. 40(1), 49-52.
- Ohno, S., Tomita-Yokotani, K., Kosemura, S., Node, M., Suzuki, T., Amano, M., Yasui, K., Goto, T., Yamamura, S., Hasegawa, K., 2001. A species-selective

- allelopathic substance from germinating sunflower (*Helianthus annuus L.*) seeds. *Phytochemistry*. 56, 577-581.
- Powell, W., Morgante, M., Andre, C., 1996. The comparison of RFLP, RADP, AFLP, and SSR (microsatellite) markers for germoplasm analysis. *Molecular Breeding*. 2, 225-238.
- Rohlf, F.J., 1998. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.0, user's guide, New York.
- Skot, L., Humphreys, M.O., Armstead, I., Heywood, S., Skot, K.P., Sanderson, R., 2005. Thomas ID, Chorlton KH and Hamilton NRS, An association mapping approach to identify flowering time genes in natural populations of *Lolium perenne* (L.). *Molecular Breeding*. 15, 233–245.
- Steinsiek, J.W., Oliver, L.R., Collins, F.C., 1982. Allelopathic potential of wheat (*Triticum aestivum*) straw on selected weed species. *Weed Science*. 30, 495–497.
- Strahan, R.E., Griffin, J.L., Reynolds, D.B., Miller, D.K., 2000. Interference between *Rottboellia cochinchinensis* and *Zea mays*. *Weed Science*. 48, 205-211.
- Tabacchi, M., Mantegazza, R., Spada, A., Ferrero, A., 2006. Morphological traits and molecular markers for classification of *Echinochloa* species from Italian rice fields. *Weed Science*. 54, 1086–1093.
- Tara Satyavathi, C., Bhat, K.V., Bharadwaj, C., Tiwari, S.P., Chaudhury, V.K., 2006. AFLP analysis of genetic diversity in Indian soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] varieties. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 53, 1069–1079.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., 1995. AFLP a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*. 23, 4407–4414.

- Wang, F., Li, F., Wang, J., Zhou, Y., Sun, H., 2011. Genetic Diversity of the Selected 64 Potato Germplasms Revealed by AFLP Markers. *Molecular Plant Breeding*. 2(4), 22-29.
- Zhao, J., Paulo, M.J., Jamar, D., Lou, P., Eeuwijk, F., Bonnema, G., Vreugdenhil, D., Koornneef, M., 2007. Association mapping of leaf traits, flowering time, and phytate content in *Brassica rapa*. *Genome*. 50, 963-973.
- Zuo, S.P., Ma, Y.Q., Inanaga, S., 2007. Allelopathy variation in dryland winter wheat (*Triticum aestivum* L.) accessions grown on the Loess Plateau of China for about fifty years. *Genetic Resources and Crop Evolution* 54, 1381–1393.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

ผลงานวิจัยที่ได้รับ

1. ได้มีการนำเสนอผลงานวิจัยในรูปแบบของการบรรยาย จำนวน 4 หัวข้อ ดังนี้

1. สุธัญญา เมฆสวัสดิ์ และ ทศพล พรพรหม ศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของหญ้าโขงในการควบคุมวัชพืช ในการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 9 ในวันที่ 24 - 26 พฤศจิกายน 2552 ณ โรงแรมสุโขทัย แกรนด์ อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี (เอกสารแนบ 1)

2. อภิรัฐ บัณฑิต สุธัญญา เมฆสวัสดิ์ และ ทศพล พรพรหม ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการวิเคราะห์ AFLP ในการจำแนกศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของหญ้าโขง ในงานการนำเสนอผลงานวิจัยแห่งชาติ 2553 (Thailand Research Symposium 2010) ในวันที่ 26 - 30 สิงหาคม 2553 ณ ศูนย์ประชุมบางกอกคอนเวนชันเซ็นเตอร์ เซ็นทรัลเวิลด์ ราชประสงค์ กรุงเทพฯ (เอกสารแนบ 2)

3. อภิรัฐ บัณฑิต ชัยสิทธิ์ ทองจุ และ ทศพล พรพรหม กิจกรรมของสารอัลลีโลพาธิคจากหญ้าโขงในดิน ในการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 10 ในวันที่ 22 - 24 กุมภาพันธ์ 2555 ณ โรงแรมคุ้มภูคำ เรสซิเดนซ์ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ (เอกสารแนบ 3)

4. อภิรัฐ บัณฑิต วันเพ็ญ เหล่าศรีไพบูลย์ และ ทศพล พรพรหม การแยกสารอัลลีโลพาธิคจากหญ้าโขง ในการประชุมวิชาการอารักขาพืชแห่งชาติ ครั้งที่ 10 ในวันที่ 22 - 24 กุมภาพันธ์ 2555 ณ โรงแรมคุ้มภูคำ เรสซิเดนซ์ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ (เอกสารแนบ 4)

2. ในส่วนของการเขียนบทความวิจัย ได้มีการตีพิมพ์ในรูปแบบบทความวิจัยในวารสารวิชาการระดับชาติ จำนวน 2 เรื่อง ดังนี้

1. สุนyata เมฆสวัสดิ์ และ ทศพล พรพรหม ผลทางอัลลีโลพาธีของหญ้าโขงต่อการงอกและการเจริญเติบโตของพืชทดสอบ ในวารสารวิชาการเกษตร ฉบับที่ 1 ปีที่ 28: 27-42 (2553) (เอกสารแนบ 5)

2. สุนyata เมฆสวัสดิ์ และ ทศพล พรพรหม 2555 การจำแนกหญ้าโขงโดยการวิเคราะห์ทางสัณฐานวิทยาและเทคนิค AFLP ในวารสารวิชาการเกษตร ฉบับที่ 1 ปีที่ 30: (2555) in press (เอกสารแนบ 6)

3. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

จากผลการดำเนินงานของโครงการวิจัยที่ผ่านมา ได้มีการตีพิมพ์ผลงานวิจัยในรูปแบบของบทความวิจัยในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ จำนวน 1 เรื่อง และได้ส่งผลงานเพื่อตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติอีก 1 เรื่อง ดังนี้

1. Sunyata Meksawat and Tosapon Pornprom. 2010. Allelopathic effect of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) on seed germination and plant growth. **Weed Biology and Management**. 10(1): 16-24. (เอกสารแนบ 7)

2. Bundit, A., A. Auvuchanon and T. Pornprom. 2012. Morphological traits and AFLP analysis for classification of a potent allelopathic in itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*). **J. Allelopathy**. Submitted. (เอกสารแนบ 8)

4. กิจกรรมอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่

(1) ผลงานอื่นๆ

1. ได้นำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์ จำนวน 2 เรื่อง คือ “Allelopathic effect of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) on seed germination and plant growth” ในการประชุมประจำปี “นักวิจัยรุ่นใหม่...พบ...เมธีวิจัยอาวุโส สกว.” ครั้งที่ 10 ในระหว่างวันที่ 14 – 16 ตุลาคม 2553 ณ โรงแรมฮอลิเดย์ อินน์ รีสอร์ท รีเจนท์ บีช ชะอำ จ.เพชรบุรี (เอกสารแนบ 9)

2. ได้มีการเตรียมข้อมูลเพื่อนำเสนอผลงานแบบโปสเตอร์จำนวน 1 เรื่อง คือ “Morphological traits and AFLP analysis for classification of a potent allelopathy in itchgrass” ในการประชุมประจำปี “นักวิจัยรุ่นใหม่...พบ...เมธีวิจัยอาวุโส สกว.” ครั้งที่ 11 ในระหว่างวันที่ 19 – 21 ตุลาคม 2554 ณ โรงแรมฮอลิเดย์ อินน์ รีสอร์ท รีเจนท์ บีช ชะอำ จังหวัดเพชรบุรี (เอกสารแนบ 10)

(2) การเชื่อมโยงทางวิชาการกับนักวิชาการอื่นๆ ทั้งในและต่างประเทศ

ปัจจุบันได้มีความร่วมมือในการทำวิจัยกับนักวิจัยที่เป็นผู้เชี่ยวชาญ ในสาขาวิชาที่ได้ทำวิจัยอยู่ทั้งในประเทศกับ ดร. สุเทพ ทองมา สถาบันวิจัยและฝึกอบรมเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา จ.ลำปาง และได้รับความร่วมมือจากนักวิจัยในต่างประเทศกับ Prof. Dr. Hiroshi Matsumoto และ Prof. Dr. Katsuichiro Kobayashi ณ Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba ประเทศญี่ปุ่น ซึ่งจะให้ความร่วมมือในส่วนของการตรวจสอบพฤติกรรมทางดินของสารอัลลิโลพาธิค รวมทั้งทำการเชื่อมโยงกับผู้จัดการฝ่ายส่งเสริมและจัดหาวัตถุดิบ ประเภทธุรกิจหลักส่งออกผักและผลไม้แช่เยือกแข็ง จากบริษัทลานนาเกษตรอุตสาหกรรม จำกัด อ.สารภี จ.เชียงใหม่ เพื่อเน้นสร้างทีมงานวิจัยพื้นฐานและบูรณาการงานวิจัยทางด้านความปลอดภัยทางด้านอาหารและสิ่งแวดล้อม (food and environmental safety) ให้เป็นแบบมีทิศทาง (directed basic research) ในอนาคตต่อไป

(3) งานที่จะทำต่อในอนาคต การศึกษาในครั้งต่อไป จะมุ่งเน้นการศึกษาวิจัยทางด้านเคมีของสารอัลลิโลพาธิคที่ได้จากหญ้าไย่ง โดยมีขั้นตอนการดำเนินการศึกษาพอสังเขปดังต่อไปนี้

1. การสกัดสาร (extraction) ด้วยตัวทำละลายทางเคมี ได้แก่ เมทานอล (methanol) แล้วนำสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่ได้ไปทดสอบศักยภาพทางอัลลิโลพาธิ ด้วยวิธี bioassay test กับพืชทดสอบ
2. ทำการแยกสารอัลลิโลพาธิค (separation and purification) จากสารสกัดหยาบหญ้าไย่ง ใช้หลักการโครมาโทกราฟี (Chromatography) โดยการใช้เครื่อง HPLC ในการคัดแยกสารหลังจากทำการแยกสารจากสารสกัดหยาบหญ้าไย่งจนบริสุทธิ์จากการปนเปื้อนสารอื่น ๆ
3. ทำการทดสอบศักยภาพทางอัลลิโลพาธิ ด้วยวิธี bioassay test กับพืชทดสอบต่อไป

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ในทางด้านวิชาการ ได้มีการพัฒนาการเรียนการสอนรวมทั้งสร้างนักวิจัยใหม่ ผลิตบัณฑิตในระดับปริญญาโทและเอก ให้มีความรู้ความสามารถทางด้านการจัดการวัชพืช โดยใช้ศักยภาพทางอัลลิโลพาธิของหญ้าไย่งสำหรับการควบคุมวัชพืช เพื่อทำงานวิจัยที่มีคุณภาพสูง สามารถนำเสนอผลงานและตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในระดับชาติและนานาชาติได้ ซึ่งมีนักศึกษาปริญญาโทและเอกในโครงการ จำนวน 2 คน ดังนี้

1. น.ส.สุญญา เมฆสวัสดิ์ ทำวิทยานิพนธ์ในระดับปริญญาโท เรื่อง การจัดการวัชพืชโดยใช้กิจกรรมทางอัลลิโลพาธิของหญ้าไย่ง ปัจจุบันทำงานเป็นพนักงานในตำแหน่งนักวิชาการเกษตร สังกัดกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์การเกษตร
2. นายอภิรัฐ บัณฑิต ปัจจุบันกำลังศึกษาต่อในระดับปริญญาเอก โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก สาขาพืชไร่นา ที่ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม ทำวิทยานิพนธ์ในระดับปริญญาเอกเรื่อง ศักยภาพทางอัลลิโลพาธิของหญ้าไย่งสำหรับการควบคุมวัชพืช

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำผลทางอัลลิโลพาธีจากหญ้าโขงไปใช้ประโยชน์ในการจัดการอนุรักษ์ดิน และทางด้านการเกษตร ซึ่งถ้าหญ้าโขงมีศักยภาพสูงในการปลดปล่อยสารอัลลิโลพาธิค รวมทั้งสามารถยับยั้งการงอก และ/หรือการเจริญเติบโตของวัชพืชได้ แต่จะไม่นับเป็นอันตรายต่อพืชปลูก โดยนำไปปลูกร่วมในแปลงปลูกพืช (หรือปลูกร่วมเป็นพืชหมุนเวียน) โดยเชื่อว่าจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านการจัดการวัชพืชสำหรับการผลิตพืชผักชนิดต่าง ๆ ที่ต้องการให้ได้คุณภาพของผลผลิตที่ดี และมีความปลอดภัยทางด้านอาหารและสิ่งแวดล้อม (food and environmental safety) มากยิ่งขึ้น อีกทั้งยังเป็นการช่วยรักษาความอุดมสมบูรณ์ของดิน โดยที่มีหลายหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องในการผลิตสินค้าจากภาคการเกษตร และการส่งออก รวมทั้งเกษตรกรเป็นจำนวนมากที่ทำการผลิตพืชผักชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะในเขตพื้นที่ภาคเหนือ สามารถนำผลทางอัลลิโลพาธีจากหญ้าโขงไปใช้ประโยชน์สำหรับการจัดการวัชพืชในการผลิตพืชผักได้ ซึ่งจะเป็นแนวทางในการป้องกันและช่วยแก้ปัญหาเกี่ยวกับการเจือปนของสารเคมีเกินมาตรฐานในสินค้าทางการเกษตรต่อไป

เอกสารแนบ 1

ศักยภาพทางอัลลีโลพาธีของหญ้าไซย่งในการควบคุมวัชพืช

Allelopathic Potential of Itchgrass for Weed Control

สุญญตา เมฆสวัสดิ์¹ และ ทศพล พรพรหม¹¹ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

ABSTRACT

Agrochemicals may produce a wide range of toxic side effects that pose a potential hazard to the environment. The development of a natural herbicide, particularly allelopathy, is one method that has the potential to reduce detrimental environmental impacts. This research aims to explore the allelopathic activity of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton) in the soil which can inhibit seed germination and plant growth. The experiments were carried out in the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom during August, 2007 – December, 2008. The allelopathic effects of soil from itchgrass-infested areas compared to itchgrass-uninfested areas were observed on growth of test plant species including *Bidens pilosa* L., *Mimosa pudica* L., *Ageratum conyzoides* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv., *Oryza sativa* L. var. RD 6 and *Lactuca sativas* L. var. OP. The results showed that root length of all test plant species grown in soil from itchgrass-infested areas was reduced compared to itchgrass-uninfested areas. The allelopathic effects from soil by growing itchgrass were tested with plant species including *Bidens pilosa* L., *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv., *Lactuca sativas* L. var. OP and *Oryza sativa* L. var. RD 6. Itchgrass-infested soil can inhibit seed germination and growth of some test plants. Itchgrass can inhibit seed germination and growth of some test plants better at 1 cm distance than 3 and 5 cm from the itchgrass. These results suggested that allelopathic activity of itchgrass in the soil can inhibit seed germination and growth of test plants.

Keywords: allelopathy, bioassay test, itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton)

Morphological traits and AFLP analysis for classification of a potent allelopathy in itchgrass

Apirat Bundit¹ Sunyata Meksawat¹ and Tosapon Pornprom¹

Abstract : The allelopathic potential and the classification of the diverse accessions of itchgrass with morphological trails and amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis were the subjects to this study. From the results, water soluble extracts of itchgrass from a farmer's field in Chaehom, Lampang (CH-LP) exhibited larger allelopathic effects on seedling growth of test plants than itchgrass from both the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom (KPS-NP), and the experiment field at National Corn and Sorghum Research Center, Pak Chong, Nakhon Ratchasima (PC-NR). In addition, Itchgrass from CH-LP had some distinct morphological traits incomparision to itchgrass from KPS-NP and PC-NR. The color of the leaf blades, leaf sheaths, stems and roots of itchgrass from CH-LP was darker. Furthermore, its trichomes were softer than in the other 2 sites. Base on AFLP analysis, the itchgrass can be divided into 2 groups: the first group consists of itchgrass from PC-NR and KPS-NP, whereas itchgrass from CH-LP constitutes the second group. The similarity index in the first group was 0.98, while the second group had a similarity index of 0.23. This suggests that classification of itchgrass by morphological traits is related with the analysis of the genetic relationship of itchgrass with AFLP. This can be used to assess the genetic diversity of itchgrass with a potential for allelopathy.

Background : Herbicides are usually toxic substances that may have undesirable effects on the food and the environment, their use has to be regulated. Consumer concerns on food and environmental safety of chemical residues have increased in the past few years. Thus, there is a need to find ways to reduce the dependency on herbicides. The development of natural compounds is a possible solution to control weeds in an environmentally acceptable way. The potential use of naturally derived

¹Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom.

products as bio-herbicides can reduce or replace the effects of chemicals pollution on the food and environment.

Objectives : The objectives of the present study were to: (1) study the effects of water soluble extract from itchgrass to the growth of some test plants; (2) determine the morphological traits for classification of a potent allelopathy in itchgrass; and (3) evaluate the genetic diversity using AFLP analysis for classification of a potent allelopathy in itchgrass.

Setting : Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom.

Method :

- 1) The allelopathic potential of itchgrass was investigated from 3 different areas; CH-LP, KPS-NP and PC-NR. The experimental design was arranged as a 2×5 factorial in CRD. Mature itchgrass plants were harvested, then separated into shoots and roots and ground into a powder. The water soluble extract was extracted by distilled water, the seedling of *Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv. and *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Sch. Biq. were used for bioassay test. Shoot length and root length of test plant seedlings were measured at 5 days after planting.
- 2) The morphological traits of itchgrass was investigate to the growth characterized in life cycle by measure morphological characterize in each stage.
- 3) The genetic biodiversity analysis of itchgrass using AFLP techniques was conducted via DNA extraction according to modified method by Cullings (1992), and used AFLP techniques for DNA analysis was performed as described by Vos *et al.*, (1995). The bands were scored and evaluated data analysis relation between itchgrass via similarity index by NTSYSpc program for Windows Version 2.01e and show the result by Phylogenetic tree.

Result :

- 1) Water soluble extracts of itchgrass from a farmer's field in CH-LP exhibited larger allelopathic effects on seedling growth of test plants than itchgrass from both KPS-NP and PC-NR.

- 2) Itchgrass from CH-LP had some distinct morphological traits in comparison to itchgrass from KPS-NP and PC-NR. The color of the leaf blades, leaf sheaths, stems and roots of itchgrass from CH-LP was darker. Furthermore, its trichomes were softer than in the other 2 sites.
- 3) The itchgrass can be divided into 2 groups: the first group consists of itchgrass from PC-NR and KPS-NP, whereas itchgrass from CH-LP constitutes the second group. The similarity index in the first group was 0.98, while the second group had a similarity index of 0.23.

Conclusion : Classification of itchgrass by morphological traits is related with the analysis of the genetic relationship of itchgrass with AFLP. This can be used to assess the genetic diversity of itchgrass with a potential for allelopathy.

Key words: AFLP analysis, allelopathic substance, itchgrass, morphological traits

กิจกรรมของสารอัลลีโลพาธิคจากหญ้าไชย่งในดิน
Allelopathic Activity of Itchgrass in Soil

Apirat Bundit¹ Chaisit Thongjoo² and Tosapon Pornprom¹

Abstract: Farmers in Chaehom-Lampang, northern Thailand, use itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) as mulching material for weed control in vegetable fields. The allelopathic activity of itchgrass is thought to be released into the soil under natural field conditions. However, some soil factors may affect the allelopathic potential of itchgrass. The study of the allelopathic activity of itchgrass in soil revealed soil permeated with itchgrass powder to have inhibitory effects, which are augmented in effectiveness with increased concentrations of itchgrass powder, on the growth of *Lactuca sativa* L. var. OP. The residual allelopathic activity of itchgrass in soil was established to be at its maximum at 7 and 14 days subsequent to exposure to itchgrass powder. However, the residual allelopathic activity of itchgrass was reduced in soil after 21 and 28 days subsequent to application of itchgrass powder. In addition, as the soil moisture conditions affect the residual allelopathic activity in soil, submerged soil has a decreased allelopathic activity of itchgrass in comparison to both half-saturated and dry soils. These results suggest that both timing and soil moisture conditions influence the allelopathic activity of the compounds of itchgrass in soils.

Keywords: allelopathic, itchgrass, soil residual

¹Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom.

²Department of Soil Science, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom.

การแยกสารอัลลีโลพาธิคจากหญ้าไชย่ง
Isolation of Allelochemicals from Itchgrass

Apirat Bundit¹ Wanpen Laohsripaiboon² and Tosapon Pornprom¹

Abstract: Farmers in Chaehom-Lampang, northern Thailand, cultivate itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) in vegetable fields. Cultivated itchgrass decreases the weed density in the fields and is supposed to release allelochemicals. The study of the allelopathy potential of itchgrass applied for weed control in the field conditions revealed that itchgrass-infested soils potentially reduce the growth of the test plants. The allelopathy potential of crude extract from itchgrass founds crude extract from itchgrass to decrease both shoot and root growth of *Echinochloa crus-galli*, *Bidens pilosa*, *Ageratum radiata*, *Conyzoides*, and *Lactuca sativa*. In addition, the purification of a potent allelopathy in itchgrass revealed preparative thin-layer chromatography technique to be apposite for purification with the application of methanol-chloroform in ratios of 3:1, 0:5, 1:4, and 0.9:1.1 as solvent system. These findings suggest the purification of allelochemicals from itchgrass by means of the preparative thin-layer chromatography for isolation to be feasible. The structural determination of an allelochemicals from itchgrass with the spectroscopy technique needs to be further investigated.

Keywords: allelopathy, allelochemicals, extraction, itchgrass, purification

¹Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom.

²Department of Agronomy, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom.

เอกสารแนบ 5

ผลทางอัลลีโลพาธีของหญ้าโขย่งต่อการเจริญเติบโตของพืชทดสอบบางชนิด
Allelopathic Effect of Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* Lour. W.D. Clayton)
on Growth of Some Tested Plants

สุญญตา เมฆสวัสดิ์¹ สุเทพ ทองมา² และทศพล พรพรม¹

ภาควิชาพืชไร่ฯ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน
²สถาบันวิจัยและฝึกอบรมเกษตรลุ่มปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา จ.ลำปาง

Abstract

From farmers field observations, the allelopathic potential of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* Lour. W.D. Clayton) for weed control was studied using information collected from 8 sites of Ban Saa, Jae Hom, Lampang. Three farmers still use itchgrass for weed management in vegetable cropping system. Weed control efficacy of itchgrass was investigated in the itchgrass-uninfested and -infested areas. It was found that itchgrass-infested area provided better control of weed species (grasses, broadleaves and sedge) than the uninfested area. The allelopathic effects of soil infested with itchgrass were observed on growth of some tested plants including *Bidens pilosa* L., *Mimosa pudica* L., *Ageratum conyzoides* L., *Echinochloa crus-galli* L., *Oryza sativa* L. var. RD 6 and *Lactuca sativas* L. The results showed that root length of all tested plants grown in soil from itchgrass-infested area were reduced comparing to itchgrass-uninfested areas. The allelopathic activity of water extracts from leaf, shoot and root of itchgrass were observed on growth of tested plants under laboratory conditions. It was found that root extract had more inhibiting effects on growth of some tested plants (i.e. *Bidens pilosa* L., *Echinochloa crus-galli* L. and *Lactuca sativas* L.) than shoot and leaf extracts of itchgrass. Moreover, increasing the concentration of extract from itchgrass helped decreasing the root length, shoot length, fresh weight and dry weight of tested plants. These results indicated that extracts from itchgrass has allelopathic potential to inhibit the growth of some tested plants. This information could be applied to weed management in vegetable cropping system.

Keywords : allelopathy, itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* Lour. W.D. Clayton)

การจำแนกหญ้าโขงโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเทคนิค AFLP
**Classification of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* Lour. W.D.
 Clayton) using morphological traits and AFLP techniques**

สุญญตา เมฆสวัสดิ์ ทศพล พรพรหม

ABSTRACT: Classification of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* Lour. W.D. Clayton) using morphological traits and AFLP techniques was conducted in the Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, and DNA Technology Laboratory, BIOTEC at Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom during October, 2009 – December, 2010. Itchgrass from 3 sites was used: a farmer's field in Jae Hom, Lampang, the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, and the experiment field at National Corn and Sorghum Research Center, Pak Chong, Nakhon Ratchasima. Morphological traits of itchgrass were observed. The results indicate that itchgrass from the farmer's field in Jae Hom, Lampang had some morphological traits different from at the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom and from the experiment field at National Corn and Sorghum Research Center, Pak Chong, Nakhon Ratchasima. The color of leaf blade, leaf sheath, stem and root of itchgrass from the farmer's field in Jae Hom, Lampang was darker and its trichomes were softer than in the other 2 sites. In addition, analysis of the genetic relationship of itchgrass using AFLP was investigated. The results indicate that itchgrass can be divided into 2 groups. The first group consists of itchgrass from the experiment field at National Corn and Sorghum Research Center, Pak Chong, Nakhon Ratchasima and from the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom. The second group is itchgrass from the farmer's field in Jae Hom, Lampang. It was apparent that the similarity index in the first group was 0.98, whereas in the second group it was 0.23. It is suggested that classification of itchgrass using morphological traits has a relationship with analysis of the genetic relationship of itchgrass using AFLP. This can be used to assess the genetic diversity of itchgrass.

Key words: itchgrass, morphological traits, AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

Allelopathic effect of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton) on seed germination and plant growth

SUNYATA MEKSAWAT and TOSAPON PORNPROM

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

ABSTRACT

Herbicides produce a wide range of toxic side effects that pose a potential hazard to the environment. The development of natural allelochemicals is one method of addressing these issues. Here we describe the allelopathic activity of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton) which can inhibit seed germination and growth of weeds. Farmers in Lampang, Northern Thailand, have been cultivating itchgrass and using it as a mulching material to control other weeds in vegetable fields. It has long been observed that itchgrass interfere with the growth of other plants. The density of weed species in the itchgrass-infested areas was lower than that in the itchgrass-uninfested areas. Shoot and root growth of *Bidens pilosa* L., *Mimosa pudica* L., *Ageratum conyzoides* L., *Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv., *Oryza sativa* L. var. RD 6, and *Lactuca sativa* L. var. OP. were significantly reduced in soil previously planted with itchgrass. Water soluble extracts from all parts of itchgrass had inhibitory effects on growth of some test plants. Allelochemicals from itchgrass can inhibit seed germination and plant growth better at 1 cm distance than 3 and 5 cm from the itchgrass. Our results suggest that itchgrass has a strong competitive ability and possible allelopathic activity to other plant species. Allelopathic activity of itchgrass in the soil can influence germination of adjacent species causing reduced growth of seedlings.

Keywords: allelochemical, allelopathy, itchgrass, phytotoxic effect, *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton, weed density.

Morphological traits and AFLP analysis for classification of a potent allelopathic in itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*)

A. BUNDIT¹, A. AUVUCHANON² and T. PORNPROM^{2*}

¹ Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

² Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

ABSTRACT

Itchgrass is a weed widely distributed in maize and sugarcane fields and is suspected to release allelochemicals. A species from Chaehom-Lampang in northern Thailand has a strong competitive ability and a possible allelopathic activity to *Echinochloa crus-galli*, *Bidens pilosa* and *Lactuca sativa*. The genetic diversity of itchgrass from 10 different areas in Thailand was investigated for the classification of the possibility of allelopathy characteristics of itchgrass in diverse areas by means of examination of the main morphological traits and the application of an amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis. The results indicate that itchgrass can be divided into two groups: the first group consists of itchgrass from Chaehom-Lampang, Si Thep-Phetchabun, Phrom Phiram-Phitsanulok, Amphur Muang-Nakhon Sawan, Kamalasai-Kalasin, Amphur Muang-Chachoengsao and Bang Yai-Nonthaburi, whereas itchgrass from Amphur Muang-Chiang Mai, Pak Chong-Nakhon Ratchasima and Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom constitutes the second group. The correlation of the similarity/distance estimates between AFLP markers (Jaccard coefficient) and morphological traits (Euclidean distance) was significant with $r = -0.84^{**}$. Our finding suggests that classification of itchgrass by morphological traits is related with the analysis of the genetic relationship of itchgrass with AFLP analysis. This can be used to assess the genetic diversity of itchgrass with a potential for allelopathy.

Key words: AFLP analysis, allelopathy, genetic diversity, itchgrass, morphological traits.

* Correspondence author: Tosapon Pornprom, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

E-mail: agrtpp@ku.ac.th.

Allelopathic Effect of Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) on Seed Germination and Plant Growth

Meksawat, S.¹, Pornprom, T.^{1*}

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom

Abstract: Herbicides produce a wide range of toxic side effects that pose a potential hazard to the environment. The development of natural allelochemicals is one method of addressing these issues. Here we describe the allelopathic activity of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton) which can inhibit seed germination and growth of weeds. Farmers in Lampang, Northern Thailand, have been cultivating itchgrass and using it as a mulching material to control other weeds in vegetable fields. It has long been observed that itchgrass interfere with the growth of other plants. The density of weed species in the itchgrass-infested areas was lower than that in the itchgrass-uninfested areas. Shoot and root growth of *Bidens pilosa* L., *Mimosa pudica* L., *Ageratum conyzoides* L., *Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv., *Oryza sativa* L. var. RD 6, and *Lactuca sativa* L. var. OP. were significantly reduced in soil previously planted with itchgrass. Water soluble extracts from all parts of itchgrass had inhibitory effects on growth of some test plants. Allelochemicals from itchgrass can inhibit seed germination and plant growth better at 1 cm distance than 3 and 5 cm from the itchgrass. Our results suggest that itchgrass has a strong competitive ability and possible allelopathic activity to other plant species. Allelopathic activity of itchgrass in the soil can influence germination of adjacent species causing reduced growth of seedlings.

Keywords: allelochemical, allelopathy, itchgrass, phytotoxic effect, *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton, weed density

Outputs

1. Meksawat S, Pornprom T. *Allelopathic effect of itchgrass (Rottboellia cochinchinensis) on seed germination and plant growth*. Weed Biology and Management **2010**; 10(1): 16-24.

* Corresponding author. Tel.: 0-3435-1887 ext. 115; Fax: 0-3428-1266

E-mail: agrtp@ku.ac.th

Morphological Traits and AFLP Analysis for Classification of a Potent Allelopathic in Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*)

Bundit, A.¹, Pornprom, T.^{1*}

¹Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

Abstract: Itchgrass is a weed widely distributed in maize and sugarcane field and suspected to release allelochemicals. A species from Chaehom-Lampang, a northern province in Thailand, has a strong competitive ability and a possible allelopathic activity to *Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv., *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Sch. Biq. and *Lactuca sativa* L. var. OP. The genetic diversity of itchgrass was investigated for the classification of the possibility of allelopathy characteristics of itchgrass in diverse areas by means of examination of the main morphological traits and the application of an amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis. The plant materials were collected from 10 different areas in Thailand. The results indicate that itchgrass can be divided into two groups: the first group consists of itchgrass from Chaehom-Lampang, Si Thep-Phetchabun, Phrom Phiram-Phitsanulok, Amphur Muang-Nakhon Sawan, Kamalasai-Kalasin, Amphur Muang-Chachoengsao and Bang Yai-Nonthaburi, whereas itchgrass from Amphur Muang-Chiang Mai, Pak Chong-Nakhon Ratchasima and Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom constitutes the second group. Our finding suggests that classification of itchgrass by morphological traits is related with the analysis of the genetic relationship of itchgrass with AFLP analysis. This can be used to assess the genetic diversity of itchgrass with a potential for allelopathy.

Keywords: AFLP analysis, allelopathy, genetic diversity, itchgrass, morphological traits

Outputs

1. Meksawat S, Pornprom T. *Allelopathic effect of itchgrass (Rottboellia cochinchinensis) on seed germination and plant growth*. Weed Biol. and Manag. **2010**; 10: 16-24.

* Corresponding author. Tel.: 0-3435-1887 ext. 115; Fax: 0-3428-1266

E-mail: agrtpp@ku.ac.th

RESEARCH PAPER

Allelopathic effect of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) on seed germination and plant growth

SUNYATA MEKSAWAT and TOSAPON PORNPROM*

Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, Thailand

Herbicides produce a wide range of toxic side-effects that pose a potential hazard to the environment. The development of natural allelochemicals is one method of addressing these issues. Here, we describe the allelopathic activity of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*), which can inhibit the seed germination and growth of weeds. Farmers in Lampang, northern Thailand, have been cultivating itchgrass and using it as a mulching material to control other weeds in vegetable fields. It has long been observed that itchgrass interferes with the growth of other plants. This study showed that the density of weed species in the itchgrass-infested areas was lower than that in the itchgrass-uninfested areas. The shoot and root growth of *Bidens pilosa*, *Mimosa pudica*, *Ageratum conyzoides*, *Echinochloa crus-galli*, *Oryza sativa* var. RD 6, and *Lactuca sativa* var. OP were significantly reduced in soil previously planted with itchgrass. Water-soluble extracts from all parts of itchgrass had inhibitory effects on the growth of some test plants. Allelochemicals from itchgrass can inhibit seed germination and plant growth better at a 1 cm distance than at a 3 cm and 5 cm distance from itchgrass. Our results suggest that itchgrass has a strong competitive ability and possible allelopathic activity to other plant species. The allelopathic activity of itchgrass in the soil can influence the germination of adjacent species, causing reduced growth of seedlings.

Keywords: allelochemical, allelopathy, itchgrass, phytotoxic effect, *Rottboellia cochinchinensis*, weed density.

Agrochemicals produce a wide range of toxic side-effects that pose a potential hazard to the environment. Recently, due to environmental considerations, many herbicides have been criticized as being chemical pollutants. Therefore, there is a need to develop natural herbicides that are not toxic to the environment. The development of herbicides from naturally occurring plant chemicals is one method that has the potential to reduce detrimental environmental impacts, harmful effects on human health, and the evolution of herbicide-resistant weed populations.

Communicated by H. Kato.

*Correspondence to: Tosapon Pornprom, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.
Email: agrtpp@ku.ac.th

Received 24 April 2009; accepted 9 October 2009

Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* [Lour.] W.D. Clayton) is an annual upland weed that is widely distributed in maize, sugar cane, and orchards, particularly in Thailand. The plant has become a dominant species in some regions where it is present. Several studies have found that itchgrass competes with plants for nutrients, water, space, and light for photosynthesis and causes great losses in crop yields (Hall & Patterson 1992; Lejeune *et al.* 1994; Casini *et al.* 1998; Strahan *et al.* 2000). There have been reports of the inhibitory activity of the aqueous extracts from itchgrass on germination and seedling growth in non-soil (filter paper and sea sand mixed with peat) cultures (Casini *et al.* 1998). Some research has been reported on the allelopathic potential of itchgrass powder incorporated into the soil under controlled conditions (Kobayashi *et al.* 2008). Farmers in Lampang, northern Thailand, have been cultivating itchgrass and using it as a mulching material to control other

weeds in vegetable fields, such as cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*), Chinese cabbage (*Brassica pekinensis* L. Rupr.), kale (*Brassica alboglabra* Bailey), soybean (*Glycine max* L. Merr.), and maize (*Zea mays* L.). This species is suspected to release allelochemicals that have allelopathic effects on plants growing nearby. However, its role in allelopathy is not fully understood. Therefore, the objectives of the present study were to: (i) survey the allelopathic activity of itchgrass from farmers' fields under natural conditions in Lampang, northern Thailand; (ii) investigate the possibility of an allelopathic influence by itchgrass for weed control; and (iii) determine the allelopathic effect of itchgrass on the seed germination and plant growth of six test plants.

MATERIALS AND METHODS

Field evidence of the allelopathic properties of itchgrass

The allelopathic activity of itchgrass was investigated by using information collected from 15 sites in Ban Saa, Chaehom, Lampang, a northern province in Thailand, during the 2008 wet season. Farmers in the area were interviewed in order to understand the cultural practises used and to investigate the allelopathic activity of itchgrass for weed control in vegetable fields. The data that were collected included: (i) the general background of the farmers (i.e. name, home and field location); (ii) the crop varieties, growing periods, and harvesting; and (iii) the most important weeds and management practises for weed control and related comments. Furthermore, the density of the weed species in itchgrass-infested and itchgrass-uninfested areas was randomly sampled by using a 1 m × 1 m quadrat. Soil samples were collected from the itchgrass-infested and itchgrass-uninfested fields to determine their physicochemical properties.

Growth of seedlings in soil previously planted with itchgrass

The experiments were carried out at the Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom from August 2008 to March 2009. Soil samples were collected from a depth of 0–30 cm from an area where itchgrass had been grown for 5 years under natural field conditions in Ban Saa, Chaehom, Lampang, Thailand. The collected soil samples were sieved and air-dried at room temperature for 24 h. Six plant species were used as the test plants and were collected from fields in Ban Saa, Chaehom: *Bidens pilosa* L. *radiata* Sch. Biq., *Mimosa pudica* L., *Ageratum conyzoides* L., *Echinochloa crus-galli* L. P.

Beauv., *Oryza sativa* L. var. RD 6, and *Lactuca sativa* L. var. OP. Fifty pregerminated seeds with an ~2 mm long radicle were used for all of the experiments. Soil from the same area, but without itchgrass, was used as the control. The shoot and root lengths of the test plants were measured 7 days after planting. The treatments were arranged as a 2 × 6 factorial experiment in a randomized complete block design (RCBD) with four replications. All the data were subjected to analysis of variance (ANOVA) and analyzed using the Proc Mixed procedure of Statistical Analysis Systems (Carey, NC, USA). The treatment means were separated by using Fisher's Protected Least Significant Difference (LSD) test at $P = 0.01$.

Allelopathic effect of water-soluble extracts from itchgrass on seedling growth

Mature itchgrass plants that were grown in upland fields in Lampang, northern Thailand, were harvested and separated into leaves, shoots, and roots. These plant portions were cut separately into 1–2 cm sections, dried at 40°C for 1 week, and ground into a powder with an electrical grinder (Mikro-Feinmuhle-Culatti, Type MFC; Janke and Kunkel, Staufen, Germany) in order to pass through a 0.5 mm screen mesh. The itchgrass powder was stored in plastic bottles at 5°C until it was to be used.

Three water-soluble extracts of itchgrass were obtained according to the modified methodology reported by Casini *et al.* (1998). The water-soluble extract was prepared by soaking 500 mg of itchgrass powder in 100 mL of distilled water at 25°C for 24 h. The extracts then were filtered with filter paper (no. 3; Whatman International, Maidstone, UK). Distilled water was used to establish varying concentrations of itchgrass from the original extract, equivalent to 0, 5, 10, 50, and 100 mg mL⁻¹. The pH of the extracts ranged from 6.4 to 6.6. Seeds of *B. pilosa* L. var. *radiata* Sch. Biq., *E. crus-galli* L. P. Beauv., *O. sativa* L. var. RD 6, and *L. sativa* L. var. OP were placed in a Petri dish lined with filter paper (no. 1; Whatman International, Maidstone, UK) and saturated with 4 mL of water-soluble extract of varying concentrations. The Petri dishes were kept in an incubator at 30°C for 24 h in the dark for germination. The filter papers were constantly moistened with the appropriate extracts. The shoot and root lengths of the test plant seedlings were measured 7 days after planting. The experiment was laid out as a 4 × 5 × 4 factorial in a completely randomized design with four replications. All the data were subjected to ANOVA and analyzed using the Proc Mixed procedure of SAS. The treatment means were separated by using Fisher's Protected LSD test at $P = 0.01$.

Allelopathic effect of itchgrass on germination and seedling growth

The allelopathic effect of itchgrass on germination and seedling growth was determined by using the whole-plant bioassay test under greenhouse conditions. Five pregerminated seeds of itchgrass were planted in the center of a pot (19 cm diameter, 22 cm height) containing sterilized Kamphaeng Saen soil. Twenty-five seeds of *B. pilosa* L. var. *radiata* Sch. Biq., *E. crus-galli* L. P. Beauv., *O. sativa* L. var. RD 6, and *L. sativa* L. var. OP were planted at a distance of 1, 3, and 5 cm from the center of the pots. Prior to planting, the seeds were steeped in water to determine their viability; those that floated were not used. The pots were watered daily and placed inside the greenhouse at the Field Laboratory, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom, Thailand. A similar treatment, but without itchgrass at the center of the pot, was used as the control. The shoot and root lengths of the test plant species were measured at 3, 5, 7, 10, and 14 days after planting.

The germination index (GI) of the test plant species was recorded daily for 5 days and calculated by using the formula: $GI = 2(5x + 4x + 3x + 2x + x)$, where x is the number of germinated seeds within each 24 h period; $5x = 24$ h count, $4x = 48$ h count, etc. The experiment was laid out as a $2 \times 3 \times 5 \times 4$ factorial in a RCBD with four replications. All the data were subjected to ANOVA and analyzed using the Proc Mixed procedure of SAS. The treatment means were separated by using Fisher's Protected LSD test at $P = 0.01$.

RESULTS AND DISCUSSION

Field evidence of the allelopathic properties of itchgrass

The allelopathic activity of itchgrass for weed control was investigated by using information collected from 15 sites in Ban Saa, Chaehom, Lampang, Thailand. Farmers have been cultivating itchgrass and using it as a mulching material to control other weeds in vegetable fields, such as cabbage (*B. oleracea* L. var. *capitata*), Chinese cabbage (*B. pekinensis* L. Rupr.), kale (*B. alboglabra* Bailey), soybean (*G. max* L. Merr.), and maize (*Z. mays* L.). Itchgrass seeds are sown, grown, and incorporated into the soil before the flowering stage by a small tractor and left for 1 week before vegetable cultivation. Interestingly, it was found that the populations of other weed species were remarkably reduced in the field with itchgrass incorporation into the soil. This suggests that itchgrass has a strong potential allelopathic influence on other plant species.

Table 1. Density of weed species in itchgrass-infested and itchgrass-uninfested areas at Ban Saa, Chaehom, Lampang, northern Thailand

Weed species	Weed density (number of plants per m ²)	
	Itchgrass-uninfested areas	Itchgrass-infested areas
<i>Bidens pilosa</i>	16.8 ± 6.8	0
<i>Brachiaria mutica</i>	8.8 ± 8.0	0
<i>Cynodon dactylon</i>	22.4 ± 12.0	0
<i>Cyperus rotundus</i>	48.0 ± 23.6	0
<i>Dactyloctenium aegyptium</i>	0.8 ± 0.8	0
<i>Digitaria ciliaris</i>	11.2 ± 4.4	0
<i>Echinochloa colona</i>	0.8 ± 0.8	0
<i>Ipomoea obscura</i>	0	1
<i>Mimosa pudica</i>	9.6 ± 4.8	0
<i>Paspalum conjugatum</i>	312.0 ± 81.6	0

Itchgrass interferes with the growth of other plant species. Table 1 shows the density (number of plants per m²) of the weed species in the areas infested with itchgrass and in the uninfested areas. The density of the weed species differed markedly between the itchgrass-infested and itchgrass-uninfested areas. Except for *Ipomoea obscura* L. Ker-Gawl, the other weeds were completely absent in the itchgrass-infested areas. However, this vine-like plant was present only at one plant per m². In contrast, several species of grasses, broad-leaved weeds, and sedges were observed in the itchgrass-uninfested areas. These results show that the itchgrass-infested field provided better control of weed species than the uninfested field.

Our findings of the allelopathic effects of itchgrass are consistent with similar effects reported for other plant species. For instance, Mexican sunflower (*Tithonia diversifolia* [Hemsl.] A. Gray) (Tongma *et al.* 1998, 2001), *Macaranga tanarius* (L.) Muell.-Arg. (Tseng *et al.* 2003), *Parthenium hysterophorus* (Batish *et al.* 2003), and *Dicranopteris linearis* (Chong & Ismail 2006) release allelochemicals that have been found to suppress the growth of other plant species. These results suggest that itchgrass plants have phytotoxic activity because of the direct release of a possible toxic substance(s) from the living plant parts and/or the indirect release of a toxic substance(s) after degradation of the plant due to decomposition by microorganisms in the soil. The exact mechanism for the interaction of itchgrass with other plant species should be investigated further.

Table 2 shows the physicochemical properties of the soil from itchgrass-infested and itchgrass-uninfested

Table 2. Physicochemical properties of the soil samples

Physicochemical property	Itchgrass-infested soil	Itchgrass-uninfested soil
Texture	Loamy sand	Loamy sand
pH (soil : water, 1:1)	5.63	5.57
Sand (%)	42.38	44.88
Silt (%)	35.00	35.00
Clay (%)	22.62	20.13
Organic matter (%)	5.05	5.00
Total nitrogen (%)	0.13	0.13
Maximum water-holding capacity (%)	60.00	60.00
Exchangeable cation (dS m ⁻¹)	0.34	0.37
Available phosphorus (mg kg ⁻¹)	21.51	18.07
Exchangeable potassium (mg kg ⁻¹)	110.59	127.03

areas. There appeared to be no obvious difference between the physicochemical properties of the itchgrass-infested and itchgrass-uninfested soil. There is overwhelming evidence that plant phenolics play a major role in allelopathy (Chong & Ismail 2006). Inderjit and Duke (2003) reported that the physicochemical properties of the soil influence the qualitative and quantitative availability of phenols in the soil. In this study, the water-soluble phenolic compounds in the itchgrass-infested and itchgrass-uninfested soil were not identified. Further study is needed to elucidate the exact allelochemicals in itchgrass-infested soil.

Growth of seedlings in soil previously planted with itchgrass

The growth of the test plants in the soil previously planted with itchgrass and in itchgrass-uninfested soil is shown in Fig. 1. Except for *E. crus-galli* L., the shoot growth of the test plants was not significantly different between the itchgrass-infested and itchgrass-uninfested soil. In general, the mean shoot length in the itchgrass-infested soil was longer, except for *B. pilosa* L. var. *radiata* Sch. Biq. and *L. sativa* L. var. OP. There is some evidence to suggest a compensatory effect of competition on shoot and root growth. For *A. conyzoides* L., *E. crus-galli* L., *M. pudica* L., and *O. sativa* L. var. RD 6, an increase or decrease in shoot length was accompanied by a decrease or increase in root length, respectively. The possible interference with photosynthesis and the partitioning of biomass into the leaf component relative to the total biomass produced by the plant might relate to the inhibi-

tory effects of allelochemicals present in the itchgrass residues. In contrast, the root growth of *B. pilosa* L. var. *radiata* Sch. Biq. and *L. sativa* L. var. OP was inhibited by phytotoxic chemicals in the soil from the itchgrass-infested fields. The shoot and root growth of *M. pudica* L. and *O. sativa* L. var. RD 6 were not hindered by growth-inhibitory substances from the itchgrass-infested soil. This suggests that these two species are relatively immune to the phytotoxic chemicals released by itchgrass in the soil. Some varieties of *O. sativa* L. have been documented to have allelochemical properties (Olofsdotter 2001; Kato-Noguchi & Ino 2003; Kong *et al.* 2004). The absence of significant differences in the response to itchgrass-infested and itchgrass-uninfested soil might be related to different persistence levels of the allelochemicals in itchgrass-infested soil. Understanding these residual effects is recommended.

Allelopathic effect of water-soluble extracts from itchgrass on seedling growth

In general, the root extracts of itchgrass had a greater inhibitory effect on the shoot and root growth of the test plants but it was not significantly different from that of the leaf and shoot extracts, except for *O. sativa* L. var. RD 6, which was not inhibited (Table 3). The higher the concentration of the aqueous extract, the greater was the inhibition on the shoot and root growth. Allelochemicals present in the weed extracts reduced the shoot and root growth by an average of 50% and 70%, respectively, at the highest concentration of extract. This suggests that root growth is more sensitive to the phytotoxic chemicals in itchgrass than shoot growth. The root growth might have been affected more than the shoot growth because the roots were in continuous contact with the extracts. This finding is supported by Kobayashi *et al.* (2008), who reported that the phytotoxicity of itchgrass powder incorporated into the soil was more pronounced in the root than in the shoot of radish seedlings. We observed a significant interaction between the source of the water-soluble extract and its concentration. This indicates that the test plants did not respond to the same treatment. Our data indicates that a 5 p.p.m. concentration of the extract promotes the root and shoot growth of *E. crus-galli* L., *L. sativa* L. var. OP, and *O. sativa* L. var. RD 6. Therefore, studies to identify the allelochemical compounds and their physiological effects on the test plants should be considered further.

Allelopathic effect of itchgrass on germination and seedling growth

The allelopathic effects of itchgrass at different stages of growth on the seed germination of the test plants is

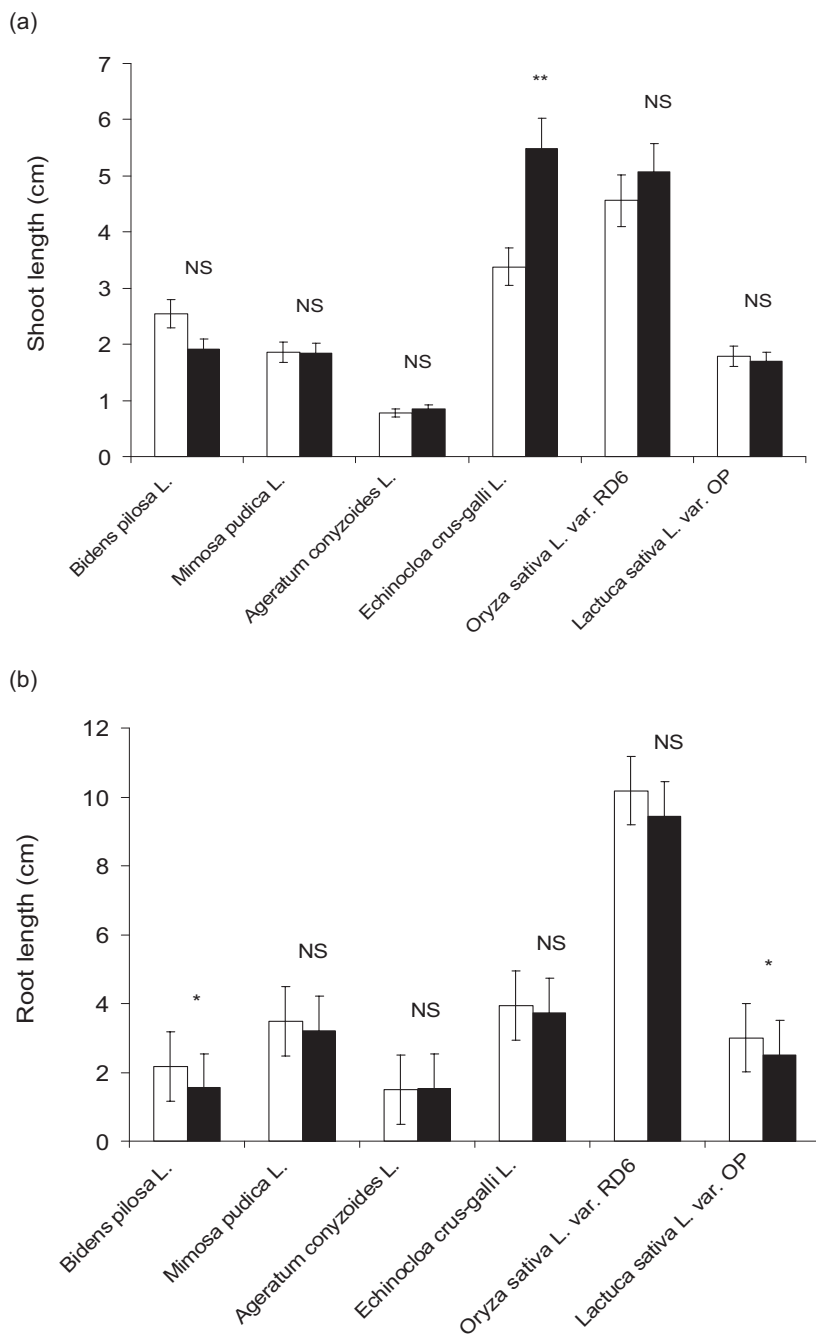


Fig. 1. (a) Shoot length and (b) root length of the tested plants grown in (□) soil uninfested with itchgrass and (■) soil infested with itchgrass at 7 days after planting. * and ** indicate significant differences according to the *t*-test at $P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively. The vertical lines at the top of the columns show standard error of the means. NS, not significantly different.

presented in Table 4. The germination of the test plants was inhibited significantly by itchgrass from germination to the two-to-three-leaf stage. Maximum inhibition was observed at the two-to-three-leaf stage of itchgrass. This suggests that the concentration of phytotoxic chemicals that itchgrass releases into the soil increases as it matures. The rate of germination for all the test plants was highest at 5 cm away from itchgrass, confirming the presence of

an inhibitory substance originating from the roots of itchgrass.

The allelopathic effect of competition with itchgrass on seedling growth is shown in Table 5. The shoot and root growth of all the test plants grown in soil together with itchgrass were significantly reduced. Itchgrass can inhibit plant growth better at a 1 cm distance than at a 3 cm and 5 cm distance from the weed.

Table 3. Phytotoxic effect of water-soluble extracts from each part of itchgrass on the growth of test plant species

Treatment	<i>Bidens pilosa</i>		<i>Echinochloa crus-galli</i>		<i>Lactuca sativa</i> var. OP		<i>Oryza sativa</i> var. RD 6	
	Shoot length	Root length	Shoot length	Root length	Shoot length	Root length	Shoot length	Root length
cm								
Water-soluble extract								
Distilled water	1.6a	1.9a	3.1a	4.1a	1.8a	3.8a	1.5	2.6
Water extract from the leaf	1.3b	1.4b	3.2a	3.2b	1.8a	3.3b	1.3	2.6
Water extract from the shoot	1.3b	1.4b	2.5b	3.0b	1.3b	3.4b	1.4	2.6
Water extract from the root	1.2b	1.4b	2.8c	2.8b	1.3b	2.8c	1.3	2.4
<i>F</i> -test	**	**	**	**	**	**	NS	NS
Concentration (mg mL ⁻¹)								
0	1.6a	1.9a	3.1bc	4.1ab	1.8a	3.8c	1.5b	2.6bc
5	1.4b	1.7b	3.4a	4.2a	1.5b	4.8a	2.0a	3.3a
10	1.3b	1.6b	3.3ad	3.7b	1.4bc	4.4b	1.5b	2.8b
50	1.1c	1.1c	3.0b	1.9c	1.4cd	1.7d	0.8c	2.3c
100	0.7d	0.5d	1.6d	0.7d	1.3d	1.1e	0.7c	1.8d
<i>F</i> -test	**	**	**	**	**	**	**	**
Water-soluble extract × concentration	**	**	**	**	**	**	NS	NS
Mean	1.27	1.43	2.88	3.07	1.51	3.23	1.33	2.55
Coefficient of variation (%)	9.14	11.57	10.87	17.22	6.15	9.39	15.83	16.77

** Significantly different at 1%. Means in the same column followed by the same letters are not significantly different by Fisher's Protected Least Significant Difference test at $P = 0.01$. NS, not significantly different.

Table 4. Seed germination of test plant species planted at 1, 3, and 5 cm from itchgrass at various stages

Treatment	Seed germination (%)			
	<i>Oryza sativa</i> var. RD 6	<i>Lactuca sativa</i> var. OP	<i>Bidens pilosa</i>	<i>Echinochloa</i> <i>crus-galli</i>
Soil type				
Infested (with itchgrass)	60.50	50.11b	73.39b	33.89b
Control (without itchgrass)	62.72	56.17a	82.72a	43.00a
<i>F</i> -test	NS	**	**	**
Stage of itchgrass				
Germination stage	70.08b	74.50a	78.25b	59.33a
1-leaf stage	76.17a	48.58b	68.42c	34.58b
2–3-leaf stage	38.58c	36.92c	87.52a	21.42c
<i>F</i> -test	**	**	**	**
Distance between itchgrass and test plants (cm)				
1	58.08	48.92b	70.25c	32.92b
3	62.08	54.23a	77.75b	37.25b
5	64.67	56.25a	86.17a	45.17a
<i>F</i> -test	NS	**	*	**
Mean	61.61	53.21	78.05	38.44
Coefficient of variation (%)	17.00	10.79	14.67	22.45

* Significantly different at 5%; ** significantly different at 1%. Means in the same column followed by the same letters are not significantly different by Fisher's Protected Least Significant Difference test at $P = 0.01$. NS, not significant.

Some weeds contain and release phytotoxic compounds (allelochemicals) into the soil that inhibit the germination and growth of plants (Kiemnec & McInnis 2002). The results show that itchgrass can suppress the growth of major competitive plants in the fields as it strongly stunted the growth of *B. pilosa* L. var. *radiata* Sch. Biq., *M. pudica* L., *A. conyzoides* L., and *E. crus-galli* L. P. Beauv. However, two cultivated crop species, *O. sativa* L. var. RD 6 and *L. sativa* L. var. OP, which do not compete often with itchgrass in natural fields, also were inhibited.

The results of the present study suggest that weed control by itchgrass incorporation into the soil in the vegetable fields in Lampang, northern Thailand, actually might be induced by a phytotoxic chemical(s) released from the incorporated materials in soil water. It was found that the populations of other weed species were remarkably reduced in the field with itchgrass incorporation into the soil. Itchgrass has a strong competitive ability and possible allelopathic activity to other plant species. In particular, the allelopathic activity of itchgrass in the soil can influence the germination of adjacent species, causing the reduced growth of seedlings. Further investigations are needed to determine the influence of soil characteristics and the seasonal and

cultivar variations in field conditions and to identify the active compound(s) produced by itchgrass. Better understanding of the allelopathic potential of itchgrass will provide a basis for improving weed management in vegetable fields.

Interestingly, allelochemicals from itchgrass that show strong suppression of weed emergence are helpful in reducing weed populations and plant pathogens and are helpful in improving soil quality and crop yields. The allelopathic effect of itchgrass, which can be exploited for the development of herbicides and should be safe and technologically sustainable, is suggested for use as a natural herbicide. Furthermore, the introduction of allelopathic traits from accessions with strong allelopathic potential to the target crops will enhance the efficacy of the allelochemicals from itchgrass in future sustainable agricultural production.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported in part by the Thailand Research Fund (RSA 5280004). Special thanks to Mr Eduardo A. Ramos from the Kasetsart University–Honda Project for editing this manuscript.

Table 5. Seedling growth of test plant species transplanted at 1, 3 and 5 cm from itchgrass at various stages

Treatment	<i>Bidens pilosa</i>		<i>Echinochloa crus-galli</i>		<i>Lactuca sativa</i> var. OP		<i>Oryza sativa</i> var. RD 6	
	Shoot length	Root length	Shoot length	Root length	Shoot length	Root length	Shoot length	Root length
cm								
Soil type								
Infested (with itchgrass)	3.7b	6.8b	6.4b	10.5b	1.5b	2.8b	8.8b	15.2b
Control (without itchgrass)	4.3a	7.8a	7.5a	12.0a	1.9a	3.6a	9.0a	15.4a
<i>F</i> -test	**	**	**	**	**	**	**	**
Distance between itchgrass and test plants (cm)								
1	3.8b	6.7c	6.7b	10.7c	1.5b	2.8c	8.6c	14.6a
3	4.1a	7.3b	7.0a	11.3b	1.8a	3.2b	8.9b	15.4b
5	4.2a	7.9a	7.2a	11.8a	1.9a	3.6a	9.2a	16.0c
<i>F</i> -test	**	**	**	**	**	**	**	**
Number of days after planting								
3	3.1d	6.0d	5.1d	7.9e	1.6c	2.7d	7.0e	12.2e
5	3.3cd	6.2d	5.4d	9.9d	1.5c	2.9cd	8.0d	13.4d
7	3.4c	6.8c	6.8c	11.4c	1.4c	3.1bc	8.3c	15.5c
10	4.2b	7.7b	7.7d	12.3b	1.9b	3.3b	9.9b	17.2b
14	6.3a	9.8a	9.9a	14.9a	2.3a	3.9a	11.3a	18.3a
<i>F</i> -test	**	**	**	**	**	**	**	**
Mean	4.04	7.34	6.97	11.27	1.73	3.19	8.90	15.32
Coefficient of variation (%)	26.45	20.03	24.10	19.27	51.78	38.85	10.00	7.18

**Significantly different at 1%. Means in the same column followed by the same letters are not significantly different by Fisher's Protected Least Significant Difference test at $P = 0.01$.

REFERENCES

- Batish D.R., Pandher J.K., Singh H.P. and Kohli R.K. 2003. Allelopathic potential of roots of *Parthenium hysterophorus*. In: *Proceedings of the 19th Asian-Pacific Weed Science Society Conference* (Manila, the Philippines, 17–21 March 2003). Weed Science Society of the Philippines, Manila, 726–731.
- Casini P., Vecchio V. and Tamantini I. 1998. Allelopathic interference of itchgrass and cogongrass: Germination and early development of rice. *Triop. Agric. (Trinidad)* **75**, 445–451.
- Chong T.V. and Ismail B.S. 2006. Field evidence of the allelopathic properties of *Dicranopteris linearis*. *Weed Biol. Manag.* **6**, 59–67.
- Hall D.W. and Patterson D.T. 1992. Itchgrass – stop the trains? *Weed Technol.* **6**, 239–241.
- Inderjit S. and Duke S.O. 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta* **217**, 529–539.
- Kato-Noguchi H. and Ino T. 2003. Rice seedlings release momilactone B into the environment. *Phytochemistry* **63**, 551–554.
- Kiemnec G.L. and McInnis M.L. 2002. Hoary cress (*Cardaria draba*) root extract reduces germination and root growth of five plant species. *Weed Technol.* **16**, 231–234.
- Kobayashi K., Itaya D., Mahatamnuchoke P. and Pornprom T. 2008. Allelopathic potential of itchgrass (*Rottboellia exaltata* L. f.) powder incorporated into soil. *Weed Biol. Manag.* **8**, 64–68.
- Kong C., Xu X., Zhou B., Hu F., Zhang C. and Zhang N. 2004. Two compounds from allelopathic rice accession and their inhibitory activity on weeds and fungal pathogens. *Phytochemistry* **65**, 1123–1128.
- Lejeune K.R., Griffin J.L., Reynolds D.B. and Saxton A. 1994. Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) interference in soybean (*Glycine max*). *Weed Technol.* **87**, 733–737.
- Olofsdotter M. 2001. Rice – a step toward use of allelopathy. *Agron. J.* **93**, 3–8.
- Strahan R.E., Griffin J.L., Reynolds D.B. and Miller D.K. 2000. Interference between *Rottboellia cochinchinensis* and *Zea mays*. *Weed Sci.* **48**, 205–211.
- Tongma S., Kobayashi K. and Usui K. 1998. Allelopathic activity of Mexican sunflower (*Tithonia diversifolia* Hemsl. A. Gray) in soil. *Weed Sci.* **46**, 432–437.
- Tongma S., Kobayashi K. and Usui K. 2001. Allelopathic activity of Mexican sunflower (*Tithonia diversifolia* Hemsl. A. Gray) in soil under natural field conditions and different moisture conditions. *Weed Biol. Manag.* **1**, 115–119.
- Tseng M.H., Kuo Y.H., Chen Y.M. and Chou C.H. 2003. Allelopathic potential of *Macaranga tanarius* (L.) Muell.-Arg. *J. Chem. Ecol.* **29**, 1269–1286.

**Morphological traits and AFLP analysis for classification of a potent allelopathic
in itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*)**

A. BUNDIT¹, A. AUVUCHANON² and T. PORNPROM^{1*}

¹*Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart
University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.*

²*Department of Horticulture, Faculty of Agriculture Kamphaeng Saen, Kasetsart
University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.*

ABSTRACT

Itchgrass is a weed widely distributed in maize and sugarcane fields and is suspected to release allelochemicals. A species from Chaehom-Lampang in northern Thailand has a strong competitive ability and a possible allelopathic activity to *Echinochloa crus-galli*, *Bidens pilosa* and *Lactuca sativa*. The genetic diversity of itchgrass from 10 different areas in Thailand was investigated for the classification of the possibility of allelopathy characteristics of itchgrass in diverse areas by means of examination of the main morphological traits and the application of an amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis. The results indicate that itchgrass can be divided into two groups: the first group consists of itchgrass from Chaehom-Lampang, Si Thep-Phetchabun, Phrom Phiram-Phitsanulok, Amphur Muang-Nakhon Sawan, Kamalasai-Kalasin, Amphur Muang-Chachoengsao and Bang Yai-Nonthaburi, whereas itchgrass from Amphur Muang-Chiang Mai, Pak Chong-Nakhon Ratchasima and Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom constitutes the second group. The correlation of the similarity/distance estimates between AFLP markers (Jaccard coefficient) and morphological traits (Euclidean

*Correspondence author: Tosapon Pornprom, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand. E-mail: agrtpp@ku.ac.th.

distance) was significant with $r = -0.84^{**}$. Our finding suggests that classification of itchgrass by morphological traits is related with the analysis of the genetic relationship of itchgrass with AFLP analysis. This can be used to assess the genetic diversity of itchgrass with a potential for allelopathy.

Key words: AFLP analysis, allelopathy, genetic diversity, itchgrass, morphological traits.

INTRODUCTION

The chemical compounds released from plant as exudation from root, leaching from plant or decomposition of residues to the environment which own the adverse phytotoxin activity known as allelopathy (9,13). It has been a recognized as a phenomenon for many years. The allelochemical from several plants were reported in oat (17), sorghum (4), wheat (32), jackbean (5), sunflower (28), and itchgrass (18,23). However, the knowledge of the potential for the allelopathic compound has the potential to provide the basis of physiology, biochemistry, and genetics to comprehend the role of allelopathy in an agricultural system.

Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton) is an annual upland weed, self-pollinated, and widely distributed in the tropical and subtropical regions of the world (1,2,24). The plant has become a dominant species in some regions. This species represents a potentially serious weed problem in many regions, particularly in Thailand. Not only does it pose a serious problem in several crops such as soybean, maize, and sugarcane, but orchard fields are also widely affected (20,33,23). The competition of itchgrass in field crops leads to yield losses and a reduction of crop quality. Conversely, farmers in Chaehom-Lampang in northern Thailand cultivate itchgrass as mulching material for weed control in vegetable fields. The allelopathic

activity of itchgrass is thought to be released into soil under natural field conditions (18,23,6). This species is expected to release allelochemicals that have allelopathic effects on nearby plants. However, it shows a wide diversity in morphological, biological, and physiological features. Each morphotype would have different competitive abilities; thus, itchgrass management potentially can be geared toward plant types.

Environment variation such as climatic, edaphic, and biotic factors can effect morphological and physiological characteristics of weeds and cause of the evolution of new weed biotypes (39). The appearance and dispersal of itchgrass in different areas needs to be considered to classify itchgrass accessions into certain phenotypic groups relevant to itchgrass management. In 1993, Millholon and Burner (24) who analyzed itchgrass collected from 34 countries, indentified five biotypes based on general morphologies and growth patterns. Alves *et al.* (2) classified itchgrass collected from six regions in Brazil with the application of both molecular marker and morphological traits. Furthermore, three major groups were reported in Peninsular Malaysia based on the variations in growth behavior of itchgrass (1). Techniques based on DNA sequencing have been utilized with great accuracy to conduct taxonomic studies and amplified fragment length polymorphism (AFLP) marker is applied for genetic diversity with more polymorphic (29) and high capability to reveal genetic diversity among *Echinochloa* species (34). To assess genetic diversity of several crops, AFLPs were applied on plum (12), peach (3), pumpkin (11), soybean (35), sesame (19), bread wheat (10), and potato (37). Molecular markers can be used to study the association between genotype and morphological traits. Zhao *et al.* (38) reported the genetic variation of *Brassica rapa* with AFLP and the morphological data such as those of leaf traits, flowering time, and phytate content. Kantartzi and Stewart (15) identified 58 cotton

germplasm accessions to evaluate fiber trait and their diversity by means of DNA markers. Skot *et al.* (31) studied the heading date of natural populations of perennial ryegrass and identify genetic diversity with AFLP markers.

The genetic diversity of itchgrass can be investigated in terms of both morphological traits and molecular markers for the classification of the possibility of allelopathy characteristics of itchgrass in different areas. Sustainable itchgrass management necessitates a thorough comprehension of the itchgrass biodiversity and the traits of particular types which can modify the competitiveness. However, limited information is available on the morphological and genetic diversity of itchgrass in Thailand in relation to weed management. Therefore, the objectives of this study were: (1) to investigate of the possibility of an allelopathy potential of itchgrass from diverse areas within the main crop-growing regions of Thailand; (2) to investigate the diversity of itchgrass based on the main morphological traits; and (3) to evaluate the genetic diversity for the clustering of itchgrass by the application of AFLP analysis for the classification of a potent allelopathy in itchgrass and solutions for its management.

MATERIALS AND METHODS

Phytotoxicity of water-soluble extract from itchgrass on test plant seedling growth

The sampling areas of itchgrass are located in three regions of Thailand. Northern of Thailand is located in the northern mountainous region between 17°-20° N and 97°-101° E with the average temperature to be 23-28°C. It is the region ranges in rainfall from 105 mm to 952 mm. While northeast region of Thailand that is located between 14° 08'-18 ° 26' N and 100° 52'-105 ° 38' E, and central region of Thailand that is located between 17° 45'-13° 15' N and 98° 55'-101° 35' E with the average temperature 24-28.5°C and 26-30°C and rainfall range from 72 mm to 1,086 mm and

from 124 mm to 903 mm, respectively. The allelopathic activity of itchgrass from three main areas of distribution which were farmer's field in Chaehom, Lampang (CH-LP) as representative of the northern region, the experiment field at the Department of Agronomy, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom (KPS-NP; from the central region), and the experiment field at the National Corn and Sorghum Research Center, Pak Chong, Nakhon Ratchasima (PC-NR; from the northeast region) was investigated and segregated on the basis of uniform environmental and agronomical conditions. Mature itchgrass plants grown in upland fields from three diverse areas were harvested and separated into shoots and roots. These plant portions were individually cut into 1-2 cm sections, air-dried at 40°C for one week, and ground into a powder with an electrical grinder to pass a 0.5 mm screen mesh. The itchgrass powder was stored in plastic bottles at -20°C until used.

The water-soluble extracts of itchgrass were obtained in accordance with the modified methodology reported by Casini *et al.* (6). The water-soluble extract was prepared by saturation of 500 mg itchgrass powder with 100 mL distilled water for 24 h, the extraction was subsequently filtrated through a Whatman No.5 filter paper. Distilled water was used to establish disparate quantities of itchgrass from the original extract equivalent to 0, 5, 10, 50, and 100 mg mL⁻¹ with a pH level of the extract in the range of 6.4-6.6. A seedling (radical ~ 2 mm) of *Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv., *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Sch. Biq., *Oryza sativa* L. var. RD 6, and *Lactuca sativa* L. var. OP. was placed in a Petri dish lined with filter paper and saturated with 4 mL of water-soluble extracts of varied concentrations. The Petri dish was kept in an incubator at 25°C for 24 h once moistened, in accordance with the method outlined by Meksawat and Pornprom (23). Both shoot and root lengths of the test plant seedlings were measured 5 days after planting (DAP). The experimental design was arranged as a 2×5

factorial in a completely randomized design (CRD) with 4 replications. All data were subjected to an analysis of variance (ANOVA) and evaluated with the application of the R-program. Treatment means were compared with Duncan's multiple range test.

Morphological cluster analysis

Classification of itchgrass based on morphological traits was conducted with collected itchgrass seeds from ten different areas within the main crop-growing regions of Thailand. Chaehom-Lampang (CH-LP), Amphur Muang-Chiang Mai (AM-CM), and Si Thep-Phetchabun (ST-PB) are located in northern region. The sampling areas in central region are Phrom Phiram-Phitsanulok (PR-PL), Amphur Muang-Nakhon Sawan (AM-NS), Bang Yai-Nonthaburi (BY-NB), and Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom (KPS-NP). Pak Chong-Nakhon Ratchasima (PC-NR) and Kamalasai-Kalasin (KL-KS) are located in northeast region. Amphur Muang-Chachoengsao (AM-CS) is in east region. The itchgrass seeds were stored at 7°C until the initiation of the experiment.

A single itchgrass seedling was transplanted in the center of a pot (25 cm diameter, 30 cm height) which contained the air-dried and sieved Kamphaeng Saen soil (sand = 52.64%, silt = 6.94%, clay = 40.42%, pH (1:1) = 7.9, organic matter = 1.1%, total nitrogen = 0.095%, Field capacity = 21.45%, and Permanent wilting point = 7.47%). The pots were watered every second day with tap water to attain an available moisture capacity (dependant on the physical properties of the soil basis) and were placed in a greenhouse at the Field Laboratory, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus. The data were collected in different growth stages such as the 2-3 leaf stage, tillering, flowering, and maturation with measurements of inflorescence length, leaf length, plant height, number of seeds: inflorescence, 1000 seeds weight, seed size, trichomes, leaf blade color, leaf sheath

color, stem color, root color, etc. The morphological characteristic data were standardized and then the Euclidean distance coefficients were calculated for all pairs of the samples using the similarity of interval data (SimInt) module of the software package. The cluster analysis was performed according to the unweighted pair group method with arithmetic averages (UPGMA method) based on: trichomes, the color (ligule, leaf sheath, and stem), as well as seed size (width, length, and 1,000 seed weight) with the SAHN algorithm; the goodness of fit of the clustering compared with the basic data matrix was tested by computation of the cophenetic correlation coefficient using the normalized Mantel statistics Z test through the Coph and MxComp algorithm. All commands were created with the application of the NTSYSpc software package version 2.01e (22,30).

AFLP analysis for clustering of itchgrass

Classification of the possibilities an allelopathic potential of itchgrass with AFLP techniques was conducted at the DNA Technology Laboratory, BIOTEC at Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus. Fresh leaf tissue at the 2-3 leaf stage was harvested from each location as described above, frozen in liquid nitrogen. Subsequently, 100 mg of the frozen leaf were used for DNA extraction with the modified method described by Doyle and Doyle (8) and Cullings (7). The DNA analysis using AFLP markers was conducted as described by Vos *et al.* (36). In brief, isolated genomic DNA (100 ng) was digested with *EcoRI* and *MseI* restriction enzymes, a total of five AFLP selective primer combinations were used for selective amplification, such as E-ACA : M-CGA, E-ACA : M-CGC, E-ACA : M-CGG, E-ACA : M-CGT, and E-ACC : M-CGG and amplification products were detected with denaturing Polyacrylamide Gel Electrophoresis and silver staining.

AFLP bands throughout the gel profiles were scored visually as present (1) or absent (0) across ten itchgrass locations. The total number of fragments scored, the number of polymorphic fragments, and the percentage of polymorphic fragments were determined for each primers used. Genetic similarity based on the Jaccard coefficient was calculated and the UPGMA method was used. Cluster analysis with the application of the NTSYSpc program for Windows Version 2.01e was utilized to represent the results in a Phylogenetic tree (14,30). To determine the relationship of genetic similarity/distance between AFLP and morphological traits, simple correlation were determined with PAST.exe version 2.10 (<http://folk.uio.no/ohammer/past>).

RESULTS AND DISCUSSION

Phytotoxicity of water-soluble extract from itchgrass on test plant seedling growth

The allelopathic effect was investigated on itchgrass from three sites located in the main crop-growing regions of Thailand; a northern (CH-LP), a central (KPS-NP), and a northeast (PC-NR) area. The allelopathic effect of itchgrass on seedling growth of the test plants was determined with the whole-plant bioassay test. The phytotoxic activity of water-soluble extract from itchgrass on growth of the test plants seedlings is presented in Tables 1 and 2.

In general, water-soluble extracts from the root were found to have an elevated inhibitory effect on both the shoot and root growth of the test plants, but was not significantly different from those of the shoot extracts with the exception of *O. sativa* L. var. RD 6 which was not inhibited. For itchgrass from CH-LP, the water-soluble extraction was more phytotoxic to the test plant seedling growth than the extraction from KPS-NP and PC-NR. It was not significantly inhibited to *O. sativa* L. var. RD 6 even though concentrations were increased. However, the water-soluble extracts of

itchgrass from both KPS-NP and PC-NR were found not to significantly affect the growth of all the test plant seedlings.

The itchgrass root extraction from CH-LP was more phytotoxic on the root length than the extracts from the itchgrass shoots, with the exception of the shoot growths of *E. crus-galli* (Linn.) P. Beauv. and *L. sativa* L. var. OP. which proved not to be significantly inhibited by the extracts from the itchgrass root compared with the extract from the itchgrass shoot. In addition, with increased concentrations of the water-soluble extracts, the inhibition on shoot and root growth proved to be more perceptible. Allelochemicals present in weed extracts reduced shoot and root growth by an average of 50% and 70%, respectively at the highest concentration of the extract.

Itchgrass represents the allelopathic properties to reduce germination and growth of test plant. For each species the inhibitory potentials against *Echinochloa crus-galli* L. P. Beauv., *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Sch. Biq., and *Lactuca sativa* L. var. OP. caused by the allelopathic characteristics of itchgrass on seedling growth of test plants was found to be evident. These findings suggest that the root growth of the test plant seedlings is more sensitive to the extracts from itchgrass than the shoot growth because the roots were continuously in direct contact with the extracts. This result is supported by Kobayashi *et al.* (18), as well as Meksawat and Pornprom (23), who reported that the root growth of test plants was more sensitive to the allelochemicals from itchgrass than the shoot growth. The result suggests root growth to be more sensitive to phytotoxic chemicals from itchgrass than shoot growth. This result is similar to that of Kato-Noguchi (16), who reported that lemon balm shoot (*Melissa officinalis*) extraction has the allelopathic activities to inhibit seed germination and seedling growth of cockscomb, cress, crabgrass, timothy, lettuce, and ryegrass; furthermore, Nakano *et al.* (27), extracted allelochemical from foliage of mesquite which inhibited barnyard grass

root growth. In addition, Nakano *et al.* (26) investigated the allelopathic activity of wheat straw to inhibit lettuce and garden cress root growth.

Itchgrass from a farmer's field in CH-LP in northern Thailand has a greater inhibitory effect than samples obtained from other sites. This is an indication for the inconstancy in the allelopathic potential of itchgrass from diverse origins. Such a divergence in allelopathic potential is potentially related to genetic and environmental factors. These results are supported by the findings of Zuo *et al.* (40), who reported on, the synergistic relationship between the allelopathic potential, genetic, chemicals, and ecological factors in wheat to not only affect both the stable and unstable allelopathic potentials but also relatively strong or weak allelopathic abilities. A formal comprehension of the genetic diversity and morphological traits is called for the purpose of the classification of the allelopathic potential of itchgrass.

Morphological cluster analysis

The dendrogram of itchgrass cluster analysis in each accession based on morphological traits analysis is presented in Figure 1. The cluster analysis with the application of the UPGMA method allows to split itchgrass into two main clusters as follows; group A included seven locations, with all further specimens categorized into group B which was composed of three locations as shown in Figure 1. The results indicated that group A consists of itchgrass from CH-LP, Si Thep-Phetchabun (ST-PB), Phrom Phiram-Phitsanulok (PR-PL), Amphur Muang-Nakhon Sawan (AM-NS), Kamalasai-Kalasin (KL-KS), Amphur Muang-Chachoengsao (AM-CS), and Bang Yai-Nonthaburi (BY-NB); whereas itchgrass samples from Amphur Muang-Chiang Mai (AM-CM), Pak Chong-Nakhon Ratchasima (PC-NR), and Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom (KPS-NP) constitute group B.

Itchgrass in group A was determined to possess some distinct morphological traits, for instance the color (leaf sheath, stem and ligule), trichomes, size of seed (length and width), and 1,000 seed weight in comparison to the itchgrass samples in group B. Moreover the itchgrass samples from CH-LP (strong-allelopathy potential) were found to belong to Group A, and the itchgrass samples from KPS-NP and PC-NR with weak-allelopathy potential to be assigned to Group B. The result is an indication for the presence of some morphological traits which can be used for the preliminary classification of a potent allelopathy in itchgrass such as soft trichomes, and the color (stems and roots) which was found to be dark purple.

The genetic diversity of itchgrass was investigated as to allow for the classification of the potential of itchgrass with allelopathy characteristics of diverse origin through analysis of the main morphological traits of such plants. Itchgrass accessions were characterized by means of examination of the main morphological traits for the clustering of the specimens. Principal coordinate analysis of morphological traits of itchgrass from ten diverse locations was reported. Based on the morphological traits, data from ten locations, the cophenetic correlation between clusters, and the morphological traits similarity data gave a good fit ($r = 0.91936$). To assess genetic diversity of itchgrass, ten accessions of itchgrass collected from the main crop-growing regions of Thailand were investigated. This screening had the aim to select the more promising itchgrass species for further chemical separation to isolate and identify phytotoxic compounds. The morphological traits related to allelopathy potential of itchgrass from CH-LP with soft trichomes and dark purple stem and root has the high potential for allelopathy compared with a diminutive soft trichomes and green stem and root. The findings of some dissimilar morphological traits can be applied for classification based on whether specific plant species are consistent with other reported

groups. For instance, the plant height, number of leaves, number of seeds/plant, secondary culm diameter, and the weight of 100 intact or dehulled seeds were the most significant characteristics which provides strong evidence for the existence of three itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) groups in Peninsular Malaysia (1). Even though the limitation of morphological traits for species classification is affected by both genetic and environment factors in identical conditions, the morphological traits do not differentiate from those of the itchgrass in the original region. This is an indication for the morphology of itchgrass to be dependant on the genotype rather than the environment.

AFLP analysis for clustering of itchgrass

A total of five AFLP primer combinations were used to classify ten diverse locations of itchgrass which yielded clearly distinct bands on clustering. The results revealed a cophenetic correlation between clusters and the genetic similarity data to result in a very good fit ($r = 0.9997$). The cluster analysis was performed on all the data obtained from all five primer pairs with 206 polymorphic alleles. The dendrogram was obtained using the Jaccard's coefficients in Table 3 shown in Figure 2. The Jaccard's similarity coefficients ranged from 0.1991 to 0.9907. The highest similarity (0.9907) for pair wise comparisons among the 10 accessions was between accessions AM-CM and KPS-NP, and the lowest similarity (0.1991) was obtained between KL-KS versus PC-NR and for CH-LP versus PC-NR (Table 3). The results are illustrated as a dendrogram in Figure 2. Two main groups (A and B) are evident in the phenogram. Group A, comprised the seven locations of the itchgrass samples, which revealed an average similarity of 0.84. Group B showed the highest average similarity (0.98) including itchgrass from three locations. The percentage similarity was clearly elevated among

these samples. The results indicate a segregation of itchgrass into two groups: the first group consists of itchgrass from CH-LP, Si Thep-Phetchabun (ST-PB), Phrom Phiram-Phitsanulok (PR-PL), Amphur Muang-Nakhon Sawan (AM-NS), Kamalasai-Kalasin (KL-KS), Amphur Muang-Chachoengsao (AM-CS), and Bang Yai-Nonthaburi (BY-NB); whereas itchgrass from Amphur Muang-Chiang Mai (AM-CM), Pak Chong-Nakhon Ratchasima (PC-NR), and Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom (KPS-NP) constitutes the second group.

The AFLP data suggests that samples from ST-PB, PR-PL, AM-NS, KL-KS, AM-CS, and BY-NB are closely related to CH-LP in respect to the potential allelopathy in itchgrass, while itchgrass from AM-CM, PC-NR, and KPS-NP is a weak-allelopathy potential group. Itchgrass can be described two large groups which are suspected to release allelochemicals and/or is a major weed widely distributed in maize and sugarcane fields. The analyses were useful to readily of these plants and pronounce wide genetic diversity of itchgrass in Thailand. The correlation of the similarity/distance estimates between AFLP markers (Jaccard coefficient) and morphological traits (Euclidean distance) was significant with $r = -0.84^{**}$. Therefore, all similarity and distance between itchgrass accessions were related. Our result indicates that itchgrass from CH-LP has the effect to test plant species as allelopathic activity which it was cluster in different group by both morphological and AFLP clustering. Another group clustered itchgrass from PC-NR and KPS-NP in the same group. When morphological clustering was compared with AFLP clustering for group A from morphological data, seven itchgrass accessions (KL-KS, BY-NB, AM-CS, PR-PL, AM-NS, CH-LP, and ST-PB) were grouped in the same as group A based on the AFLP data. Group B from morphological data clustered three itchgrass accessions (AM-CM, KPS-NP, and PC-NR) into the group that was the same AFLP clustering.

The genetic variation of itchgrass was investigated as to classify the possibility of allelopathy talented of itchgrass from different areas by examination of both the main morphological traits and the genetic analysis using AFLP to be further applied. The results suggest that molecular analysis was strongly supported by the dendrogram the preliminary study in morphological analysis clustering. The significance of similarity/distance coefficient from morphological traits and AFLP markers correlation indicates some morphology characteristics to be related to the genetic diversity of itchgrass. These results are in line with those of Na *et al.* (25), who reported a positive correlation between the genetic distance and the geographic distance to be clearly evident among *Typha* species in East Asia. The examined morphological traits and AFLP analysis generally confirmed the distinction of the two separated groups obtained from the cluster analysis. This suggests that the classification of itchgrass by morphological traits is related to the analysis of the genetic relationship of itchgrass with AFLP. This can be used to assess the genetic diversity of itchgrass with a potential for allelopathy.

On the basis of the results yielded by the present analysis, some divergences between the various itchgrass species have been singled: itchgrass from KPS-NP and PC-NR appear to be less effective on shoot and root growths of the test plant, while the seedling growth of the test plants was found to be significantly inhibited by itchgrass from CH-LP, with the exception of *O. sativa* L. var. RD 6 which is not inhibited. However, research on the interaction of such exudates in soil with other elements such as microorganisms, soil components, as well as the activity of pre- and post-emergence, and the mode of action on the developing seed and seedling growth appears to be absent. Moreover, the accumulation and persistence of allelochemicals in the soil after the residue incorporation needs to be determined. The results of the present study

suggest that some morphological traits can be used for a preliminary classification of the allelopathy potential of itchgrass in fields, which are beneficial to weed control, as the non-allelopathy potential group needs to be controlled and itchgrass allocated to the allelopathic group is suggested to be used in weed management in cropping system.

In conclusion, itchgrass from CH-LP located in northern of Thailand shows the potential of a strong allelopathic species. Genetic diversity based on both morphological and AFLP markers are related, and high potential for allelopathic itchgrass was clustered separately from a high potential for allelopathic itchgrass supported by both data sets. The development of weed management, which can avoid the overuse of herbicides, is one of the major challenges in agrochemical research. In recent years, the development of herbicides from naturally-occurring plant chemicals has become an important issue due to the potential of the reduction of detrimental environmental impacts, negative effects on human health, and the evolution of herbicide-resistant weed populations. The information obtained can be potentially utilized in the development of bio-herbicide for future weed management. Therefore, further steps towards an identification of allelochemicals substances of itchgrass needs to be focused on in future research. Work on allelopathy genetics is significant and should thus be continued as to attain further comprehension of the function of genes which are responsible for the presence of allelochemicals produced from physical and biochemical mechanisms in plant combination with identified genes.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was partly supported by the Thailand Research Fund (RSA 5280004), and the Royal Golden Jubilee Ph.D. Program (PHD/0023/2552) and the Kasetsart University Research and Development Institute. Special thanks is due to Mr.

Sandro Kunz, the Graduate School, Kasetsart University for his efforts in editing this manuscript.

REFERENCES

1. Alloub, H., Juraimi, A.S., Rajan, A., Kadir, J., Saad, M.S. and Sastroutomo, S. (2005). Growth behavior of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) in Peninsular Malaysia. *Weed Biology and Management* **5**: 8–13.
2. Alves, P.L.C.A., Bachega, M.F., Moro, J.R., Lemos, M.V.F., Alves, E.C.C., Silva, M.A.S. and Moro, F.V. (2003). Identification and characterization of different accessions of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*). *Weed Science* **51**: 177–180.
3. Aranzana, M.J., Carbo, J. and Arus, P. (2003). Using amplified fragment-length polymorphisms (AFLPs) to identify peach cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science* **128**: 672–677.
4. Ben-Hammouda, M., Kremer, R.J. and Minor, H.C. (1995). Phytotoxicity of Extracts from Sorghum Plant Components on Wheat Seedlings. *Crop Science* **35**: 1652–1656.
5. Caamal-Maldonado, J.A., Jimenez-Osornio, J.J., Torres-Barragan, A. and Anaya, A.L. (2001). The Use of Allelopathic Legume Cover and Mulch Species for Weed Control in Cropping Systems. *Agronomy Journal* **93**: 27–36.
6. Casini, P., Vecchio, V. and Tamantini, I. (1998). Allelopathic interference of itchgrass and cogongrass germination and early development of rice. *Tropical Agriculture* **75**: 445–451.
7. Cullings, K.W. (1992). Design and testing of a plant-specific PCR primer for ecological and evolutionary studies. *Molecular Ecology* **1**: 233–240.
8. Doyle, J.J. and Doyle J.L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem Bull* **19**: 11–15.
9. Duke, S.O. (2007). The emergence of grass root chemical ecology. *PNAS* **104**: 16729–16730.
10. Eivazi, A.R., Naghavi, M.R., Hajheidari, M., Pirseyedi, S.M., Ghaffari, M.R., Mohammadi, S.A., Majidi, I., Salekdeh, G.H. and Mardi, M. (2007). Assessing wheat (*Triticum aestivum* L.)

genetic diversity using quality traits, amplified fragment length polymorphisms, simple sequence repeats and proteome analysis. *Annals of Applied Biology* **152**: 81-91.

11. Ferriol, M., Pico, B. and Nuez, F. (2003). Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theor Appl Genet* **107**: 271-282.

12. Goulão, L., Monte-Corvo, L. and Oliveira, C. (2001). Phenetic characterization of plum cultivars by high multiplex ratio markers: Amplified Fragment Length Polymorphisms and Inter-Simple Sequence Repeats. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences* **126**: 72-77.

13. Inderjit and Duke, S.O. (2003). Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta* **217**: 529–539.

14. Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull Soc Vaud Sci Nat* **44**: 223–270.

15. Kantartzis, S.K. and Stewart, J.M. (2008). Association analysis of fibre traits in *Gossypium arboreum* accessions. *Plant Breeding* **127**: 173-179.

16. Kato-Noguchi, H. (2001). Effects of lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract on germination and seedling growth of six plants. *Acta Physiologiae Plantarum* **23**: 49-53.

17. Kato-Noguchi, H., Kosemura, S., Yamamura, S., Mizutani, J. and Hasegawa, K. (1994). Allelopathy of oats. I. Assessment of allelopathic potential of extract of oat shoots and identification of an allelochemical. *Journal of Chemical Ecology* **20**: 309-314.

18. Kobayashi, K., Itaya, D., Mahatamnuchoke, P. and Pornprom, T. (2008). Allelopathic potential of itchgrass (*Rottboellia exaltata* L. f.) powder incorporated into soil. *Weed Biology and Management* **8**: 64–68.

19. Laurentin, H. and Karlovsky, P. (2007). AFLP fingerprinting of sesame (*Sesamum indicum* L.) cultivars: identification, genetic relationship and comparison of AFLP informativeness parameters. *Genetic Resources and Crop Evolution* **54**: 1437–1446.

20. Lejeune, K.R., Griffin, J.L., Reynolds, D.B. and Saxton, A.M. (1994). Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) interference in soybean (*Glycine max*). *Weed Technology* **8**: 733-737.

21. Lencse, R.J. and Griffin, J.L. (1991). Itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis*) interference in sugarcane (*Saccharum* sp.). *Weed Technology* **5**: 396-399.
22. Mantel, N.A. (1967). The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Research* **27**: 209–220.
23. Meksawat, S. and Pornprom, T. (2010). Allelopathic effect of itchgrass (*Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton) on seed germination and plant growth. *Weed Biology and Management* **10**: 16-24.
24. Millhollon, R.W. and Burner, D.M. (1993). Itchgrass (*Rottboellia exaltata*) biotypes in world populations. *Weed Science* **41**: 379–387.
25. Na, H.R., Kim, C. and Choi, H.K. (2010). Genetic relationship and genetic diversity among *Typha* taxa from East Asia based on AFLP markers. *Aquatic Botany* **92**: 207–213.
26. Nakano, H., Morita, S., Shigemori, H. and Hasegawa, K. (2006). Plant Growth Inhibitory Compounds from Aqueous Leachate of Wheat Straw. *Plant Growth Regulation* **48**(3):215-219.
27. Nakano, H., Nakajima, E., Fujii, Y., Yamada, K., Shigemori, H. and Hasegawa, K. (2003). Leaching of the allelopathic substance, -tryptophan from the foliage of mesquite (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC.) plants by water spraying. *Plant Growth Regulation* **40**(1): 49-52.
28. Ohno, S., Tomita-Yokotani, K., Kosemura, S., Node, M., Suzuki, T., Amano, M., Yasui, K., Goto, T., Yamamura, S. and Hasegawa, K. (2001). A species-selective allelopathic substance from germinating sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds. *Phytochemistry* **56**: 577-581.
29. Powell, W., Morgante, M. and Andre, C. (1996). The comparison of RFLP, RADP, AFLP, and SSR (microsatellite) markers for germoplasm analysis. *Molecular Breeding* **2**: 225-238.
30. Rohlf, F.J. (1998). *NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system*. Version 2.0, user's guide, New York.
31. Skot, L., Humphreys, M.O., Armstead, I., Heywood, S., Skot, K.P., Sanderson, R., Thomas, I.D., Chorlton, K.H. and Hamilton, N.R.S. (2005). An association mapping approach to identify flowering time genes in natural populations of *Lolium perenne* (L.). *Molecular Breeding* **15**: 233–245.

32. Steinsiek, J.W., Oliver, L.R. and Collins, F.C. (1982). Allelopathic potential of wheat (*Triticum aestivum*) straw on selected weed species. *Weed Science* **30**: 495–497.
33. Strahan, R.E., Griffin, J.L., Reynolds, D.B. and Miller, D.K. (2000). Interference between *Rottboellia cochinchinensis* and *Zea mays*. *Weed Science* **48**: 205-211.
34. Tabacchi, M., Mantegazza, R., Spada, A. and Ferrero, A. (2006). Morphological traits and molecular markers for classification of *Echinochloa* species from Italian rice fields. *Weed Science* **54**: 1086–1093.
35. Tara Satyavathi, C., Bhat, K.V., Bharadwaj, C., Tiwari, S.P. and Chaudhury, V.K. (2006). AFLP analysis of genetic diversity in Indian soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] varieties. *Genetic Resources and Crop Evolution* **53**: 1069–1079.
36. Vos, P., Hogers, R. and Bleeker, M. (1995). AFLP a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* **23**: 4407–4414.
37. Wang, F., Li, F., Wang, J., Zhou, Y. and Sun, H. (2011). Genetic Diversity of the Selected 64 Potato Germplasms Revealed by AFLP Markers. *Molecular Plant Breeding* **2**(4): 22-29.
38. Zhao, J., Paulo, M.J., Jamar, D., Lou, P., Eeuwijk, F., Bonnema, G., Vreugdenhil, D. and Koornneef, M. (2007). Association mapping of leaf traits, flowering time, and phytate content in *Brassica rapa*. *Genome* **50**: 963-973.
39. Zimdahl, R.L. (1993). *Weed ecology, in Fundamentals of Weed Science*. Academic Press, New York, USA.
40. Zuo, S.P., Ma, Y.Q. and Inanaga, S. (2007). Allelopathy variation in dryland winter wheat (*Triticum aestivum* L.) accessions grown on the Loess Plateau of China for about fifty years. *Genetic Resources and Crop Evolution* **54**: 1381–1393.

Table 1 Phytotoxic of water-soluble extracts from each part of itchgrass on shoot growth of test plants.

Treatment	<i>Echinochloa crus-galli</i> (Linn.) P. Beauv.				<i>Bidens pilosa</i> L. var. <i>radiata</i> Sch. Biq.				<i>Lactuca sativa</i> L. var. OP				<i>Oryza sativa</i> L. var. RD 6			
	CH-LP	KPS- NP	PC- NR	CH- LP	KPS-NI	PC- NR	CH- LP	KPS-NI	PC- NR	CH- LP	KPS-NI	PC- NR	CH- LP	KPS- NP	PC- NR	
cm																
Water soluble extract																
Water extract from shoot	1.7	1.7	1.8	1.3 a	1.3	1.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	1.5	1.5	1.5	1.5
Water extract from root	1.7	1.6	1.8	1.1 b	1.3	1.3	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.5	1.4	1.5	1.4	1.4
<i>F-test</i>	ns	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Concentration (mg.mL ⁻¹)																
0	1.9 ab	1.8	1.7	1.7 a	1.3	1.3	0.5 a	0.4	0.4	0.5	0.5	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
5	2.3 a	1.7	1.8	1.4 ab	1.2	1.3	0.5 a	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	1.6	1.8	1.4	1.4
10	2.2 ab	1.5	1.7	1.3 b	1.3	1.2	0.4 a	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	1.6	1.1	1.4	1.4
50	1.7 b	1.6	2.0	1.1 c	1.3	1.3	0.2 b	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	1.4	1.6	1.4	1.4
100	0.3 c	1.7	1.8	0.5 d	1.3	1.3	0.2 b	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	1.4	1.7	1.4	1.4
<i>F-test</i>	**	ns	ns	**	ns	ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Water soluble extract × Concentration	ns	**	ns	**	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
C.V. (%)	16.65	10.11	10.84	11.70	9.68	7.83	28.13	15.21	13.27	16.18	30.37	14.59				

^{1/} Means in the same column followed by the same letters are not significantly different by DMRT

ns = not-significant * = significantly different at 5 % ** = significantly different at 1 %

CH-LP = Chaehom-Lampang, KPS-NP = Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom, and PC-NR = Pak Chong-Nakhon Ratchasima

Table 2 Phytotoxic of water-soluble extracts from each part of itchgrass on root growth of test plants.

Treatment	<i>Echinochloa crus-galli</i> (Linn.) P. Beauv.				<i>Bidens pilosa</i> L. var. <i>radiata</i> Sch. Biq.				<i>Lactuca sativa</i> L. var. OP				<i>Oryza sativa</i> L. var. RD 6			
	CH-LP	KPS- NP	PC- NR		CH- LP	KPS- NP	PC- NR		CH- LP	KPS-NI	PC- NR		CH- LP	KPS- NP	PC- NR	
cm																
Water soluble extract																
Water extract from shoot	3.0 a	3.0	4.6		1.9 a	2.4	2.4		2.8 a	3.2	3.4		2.6	2.7	3.1	
Water extract from root	2.5 b	2.9	4.5		1.7 b	2.6	2.3		2.2 b	3.5	3.4		2.6	2.5	2.9	
<i>F-test</i>	**	ns	ns		**	ns	ns		**	ns	ns		ns	ns	ns	
Concentration (mg.mL ⁻¹)																
0	4.1 a	3.0	4.8		2.4 a	2.5	2.3		3.8 a	3.3	3.6		2.7	2.4	3.0	
5	4.3 a	2.8	4.9		2.2 ab	2.4	2.5		3.5 a	3.3	3.5		2.7	2.9	2.9	
10	3.7 a	2.9	4.2		2.1 b	2.3	2.3		2.8 b	3.6	3.4		2.6	2.3	3.0	
50	1.6 b	3.0	4.5		1.5 c	2.6	2.3		1.6 c	3.3	3.4		2.5	2.8	3.0	
100	0.2 c	3.0	4.5		0.8 d	2.7	2.4		0.7 d	3.2	3.2		2.4	2.7	3.3	
<i>F-test</i>	**	ns	ns		**	ns	ns		**	ns	ns		ns	ns	ns	
Water soluble extract × Concentration	**	ns	ns		ns	*	**		**	ns	ns		ns	ns	ns	
C.V. (%)	16.46	8.84	13.14		12.99	13.70	12.49		12.20	11.68	7.66		14.73	24.04	17.62	

^{1/} Means in the same column followed by the same letters are not significantly different by DMRT

ns = not-significant * = significantly different at 5 % ** = significantly different at 1 %

CH-LP = Chaehom-Lampang, KPS-NP = Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom, and PC-NR = Pak Chong-Nakhon Ratchasima

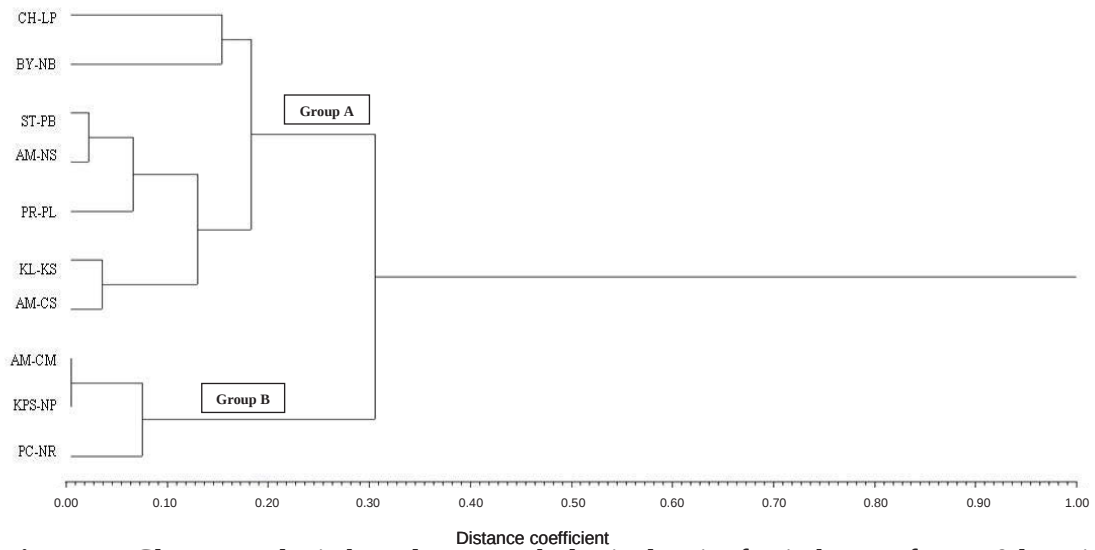


Figure 1 Cluster analysis based on morphological traits for itchgrass from 10 locations according to the grouping from UPGMA method using NTSYS; CH-LP = Chaehom-Lampang, AM-CM = Amphur Muang-Chiang Mai, ST-PB = Si Thep-Phetchabun, PR-PL = Phrom Phiram-Phitsanulok, AM-NS = Amphur Muang-Nakhon Sawan, PC-NR = Pak Chong-Nakhon Ratchasima, KL-KS = Kamalasai-Kalasin, AM-CS = Amphur Muang-Chachoengsao, BY-NB = Bang Yai-Nonthaburi, and KPS-NP = Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom.

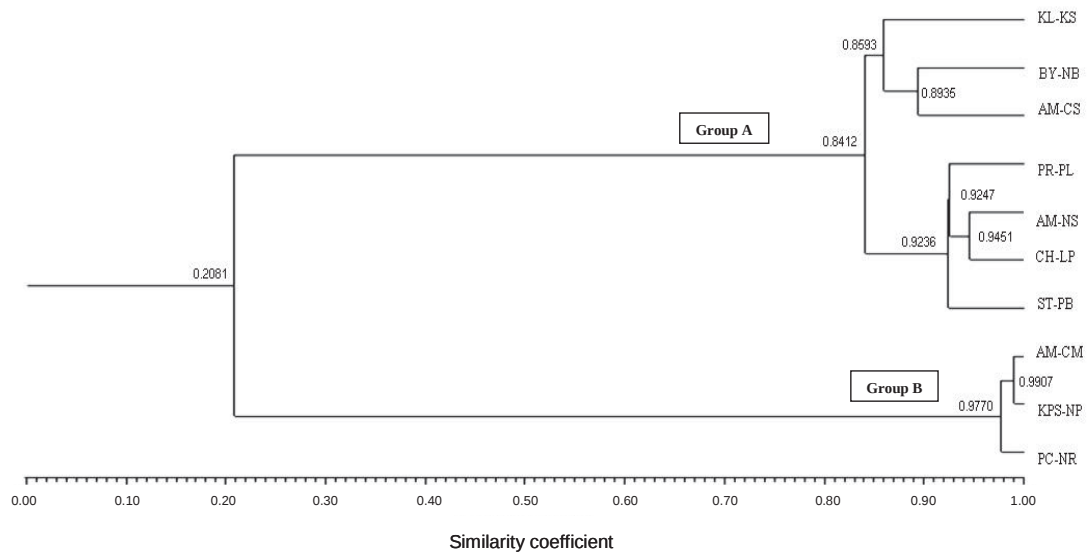


Figure 2 The Dendrogram obtained with cluster analysis of AFLP data in each accession; CH-LP = Chaehom-Lampang, AM-CM = Amphur Muang-Chiang Mai, ST-PB = Si Thep-Phetchabun, PR-PL = Phrom Phiram-Phitsanulok, AM-NS = Amphur Muang-Nakhon Sawan, PC-NR = Pak Chong-Nakhon Ratchasima, KL-KS = Kamalasai-Kalasin, AM-CS = Amphur Muang-Chachoengsao, BY-NB = Bang Yai-Nonthaburi, and KPS-NP = Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom.

Table 3 Similarity matrix for the 10 locations of itchgrass by Jaccard's coefficient based on AFLP data.

Sample	KL-KS	PR-PL	AM-NS	ST-PB	BY-NB	AM-CS	CH-LP	AM-CM	PC-NR	KPS-NP
KL-KS	1.0000									
PR-PL	0.8430	1.0000								
AM-NS	0.8412	0.9268	1.0000							
ST-PB	0.8266	0.9217	0.9325	1.0000						
BY-NB	0.8639	0.8596	0.8471	0.8538	1.0000					
AM-CS	0.8547	0.8295	0.8382	0.8136	0.8935	1.0000				
CH-LP	0.8605	0.9226	0.9451	0.9167	0.8448	0.8362	1.0000			
AM-CM	0.2009	0.2091	0.2130	0.2100	0.2166	0.2127	0.2009	1.0000		
PC-NR	0.1991	0.2072	0.2110	0.2081	0.2146	0.2108	0.1991	0.9815	1.0000	
KPS-NP	0.2000	0.2081	0.2120	0.2091	0.2156	0.2117	0.2000	0.9907	0.9725	1.0000

CH-LP = Chaehom-Lampang, AM-CM = Amphur Muang-Chiang Mai, ST-PB = Si Thep-Phetchabun, PR-PL = Phrom Phiram-Phitsanulok, AM-NS = Amphur Muang-Nakhon Sawan, PC-NR = Pak Chong-Nakhon Ratchasima, KL-KS = Kamalasai-Kalasin, AM-CS = Amphur Muang-Chachoengsao, BY-NB = Bang Yai-Nonthaburi, and KPS-NP = Kamphaeng Saen-Nakhon Pathom