บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิจัยและพัฒนาเฮมพ์สายพันธุ์แท้ในรุ่นที่ 3 (S_3) เพื่อ ศึกษาการนำเครื่องหมายโมเลกุลที่สัมพันธ์กับเพศของเฮมพ์ไปใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์ เพื่อศึกษา เครื่องหมายโมเลกุลที่สัมพันธ์กับลักษณะเปอร์เซ็นต์เส้นใยและปริมาณ THC ของเฮมพ์และเพื่อ ศึกษาการจัดกลุ่มพันธุ์ตามช่วงการออกดอกของเฮมพ์ แบ่งการศึกษาวิจัยออกเป็น 4 งานทดลอง ประกอบด้วยงานทดลองที่ 1 การวิจัยและพัฒนาเฮมพ์สายพันธุ์แท้ (Inbred line) ในรุ่นที่ 3 (S_3) ได้ ปลูกทดลองเฮมพ์รุ่นที่ 2 (S_2) ประเมินลักษณะ ผสมพันธุ์ระหว่างเครือญาติรุ่นที่ 2 จำนวน 53 สาย พันธุ์และสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์รุ่นที่ 3 (S_3) ได้จำนวน 266 สายพันธุ์ เฮมพ์ที่ปลูกเพื่อพัฒนาสาย พันธุ์มีการกระจายตัวของลักษณะทุกลักษณะที่วัด มีฐานพันธุกรรมกว้างทั้งระหว่างสายพันธุ์และ ภายในสายพันธุ์ พบความสัมพันธ์ในทางบวกระหว่างทุกลักษณะที่ศึกษายกเว้นปริมาณเส้นใยได้ คัดเลือก 200 สายพันธุ์ปลูกทดสอบในรุ่นลูก รุ่นที่ 3 (S_3) เรียบร้อยแล้วซึ่งจะได้เก็บเกี่ยวในช่วงต้น เดือนสิงหาคม หลังจากนั้นจะได้ประเมินลักษณะและรายงานผลในรายงานฉบับสมบูรณ์

งานทดลองที่ 2 การพัฒนาเครื่องหมาย โมเลกุล (DNA marker) สำหรับการแยกเพศไปใช้ในงาน ปรับปรุงพันธุ์เฮมพ์ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด SCAR ที่ออกแบบมาทั้งหมด 20 เครื่องหมาย จาก 10 แถบดีเอ็นเอจากเครื่องหมายโมเลกุล RPAD ที่พบว่ามีความแตกต่างระหว่างเฮมพ์เพศผู้และ เพศเมีย พบเครื่องหมายโมเลกุล SCAR marker P5_1 ที่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างดีเอ็นเอ ของเฮมพ์เพศผู้และเพศเมียได้

งานทดลองที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล และลักษณะเปอร์เซ็นต์เส้นใยสูงและ THC ต่ำ ได้ทดสอบเครื่องหมายโมเลกุลทั้ง 10 เครื่องหมายในประชากรเฮมพ์รุ่น S, ที่มีปริมาณ เปอร์เซ็นต์เส้นใยสูงและต่ำพบว่าไม่มีเครื่องหมายโมเลกุลใดเลยที่สร้างแถบดีเอ็นเอที่แตกต่าง ระหว่างเฮมพ์ที่มีปริมาณ THC สูงและต่ำ และเมื่อนำเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้สำหรับบ่งบอกชนิด ของ Cannabis ระหว่าง drug type และ fiber type ได้แก่ DTY2 พบว่าเฮมพ์ที่ใช้ในการศึกษานี้แสดง แถบดีเอ็นเอที่เป็นชนิดของ fiber type สำหรับลักษณะปริมาณเปอร์เซ็นต์เส้นใยสูงและต่ำ เมื่อนำ สายพันธุ์ที่มีปริมาณเส้นใยสูงสุด 8 สายพันธุ์แรก และสายพันธุ์ที่มีปริมาณเส้นใยต่ำสุด 8 สายพันธุ์ สุดท้ายมาทดสอบ พบว่าเครื่องหมายโมเลกุล Cs303 และ Cs304 แสดงแถบดีเอ็นเอที่มีความ แตกต่างระหว่างสายพันธ์เฮมพ์ที่มีปริมาณเปอร์เซ็นต์เส้นใยสูงและต่ำ

การทดลองที่ 4 การศึกษาและแบ่งกลุ่มพันธุ์เฮมพ์ตามช่วงเวลาของการออกดอกของเฮมพ์ ได้คัดเลือกเฮมพ์รุ่นที่ 3 (S3) ปลูกประเมินอายุออกดอก 200 สายพันธุ์เปรียบเทียบกับพันธุ์มาตรฐาน RPF1 RPF2 RPF3 และ RPF4 พบการกระจายตัวของลักษณะการออกดอกภายในสายพันธุ์ ส่วน ใหญ่พบออกดอกทั้งต้นตัวผู้และและตัวเมีย (71%) ที่เหลือออกดอกเฉพาะต้นตัวผู้หรือต้นตัวเมีย ได้ จัดกลุ่มตามช่วงอายุ เทียบกับพันธุ์เปรียบเทียบได้ 4 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1-2 ออกดอกเร็วกว่าพันธุ์ เปรียบเทียบประมาณ 60-90 วันพบ 20% ส่วนใหญ่ 80% ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 4 ออกดอกในช่วง เดียวกับพันธุ์เปรียบเทียบที่ 120-140 วัน หรือกลุ่มที่ 3 ซึ่งออกดอกเร็วกว่าประมาณหนึ่งเดือน



Abstract

The objectives of this study were to research and develop inbred lines of hemp. There were 4 experiments consist of; (1) production and evaluation of S3 lines (2) developing SCAR markers for sex determination for hemp breeding program (3) relationship between DNA markers and THC content and percent fiber traits, (4) classification of hemp lines into different flowering groups.

For Experiment 1, 53 S, lines were grown, sib mating and 266 S₃ lines were harvested. The S₂ 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. Two hundred S₃ lines were selected and sown. Lines will be harvested at early August and to be evaluated further.

For Experiment 2, twenty SCAR markers were tested to amplify the DNA of 10 female plants and 10 male plants. The results showed that only one out of 20 SCAR markers could amplify male plants DNA not female plants. The SCAR marker is P5_1.

Experiment 3 aims to screen the SSR markers for studying relationship between DNA markers and THC content and percent fiber traits, 50 SSR markers were used to generate DNA fingerprint. The result showed that the three markers – Cs303 and Cs304 showed DNA polymorphism between 8 lines of high and 8 lines of low fiber content. While all 50 SSR markers show monomorphic between high and low THC content. Furthermore, we used DNA marker that use to identify drug and fiber types of *Cannabis* we found that all the hemp samples in this study showed fiber type DNA pattern which consistent with the THC content of all samples are low as 0.3%.

In Experiment 4, two hundred selected hemp lines were sown. Different flowering patterns within lines were found. Most lines (71%) contained both male and female plants with flowering. The 29% of lines had either only male or female plants at flowering within line. Lines were classified as compared with the standard check varieties into four groups. Group 1 and 2 flower about 60-90 days earlier than checks and accounted for 20%. Most lines (80%) were placed into group 3 and 4 which were flowering at the same period of checks (120-140 days after sowing) or about one month earlier than check varieties.