บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิจัยและพัฒนาเฮมพ์สายพันธุ์แท้ในรุ่นที่ 4 (S_4) เพื่อศึกษาการนำเครื่องหมายโมเลกุลที่สัมพันธ์กับเพศของเฮมพ์ไปใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ เพื่อศึกษาเครื่องหมายโมเลกุลที่สัมพันธ์กับลักษณะเปอร์เซ็นต์เส้นใยของเฮมพ์ แบ่งการศึกษาวิจัยออกเป็น 3 งานทดลอง ประกอบด้วยงานทดลองที่ 1 การวิจัยและพัฒนาเฮมพ์สายพันธุ์แท้ (Inbred line) ในรุ่นที่ 4 (S_4) ได้ปลูกทดลองเฮมพ์รุ่นที่ 4 (S_4) ประเมินลักษณะ ผสมพันธุ์ระหว่างเครือญาติรุ่นที่ 3 จำนวน 200 สายพันธุ์และสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์รุ่นที่ 4 (S_4) ได้จำนวน 339 สายพันธุ์ เฮมพ์ที่ปลูกเพื่อพัฒนาสายพันธุ์มีการกระจายตัวของลักษณะทุกลักษณะที่วัด มีฐานพันธุกรรมกว้างทั้งระหว่างสายพันธุ์และภายในสายพันธุ์ พบความสัมพันธ์ในทางบวกระหว่างทุกลักษณะที่ศึกษายกเว้นปริมาณเส้นใย ได้คัดเลือก 150 สายพันธุ์ปลูกทดสอบในรุ่นลูก รุ่นที่ 4 (S_4) แบ่งเมล็ดมาส่วนหนึ่งปลูกทดสอบในรุ่นลูกเปรียบกับพันธุ์ตรวจสอบ RPF1 RPF2 RPF3 และ RPF4 สายพันธุ์มีการกระจายตัวของลักษณะทุกลักษณะที่วัด มีฐานพันธุกรรมกว้าง พบความสัมพันธ์ในทางบวกระหว่างทุกลักษณะที่ศึกษายกเว้นปริมาณเส้นใย พบสายพันธุ์ดีเด่นเหนือพันธุ์เปรียบเทียบในทุกลักษณะประชากรในรุ่น S_4 ส่วนใหญ่มีค่าสาร THC ต่ำกว่า 0.3% และมีค่าสัดส่วน CBD:THC มากกว่า 2 ได้นำผลจากการประเมินในรุ่นลูกมาคัดเลือกสายพันธุ์โดยจะนำเมล็ดพันธุ์รุ่นที่ 4 (S_4) ส่วนที่เหลือมาปลูกเพื่อพัฒนาในรุ่นที่ 5 (S_5) และคัดเลือกสายพันธุ์เพื่อผสมพันธุ์กับพันธุ์ทดสอบต่อไป

งานทดลองที่ 2 การศึกษาเพื่อนำเครื่องหมายโมเลกุล (DNA marker) ที่สัมพันธ์กับเพศของเฮมพ์ไปใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลได้บันทึกเพศของเฮมพ์รุ่นที่ 3 จำนวน 144 ต้นเพื่อนำมาใช้ในการทดสอบความแม่นยำของเครื่องหมายโมเลกุล P5_1 ในการบ่งบอกเพศของเฮมพ์พบว่ามีความแม่นยำในการตรวจสอบเท่ากับ 80.5% การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอพบต้นเพศผู้มากกว่าและต้นตัวเมียน้อยกว่าการสังเกตด้วยตาเปล่า นอกจากนั้นยังพบต้นที่มีแถบดีเอ็นเอทั้งสองชนิดร่วมกัน 7 ต้น

งานทดลองที่ 3 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลและเปอร์เซ็นต์เส้นใย วิเคราะห์ตัวอย่างใบเฮมพ์จากต้นรุ่น S_4 ที่มีเปอร์เซ็นต์เส้นใยสูงที่สุดและเปอร์เซ็นต์เส้นใยต่ำที่สุดชนิดละ 15 ต้น ใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SSR markers จำนวน 2 ตัว ได้แก่ Cs303 และ Cs304 ผลการทดลองพบความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล Cs304 กับเปอร์เซ็นต์เส้นใย สามารถแยกความแตกต่างระหว่างแถบดีเอ็นเอได้ที่ตำแหน่ง 200 bp โดย genotype โดยชนิด (-) มีค่าเปอร์เซ็นต์เส้นใยสูงกว่าชนิด (+) แสดงว่ามีโอกาสในการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์เฮมพ์เพื่อเปอร์เซ็นต์เส้นใยได้

Abstract

The objectives of this study were to research and develop inbred lines of hemp. There were 3 experiments consist of; (1) production and evaluation of S4 lines (2) verification DNA marker for determination for hemp breeding program (3) study relationship between DNA markers percent fiber in hemp.

For Experiment 1, 200 S_3 lines were grown, sib mating and 339 S_4 lines were harvested. The S_3 generation showed large range of segregation in all agronomic characters. Large phenotypic diversities were found, both within and between lines. Significant positive correlation coefficients were found between all agronomic characters except fiber content. One hundred and fifty S_4 lines were selected. Seeds collected from S_3 generation were sown. The S_4 generation also confirmed the large range of segregation with high phenotypic diversities, both within and between lines in all agronomic characters. Most lines had THC below the 0.3% threshold and CBD:THC higher than 2. Superior lines will be selected. The remnant of selected S_4 seeds will be sown next season to develop S_5 generation and crossed to tester.

For Experiment 2, 144 plants were recorded for sex and leaf DNA analysed with P5_1 marker. Data were compared and percentage of accuracy calculated. DNA determination of sex and visual observation agreed at 80.5%. Over estimation of male and under estimation of female plants by DNA analysis was found. In addition, 7 plants were identified as heterozygous genotype.

For experiment 3, leaf samples of S_4 population were collected. Bulked DNA samples were made for high percent fiber and low percent fiber. Two microsatellite markers (Cs303 and Cs304) were used to determine the DNA pattern among the DNA bulks. Significant relationship between molecular marker Cs304 and fiber content was found. High and low fiber percentage could be differentiated at 200 bp. At this location, fiber percentage of plants identified as homozygous (-) were significantly higher than those of homozygous (+) genotypes. Therefore, it is possible to use this marker to assist in breeding for high fiber percentage in hemp.