



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์
โครงการวิจัยที่ 3020-A079

เรื่อง
ความดีเด่นของลูกผสมและสมรรถนะในการผสมของเฮมพ์
Heterosis and Combining Ability in Hemp

มูลนิธิ
โครงการหลวง
ROYAL PROJECT FOUNDATION

หัวหน้าโครงการวิจัย

วีรพันธ์ กันแก้ว

WEERAPUN KUNKAEW

ได้รับทุนสนับสนุนจากมูลนิธิโครงการหลวง

เมษายน 2561

คณะทำงานวิจัย

- | | |
|---------------------------|----------------|
| 1. ดร.วีรพันธ์ กันแก้ว | หัวหน้าโครงการ |
| 2. รศ.สุทัศน์ จุลศรีไกวัด | ผู้ร่วมโครงการ |
| 3. รศ.ดร.สันสนีย์ จำจด | ผู้ร่วมโครงการ |
| 4. ดร.ประภัสสร ทิพย์รัตน์ | ผู้ร่วมโครงการ |
| 5. อ.ดร.ตอนภา ผุสดี | ผู้ร่วมโครงการ |
| 6. ดร.สรिता ปิ่นมณี | ผู้ร่วมโครงการ |



กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยความดีเด่นของลูกผสมและสมรรถนะในการผสมของเฮมพ์ รหัสโครงการ 3020-A079 ได้รับงบประมาณสนับสนุนจากมูลนิธิโครงการหลวง ประจำปีงบประมาณ 2560

การดำเนินงานของโครงการวิจัยบรรลุผลตามวัตถุประสงค์ทุกประการ จึงขอขอบคุณ หัวหน้าสถานีเกษตรหลวงปางดะ เจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง ที่ได้อำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัยและดูแลแปลงทดลองให้เป็นอย่างดี และนอกจากนี้ขอขอบคุณผู้ร่วมโครงการวิจัยทุกท่านมา ณ โอกาสนี้ที่ได้ให้ความร่วมมือดำเนินงานวิจัย ได้ใช้ความรู้ความสามารถ ความทุ่มเทในการวิจัย และการสละเวลาอันมีค่า จนแล้วเสร็จ



คณะผู้วิจัย

เมษายน 2561

ความดีเด่นของลูกผสมและสมรรถนะในการผสมของเฮมพ์

Heterosis and Combining Ability in Hemp

บทคัดย่อ

การศึกษาความดีเด่นของลูกผสมและสมรรถนะในการผสมของเฮมพ์ ได้ปลูกลูกผสมของเฮมพ์จำนวน 12 คู่ผสม ร่วมกับพันธุ์ RPF1 และ RPF3 ผลการทดลองพบว่าความดีเด่นของลูกผสมมีทั้งค่าที่เป็นบวกและเป็นลบ ลักษณะปริมาณสาร THC มีความดีเด่นของลูกผสมระหว่าง -84.46 ถึง 89.90% และ -51.05 ถึง 498.20% เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF1 และ RPF3 ตามลำดับ ลักษณะปริมาณสาร CBD มีค่าระหว่าง -35.01 ถึง 50.94% และ -19.16 ถึง 87.74% เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF1 และ RPF3 ตามลำดับ การวิเคราะห์สมรรถนะในการผสมพบว่าลักษณะปริมาณสาร THC ถูกควบคุมด้วยยีนทั้งแบบผลบวกและไม่เป็นผลบวก ลักษณะปริมาณสาร CBD ได้รับอิทธิพลของยีนแบบไม่เป็นผลบวก สายพันธุ์ RP#4, RP#7 และ RP#8 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีของการลดปริมาณ THC สายพันธุ์ RP#1 และ RP#7 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีของการเพิ่มปริมาณสาร CBD คู่ผสม RP#1 x RP#4 และ RP#6 x RP#7 เป็นคู่ผสมที่มีสมรรถนะในการผสมเฉพาะที่ดีในทางลบของปริมาณ THC และมีสมรรถนะในการผสมเฉพาะที่ดีในทางบวกของลักษณะ CBD

คำสำคัญ: เฮมพ์, ความดีเด่นของลูกผสม, สมรรถนะในการผสม

Study on heterosis and combining ability in hemp were planted of 12-F1 hybrids of hemp involving RPF1 and RPF3 varieties. Resulted showed that F1 hybrids exhibited both negative and positive heterotic effects on THC content over RPF1 and RPF3 varieties ranged from -84.46 to 89.90% and -51.05 to 498.20% respectively. For CBD content exhibited average heterotic effect over RPF1 ranged from -35.01 to 50.94% and -19.16 ถึง 87.74% for RPF3 variety. Combining ability analysis of hemp revealed that additive and non additive genetic effects were found for THC content and non additive effects were importance to the inheritance of CBD content. General combining ability analysis found that line no. RP#4, RP#7 and RP#8 was considered as a good combiner for reducing THC content and line no. RP#1 and RP#7 was good combiner for increasing of CBD content. Specific combining ability analysis revealed that hybrids RP#1 x RP#4 and RP#6 x RP#7 showed highly significant specific combining ability effects for reducing of THC and increasing CBD content.

Keywords: Hemp, Heterosis, Combining ability

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ค
บทคัดย่อ	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญตารางภาคผนวก	ช
สารบัญรูป	ซ
คำนำ	1
ตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการวิจัย	11
วิจารณ์ผลการวิจัย	30
สรุปผลการวิจัย	32
เอกสารอ้างอิง	33
ภาคผนวก	42



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ความดีเด่นของลูกผสมของเฮมพ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF1 (Hs1) และ พันธุ์ RPF3 (Hs2) ของลักษณะความสูงลำต้น และจำนวนข้อต่อต้น	13
2 ความดีเด่นของลูกผสมของเฮมพ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF1 (Hs1) และ พันธุ์ RPF3 (Hs2) ของลักษณะจำนวนกิ่ง และเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น	14
3 ความดีเด่นของลูกผสมของเฮมพ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF1 (Hs1) และ พันธุ์ RPF3 (Hs2) ของลักษณะน้ำหนักสดต้น และเปอร์เซ็นต์เส้นใย	15
4 ความดีเด่นของลูกผสมของเฮมพ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF1 (Hs1) และ พันธุ์ RPF3 (Hs2) ของลักษณะปริมาณสาร THC และ CBD	16
5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของลูกผสมของเฮมพ์ ชุดที่ 1 ของลักษณะความสูงลำต้น จำนวนข้อ จำนวนกิ่ง และเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น	19
6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของลูกผสมของเฮมพ์ ชุดที่ 1 ของลักษณะ น้ำหนักสดต้น เปอร์เซ็นต์เส้นใย ปริมาณสาร THC และปริมาณสาร CBD	19
7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของลูกผสมของเฮมพ์ ชุดที่ 2 ของลักษณะความสูงลำต้น จำนวนข้อ จำนวนกิ่ง และเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น	20
8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของลูกผสมของเฮมพ์ ชุดที่ 2 ของลักษณะ น้ำหนักสดต้น เปอร์เซ็นต์เส้นใย ปริมาณสาร THC และปริมาณสาร CBD	20
9 ค่าประมาณอิทธิพลของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะ ในการผสมเฉพาะของชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ของลักษณะความสูงลำต้น และจำนวนข้อต่อต้น	21

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
10	22
ค่าประมาณอิทธิพลของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ของลักษณะ จน.กิ่งต่อต้านและเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น	
11	23
ค่าประมาณอิทธิพลของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ของลักษณะน้ำหนักสดต้น และเปอร์เซ็นต์เส้นใย	
12	24
ค่าประมาณอิทธิพลของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ของลักษณะ THC และ CBD	
13	27
จำนวนโคลนของต้นกล้าเซมพ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดให้สภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ไม่เติมฮอร์โมน เป็นเวลา 30 วัน	



สารบัญตารางภาคผนวก

ภาคผนวกที่	หน้า
1 ตัวอย่างการวิเคราะห์สมรรถนะในการผสมโดยใช้โปรแกรมสถิติ R	43
2 ตัวอย่างการวิเคราะห์ความดีเด่นของลูกผสมโดยใช้โปรแกรมสถิติ R	46



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
1	ลักษณะต้นกล้าเสมพ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอดพัฒนาไปเป็นตาดอกหลังเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ไม่เติมฮอร์โมนเป็นเวลา 14 วัน(ก) และ 30 วัน (ข)	25
2	ลักษณะต้นกล้าเสมพ์จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดหลังเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ไม่เติมฮอร์โมนเป็นเวลา 14 วัน (ก) และลักษณะยอดจากต้นกล้าที่เพาะด้วยเมล็ดหลังเพาะเลี้ยงบนอาหาร เป็นเวลา 7 วัน (ข)	26
3	ลักษณะต้นกล้าเสมพ์จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดหลังเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ไม่เติมฮอร์โมน เป็นเวลา 30 วัน	27
4	ลักษณะต้นกล้าเสมพ์จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดหลังเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรดัดแปลงเพื่อเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 20 วัน	28
5	ลักษณะต้นกล้าเสมพ์จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดหลังเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรดัดแปลงเพื่อชักนำให้เกิดราก ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 20 วัน	28
6	การเพาะเลี้ยงเสมพ์ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 45-50 วัน (ก) และย้ายปลูกในสภาพ โรงเรือนเป็นเวลา 60 วัน (ข) เพื่อสังเกตเพศของต้นกล้าในแต่ละ โคลนจากช่อดอกบริเวณยอด (ค)	29

คำนำ

เฮมพ์มีความสำคัญต่อวิถีชีวิตของชาวเขบนพื้นที่สูงมาอย่างยาวนาน โดยเฉพาะชาวเขาเผ่าม้ง ซึ่งชาวเขาจะนำใบเฮมพ์มาถักทอเป็นเครื่องนุ่งห่มจนเกิดเป็นวัฒนธรรมการแต่งกายของชนเผ่า ในสถานการณ์ปัจจุบันความนิยมสินค้าที่ได้จากธรรมชาติได้เพิ่มมากขึ้น ผ้าใบเฮมพ์ก็เช่นเดียวกัน ความต้องการของตลาดได้ขยายเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการสร้างรายได้ให้กับชาวเขาเหล่านั้น ถ้าสามารถปรับปรุงสายพันธุ์เฮมพ์ให้มีปริมาณสารเสพติดต่ำและมีคุณภาพเส้นใยที่ดี เกษตรกรบนพื้นที่สูงก็จะมีพืชทางเลือกเพิ่มขึ้น เพราะเส้นใยจากเฮมพ์เป็นเส้นใยที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจและสังคมทั้งด้านอุตสาหกรรมครัวเรือนและอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ของประเทศไทยในอนาคต เฮมพ์เป็นพืชผสมข้ามต้น มีการแยกกันระหว่างต้นเพศผู้กับต้นเพศเมีย (dioecious plants) จึงมีความแปรปรวนของลักษณะต่างๆ ที่สูงมาก ประชากรเป็นแบบ heterogeneous ซึ่งลักษณะต่างๆ ได้รับอิทธิพลจากการกระทำของยีน (gene action) ทั้งจากต้นพ่อและต้นแม่ ถ้าทำการคัดเลือกต้นพ่อและต้นแม่ที่ดีแล้วปล่อยให้ผสมพันธุ์กันจะทำให้ลักษณะที่ต้องการดังกล่าวเข้าสู่ความเป็นพันธุ์แท้ (homozygosity) ได้อย่างรวดเร็ว การปรับปรุงพันธุ์เพื่อลดปริมาณสาร THC ในประชากรลงจึงมีโอกาที่จะสำเร็จได้สูง ซึ่งลักษณะปริมาณสาร THC ถูกควบคุมด้วยยีนเพียงตำแหน่งเดียวและมี 2 อัลลีล วิธีการหนึ่งที่นักปรับปรุงพันธุ์พืชนิยมนำมาใช้ในการปรับปรุงประชากรคือ วิธีการคัดเลือกรวม (mass selection method) มุลนิธิโครงการหลวงได้ทำการปรับปรุงพันธุ์เฮมพ์ในระยะแรก (พ.ศ. 2552- 2554) โดยมุ่งให้มีปริมาณสารเสพติด (THC) ต่ำ โดยใช้วิธีการคัดเลือกรวม (mass selection method) ได้เฮมพ์ที่มีปริมาณสาร THC ต่ำกว่าร้อยละ 0.3 จำนวน 4 พันธุ์ คือเฮมพ์ พันธุ์ RPF1 พันธุ์ RPF2 พันธุ์ RPF3 และ พันธุ์ RPF 4

การวิจัยนี้ได้นำสายพันธุ์แท้ (inbred line) ที่พัฒนามาบ้างแล้ว มาศึกษาเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการสร้างพันธุ์ลูกผสม ซึ่งพันธุ์ลูกผสมเป็นเป้าหมายสูงสุดของนักปรับปรุงพันธุ์พืช จะทำให้ผลผลิตสูงขึ้น และมีความสม่ำเสมอของลักษณะต่างๆ สูงขึ้น พันธุ์ลูกผสมเกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์แท้ (inbred line) ตั้งแต่สองสายพันธุ์ขึ้นไป ได้แก่ ลูกผสมเดี่ยว (single cross) เกิดจากการนำสายพันธุ์แท้ที่ดีจำนวนสองสายพันธุ์มาผสมพันธุ์กัน ลูกผสมคู่ (double cross) เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสองพันธุ์ และลูกผสมสามทาง (three-way cross) เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์แท้กับพันธุ์ลูกผสมเดี่ยว ในทางการค้าจะนิยมพันธุ์ลูกผสมเดี่ยวมากกว่าแบบอื่น การผลิตพันธุ์ลูกผสมเดียวนั้นนักปรับปรุงพันธุ์จะต้องพัฒนาสายพันธุ์แท้ที่ดีขึ้นมาก่อน การพัฒนาสายพันธุ์แท้มีวิธีการต่างๆ เช่น การผสมตัวเอง (selfing) หลายๆ ครั้ง การผสมกลับ (backcross) การผสมเลือดชิดระหว่างพี่น้องในตระกูลเดียวกัน (sib

matings) และการทำดัดแปลงแฮพลอยด์ (double haploids) อย่างไรก็ตาม การพัฒนาสายพันธุ์แท้หรือสายพันธุ์อินเบรด (inbred line) จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาพันธุ์ผสมปลูกผสมและจะทำให้ชาวเขามีพันธุ์ผสมสำหรับนำไปปลูกได้อย่างเหมาะสมกับสภาพแวดล้อม และไม่เป็นอันตรายต่อสังคมโดยรวม สามารถรักษาวัฒนธรรมของตนเองเพื่อสืบทอดไปสู่ลูกหลานรุ่นต่อไป และยังเป็นการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมบนพื้นที่สูงซึ่งจะเป็นผลดีต่อชุมชนและประเทศชาติในที่สุด โครงการวิจัยนี้จึงคาดหวังว่าจะได้ข้อมูลประกอบการคัดเลือกเพื่อพัฒนาอินเบรดหรือสายพันธุ์แท้ที่ดีสำหรับนำไปผลิตเมล็ดพันธุ์ผสมปลูกผสมต่อไป



ตรวจสอบเอกสาร

เฮมพ์ (hemp) อยู่ใน genus *Cannabis* มีจำนวน 3 สปีชีส์คือ *Cannabis sativa*, *C. indica* และ *C. ruderalis* มีจำนวนโครโมโซม $2n=40$ และ $2n=20$ (Hirata, 1928; Breslavets, 1926) เฮมพ์มีความเกี่ยวข้องกับวิถีชีวิตของมนุษย์มาอย่างยาวนานและแพร่กระจายไปทั่วโลก ได้สันนิษฐานว่าแหล่งกำเนิดของเฮมพ์น่าจะอยู่บริเวณเอเชียกลาง และแพร่กระจายไปยังเอเชียตะวันออก เอเชียใต้ และยุโรป *C. sativa* มีลักษณะใบเรียวยาวพบที่ประเทศต่างๆ เช่น จีน เนปาล ไทย เม็กซิโก โคลัมเบีย แอฟริกาใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ส่วน *C. indica* มีลักษณะใบกว้าง จำนวนกิ่งมาก พบที่ประเทศ อินเดีย อัฟกานิสถาน ปากีสถาน ทิเบต และโมร็อกโก เฮมพ์สามารถแบ่งได้หลายกลุ่มได้แก่ wild, naturalised, landrace, breeders material และ F1 hybrid cultivar (de Meijer and van Soest, 1992; de Meijer, 1999) เฮมพ์เป็นพืชปลูกฤดูเดียว (annual crop) มีการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด ลักษณะของเมล็ดเป็นรูปทรงรีคล้ายลูกรีบี้ ผิวของเมล็ดเรียบเป็นมันมีลายประสีน้ำตาล เมล็ดมีทั้งสีเทา น้ำตาล และดำ มีความยาว 2-6 มม. มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-4 มม. น้ำหนักเมล็ด 3-60 กรัมต่อ 1,000 เมล็ด de Meijer (1995) ได้จำแนกประเภทเฮมพ์ออกตามเพศได้เป็น 3 ประเภทคือ 1) monoecious 2) dioecious และ 3) unisexual เฮมพ์ส่วนมากมีการแยกต้นเพศผู้กับต้นเพศเมีย หรือเรียกว่าเป็นแบบ dioecious และมีบางส่วนพบว่าดอกเพศผู้อยู่บนต้นเดียวกับดอกเพศเมียหรือเรียกว่า monoecious (de Meijer and van Soest, 1992; de Meijer, 1995) การออกดอกของเฮมพ์จะตอบสนองต่อความยาววันโดยจัดเป็นพืชวันสั้น (short day plant) โดยต้นเพศผู้เริ่มออกดอกประมาณเดือนตุลาคม ซึ่งมีช่วงความยาวของวันสั้นกว่า 12 ชั่วโมง มีระยะเวลาการบานของดอกประมาณ 2 เดือน และดอกเพศผู้ออกก่อนดอกเพศเมีย 1-2 เดือน (ลิลลี่ และคณะ, 2547; Amaducci *et al.*, 2008) ซึ่งการออกดอกนี้มีความแตกต่างกันระหว่างพันธุ์และช่วงเวลาการปลูก Hennink (1994) ได้รายงานว่าดอกตัวผู้ออกก่อนดอกตัวเมียโดยเฉลี่ย 11.5 วัน และมีรายงานการเลือกใช้พันธุ์เฮมพ์ในประเทศจีนพบว่า หากมีเส้นรุ้ง (latitude) ต่างกันประมาณ 3 องศา จะทำให้การเพาะปลูกและการเลือกใช้พันธุ์เปลี่ยนแปลงไป (สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน), 2555) ลักษณะการออกดอกของดอกเพศผู้ออกเป็นช่อแบบ panicle ตามซอกใบและปลายยอด ดอกย่อยประกอบด้วยใบเลี้ยง 5 กลีบแยกกัน มีสีเหลืองอมเขียว มี stament อยู่ 5 อัน ยาว 5 มม. และมีลักษณะห้อยลง มี anther ที่ยาวเรียวติดอยู่กับ filament ลักษณะ pollen grain มีสีเหลืองอ่อนและมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 25-30 ไมโครเมตร (ไมครอน) มีลักษณะผิวเรียบและเบา เป็นประเภท wind-pollinated plant สามารถปลิวไปตามลม (downwind side) ได้ไกลถึง 5 กิโลเมตร (กม.) และปลิวทวนลม (upwind side) ได้ไกลถึง 0.9 กม. (Small and Antle, 2003) Faegri *et al.* (1989) ได้รายงานว่าดอกตัวผู้ 1 ดอกมี pollen

จำนวน 350,000 pollen grains และเซมป์ต้นที่มีขนาดใหญ่มีดอกตัวผู้มากถึง 100 ดอกต่อต้น ความมีชีวิต (viability) ของ pollen จะลดลงหลังจากอับละอองเกสรแตก (Bassami *et al.*, 1994; Demkin and Astachova, 1952; Zhatov, 1983) Small and Antle (2003) รายงานว่าระยะห่างจากต้น 100 เมตร ความหนาแน่น (density) ของ pollen ลดลงเหลือต่ำกว่า 1 % ดังนั้นที่ประเทศแคนาดาจึงกำหนดให้แปลงผลิตเมล็ดพันธุ์เซมป์ต้องอยู่ห่างกันอย่างน้อย 5 กม. ส่วนที่ประเทศรัสเซียนั้นกำหนดให้ห่างกัน 3-4 กม. การปลูกรักษาพันธุ์เซมป์ monoecious ที่ยูเครนจึงต้องมีระยะห่างระหว่างพันธุ์ 1 กม. และ dioecious ที่ฮังการีต้องห่างกัน 2 กม. เมื่อต้นเพศผู้ของเซมป์ dioecious ออกดอกเต็มที่และ pollen หลุดออกจากอับละอองเกสรหมดแล้ว หลังจากนั้นต้นก็แห้งตายไป ดอกเพศเมียเป็นดอกเดี่ยวและออกตามซอกใบและปลายยอด ประกอบด้วย stigma จำนวน 2 อัน มีกลีบดอกยาว 2-8 มม. ดอกไม่บานแต่มีเฉพาะ stigma โผล่ออกมาเท่านั้น และมีการผสมกันอย่างรวดเร็ว ต้นเพศเมียออกดอกประมาณปลายเดือนพฤศจิกายน และมีอายุจนถึงเก็บเกี่ยวประมาณ 4-6 เดือน โดยทั่วไปแล้วต้นเพศเมียมีการแตกกิ่งได้ดีกว่าต้นเพศผู้พันธุ์เดียวกัน การผสมพันธุ์ของเซมป์ส่วนมากอาศัยลมช่วยในการผสมกล่าวคือลมพัด pollen ให้ไปตกลงบน stigma หรือเรียกว่า wind pollination หลังจากมีการผสมกันแล้ว 3-6 สัปดาห์ เมล็ดก็สุกแก่และร่วงหล่นลงดิน ซึ่ง Amaducci *et al.* (2008) ได้รายงานว่าการออกดอกของเซมป์ขึ้นอยู่กับปัจจัยทางพันธุกรรมและช่วงระยะเวลาการเพาะปลูก โดยพบว่าระยะการบานดอกสั้นลงเมื่อระยะเวลาตั้งแต่การออกจนถึงการออกดอกสั้นลง มีผลทำให้ผลผลิตเมล็ดลดลง การปรับปรุงพันธุ์เซมป์ให้มีช่วงระยะเวลาการบานดอกที่สั้นทำให้เซมป์มีความสม่ำเสมอทางพันธุกรรม (homogeneity) มากขึ้น Hennink (1994) รายงานว่า อายุการออกดอกมีความสัมพันธ์กับลักษณะความสูงลำต้นและความยาวเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น การออกดอกที่ช้าออกไปทำให้ผลผลิตลำต้นมากขึ้น แต่ทำให้ผลผลิตเมล็ดลดลง ซึ่ง Jobling and Warner (2001) รายงานว่าการออกดอกเร็วเป็นปัจจัยทำให้ผลผลิตเมล็ดลดลง

การศึกษาพันธุกรรมควบคุมลักษณะปริมาณสาร THC และ CBD ของเซมป์ได้มีการศึกษาอย่างต่อเนื่องพบว่า ลักษณะ THC และ CBD ของเซมป์ถูกควบคุมด้วยยีน 1 ตำแหน่ง (B) มี 2 อัลลีล (B_T และ B_D) ร่วมกันอยู่ (codominance) ซึ่งลักษณะ pure CBD มีพันธุกรรมแบบ B_D/B_D เซมป์ที่มีลักษณะ pure THC มีพันธุกรรมแบบ B_T/B_T และ intermediate type มีพันธุกรรมแบบ B_D/B_T ค่าสัดส่วนของ CBD/THC บ่งชี้ให้ทราบว่าเป็นลักษณะทางคุณภาพ (qualitative characters) โดยพบว่าลูกผสม F1 ระหว่าง pure CBD กับ pure THC เป็น heterozygous (CBD+THC) ทั้งหมด และในชั่ว F2 พบว่าสัดส่วนของพันธุกรรมแบบ CBD : CBD+THC : THC เท่ากับ 1 : 2 : 1 แสดงให้เห็นว่าถูกควบคุมด้วยยีน 1 ตำแหน่ง และมี 2 อัลลีล เข้าคู่กันอยู่ มีการแสดงออกแบบร่วมกัน (codominance) ยีน B_D ควบคุมลักษณะ CBD ส่วนยีน B_T ควบคุมลักษณะ THC จากรายงานยังพบความดีเด่นของลูกผสม (heterosis) ของลักษณะ

CBD+THC ในชั่ว F1 และยังพบการกระจายความถี่แบบโค้งปกติ (normal distribution) ของลักษณะนี้ในชั่ว F2 ซึ่งให้เห็นว่าลักษณะทั้งสอง (CBD และ THC) นี้เป็นลักษณะทางปริมาณ (quantitative characters) ซึ่งไม่คงที่หลังจากชั่วที่ 2 ของการคัดเลือก นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกว่าพันธุกรรมแบบ B_D / B_D มีความมีชีวิต (viability) และความสามารถในการออกรอด (fertility) ต่ำกว่าพันธุกรรมแบบ B_T / B_T ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเกิดจาก semi-lethal effect ของการจับคู่กันของยีนทั้งสอง (de Meijer *et al.*, 2003; Mandolino *et al.*, 2003; Hillig and Mahlberg, 2004)

Hennink (1994) ได้รายงานข้อมูลอัตราพันธุกรรม (heritability; h^2) ของลักษณะต่างๆ ของเฮมพ์มีค่าที่แตกต่างกันไป คือ ลักษณะ bast fiber content (FB) มีค่าเท่ากับ 0.89, woody core content (FW) มีค่าเท่ากับ 0.56, total plant height (HT) มีค่าเท่ากับ 0.28, vegetative stem length (HV) มีค่าเท่ากับ 0.47, generative stem length (HG) มีค่าเท่ากับ 0.29, stem diameter (SD) มีค่าเท่ากับ 0.22, THC content (TC) มีค่าเท่ากับ 0.15, Log TC มีค่าเท่ากับ 0.56, CBD content (CB) มีค่าเท่ากับ 0.08 และ stem yield มีค่าเท่ากับ 0.55 และยังพบว่าความเข้มข้นในการคัดเลือก 10% ของวันออกดอกที่เลื่อนออกไป 14 วัน ทำให้ความสูงเพิ่มขึ้น ค่า CBD และ THC ลดลง ส่วนการคัดเลือกลักษณะ stem diameter มีผลเพียงเล็กน้อย การคัดเลือกเพื่อเพิ่มความสูง และลด bast fiber มีผลมากในเฮมพ์

ลักษณะการแสดงออกภายนอกของสิ่งมีชีวิต (phenotype) เป็นผลรวมของลักษณะทางพันธุกรรม (genotype) กับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม (environment) ลักษณะทางพันธุกรรมถูกควบคุมด้วยยีน (gene) ซึ่งมีคุณสมบัติ 2 ประการคือ (1) ถ่ายทอดข้ามชั่ว (generation) จากพ่อ-แม่ไปยังลูกโดยที่คุณสมบัติต่างๆ ไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิมและ (2) เป็นศูนย์กลางที่ควบคุมให้สิ่งมีชีวิตนั้นมีโครงสร้างส่วนประกอบและลักษณะอื่นๆ ที่ตรงกับลักษณะของพ่อ-แม่ (ดำนิน, 2545; กฤษณา, 2546) การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตนั้นไม่สามารถศึกษาได้ทางตรงแต่มีการศึกษาจากการแสดงออกภายนอกก่อนแล้วจึงแปรผลกลับไปหาลักษณะทางพันธุกรรมภายหลังซึ่งลักษณะทางพันธุกรรมนี้ได้แบ่งออกเป็น 2 ลักษณะคือ (1) ลักษณะทางคุณภาพ (qualitative traits) โดยทั่วไปถูกควบคุมด้วยยีนน้อยคู่ (1-3 คู่) และ (2) ลักษณะทางปริมาณ (quantitative traits) ถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ (multiple genes) (ศันสนีย์, 2545; ดำนิน, 2545) การศึกษาและอธิบายการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตได้เริ่มขึ้นหลังจากเมนเดลได้ศึกษาถึงลักษณะการถ่ายทอดลักษณะต่างๆ ของถั่วลันเตา (*Pisum sativum*) และได้ตั้งเป็นกฎของเมนเดลไว้ 2 ข้อคือ

1. กฎการแยกตัวของยีน (law of segregation of gene) ได้กล่าวไว้ว่าลักษณะของสิ่งมีชีวิตถูกควบคุมโดยยีนและยีนปรากฏเป็นคู่เสมอในการสร้างหน่วยสืบพันธุ์ (gamete) นั้นยีนที่อยู่เป็นคู่จะแยกออกจากกันแล้วเข้าสู่หน่วยสืบพันธุ์หน่วยละ 1 ยีนเมื่อมีการผสมระหว่างหน่วยสืบพันธุ์ยีนก็กลับมาอยู่เป็นคู่เช่นเดิม

2. กฎการเข้าชุดอย่างอิสระของยีน (law of independent assortment) ซึ่งกล่าวไว้ว่าในการสร้างหน่วยสืบพันธุ์นั้นยีนสภาพใดสภาพหนึ่ง (allele) ของยีนคู่หนึ่งเข้าสู่หน่วยสืบพันธุ์เดียวกันกับยีนสภาพใดสภาพหนึ่งของยีนอีกคู่หนึ่งได้อย่างอิสระ

ลักษณะพฤติกรรมของยีนหรือ gene effects นั้น Fasoulas (1973) ได้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือกลุ่มที่ 1 เป็นพฤติกรรมของยีน (allelic gene action) มี 4 แบบได้แก่ (1) dominance เป็นปรากฏการณ์ที่อัลลีลหนึ่งแสดงความสามารถข่มอีกอัลลีลหนึ่งที่เป็นคู่กัน (2) codominance เป็นปรากฏการณ์ที่อัลลีลที่เป็นคู่กันต่างแสดงความสามารถโดยผลิตสารพันธุกรรมที่เป็นอิสระต่อกันและสารนั้นสามารถอยู่รวมกันได้เมื่อทั้งคู่อยู่ในสภาพ heterozygous (3) semidominance เป็นปรากฏการณ์ที่อัลลีลที่เป็นคู่กันต่างแสดงความสามารถในการผลิตสารพันธุกรรมชนิดเดียวกันแต่ต่างปริมาณกันและ (4) recessive เป็นปรากฏการณ์ที่อัลลีลหนึ่งของยีนขาดความสามารถในการแสดงออกของตัวเองเมื่ออยู่เป็นคู่กับอัลลีลที่เป็น dominance กลุ่มที่ 2 พฤติกรรมของยีนที่ไม่ได้เป็นคู่ของกันและกัน (non-allelic gene action) มีอยู่ 4 แบบได้แก่ (1) epistasis เป็นปรากฏการณ์ที่ยีนหรือคู่ของยีนไปข่มความสามารถของยีนอื่นที่ไม่ได้เป็นคู่กันไม่ให้ยีนนั้นแสดงความสามารถออกมา (2) coepistasis เป็นปรากฏการณ์ที่ยีนที่ไม่เป็นคู่กัน (non-allelic gene) ต่างผลิตสารพันธุกรรมที่เป็นอิสระต่อกัน (3) semiepistasis เป็นปรากฏการณ์ของยีนที่ไม่เป็นคู่กันต่างผลิตสารพันธุกรรมชนิดเดียวกันแต่ต่างปริมาณกันและ (4) hypostasis เป็นปรากฏการณ์ที่ยีนหรือคู่ยีนถูกข่มความสามารถจากยีนอื่นไม่ให้เห็นความสามารถออกมา พรหมณี (2541) ได้จำแนกชนิดของการข่มกันของยีนออกเป็น 3 ชนิดได้แก่

1. การข่มแบบสมบูรณ์ (complete หรือ simple dominance) เป็นการข่มที่เกิดจากอัลลีลหนึ่งข่มอีกอัลลีลหนึ่งอย่างสมบูรณ์ทำให้สิ่งมีชีวิตที่มี genotype เป็น heterozygous แสดงลักษณะของอัลลีลเด่นเพียงอย่างเดียว

2. การข่มแบบไม่สมบูรณ์ (incomplete dominance) เป็นการข่มชนิดที่ค่าอัลลีลทั้ง 2 ชนิดมี genotype เป็น heterozygous ทำให้ phenotype มีลักษณะเป็นกลางๆระหว่างลักษณะที่ควรแสดงโดยอัลลีลทั้งสองการข่มแบบไม่สมบูรณ์แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดย่อยคือ (1) partial dominance เมื่อลักษณะของ heterozygote ที่แสดงออกนั้นอยู่ก่อนไปทาง homozygous dominance หรือ homozygous recessive ทางใดทางหนึ่งและ (2) no dominance เมื่อลักษณะของ heterozygote อยู่กึ่งกลางพอดีระหว่าง homozygote ต่างชนิดทั้งสอง

3. การข่มร่วมกัน (codominance) เป็นการข่มชนิดที่ทั้ง 2 อัลลีลข่มกันไม่ได้ถูกผสมที่ประกอบด้วยอัลลีลทั้งสองแสดงลักษณะของอัลลีลทั้งสองออกมา

การแสดงออกของยีนในลักษณะทางปริมาณที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ (multiple genes) นั้นทำให้ phenotype ของลูกผสมชั่วที่ 1 และ 2 ไม่เป็นไปตามกฎของเมนเดลได้แบ่งออกเป็นการแสดงออกแบบผลบวกสะสมของยีน (additive gene) และแบบไม่เป็นผลบวกสะสมของยีน (non-additive gene) การแสดงออกของยีนแบบผลบวกสะสมนั้น Nilsson-Ehle ได้พบว่าการแสดงออกของความเข้มของสีเยื่อหุ้มเมล็ดของข้าวสาลีเป็นผลจากการกระทำของยีนแบบผลบวกสะสมและได้กล่าวถึงการทดลองของ Emerson and East ที่พบว่าลูกผสมของข้าวโพดชั่วที่ 1 และ 2 นั้นมีความยาวของฝักที่ลดหลั่นกันไปซึ่งเป็นผลจากถูกควบคุมด้วยยีนมากคู่และยังเป็นผลจากอิทธิพลของสภาพแวดล้อมอีกด้วย การกระทำของยีนแบบไม่เป็นผลบวกสะสมนั้นเกิดจากอิทธิพลของยีนชนิดต่างๆ เช่น dominance, overdominance และ epistasis เป็นต้น

ในทางปฏิบัติการสร้างพันธุ์ลูกผสมในแต่ละพืชจะประสบผลสำเร็จได้นั้น คำเนิน (2545) ได้กล่าวถึงข้อควรคำนึงถึงได้แก่

1. โครงสร้างของดอกตัวผู้และดอกตัวเมีย และความสามารถในการควบคุมการผสมพันธุ์เพื่อทำการ seed production
2. ความเป็นไปได้ของแผนการที่จะใช้ทำ seed production รวมทั้งเงินทุนค่าใช้จ่ายและค่าตอบแทน (ถ้ามี)
3. ลักษณะของ hybrid variety ที่ดีเด่นกว่าพันธุ์ในลักษณะอื่น ๆ

ในประเทศไทย เฮมพ์ (Industrial hemp) เป็นพืชที่มีความสำคัญต่อวิถีชีวิตของชาวเขานบนพื้นที่สูงมาอย่างยาวนาน โดยเฉพาะชาวเขาเผ่าม้ง ซึ่งชาวเขาจะนำใยเฮมพ์มาถักทอเป็นเครื่องนุ่งห่มจนเกิดเป็นวัฒนธรรมการแต่งกายของชนเผ่า ปัจจุบันผู้บริโภคนิยมสินค้าที่ได้จากใยเฮมพ์ขยายเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดการสร้างรายได้ให้กับชาวเขาเหล่านั้น เส้นใยจากเฮมพ์ จะเป็นเส้นใยที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจและสังคม ทั้งด้านอุตสาหกรรมครัวเรือนและอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ของประเทศไทยในอนาคต ช่วงปี 1992-1996 มีผลผลิตเส้นใยเฮมพ์ทั่วโลก 60,000-80,000 ตัน และในปี 2011 พบว่ามีพื้นที่เก็บเกี่ยวเฮมพ์ (Hemp Tow Waste) ทั่วโลกเท่ากับ 54,524 เฮกตาร์ และมีผลผลิตเท่ากับ 81,964 ตัน (FAO, 2013) การเพาะปลูกเฮมพ์ในประเทศไทยยังไม่มีรายงานสถานการณ์การปลูกเฮมพ์อย่างเป็นทางการ อย่างไรก็ตามเส้นใยเฮมพ์ยังเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคซึ่งได้มีการนำเข้าใยเฮมพ์เพื่อนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์จำนวนมาก แต่เนื่องจากเฮมพ์เป็นพืชที่อยู่ในตระกูลเดียวกับกัญชาและมีลักษณะทาง Phenotypes ที่คล้ายคลึงกันมากยากที่จะจำแนกออกจากกัน และกัญชาเป็นยาเสพติดประเภทที่ 5 ซึ่งมีรายงานการจับกุมในแต่ละปีเป็นจำนวนมาก (สำนักงานป.ป.ส., 2539) ลักษณะที่เหมือนกันของเฮมพ์และกัญชาจึงเป็นอุปสรรคของงานส่งเสริมการปลูกเฮมพ์ให้เป็นพืชเศรษฐกิจบนที่สูง มูลนิธิโครงการหลวงได้ให้ความสำคัญต่อการพัฒนาการผลิตเฮมพ์บนพื้นที่สูงมา

ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 ต่อมาสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ได้สนับสนุนให้มีการวิจัยพืชเฮมพ์นี้ แต่เนื่องจากพืชเฮมพ์และกัญชาได้มีการจำแนกกันโดยใช้ปริมาณสาร Δ -9-tetrahydrocannabinol (THC) content และในทางกฎหมายของต่างประเทศ (เช่นประเทศออสเตรเลีย) ได้กำหนดไว้ว่า THC ของเฮมพ์ต้องมีต่ำกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนประเทศต่างๆ ทั่วโลกโดยเฉพาะประเทศในแถบยุโรปและอเมริกาได้ยอมรับระดับ THC ของเฮมพ์ต้องไม่มากกว่า 0.3 เปอร์เซ็นต์ และนักวิจัยยังได้ทำการปรับปรุงพันธุ์เฮมพ์ให้มีปริมาณสารเสพติดดังกล่าวต่ำกว่า 0.2 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในการพัฒนาการปลูกเฮมพ์บนพื้นที่สูงให้ประสบความสำเร็จนั้นต้องหาพันธุ์เฮมพ์ที่มีปริมาณสาร THC ไม่เกินกว่าที่กฎหมายสากลกำหนด จากรายงานของ de Meijer *et al.* (2003) พบว่า พันธุกรรมควบคุมลักษณะ THC content มียืนเพียงตำแหน่งเดียว (one locus) มีอยู่ 2 อัลลีล (alleles) คือ B_D และ B_T การปรับปรุงพันธุ์เฮมพ์ให้มีปริมาณสาร THC ต่ำโดยการปรับปรุงประชากร (population improvement)

การปรับปรุงพันธุ์เฮมพ์ในระยะแรก (พ.ศ. 2552- 2554) มุ่งปรับปรุงพันธุ์ให้มีปริมาณสารเสพติด THC ต่ำ เพื่อสร้างความแตกต่างจากกัญชา ซึ่งมูลนิธิโครงการหลวงร่วมกับสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) ได้ทำการปรับปรุงพันธุ์เฮมพ์จนสำเร็จโดยใช้วิธีการคัดเลือกรวม (mass selection method) และในปี พ.ศ. 2554 ได้รับการขึ้นทะเบียนพันธุ์เฮมพ์ ที่มีปริมาณ THC ต่ำกว่าร้อยละ 0.3 จำนวน 4 พันธุ์ จากสำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร คือเฮมพ์ พันธุ์ RPF1 พันธุ์ RPF2 พันธุ์ RPF3 และ พันธุ์ RPF 4

เฮมพ์ซึ่งเป็นพืชผสมข้ามต้น มีการแยกกันระหว่างต้นเพศผู้กับต้นเพศเมียจึงมีความแปรปรวนของลักษณะต่างๆ ที่สูงมาก ลักษณะต่างๆ ได้รับอิทธิพลจากการกระทำของยีน (gene action) ทั้งจากต้นพ่อและต้นแม่ การวิจัยนี้ได้นำสายพันธุ์แท้ (inbred line) มาใช้ประโยชน์ในการสร้างพันธุ์ลูกผสม ซึ่งพันธุ์ลูกผสมเป็นเป้าหมายสูงสุดของนักปรับปรุงพันธุ์พืช จะทำให้ผลผลิตสูงขึ้น และมีความสม่ำเสมอมากขึ้น พันธุ์ลูกผสม เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์แท้ (inbred line) ตั้งแต่สองสายพันธุ์ขึ้นไป ได้แก่ ลูกผสมเดี่ยว (Single cross) เกิดจากการนำสายพันธุ์แท้ที่ดีจำนวนสองสายพันธุ์มาผสมพันธุ์กัน ลูกผสมคู่ (double cross) เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ลูกผสมเดี่ยวสองพันธุ์ และลูกผสมสามทาง (three-way cross) เกิดจากการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์แท้กับพันธุ์ลูกผสมเดี่ยว ในทางการค้าจะนิยมพันธุ์ลูกผสมเดี่ยวมากกว่าแบบอื่น การผลิตพันธุ์ลูกผสมเดียวนั้นนักปรับปรุงพันธุ์จะต้องพัฒนาสายพันธุ์แท้ที่ดีขึ้นมาก่อน การพัฒนาสายพันธุ์แท้มีวิธีการต่างๆ เช่น การผสมตัวเอง (selfing) หลายๆ ครั้ง การผสมกลับ การผสมเลือดชิดระหว่างพี่น้องในตระกูลเดียวกัน (sib mating) และการทำดับเบิลแฮพลอยด์ (double haploids) โครงการวิจัยนี้คาดหวังว่าจะได้อินเบรดหรือสายพันธุ์แท้ที่ดีสำหรับนำไปผลิตเมล็ดพันธุ์เฮมพ์ลูกผสมต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

โครงการวิจัยความดีเด่นของลูกผสมและสมรรถนะในการผสมของเฮมพ์ ได้ดำเนินการวิจัยในปีงบประมาณ 2560 ดำเนินการทดลองที่แปลงทดลองสถานีเกษตรหลวงปางดะ อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่ มีรายละเอียดดังนี้:-

1. การศึกษาความดีเด่นของลูกผสมและสมรรถนะในการผสมของเฮมพ์

1.1 ชุดการทดลองที่ 1

1.1.1 เลือกสายพันธุ์รุ่น S_4 มาจำนวน 4 สายพันธุ์ ประกอบด้วย RP#1, RP#2, RP#3 และ RP#4 ทำการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์แบบพบกันหมดและไม่มีการผสมกลับ (half diallel) ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 ทั้งหมดจำนวน 6 กลุ่มผสม ได้แก่ RP#1 x RP#2, RP#1 x RP#3, RP#1 x RP#4, RP#2 x RP#3, RP#2 x RP#4 และ RP#3 x RP#4

1.1.2 การปลูกทดสอบลูกผสม นำลูกผสมทั้ง 6 กลุ่มผสม ปลูกทดสอบร่วมกับพันธุ์ RPF1 และพันธุ์ RPF3 ที่แปลงทดลองของสถานีฯ ปางดะ วางแผนการปลูกแบบ RCB จำนวน 2 ซ้ำ ระยะปลูก 10 x 10 ซม. จำนวนกลุ่มผสมละ 10 ต้น ได้เตรียมดินก่อนปลูกโดยการไถพรวน 1 ครั้ง มีการกำจัดวัชพืช 2 ครั้ง ใส่ปุ๋ย 46-0-0 อัตรา 50 กก./ไร่ ใส่ปุ๋ย 15-15-15 อัตรา 50 กก./ไร่ ทำการป้องกันกำจัดโรคและแมลงตามอาการที่พบ

1.1.3 การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ข้อมูล ทำการเก็บตัวอย่างลูกผสมทุกต้น บันทึกข้อมูลทางการเกษตรและทางเคมี ได้แก่ ความสูง จำนวนข้อต่อต้น จำนวนกิ่งต่อต้น เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักต้นสด เปอร์เซ็นต์เส้นใย ปริมาณสาร THC และปริมาณสาร CBD มาหาค่าเฉลี่ยและนำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความดีเด่นของลูกผสมตามวิธีการของ Xin *et al.* (2003) และวิเคราะห์สมรรถนะในการผสมตามวิธีของ Griffing (1956) Method 4 Model 1 โดยใช้โปรแกรมสถิติ R (R Core Team, 2017)

1.2 ชุดการทดลองที่ 2

1.2.1 เลือกสายพันธุ์รุ่น S_4 มาจำนวน 4 สายพันธุ์ ประกอบด้วย RP#5, RP#6, RP#7 และ RP#8 ทำการผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์แบบพบกันหมดและไม่มีการผสมกลับ (half diallel) ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 ทั้งหมดจำนวน 6 กลุ่มผสม ได้แก่ RP#5 x RP#6, RP#5 x RP#7, RP#5 x RP#8, RP#6 x RP#7, RP#6 x RP#8 และ RP#7 x RP#8

1.2.2 การปลูกทดสอบลูกผสม นำลูกผสมทั้ง 6 คู่ผสม ปลูกทดสอบร่วมกับพันธุ์ RPF1 และพันธุ์ RPF3 ที่แปลงทดลองของสถานีฯ ปางดะ วางแผนการปลูกแบบ RCB จำนวน 4 ซ้ำ ระยะปลูก 10 x 10 ซม. จำนวนคู่ผสมละ 10 ต้น ได้เตรียมดินก่อนปลูกโดยการไถพรวน 1 ครั้ง มีการกำจัดวัชพืช 2 ครั้ง ใส่ปุ๋ย 46-0-0 อัตรา 50 กก./ไร่ ใส่ปุ๋ย 15-15-15 อัตรา 50 กก./ไร่ ทำการป้องกันกำจัดโรคและแมลงตามอาการที่พบ

1.2.3 การเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ข้อมูล ทำการเก็บตัวอย่างลูกผสมทุกต้น บันทึกข้อมูลทางการเกษตรและทางเคมีได้แก่ ความสูง จำนวนข้อต่อต้น จำนวนกิ่งต่อต้น เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักต้นสด เปอร์เซ็นต์เส้นใย ปริมาณสาร THC และปริมาณสาร CBD มาหาค่าเฉลี่ยและนำค่าเฉลี่ยไปวิเคราะห์ความดีเด่นของลูกผสมตามวิธีการของ Xin *et al.* (2003) และวิเคราะห์สมรรถนะในการผสมตามวิธีของ Griffing (1956) Method 4 Model 1 โดยใช้โปรแกรมสถิติ R (R Core Team, 2017)

2. การศึกษาการขยายพันธุ์เฮมพ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

ทำการศึกษาการขยายพันธุ์เฮมพ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อาคารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช กานดา เตชะไพฑูริย์ มูลนิธิโครงการหลวง



ผลการวิจัย

โครงการวิจัยความดีเด่นของลูกผสมและสมรรถนะในการผสมของเฮมพ์ ได้ดำเนินงานในปีงบประมาณ พ.ศ.2560 ได้ผลดังนี้:-

1.ผลการศึกษาความดีเด่นของลูกผสม

จากการปลูกทดสอบเฮมพ์ลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 12 คู่ผสม ร่วมกับพันธุ์ RPF1 และ RPF3 ที่แปลงทดลองของสถานีฯ ปางดะ นำค่าเฉลี่ยมาคำนวณความดีเด่นของลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์มาตรฐาน ทำการตรวจสอบหาความแตกต่างทางสถิติของค่าความดีเด่นของลูกผสมโดยวิธีของ Xin *et al.* (2003) ผลการศึกษาความดีเด่นของลูกผสมแต่ละคู่ผสมและแต่ละลักษณะ ได้ผลดังนี้

1.1 ความสูงของลำต้น

พบว่าค่าเฉลี่ยของความสูงลำต้นของเฮมพ์พันธุ์ RPF1, RPF3 และลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่าเฉลี่ยความสูงของลำต้นระหว่าง 238.92-325.25 ซม. มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 286.42 ซม. คู่ผสมระหว่าง RP#7 x RP#8 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 325.25 ซม. และคู่ผสม RP#3 x RP#4 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 238.92 ซม. ค่าความดีเด่นของลูกผสมเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของพันธุ์ RPF1 (Hs1) มีค่าระหว่าง -24.88 ถึง 4.41% และค่าความดีเด่นของลูกผสมเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของพันธุ์ RPF3 (Hs2) มีค่าระหว่าง -6.18 ถึง 30.40% โดยคู่ผสม RP#3 x RP#4 มีค่าต่ำสุดและคู่ผสม RP#7 x RP#8 มีค่าสูงสุด (ตารางที่ 1)

1.2 จำนวนข้อต่อต้น

พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนข้อต่อต้นของเฮมพ์พันธุ์ RPF1, RPF3 และลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 20.33-27.54 ข้อ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 24.30 ข้อ คู่ผสม RPF3 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 20.33 ข้อ และคู่ผสม RP#6 x RP#7 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 27.54 ข้อ ค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs1 มีค่าระหว่าง -22.92 ถึง 1.70% ค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs2 มีค่าระหว่าง 2.67 ถึง 35.46% โดยคู่ผสม RP#6 x RP#8 มีค่าต่ำสุดและคู่ผสม RP#6 x RP#7 มีค่าสูงสุด (ตารางที่ 1)

1.3 จำนวนกิ่งต่อต้น

พบว่าค่าเฉลี่ยของจำนวนกิ่งต่อต้นของเฮมพ์พันธุ์ RPF1, RPF3 และลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 14.50-25.00 กิ่ง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 20.28 กิ่ง คู่ผสม RP#1 x RP#2 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 25.00 กิ่ง และพันธุ์ RPF3 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 14.50 กิ่ง ค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs1 มีค่า

ระหว่าง -28.55 ถึง 9.08% และค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs2 มีค่าระหว่าง 12.93 ถึง 72.40% โดยกลุ่มผสม RP#6 x RP#8 มีค่าต่ำสุดและกลุ่มผสม RP#1 x RP#2 มีค่าสูงสุด (ตารางที่ 2)

1.4 เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น

พบว่าค่าเฉลี่ยของเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นของเฮมพ์พันธุ์ RPF1, RPF3 และลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 13.64-18.77 มม. มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 16.61 มม. กลุ่มผสม RP#7 x RP#8 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 18.77 มม. และพันธุ์ RPF3 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 13.64 มม. ค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs1 มีค่าระหว่าง -33.83 ถึง -10.77% และค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs2 มีค่าระหว่าง 2 ถึง 37.55% โดยกลุ่มผสม RP#6 x RP#8 มีค่าต่ำสุดและกลุ่มผสม RP#7 x RP#8 มีค่าสูงสุด (ตารางที่ 2)

1.5 น้ำหนักต้นสด

พบว่าค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดต้นของเฮมพ์พันธุ์ RPF1, RPF3 และลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 98.51-430.63 กรัม มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 230.92 กรัม พันธุ์ RPF1 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 430.63 กรัม และกลุ่มผสม RP#6 x RP#8 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 98.51 กรัม ค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs1 มีค่าระหว่าง -77.12 ถึง -30.56% และค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs2 มีค่าระหว่าง -34.82 ถึง 97.84% โดยกลุ่มผสม RP#6 x RP#8 มีค่าต่ำสุดและกลุ่มผสม RP#6 x RP#7 มีค่าสูงสุด (ตารางที่ 3)

1.6 เปอร์เซ็นต์เส้นใย

พบว่าค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์เส้นใยของเฮมพ์พันธุ์ RPF1, RPF3 และลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 16.13-22.23% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 19.27% กลุ่มผสม RP#6 x RP#8 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 22.23% และกลุ่มผสม RP#3 x RP#4 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 16.13% ค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs1 มีค่าระหว่าง -6.69 ถึง 26.01% และค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs2 มีค่าระหว่าง -17.40 ถึง 11.54% โดยกลุ่มผสม RP#3 x RP#4 มีค่าต่ำสุดและกลุ่มผสม RP#6 x RP#8 มีค่าสูงสุด (ตารางที่ 3)

1.7 ปริมาณสาร THC

พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณ THC ของเฮมพ์พันธุ์ RPF1, RPF3 และลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 0.04-0.39% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.16% กลุ่มผสม RP#5 x RP#6 มีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.39% และกลุ่มผสม RP#6 x RP#8 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.04% ค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs1 มีค่าระหว่าง -84.46 ถึง 89.90% และค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs2 มีค่าระหว่าง -51.05 ถึง 498.20% โดยกลุ่มผสม RP#6 x RP#8 มีค่าต่ำสุดและกลุ่มผสม RP#5 x RP#6 มีค่าสูงสุด (ตารางที่ 4)

1.8 ปริมาณสาร CBD

พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณ CBD ของเฮมพ์พันธุ์ RPF1, RPF3 และลูกผสมชั่วที่ 1 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีค่าเฉลี่ยระหว่าง 0.62-1.45% มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.06% กลุ่มผสม RP#1 x RP#3 มี

ค่าสูงสุดเท่ากับ 1.45% และกลุ่มผสม RP#6 x RP#8 มีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.62% ค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs1 มีค่าระหว่าง -35.01 ถึง 50.94% และค่าความดีเด่นของลูกผสม Hs2 มีค่าระหว่าง -19.16 ถึง 87.74% โดยกลุ่มผสม RP#6 x RP#8 มีค่าต่ำสุดและกลุ่มผสม RP#1 x RP#3 มีค่าสูงสุด (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 1 ความดีเด่นของลูกผสมของเฮมพ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF1 (Hs1) และ พันธุ์ RPF3 (Hs2) ของลักษณะความสูงลำต้น และจำนวนข้อต่อต้น

กลุ่มผสม	ความสูงลำต้น (ซม.)					จำนวนข้อต่อต้น				
	เฉลี่ย	Hs1 (%)	Sig.	Hs2 (%)	Sig.	เฉลี่ย	Hs1 (%)	Sig.	Hs2 (%)	Sig.
RP#1 x RP#2	293.08	-5.91	ns	17.51	ns	27.33	0.92	ns	34.43	**
RP#1 x RP#3	284.08	-8.8	ns	13.90	ns	24.42	-9.84	**	20.09	**
RP#1 x RP#4	282.50	-9.31	ns	13.26	ns	27.17	0.31	ns	33.62	**
RP#2 x RP#3	290.91	-6.61	ns	16.64	ns	24.00	-11.37	**	18.05	**
RP#2 x RP#4	297.98	-5.81	ns	17.63	ns	24.04	-12.4	**	16.68	**
RP#3 x RP#4	238.92	-24.88	ns	-6.18	ns	21.60	-22.46	*	3.28	ns
RP#5 x RP#6	268.75	-13.72	ns	7.75	ns	23.09	-14.76	**	13.54	**
RP#5 x RP#7	290.00	-6.9	ns	16.27	ns	23.00	-15.08	**	13.11	**
RP#5 x RP#8	290.79	-6.65	ns	16.59	ns	23.21	-14.31	**	14.14	**
RP#6 x RP#7	322.33	3.48	ns	29.23	ns	27.54	1.7	*	35.46	**
RP#6 x RP#8	264.37	-15.13	ns	6.00	ns	20.88	-22.92	**	2.67	ns
RP#7 x RP#8	325.25	4.41	ns	30.40	ns	26.58	-1.85	ns	30.74	**
RPF1	311.50					27.08				
RPF3	249.42					20.33				
Average	286.42					24.30				
F-test	*					ns				
CV(%)	10.81					14.47				

*, ** หมายถึงแตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และ $p < 0.01$ ตามลำดับ

ns หมายถึงไม่แตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 2 ความดีเด่นของลูกผสมของเฮมพ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF1 (Hs1) และ พันธุ์ RPF3 (Hs2) ของลักษณะจำนวนกิ่ง และเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น

คู่ผสม	จำนวนกิ่ง					เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น(มม.)				
	เฉลี่ย	Hs1 (%)	Sig.	Hs2 (%)	Sig.	เฉลี่ย	Hs1 (%)	Sig.	Hs2 (%)	Sig.
RP#1 x RP#2	25.00	9.08	**	72.40	**	17.34	-17.57	**	27.07	**
RP#1 x RP#3	21.17	-7.65	**	45.97	**	15.47	-26.46	**	13.36	**
RP#1 x RP#4	23.58	2.9	ns	62.64	**	17.96	-14.59	**	31.67	**
RP#2 x RP#3	21.00	-8.37	**	44.83	**	18.20	-13.45	**	33.42	**
RP#2 x RP#4	20.48	-12.25	**	38.69	**	16.04	-25	**	15.62	**
RP#3 x RP#4	19.05	-19.28	ns	27.59	*	14.90	-29.22	**	9.11	ns
RP#5 x RP#6	18.33	-20.01	**	26.43	**	14.70	-30.1	**	7.75	*
RP#5 x RP#7	18.00	-21.46	**	24.14	**	16.19	-23.01	**	18.67	**
RP#5 x RP#8	19.33	-15.64	**	33.33	**	16.22	-22.87	**	18.89	**
RP#6 x RP#7	22.75	-0.73	ns	56.90	**	18.12	-13.85	**	32.80	**
RP#6 x RP#8	16.38	-28.55	**	12.93	*	13.92	-33.83	**	2.00	ns
RP#7 x RP#8	21.42	-6.56	**	47.69	**	18.77	-10.77	**	37.55	**
RPF1	22.92					21.03				
RPF3	14.50					13.64				
Average	20.28					16.61				
F-test	ns					*				
CV(%)	21.49					16.61				

*, ** หมายถึงแตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และ $p < 0.01$ ตามลำดับ

ns หมายถึงไม่แตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่3 ความเค้นของลูกผสมของเฮมพ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF1 (Hs1) และ พันธุ์ RPF3 (Hs2) ของลักษณะน้ำหนักสดต้น และเปอร์เซ็นต์เส้นใย

กลุ่มผสม	น้ำหนักสดต้น (กรัม)					เปอร์เซ็นต์เส้นใย (%)				
	เฉลี่ย	Hs1 (%)	Sig.	Hs2 (%)	Sig.	เฉลี่ย	Hs1 (%)	Sig.	Hs2 (%)	Sig.
RP#1 x RP#2	224.26	-47.92	ns	48.37	ns	19.12	8.38	**	-4.06	ns
RP#1 x RP#3	201.31	-53.25	ns	33.19	ns	19.78	12.15	**	-0.73	ns
RP#1 x RP#4	270.39	-37.21	ns	78.89	ns	18.52	4.96	**	-7.09	*
RP#2 x RP#3	289.59	-32.75	ns	91.59	ns	20.03	13.56	**	0.53	ns
RP#2 x RP#4	203.54	-53.91	ns	31.30	ns	16.75	-3.91	**	-14.94	**
RP#3 x RP#4	161.52	-61.32	ns	10.19	ns	16.13	-6.69	*	-17.40	**
RP#5 x RP#6	186.34	-56.73	ns	23.28	ns	20.81	17.97	**	4.43	ns
RP#5 x RP#7	246.20	-42.83	ns	62.88	ns	20.44	15.87	**	2.57	ns
RP#5 x RP#8	214.92	-50.09	ns	42.19	ns	20.66	17.12	**	3.68	ns
RP#6 x RP#7	299.04	-30.56	ns	97.84	ns	18.18	3.03	*	-8.79	**
RP#6 x RP#8	98.51	-77.12	ns	-34.82	ns	22.23	26.01	**	11.54	*
RP#7 x RP#8	255.55	-40.66	ns	69.07	ns	19.61	11.18	**	-1.58	ns
RPF1	430.63					17.64				
RPF3	151.15					19.93				
Average	230.92					19.27				
F-test	**					ns				
CV(%)	39.94					14.42				

*, ** หมายถึงแตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และ $p < 0.01$ ตามลำดับ

ns หมายถึงไม่แตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 4 ความดีเด่นของลูกผสมของเฮมพ์เปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF1 (Hs1) และ พันธุ์ RPF3 (Hs2) ของลักษณะปริมาณสาร THC และ CBD

คู่ผสม	THC					CBD				
	เฉลี่ย	Hs1 (%)	Sig.	Hs2 (%)	Sig.	เฉลี่ย	Hs1 (%)	Sig.	Hs2 (%)	Sig.
RP#1 x RP#2	0.30	14.11	**	259.46	**	1.25	30.21	**	61.96	**
RP#1 x RP#3	0.39	50.52	**	374.17	**	1.45	50.94	**	87.74	**
RP#1 x RP#4	0.15	-41.75	**	83.48	**	1.30	35.17	**	68.13	**
RP#2 x RP#3	0.06	-75.6	**	-23.12	**	1.37	42.73	**	77.53	**
RP#2 x RP#4	0.14	-47.51	**	65.37	**	0.85	-8.52	**	13.79	**
RP#3 x RP#4	0.04	-78.46	**	-32.13	**	0.90	-8.08	**	14.33	**
RP#5 x RP#6	0.50	89.9	**	498.20	**	0.98	2.4	**	27.37	**
RP#5 x RP#7	0.05	-80.46	**	-38.44	**	0.99	3.49	**	28.73	**
RP#5 x RP#8	0.12	-55.29	**	40.84	**	1.07	11.21	**	38.33	**
RP#6 x RP#7	0.07	-74.83	**	-20.72	**	1.37	42.94	**	77.79	**
RP#6 x RP#8	0.04	-84.46	**	-51.05	**	0.62	-35.01	**	-19.16	**
RP#7 x RP#8	0.05	-79.6	**	-35.74	**	0.99	3.57	**	28.83	**
RPF1	0.26					0.96				
RPF3	0.08					0.77				
Average	0.16					1.06				
F-test	**					**				
CV(%)	71.63					26.69				

*, ** หมายถึงแตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และ $p < 0.01$ ตามลำดับ

ns หมายถึงไม่แตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2. ผลการศึกษาสมรรถนะในการผสม

2.1 ความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมของการทดลองชุดที่ 1

2.1.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนพบความแตกต่างระหว่างลูกผสม (entries) ของลักษณะปริมาณสาร THC และยังพบว่าความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมทั่วไป (general combining ability; g.c.a) และความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมเฉพาะ (specific combining ability; s.c.a) ของลักษณะปริมาณสาร THC นี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติอีกด้วย (ตารางที่ 5 และตารางที่ 6)

2.1.2 การประมาณค่าอิทธิพลของสมรรถนะในการผสม (estimates of combining ability effects) ของลูกผสมชุดที่ 1 ได้แสดงดังตารางที่ 9-12 พบว่าสมรรถนะในการผสมทั่วไป (general combining ability; g.c.a) ของสายพันธุ์ RP#1 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดี (good combiner) ในทางลบของลักษณะเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น และน้ำหนักสดต้น มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีในบางบวกของลักษณะปริมาณสาร THC และ CBD สายพันธุ์ RP#2 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดี (good combiner) ในทางบวกของลักษณะเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น และน้ำหนักสดต้น สายพันธุ์ RP#3 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดี (good combiner) ในทางเพิ่มค่าของลักษณะน้ำหนักสดต้น และสายพันธุ์ RP#4 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดี (good combiner) ในทางลบของลักษณะเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักสดต้น ปริมาณสาร THC และปริมาณสาร CBD

ค่าประมาณอิทธิพลของสมรรถนะในการผสมเฉพาะ (specific combining ability; s.c.a) พบว่าลักษณะเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น และน้ำหนักสดต้น ของทุกคู่ผสมมีค่าลบ ยกเว้นคู่ผสม RP#1 x RP#4 และ RP#2 x RP#3 ลักษณะปริมาณสาร THC ของคู่ผสม RP#1 x RP#3 และ RP#2 x RP#4 มีค่าบวก ส่วนคู่ผสม RP#1 x RP#4 และ RP#2 x RP#3 มีค่าลบ และลักษณะปริมาณสาร CBD ของคู่ผสม RP#1 x RP#2 และ RP#3 x RP#4 มีค่าลบ ส่วนคู่ผสม RP#1 x RP#4 และ RP#2 x RP#3 มีค่าบวก

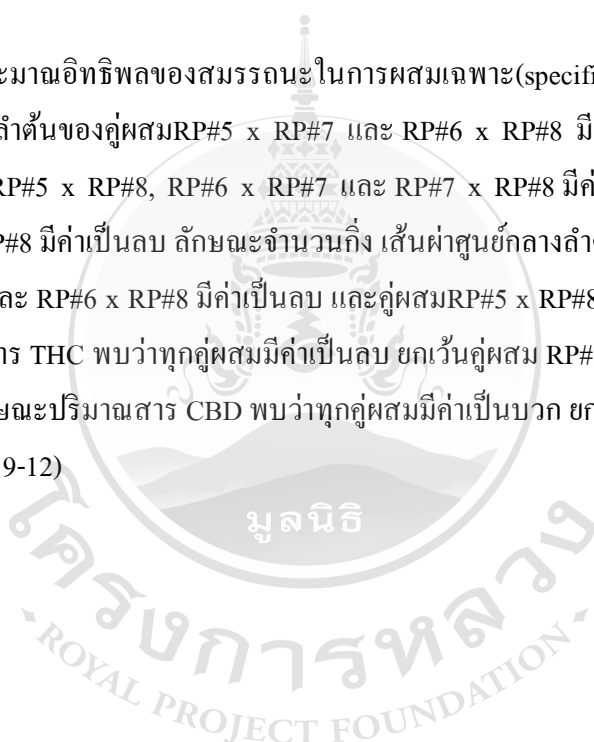
2.2 ความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมของการทดลองชุดที่ 2

2.2.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนพบว่าลักษณะปริมาณสาร THC มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติระหว่างลูกผสม (entries) สมรรถนะในการผสมทั่วไป (g.c.a) และสมรรถนะในการผสมเฉพาะ (s.c.a.) ส่วนลักษณะปริมาณสาร CBD มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างลูกผสม (entries) และสมรรถนะในการผสมเฉพาะ (s.c.a.) แสดงดังตารางที่ 7 และตารางที่ 8

2.2.2 การประมาณค่าอิทธิพลของสมรรถนะในการผสม (estimates of combining ability effects) ของลูกผสมชุดที่ 2 ได้แสดงดังตารางที่ 9-12 พบว่าสมรรถนะในการผสมทั่วไป (general combining

ability; g.c.a) ของสายพันธุ์ RP#5 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดี (good combiner) ในทางลบของลักษณะจำนวนข้อ จำนวนกิ่ง และเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น แต่มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีในบางบวกของลักษณะปริมาณสาร THC สายพันธุ์ RP#6 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีในทางบวกของลักษณะเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น สายพันธุ์ RP#7 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีในทางบวกของลักษณะความสูงลำต้น จำนวนข้อ จำนวนกิ่ง เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักสดต้น และปริมาณสาร CBD แต่มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีในทางลบของลักษณะปริมาณสาร THC และสายพันธุ์ RP#8 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีในทางลบของลักษณะจำนวนข้อ น้ำหนักสดต้น ปริมาณสาร THC และปริมาณสาร CBD (ตารางที่ 9-12)

ค่าประมาณอิทธิพลของสมรรถนะในการผสมเฉพาะ (specific combining ability; s.c.a) พบว่าลักษณะความสูงลำต้นของกลุ่มผสม RP#5 x RP#7 และ RP#6 x RP#8 มีค่าลบ ลักษณะจำนวนข้อของกลุ่มผสม RP#5 x RP#6, RP#5 x RP#8, RP#6 x RP#7 และ RP#7 x RP#8 มีค่าเป็นบวก ส่วนกลุ่มผสม RP#5 x RP#7 และ RP#6 x RP#8 มีค่าเป็นลบ ลักษณะจำนวนกิ่ง เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น และน้ำหนักสดต้น พบว่ากลุ่มผสม RP#5 x RP#7 และ RP#6 x RP#8 มีค่าเป็นลบ และกลุ่มผสม RP#5 x RP#8 และ RP#6 x RP#7 มีค่าเป็นบวก ลักษณะปริมาณสาร THC พบว่าทุกกลุ่มผสมมีค่าเป็นลบ ยกเว้นกลุ่มผสม RP#5 x RP#6 และ RP#7 x RP#8 ที่มีค่าเป็นบวก และลักษณะปริมาณสาร CBD พบว่าทุกกลุ่มผสมมีค่าเป็นบวก ยกเว้นกลุ่มผสม RP#5 x RP#8 และ RP#6 x RP#7 (ตารางที่ 9-12)



ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของลูกผสมของเฮมพ์ ชุดที่ 1 ของลักษณะความสูงลำต้น จำนวนข้อ จำนวนกิ่ง และเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น

Source of Variance	df	Mean Square			
		ความสูงลำต้น (ซม.)	จน.ข้อต่อต้น	จน.กิ่งต่อต้น	เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (มม.)
Block	1	3984.71	27.999	27.999	0.031
Entries	5	1043.38	4.684	4.673	5.07
gca	3	473.53	3.643	3.835	2.143
sca	2	593.93	0.39	0.088	3.123
Error	5	1916.59	21.846	24.985	6.925
CV (%)		16.07	19.82	24.22	16.08

ตารางที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของลูกผสมของเฮมพ์ ชุดที่ 1 ของลักษณะน้ำหนักสดต้น เปอร์เซ็นต์เส้นใย ปริมาณสาร THC และปริมาณสาร CBD

Source of Variance	df	Mean Square			
		น้ำหนักสดต้น (กรัม)	เปอร์เซ็นต์เส้นใย (%)	THC (%)	CBD (%)
Block	1	145.53	20.619	0.002	0.010
Entries	5	7506.35	7.232	0.0833**	0.119
gca	3	2878.3	5.869	0.0404**	0.041
sca	2	5065.4	0.236	0.0435**	0.087
Error	5	7961.62	2.365	0.004	0.057
CV (%)		40.35	8.06	30.02	19.49

** หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.01$

ตารางที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของลูกผสมของเฮมพ์ ชุดที่ 2 ของลักษณะความสูงลำต้น จำนวนข้อ จำนวนกิ่ง และเส้นผ่าศูนย์กลางกลางลำต้น

Source of Variance	df	Mean Square			
		ความสูงลำต้น (ซม.)	จน.ข้อต่อต้น	จน.กิ่งต่อต้น	เส้นผ่าศูนย์กลางกลางลำต้น (มม.)
Block	3	1078.75	1.958	4.392	2.309
Entries	5	2655.79	25.152	22.025	14.116
gca	3	807.28	5.922	3.970	4.217
sca	2	448.96	6.838	7.810	2.497
Error	5	1249.29	16.099	25.888	9.466
CV (%)		12.04	16.68	26.27	18.85

ตารางที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของลูกผสมของเฮมพ์ ชุดที่ 2 ของลักษณะน้ำหนักสดต้น เปอร์เซ็นต์เส้นใย ปริมาณสาร THC และปริมาณสาร CBD

Source of Variance	df	Mean Square			
		น้ำหนักสดต้น (กรัม)	เปอร์เซ็นต์เส้นใย (%)	THC (%)	CBD (%)
Block	3	4443.4	6.327	0.0008	0.033
Entries	5	19241.8	7.288	0.1275**	0.227*
gca	3	5612.9	1.801	0.0334**	0.038
sca	2	3606.8	1.854	0.0296**	0.085*
Error	5	9281	9.969	0.0027	0.058
CV (%)		44.44	15.54	37.87	24.02

*, ** หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และ $p < 0.01$ ตามลำดับ

ตารางที่ 9 ค่าประมาณอิทธิพลของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของ
ชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ของลักษณะความสูงลำต้น และจำนวนข้อต่อต้น

สายพันธุ์/คู่ผสม	ความสูงลำต้น (ซม.)			จน.ข้อต่อต้น		
	ค่าประมาณ	SE	Sig.	ค่าประมาณ	SE	Sig.
ชุดการทดลองที่ 1						
<i>General combining ability (g_i)</i>						
RP#1	-1.33	25.77	ns	1.29	2.16	ns
RP#2	21.33	25.77	ns	0.96	2.16	ns
RP#3	-4.83	25.77	ns	-0.71	2.16	ns
RP#4	-15.17	25.77	ns	-1.54	2.16	ns
<i>Specific combining ability (s_{ij})</i>						
RP#1 x RP#2	-18.39	24.95	ns	-0.33	2.09	ns
RP#1 x RP#3	15.78	24.95	ns	-0.17	2.09	ns
RP#1 x RP#4	2.61	24.95	ns	0.5	2.09	ns
RP#2 x RP#3	2.61	24.95	ns	0.5	2.09	ns
RP#2 x RP#4	15.78	24.95	ns	-0.17	2.09	ns
RP#3 x RP#4	-18.39	24.95	ns	-0.33	2.09	ns
ชุดการทดลองที่ 2						
<i>General combining ability (g_i)</i>						
RP#5	-15.6	9.48	ns	-1.43	0.4	**
RP#6	-12.65	9.48	ns	-0.32	0.4	ns
RP#7	28.42	9.48	**	2.49	0.4	**
RP#8	-0.17	9.48	ns	-0.74	0.4	*
<i>Specific combining ability (s_{ij})</i>						
RP#5 x RP#6	3.42	9.18	ns	0.79	0.4	*
RP#5 x RP#7	-16.4	9.18	*	-2.11	0.4	**
RP#5 x RP#8	12.98	9.18	ns	1.33	0.4	**
RP#6 x RP#7	12.98	9.18	ns	1.33	0.4	**
RP#6 x RP#8	-16.4	9.18	*	-2.11	0.4	**
RP#7 x RP#8	3.42	9.18	ns	0.79	0.4	*

*, ** หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และ $p < 0.01$ ตามลำดับ, ns หมายถึงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่10ค่าประมาณอิทธิพลของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของ
ชุดที่ 1 และชุดที่ 2 ของลักษณะ จน.กิ่งต่อต้น และเส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น

สายพันธุ์/คู่ผสม	จน.กิ่งต่อต้น			เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น(มม.)		
	ค่าประมาณ	SE	Sig.	ค่าประมาณ	SE	Sig.
ชุดการทดลองที่ 1						
<i>General combining ability (g_i)</i>						
RP#1	1.04	2.16	ns	-0.58	0.0719	**
RP#2	1.29	2.16	ns	1.47	0.0719	**
RP#3	-0.79	2.16	ns	-0.04	0.0719	ns
RP#4	-1.54	2.16	ns	-0.85	0.0719	**
<i>Specific combining ability (s_{ij})</i>						
RP#1 x RP#2	0.2	2.09	ns	-0.59	0.0696	**
RP#1 x RP#3	-0.22	2.09	ns	-0.85	0.0696	**
RP#1 x RP#4	0.03	2.09	ns	1.44	0.0696	**
RP#2 x RP#3	0.03	2.09	ns	1.44	0.0696	**
RP#2 x RP#4	-0.22	2.09	ns	-0.85	0.0696	**
RP#3 x RP#4	0.2	2.09	ns	-0.59	0.0696	**
ชุดการทดลองที่ 2						
<i>General combining ability (g_i)</i>						
RP#5	-1.22	0.6	*	-0.92	0.44	*
RP#6	-0.32	0.6	ns	-1.11	0.44	*
RP#7	2.03	0.6	**	2.06	0.44	**
RP#8	-0.49	0.6	ns	-0.03	0.44	ns
<i>Specific combining ability (s_{ij})</i>						
RP#5 x RP#6	0.51	0.58	ns	0.41	0.42	ns
RP#5 x RP#7	-2.18	0.58	**	-1.27	0.42	**
RP#5 x RP#8	1.67	0.58	**	0.85	0.42	*
RP#6 x RP#7	1.67	0.58	**	0.85	0.42	*
RP#6 x RP#8	-2.18	0.58	**	-1.27	0.42	**
RP#7 x RP#8	0.51	0.58	ns	0.41	0.42	ns

*, ** หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และ $p < 0.01$ ตามลำดับ, ns หมายถึงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 11 ค่าประมาณอิทธิพลของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของ
ชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ของลักษณะน้ำหนักสดต้น และเปอร์เซ็นต์เส้นใย

สายพันธุ์/คู่ผสม	น้ำหนักสดต้น (กรัม)			เปอร์เซ็นต์เส้นใย (%)		
	ค่าประมาณ	SE	Sig.	ค่าประมาณ	SE	Sig.
ชุดการทดลองที่ 1						
<i>General combining ability (g_i)</i>						
RP#1	-28.01	4.92	**	1.68	1.8538	ns
RP#2	44.12	4.92	**	0.58	1.8538	ns
RP#3	18.93	4.92	**	0.12	1.8538	ns
RP#4	-35.04	4.92	**	-2.38	1.8538	ns
<i>Specific combining ability (s_{ij})</i>						
RP#1 x RP#2	-38.48	4.77	**	-0.38	1.7949	ns
RP#1 x RP#3	-18.47	4.77	**	0.09	1.7949	ns
RP#1 x RP#4	56.95	4.77	**	0.29	1.7949	ns
RP#2 x RP#3	56.95	4.77	**	0.29	1.7949	ns
RP#2 x RP#4	-18.47	4.77	**	0.09	1.7949	ns
RP#3 x RP#4	-38.48	4.77	**	-0.38	1.7949	ns
ชุดการทดลองที่ 2						
<i>General combining ability (g_i)</i>						
RP#5	-1.41	19.2427	ns	0.47	0.7261	ns
RP#6	-33.19	19.2427	ns	0.13	0.7261	ns
RP#7	75.25	19.2427	**	-1.37	0.7261	*
RP#8	-40.65	19.2427	*	0.77	0.7261	ns
<i>Specific combining ability (s_{ij})</i>						
RP#5 x RP#6	4.19	18.6317	ns	-0.11	0.703	ns
RP#5 x RP#7	-44.4	18.6317	*	1.01	0.703	ns
RP#5 x RP#8	40.22	18.6317	*	-0.9	0.703	ns
RP#6 x RP#7	40.22	18.6317	*	-0.9	0.703	ns
RP#6 x RP#8	-44.4	18.6317	*	1.01	0.703	ns
RP#7 x RP#8	4.19	18.6317	ns	-0.11	0.703	ns

*, ** หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และ $p < 0.01$ ตามลำดับ, ns หมายถึงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ตารางที่ 12 ค่าประมาณอิทธิพลของสมรรถนะในการผสมทั่วไป และสมรรถนะในการผสมเฉพาะของ
ชุดการทดลองที่ 1 และชุดการทดลองที่ 2 ของลักษณะ THC และ CBD

สายพันธุ์/คู่ผสม	THC (%)			CBD (%)		
	ค่าประมาณ	SE	Sig.	ค่าประมาณ	SE	Sig.
ชุดการทดลองที่ 1						
<i>General combining ability (g_i)</i>						
RP#1	0.17	0.0177	**	0.13	0.0398	*
RP#2	-0.01	0.0177	ns	0.05	0.0398	ns
RP#3	0.02	0.0177	ns	0.02	0.0398	ns
RP#4	-0.18	0.0177	**	-0.2	0.0398	**
<i>Specific combining ability (s_{ij})</i>						
RP#1 x RP#2	-0.0002	0.0171	ns	-0.17	0.0386	**
RP#1 x RP#3	0.1476	0.0171	**	-0.07	0.0386	ns
RP#1 x RP#4	-0.1474	0.0171	**	0.23	0.0386	**
RP#2 x RP#3	-0.1474	0.0171	**	0.23	0.0386	**
RP#2 x RP#4	0.1476	0.0171	**	-0.07	0.0386	ns
RP#3 x RP#4	-0.0002	0.0171	ns	-0.17	0.0386	**
ชุดการทดลองที่ 2						
<i>General combining ability (g_i)</i>						
RP#5	0.13	0.008	**	0.01	0.0529	ns
RP#6	0.09	0.008	**	-0.02	0.0529	ns
RP#7	-0.12	0.008	**	0.17	0.0529	**
RP#8	-0.1	0.008	**	-0.16	0.0529	**
<i>Specific combining ability (s_{ij})</i>						
RP#5 x RP#6	0.14	0.008	**	-0.02	0.0512	ns
RP#5 x RP#7	-0.09	0.008	**	-0.2	0.0512	**
RP#5 x RP#8	-0.05	0.008	**	0.21	0.0512	**
RP#6 x RP#7	-0.05	0.008	**	0.21	0.0512	**
RP#6 x RP#8	-0.09	0.008	**	-0.2	0.0512	**
RP#7 x RP#8	0.14	0.008	**	-0.02	0.0512	ns

*, ** หมายถึงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$ และ $p < 0.01$ ตามลำดับ, ns หมายถึงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

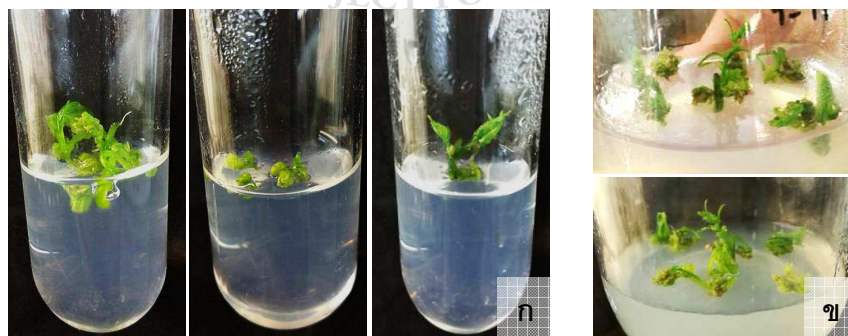
3. การเก็บรักษาต้นพ้อ-แม่เฮมพ์ในสภาพปลอดเชื้อ

โครงการวิจัยฯ ได้ส่งตัวอย่างเฮมพ์ไปเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อาคารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช กานดา เทศะไพบุลย์ มูลนิธิโครงการหลวง เพื่อขยายพันธุ์ต้นพ้อ-แม่พันธุ์ โดยเทคนิคด้านการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เพื่อใช้เป็น พ้อ-แม่พันธุ์สำหรับใช้ผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมของเฮมพ์โดยศูนย์วิจัยฯ ได้ดำเนินงานดังนี้

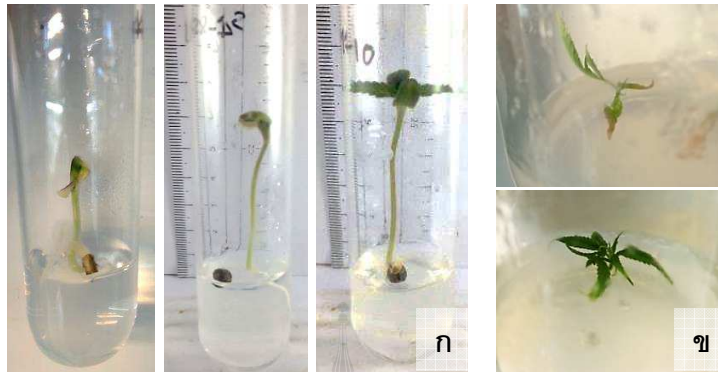
3.1 การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืชและเตรียมต้นกล้าในสภาพปลอดเชื้อ

เก็บตัวอย่างเมล็ดจำนวน 6 เบอร์ ได้แก่ S4-85, S4-7, No.3, No.4, No.7 และ No.8 และตัวอย่างยอดจำนวน 4 เบอร์ ได้แก่ RP5, RP6, RP7 และ RP8 จากต้นพ้อ-แม่พันธุ์ “สถานีเกษตรหลวงปางดะ” จากนั้นนำมาล้างทำความสะอาดด้วย Tween 20 และน้ำสะอาด ฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยสารละลายแคลเซียมไฮโปคลอไรต์ (Calcium Hypochlorite; CaOCl_2) เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 20 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที และเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่ไม่เติมฮอร์โมนเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียสความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน

หลังจากการฆ่าเชื้อที่ผิวและเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 7 วัน พบว่าต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงส่วนของยอด แสดงอาการน้ำเน่า มีการเจริญเติบโตช้า เนื้อเยื่อส่วนใหญ่พัฒนาไปเป็นดอก หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7-14 วัน (ภาพที่ 1ก) ต้นกล้าเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและตาย หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 20 -30 วัน (ภาพที่ 1ข) ส่วนต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ด เจริญหลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 7-14 วัน ซึ่งสามารถพัฒนาไปเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์เมื่อเปรียบเทียบกับต้นกล้าที่ได้จากส่วนยอด (ภาพที่ 2ก) จากนั้นตัดบริเวณยอดที่มีการพัฒนาของใบจริงย้ายเลี้ยงในอาหารขวดใหม่ (ภาพที่ 2ข)



ภาพที่ 1 ลักษณะต้นกล้าเฮมพ์จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนยอดพัฒนาไปเป็นตาดอกหลังเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ไม่เติมฮอร์โมนเป็นเวลา 14 วัน(ก) และ 30 วัน (ข)



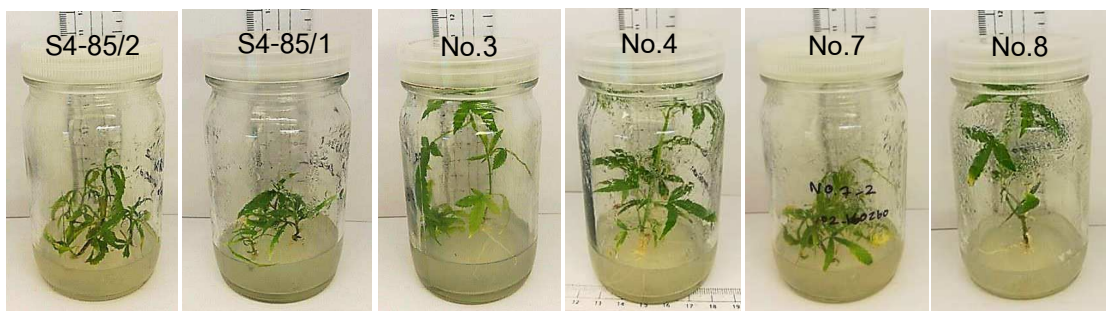
ภาพที่ 2 ลักษณะต้นกล้าสมัพธ์จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดหลังเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ไม่เติมฮอร์โมน เป็นเวลา 14 วัน (ก) และลักษณะยอดจากต้นกล้าที่เพาะด้วยเมล็ด หลังเพาะเลี้ยงบนอาหาร เป็นเวลา 7 วัน (ข)

3.2 การพัฒนาสูตรอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพ่อแม่พันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ

หลังจากเพาะเลี้ยงต้นกล้าที่ได้จากเมล็ดและย้ายเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ไม่เติมฮอร์โมน เป็นเวลา 30 วัน (ภาพที่ 3) โดยต้นกล้าที่สามารถเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจำนวน 6 เบอร์ รวม 53 โคลน (ตารางที่ 13) จึงย้ายต้นกล้าเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรดัดแปลงอาหาร MS สูตรดัดแปลงที่เติมฮอร์โมน BA 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร, GA₃ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร, adenine 0.02 มิลลิกรัมต่อลิตร และชูโครส 30 กรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มปริมาณ เป็นเวลา 15-20 วัน (ภาพที่ 4) โดยมีอัตราเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อ 1 ต้น ต่อ 4 – 5 ต้น หลังจากนั้นจึงนำต้นกล้าที่ได้จากการเพิ่มปริมาณย้ายเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรดัดแปลง ½MS ที่เติมฮอร์โมน IBA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรและชูโครส 20 กรัมต่อลิตรเพื่อชักนำให้เกิดราก เป็นเวลา 20 วัน (ภาพที่ 5) และย้ายต้นกล้าออกปลูกในสภาพโรงเรือนเพื่อสังเกตเพศของต้นกล้า (ภาพที่ 6) โดยการเพาะเลี้ยงสมัพธ์ในสภาพปลอดเชื้อจนถึงระยะย้ายปลูกในสภาพโรงเรือนใช้เวลาประมาณ 45 – 50 วัน

ตารางที่ 13 จำนวน โคลนของต้นกล้าเซมพ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดให้สภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS
ไม่เติมฮอร์โมน เป็นเวลา 30 วัน

เบอร์	จำนวน โคลน
S4-85	2
S4-7	1
No.3	19
No.4	5
No.7	6
No.8	20
รวม	53



ภาพที่ 3 ลักษณะต้นกล้าเซมพ์จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดหลังเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS
ไม่เติมฮอร์โมน เป็นเวลา 30 วัน



ภาพที่ 4 ลักษณะต้นกล้าเซมพ์จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดหลังเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรดัดแปลงเพื่อเพิ่มปริมาณในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 20 วัน



ภาพที่ 5 ลักษณะต้นกล้าเซมพ์จากการเพาะเลี้ยงเมล็ดหลังเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS สูตรดัดแปลงเพื่อชักนำให้เกิดราก ในสภาพปลอดเชื้อ เป็นเวลา 20 วัน



ภาพที่ 6 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 45-50 วัน (ก) และย้ายปลูกในสภาพโรงเรือนเป็นเวลา 60 วัน (ข) เพื่อสังเกตเพศของต้นกล้าในแต่ละโคลนจากข้อดอกบริเวณยอด (ค)



วิจารณ์ผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาความดีเด่นของลูกผสมและสมรรถนะในการผสม โดยคัดเลือกสายพันธุ์รุ่น S_4 ของเฮมพ์จำนวน 8 สายพันธุ์ มาสร้างลูกผสม 2 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 4 สายพันธุ์ ผสมแบบพบกันหมดโดยไม่มีการผสมกลับ ได้ลูกผสมจำนวน 6 คู่ผสมต่อ 1 ชุด จำนวนรวม 12 คู่ผสม ปลูกทดสอบที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ (ความสูงจากระดับน้ำทะเลปานกลาง 700 ม.) ได้ศึกษาลักษณะทางการเกษตรและทางเคมีได้แก่ ความสูงลำต้น จำนวนข้อ จำนวนกิ่ง เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น น้ำหนักต้นสด เเปอร์เซ็นต์เส้นใย ปริมาณสาร THC และปริมาณสาร CBD จากผลการวิจัยพบว่า ลักษณะทางการเกษตรส่วนมากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อาจจะเป็นเพราะว่าสายพันธุ์เฮมพ์ที่คัดเลือกมามีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมไม่มากพอที่จะทำให้ลูกผสมมีความแตกต่างกัน ซึ่งเฮมพ์เป็นพืช Dioecious plant มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมสูง การทำให้พันธุกรรมเข้าสู่ความเป็นพันธุ์แท้ (homozygous) ทำได้ค่อนข้างยาก การทำ Sibling ภายในประชากรเพียงสี่ครั้งยังไม่เพียงพอที่จะทำให้ได้สายพันธุ์แท้ที่ดีพอสำหรับการนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตลูกผสมได้ (Allard, 1960) พบเพียงลักษณะปริมาณสาร THC และ CBD ที่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรม บ่งชี้ให้เห็นว่าลักษณะทางเคมีทั้งสองนี้มีความคงตัวทางพันธุกรรม (fixed gene) ค่อนข้างสูงในชั่วรุ่น S_4 (Allard, 1960; Kunkaew *et al.*, 2011; คำเนิน, 2545; กฤษฎา, 2546; วีรพันธ์ และคณะ, 2556)

การศึกษาความดีเด่นของลูกผสม (heterosis) เป็นการประเมินความสามารถของพันธุ์พ่อ-แม่ ที่ใช้ในการสร้างลูกผสมว่าจะสามารถให้ลักษณะที่ดีที่แสดงออกมามากน้อยเพียงใด และยังบ่งบอกถึงการกระทำของยีน (gene action) ที่ควบคุมลักษณะต่างๆ โดยนำค่าเฉลี่ยของลูกผสมชั่วที่ 1 มาเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของพันธุ์ทดสอบ หากพบว่ามีค่าเป็นบวกแสดงว่าลูกผสมแสดงค่าที่สูงกว่าค่าเฉลี่ยของพันธุ์ทดสอบ ส่วนค่าที่เป็นลบจะแสดงผลที่ตรงกันข้าม จากผลการทดลองพบว่าลักษณะจำนวนข้อต่อต้น จำนวนกิ่งต่อต้น เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น เเปอร์เซ็นต์เส้นใย และปริมาณสาร CBD มีค่าความดีเด่นของลูกผสมเหนือกว่าพันธุ์ทดสอบในทางบวก ส่วนลักษณะปริมาณสาร THC มีความดีเด่นของลูกผสมในทางลบ ซึ่งเป็นผลจากอิทธิพลของยีนทั้งแบบผลบวก และแบบไม่เป็นผลบวก (Hennink, 1994; กฤษฎา, 2546; วีรพันธ์, 2548)

ผลการศึกษาสมรรถนะในการผสมพบว่าลักษณะปริมาณสาร THC มีความแตกต่างของสมรรถนะในการผสมทั่วไป (g.c.a.) สมรรถนะในการผสมเฉพาะ (s.c.a.) และยังพบว่าสัดส่วนของ g.c.a. : s.c.a. มีค่าใกล้เคียง 1 นั้นแสดงว่าลักษณะปริมาณสาร THC มีการกระทำของยีนแบบทั้งเป็นผลบวก (additive gene effect) และไม่เป็นผลบวก (non additive gene effect) ในสัดส่วนที่เท่าๆ กัน ส่วนลักษณะปริมาณสาร CBD

พบว่ามียีนค่า s.c.a. ที่มีนัยสำคัญทางสถิติ บ่งชี้ให้เห็นว่ายีนแบบไม่เป็นผลบวกมีอิทธิพลมากกว่า จากผลการประมาณค่า g.c.a. พบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ของลักษณะ THC นั้นแสดงว่าลักษณะนี้ถูกควบคุมด้วยยีนแบบผลบวก ซึ่งมีค่าทั้งบวกและลบ ซึ่งลักษณะปริมาณสาร THC นี้มีเป้าหมายเพื่อลดปริมาณให้ต่ำลง ดังนั้นในการพิจารณาเลือกใช้พันธุ์ที่จะนำมาสร้างลูกผสมควรเลือกพันธุ์ที่มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดี (good combiner) ในทางลบ ในการศึกษาครั้งนี้จะพบว่าสายพันธุ์ที่มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีในทางลดค่า THC ได้แก่สายพันธุ์ RP#4, RP#7 และ RP#8 ส่วนลักษณะปริมาณสาร CBD จะพิจารณาตรงข้ามกัน คือจะพิจารณาสายพันธุ์ที่มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีในทางบวกได้แก่สายพันธุ์ RP#1 และ RP#7 ผลการประมาณค่า s.c.a. พบว่าลักษณะปริมาณสาร THC ของคู่ผสม RP#1 x RP#4, RP#5 x RP#7, RP#5 x RP#8, RP#6 x RP#7 และคู่ผสม RP#6 x RP#8 มีค่า s.c.a. ที่เป็นลบ ส่วนลักษณะปริมาณสาร CBD พบว่าคู่ผสม RP#1 x RP#4 และ RP#6 x RP#7 มีค่า s.c.a. ที่เป็นบวกจึงเป็นคู่ผสมที่ดีของลักษณะเหล่านี้ด้วย (Hennink, 1994; Kunkaew *et al.*, 2006; วีรพันธ์, 2548)

นอกจากนี้ทางโครงการวิจัยยังได้ส่งตัวอย่างยอดและเมล็ดพันธุ์เฮมพ์ไปทำการศึกษารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากต้นอ่อนที่เพาะจากเมล็ดสามารถทำได้ ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนที่เป็นยอดยังต้องมีการศึกษาพัฒนาวิธีการต่อไป ซึ่งการขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาต้นพ่อแม่พันธุ์สำหรับการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมของเฮมพ์ต่อไป



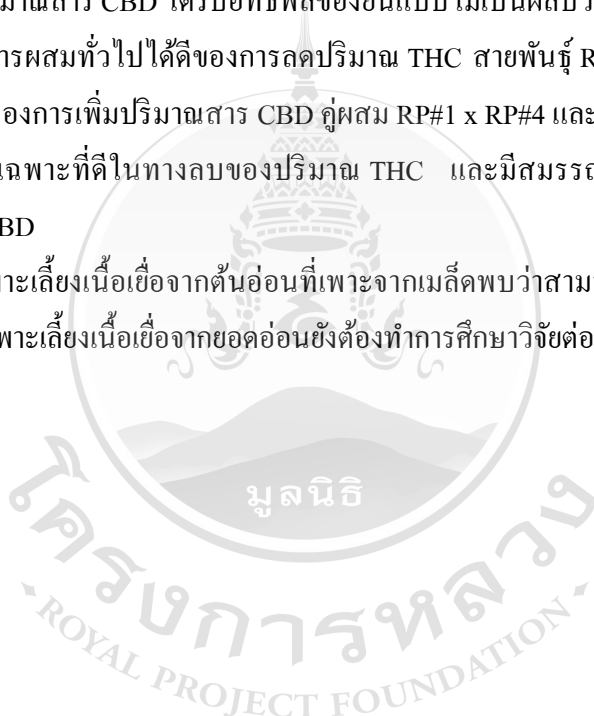
สรุปผลการวิจัย

จากผลการศึกษาความดีเด่นของลูกผสมและสมรรถนะในการผสมของเฮมพ์ ปลุกทดลองที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่ ผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

1. ความดีเด่นของลูกผสมเปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF1 และ RPF3 พบว่ามีทั้งค่าที่เป็นบวกและเป็นลบ ลักษณะปริมาณสาร THC ต้องการค่าที่เป็นลบ ส่วน CBD ต้องการค่าที่เป็นบวก

2. สมรรถนะในการผสมพบว่าลักษณะปริมาณสาร THC ถูกควบคุมด้วยยีนทั้งแบบผลบวกและไม่เป็นผลบวก ลักษณะปริมาณสาร CBD ได้รับอิทธิพลของยีนแบบไม่เป็นผลบวก สายพันธุ์ RP#4, RP#7 และ RP#8 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีของการลดปริมาณ THC สายพันธุ์ RP#1 และ RP#7 มีสมรรถนะในการผสมทั่วไปได้ดีของการเพิ่มปริมาณสาร CBD คู่ผสม RP#1 x RP#4 และ RP#6 x RP#7 เป็นคู่ผสมที่มีสมรรถนะในการผสมเฉพาะที่ดีในทางลบของปริมาณ THC และมีสมรรถนะในการผสมเฉพาะที่ดีในทางบวกของลักษณะ CBD

3. การศึกษาเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากต้นอ่อนที่เพาะจากเมล็ดพบว่าสามารถเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากการเพาะเมล็ดได้ ส่วนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากยอดอ่อนยังต้องทำการศึกษาวิจัยต่อไป



เอกสารอ้างอิง

- กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2522. ปรับปรุงพันธุ์พืช (เรียบเรียงครั้งที่ 2). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 146 หน้า.
- กฤษฎา สัมพันธ์รักษ์. 2546. ปรับปรุงพันธุ์พืช: พื้นฐานวิธีการและแนวคิด. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ดำเนิน กาละดี. 2539. ความดีเด่นของลูกผสมชั่วที่ 1 ในลักษณะผลผลิตน้ำหนักแห้งและพื้นที่ใบกับการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลือง. ในรายงานการประชุมทางวิชาการถั่วเหลืองแห่งชาติครั้งที่ 6, เชียงใหม่. หน้า 117-121.
- ดำเนิน กาละดี. 2545. เทคโนโลยีการปรับปรุงพันธุ์พืช (พิมพ์ครั้งที่ 2). โรงพิมพ์เมือง เชียงใหม่. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 256 หน้า.
- พรรณี จิตติขิต. 2541. หลักพันธุศาสตร์. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์. 2525. พันธุศาสตร์ปริมาณที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืช. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- เพ็ญศรี อติวรรณพัฒน์ วิวัฒน์ อรรถพานุรักษ์ และเบญจวรรณ คฤหาพัฒนา. 2550. การฟอกเชื้อราฟัจากไม้กัญชง. ในเรื่องเต็มการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45. หน้า 372-378.
- ลิลลี่ กาวิตะ กมรินทร์ พรหมรัตน์รักษ์ มาลี ณ นคร ยุพดี เผ่าพันธุ์ ศรีสม สุวรรณวงศ์ สุริยา ดันติ วิวัฒน์ และวีระชัย ณ นคร. 2547. สันฐานวิทยาและกายวิภาคของกัญชง. ในรายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. หน้า 576-583.
- วีรพันธ์ กันแก้ว. 2546. ความดีเด่นของลูกผสมและสมรรถนะในการผสมของถั่วอะซูกิ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชไร่. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 98 หน้า.
- วีรพันธ์ กันแก้ว และสุทัศน์ จุลศรีไกววัล. 2555. คู่มือ: การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยประชากร (พิมพ์ครั้งที่ 2). มูลนิธิโครงการหลวง. 106 หน้า.

- วีรพันธ์ กันแก้ว สุทัศน์ จุลศรีไกวัด ประภัสสร ทิพย์รัตน์ อติเรก ปัญญาลือ วัฒน ปันสุภา และประดิษฐ์
อุ้นถิ่น. 2552. การจำแนกประเภทเฮมพ์ (*Cannabis sativa* L.) ในประเทศไทยโดยใช้ลักษณะปริมาณ
สาร THC และ CBD. ว.วิทย์. 40(3): 307-314.
- วีรพันธ์ กันแก้ว สุทัศน์ จุลศรีไกวัด ประภัสสร ทิพย์รัตน์ อติเรก ปัญญาลือ วัฒน ปันสุภา และประดิษฐ์
อุ้นถิ่น. 2553. รายงานฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยและพัฒนาการปลูกเฮมพ์และการแปรรูป:
โครงการย่อยที่ 1 โครงการคัดเลือกสายพันธุ์เฮมพ์ที่มีปริมาณสาร THC ต่ำ และเปอร์เซ็นต์เส้นใยสูง.
สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน). เชียงใหม่. 87 หน้า
- วีรพันธ์ กันแก้ว สุทัศน์ จุลศรีไกวัด ประภัสสร ทิพย์รัตน์ อติเรก ปัญญาลือ และชวรงค์ เครือคำ. 2556.
รายงานฉบับสมบูรณ์ ชุดโครงการวิจัยและพัฒนาการปลูกและแปรรูปผลิตภัณฑ์จากเฮมพ์ โครงการ
ย่อยที่ 2: การวิจัยและพัฒนาเฮมพ์พันธุ์ลูกผสม. สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน).
เชียงใหม่. 69 หน้า.
- สันติย์จำจ. 2545. เอกสารคำสอนรายวิชา Agro 441 (Field Crop Improvement). ภาควิชาพืชไร่ คณะ
เกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่เชียงใหม่.
- สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน). 2555. รายงานผลการศึกษาดูงาน ณ มณฑล-
ยูนนาน สาธารณรัฐประชาชนจีน. หน้า 43.
- สำนักคุ้มครองพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร. 2556. รายการขอให้ออกหนังสือพันธุ์พืชขึ้นทะเบียน. กรม
วิชาการเกษตร. Available source: <http://www.doa.go.th/pvp/newpp.54htm> (18 มิ.ย.56)
- สำนักงาน ป.ป.ส. 2539. รายงานการป้องกันและปราบปรามยาเสพติดในประเทศไทยประจำปีงบประมาณ
2538. สำนักงานรัฐมนตรี. 75 หน้า.
- สำนักงานรัฐมนตรี. 2545. รายงานความก้าวหน้าโครงการการศึกษาถั่วงอกเพื่อพัฒนาศักยภาพเป็นพืช
เศรษฐกิจตามพระราชดำริ. น. 1 – 76. สวนพฤกษศาสตร์สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์, เชียงใหม่.
- อาคม กาญจนประโชติ. 2548. พืชกัญชง. วารสารโครงการหลวง. 6 (6) : 34 – 37.
- อาคม กาญจนประโชติ. 2548. ถั่วงอกปลูกได้ให้สาร(THC) ต่ำกว่า 0.3 %. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์. 6(3):9–11.
- อาคม กาญจนประโชติ. 2548. ถั่วงอก - ถั่วงอก. วารสารแม่โจ้ปริทัศน์. 6 (6) : 23 – 25.
- อาคม กาญจนประโชติ นันทฤทธิ์ โชคถาวร อนันต์ ปินดาร์ภัย พิภพ ชานวิชัยพงศ์ สมาน
ณ ลำปาง ปรีชา เพ็ชรเมื่อด พูนผล เล็กไม่น้อย วุฒิไกร บุตรพลวง สมเดช กิตติยศ
วัฒน ปันสุภา วาสนา เพ็ชร โชติพงษ์ กาญจนประโชติ ณรงค์ บุญแก้ว
จันทร์ศิริ วาทยานัย สัมพันธ์ ดาติวงศ์ และองอาจ ชันตะ. 2549. การวิจัยและพัฒนาเพื่อศึกษา

ปริมาณสารเสพติด (THC) ในพื้นที่ความสูงระดับต่างๆ และแต่ละช่วงระยะการเจริญเติบโตของพืช
 เสมพ์. รายงานผลการวิจัย เสนอต่อมูลนิธิโครงการหลวง. 73 หน้า.

- อาคม กาญจนประโชติ. 2550.กัญชง : Hemp. ISBN : 978-974-8072-98-2. สำนักพิมพ์ไททอล์คเลอร์
 เชียงใหม่. 90 หน้า.
- Ali, I., H.M. Ahmed and S.A. Shah. 2013. Evaluation and selection of rapeseed (*Brassica napus* L.) mutant
 lines for yield performance using augmented design. *The Journal of Animal & Plant Sciences*
 23(4): 1125-1130.
- Allard, R.W. 1960. Principle of plant breeding. John Wiley & Sons, Inc. London. 485 p.
- Amaducci, S., M. Errani and G. Venturi. 2002. Response of hemp to plant population and nitrogen
 fertilisation. *Ital. J. Agron.* 6(2): 103-111.
- Amaducci, S., M. Colauzzi, A. Zatta and G. Venturi. 2008. Flowering dynamics in monoecious and
 dioecious hemp genotypes. *J. Ind. Hemp* 13(1): 5-19.
- Barbosa, M.H.P., M.O.V. de Resende, J.A. Bressiani, L.C.I. da Silveira and L.A. Peternelli. 2005.
 Selection of sugarcane families and parents by Reml/Blup. *Crop Breeding and Applied
 Biotechnology* 5: 443-450.
- Bassani, M., E. Pacini and G.G. Franchi. 1994. Humidity stress responses in pollen of anemophilous and
 entomophilous species. *Grana* 33: 146-150.
- Bensemmane, L., H. Bouzerzour, A. Benmahammed and H. Mimouni. 2011. Assessment of the phenotypic
 variation within two- and six-rowed barley (*Hordeum vulgare* L.) breeding lines grown under
 semi-arid conditions. *Advance in Environmental Biology* 5(7): 1454-1460.
- Berenji, J., V. Sikova, G. Fournier and O. Beherec. 2013. Genetics and selection of hemp. In P. Bouloc, S.
 Allegret and L. Arnaud. CAB International.
- Bouloc, P., S. Allegret and L. Arnaud. 2013. Hemp: Industrial Production and Uses. CAB International.
 313p.
- Bredemann, G. 1922. Die bestimmung des fasergehaltes in bastfaserpflanzen bei zuchterischen
 untersuchungen. *Faserforschung* 4: 239-258.
- Bredemann, G. 1938. Zuchtung des hanfes auf fasergehalt. Die Ergebnisse des Jahres 1937.
Faserforschung 8: 81-87.
- Breslavets, L. 1926. Polyploide mitosen bei *Cannabis sativa* L. I. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 44: 498-502.

- Callaway, J.C. 2008. A more reliable evaluation of hemp THC levels is necessary and possible. *Journal of Industrial Hemp* 13(2): 117-144.
- De Meijer, E.P.M. 1994. Diversity in *Cannabis*. WAU dissertation no. 1881. Available source: <http://library.wur.nl/wda/abstracts/ab1881.html> (October 20, 2008).
- De Meijer, E. 1995. Fiber hemp cultivars: a survey of origin, ancestry, availability and brief agronomic characteristics. *Journal of the International Hemp Association* 2(2): 66-73.
- De Meijer, E.P.M., H.J. van der Kamp and F.A. van Eeuwijk. 1992. Characterisation of *Cannabis* accessions with regard to cannabinoid content in relation to other plant characters. *Euphytica* 62: 187-200.
- De Meijer, E.P.M. and L.J.M. van Soest. 1992. The CPRO *Cannabis* germplasm collection. *Euphytica* 62: 201-211.
- De Meijer, E.P.M. 1999. *Cannabis* germplasm resources. p. 133-151. In P. Ranalli (ed.) Advances in hemp research. The Harworth Press, New York.
- De Meijer, E.P.M., M. Bagatta, A. Carboni, P. Crucitti, V.M.C. Moliterni, P. Ranalli and G. Mandolino. 2003. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. *Genetics* 163: 335-346.
- De Meijer, E.P.M., K.M. Hammond and M. Micheler. 2008. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. (III): variation in cannabichromene proportion. *Euphytica* 165: 293-311.
- De Meijer, E.P.M., M. Bagatta, A. Carboni, P. Crucitti, V.M.C. Moliterni, P. Ranalli and G. Mandolino. 2003. The inheritance of chemical phenotype in *Cannabis sativa* L. *Genetics* 163: 335-346.
- Dempsey, J.M. 1975. Hemp. In Fiber crops. Gainesville, FL: University of Florida Press. pp. 46-89.
- De Zeeuw, R.A., J. Wijsbek, D.D. Breimer, T.B. Vree, C.A. van Ginneken and J.M. van Rossum. 1972. Cannabinoids with a propyl side chain in *Cannabis*. Occurrence and chromatographic behavior. *Science* 175: 778-779.
- Edme, S.J., P.Y.P. Tai and J.D. Miller. 2007. Relative efficiency of spatial analysis for non-replicated early-stage sugarcane field experiments. *Journal American Society of Sugar Cane Technologists* 27:89-104.
- Ehrensing, D.T. 1998. Feasibility of industrial hemp production in the United States Pacific Northwest. Available source: <http://extension.oregonstate.edu/catalog/html/sb/sb681/> (September 28, 2008).
- Erdtman, G. 1937. Pollen grains recovered from the atmosphere over the Atlantic. *Meddel. Gotesborgs Bot. Tradgard.* 12: 185-196.

- Faegri, K., J. Iverson, P.E. Kaland and K. Krzywinski. 1989. Textbook of pollen analysis. 4th edition. John Wiley & Sons, New York.
- Faeti, V., G. Mandolino and P. Ranalli. 1996. Genetic diversity of *Cannabis sativa* L. germplasma based on RAPD markers. *Plan Breeding* 115: 367-370.
- Falconer, D. S. 1989. Introduction of quantitative genetics. (3rd ed). Longman Group (PE). 438 pp.
- Fasoulas, A. 1973. A new approach to breeding superior yield varieties. Aristotelian Univ. of Thassaloniki. Greece.
- Ferreira, F.M., M.H.P. Barbosa, R.D. de Castro, L.A. Peternelli and C.D. Cruz. 2005. Effects of inbreeding on the selection of sugar cane clones. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 5:174-182.
- Fetterman, P.S., E.S. Keith, C.W. Waller, O. Guerrero, N.J. Doorenbos and M.W. Quimby. 1971. Mississippi-grown *Cannabis sativa* L.: Preliminary observation on chemical definition of phenotype and variations in tetrahydrocannabinol content versus age, sex and plant part. *Journal of the Pharmaceutical Sciences* 60: 1246-1249.
- Forapani, S., A. Carboni, C. Paoletti, V.M.C. Moliterni, P. Ranalli and G. Mandolino. 2001. Comparison of hemp varieties using Random Amplified Polymorphic DNA markers. *Crop Sci.* 41: 1682-1689.
- Fournier, G. and M.R. Paris. 1979. Le chanvre papetier (*Cannabis sativa* L.) cultivate en France: Le point sur les constituants. *Plant Med. Phytother.* 13: 116-121.
- Garcia, O.P., E. Murillo-Rodriguez, D.M. Gonzalez, M.M. Diaz, J.V. Moctezuma and L. Navarro. 2001. Vegetal marijuana, animal marijuana. *Salud Mental* 24(4): 58-64.
- Ghafoor, A., A. Sharif and M. Tahir. 1998. Evaluation of blackgram *Vigna mungo* (L.) hepper germplasm. *Pak. J. Bot.* 30(2): 227-238.
- Ghafoor, A., M.A. Zahid, Z. Ahmad, M. Afzal and M. Zubair. 2000. Selecting superior mungbean lines on the basis of genetic diversity and harvest index. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 3(8): 1270-1273.
- Gonzalez-Garcia, S., A. Hospido, M.T. Moreira and G. Feijoo. Life cycle environmental analysis of hemp production for non-wood pulp. Available source: <http://www.lcm2007.org/paper/109.pdf> (6 March 2009).

- Griffing, B. 1956. **Concepts of general combining ability in relation to diallel cross systems.** Australian Journal of Biological Sciences 9:463-493.
- Hakki, E.E., S.A. Kayis, E. Pinarkara and A. Sag. 2007. Inter simple sequence repeats separate efficiently hemp from marijuana (*Cannabis sativa* L.). Available source: <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol10/issue4/full/4/> (24 January 2009).
- Hennink, S. 1994. Optimisation of breeding for agronomic traits in fiber hemp (*Cannabis sativa* L.) by study of parent-offspring relationships. *Euphytica* 78: 69-76.
- Hillig, K. 2002. Letter to the editor. *Journal of Industrial Hemp* 7: 5-6.
- Hillig, K.W. and P.G. Mahlberg. 2004. A chemotaxonomic analysis of cannabinoid variation in *Cannabis* (Cannabaceae). *American Journal of Botany* 91(6): 966-975.
- Hirata, K. 1928. Sex determination in hemp (*Cannabis sativa* L.). *J. Genet.* 19: 65-79.
- Hoffmann, W. 1957. Hanf *cannabis sativa* L. In: H. Kapper and W. Rudolf (Eds). Handbuch der Pflanzenzuchtung, Band V., Paul Parey, Berlin-Hamburg: Paul Parey. pp. 204-263.
- Hoffmann, W. 1961. Hanf. In Rudolf-Kappert: Handbuch der Pflanzenzuchtung V, Berlin-Hamburg: Paul Parey. pp. 204-264.
- Hoppner, F., U. Menge-Hartmann and J.M. Greef. 2009. The influence of changing sowing rate and harvest time on yield and quality for the dual use of fibers and seeds of hemp (*Cannabis sativa* L.). Available source: [http://www.cropscience.org.au/icsc2004/poster/3/5/596_hoppnerf.htm](http://www.cropsscience.org.au/icsc2004/poster/3/5/596_hoppnerf.htm) (19 January 2009).
- Jobling, T. and P. Warner. 2001. New tropical industrial hemp. Proceeding of the 10th Australian Agronomy Conference 2001, *Australian Society of Agronomy*.
- Kunkaew, W., S. Julsrigival, P. Tipparat and S. Pinmanee. 2011. Selection for low Δ^9 -tetrahydrocannabinol content in Thai hemp cultivars. *SABRAO Journal of Breeding and Genetics* 43(1): 1-14.
- Kunkaew, W., S. Julsrigival, C. Senthong, and D. Karladee. 2006. Estimation of heterosis and combining ability in azukibean under highland growing condition in Thailand. *Chiang Mai University Journal* 5(2):163-168.

- Kunkaew, W., S. Julsrigival, C. Senthong, and D. Karladee. 2007. Combining ability analysis of yield and yield components in azuki bean under highland conditions of northern Thailand. *CMU. J. Nat. Sci.* 6(1):121-126.
- Latta, R.P. and B.J. Eaton. 1975. Seasonal fluctuations in cannabinoid content of Kansas marijuana. *Economic Botany* 29: 153-163.
- Mandolino, G., A. Carboni, S. Forapani, V. Faeti and P. Ranalli. 1999. Identification of DNA markers linked to the male sex in dioecious hemp (*Cannabis sativa* L.). *Theor. Appl. Genet.* 98: 86-92.
- Mandolino, G., M. Bagatta, A. Carboni, P. Ranalli and E. de Meijer. 2003. Qualitative and quantitative aspects of the inheritance of chemical phenotype in *Cannabis*. *Journal of Industrial Hemp* 8(2): 51-72.
- Masood, M.S., A. Javaid, M.A. Rabbani and R. Anwar. 2005. Phenotypic diversity and trait association in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces from Baluchistan, Pakistan. *Pak. J. Bot.* 37(4): 949-957.
- Mechtler, K., J. Bailer and K. de Hueber. 2009. Variation of Δ^9 -THC content in single plants of hemp varieties. Available source: <http://www.ienica.net/greentech/posters/Bailer.pdf> (24 January 2009).
- Mediavilla, V., M. Jonquera, I. Schmid-Slembrouck and A. Soldati. 1998. Decimal code for growth stages of hemp (*Cannabis sativa* L.). *J.Int. Hemp Ass.* 5(2): 65, 68-74.
- Ogunbayo, S.A., D.K. Ojo, O.O. Oyelakin and K.A. Sanni. 2005. Phylogenetic diversity and relationships among 40 rice accessions using morphological and RAPDs techniques. *African Journal of Biotechnology* 4(1): 1234-1244.
- Pacifico, D., F. Miselli, A. Carboni, A. Moschella and G. Mandolino. 2007. Time course of cannabinoid accumulation and chemotype development during the growth of *Cannabis sativa* L. *Euphytica* 160: 231-240.
- Pacifico, D., F. Miselli, M. Micheler, A. Carboni, P. Ranalli and G. Mandolino. 2006. Genetics and marker-assisted selection of the chemotype in *Cannabis sativa* L. *Molecular Breeding* 17: 257-268.
- R Core Team. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Ranalli, P. 1999. Advances in hemp research. Food Products Press (Haworth Press), London. 272 p.

- Ranalli, P. 2005. Current status and future scenarios of hemp breeding. *Euphytica* 140: 121-131.
- Sack, S.S. 1949. How far can wind-born pollen be disseminated? *J. Allergy* 20: 453-460.
- Saleem, M.Y., M. Asghar and Q. Iqbal. 2013. Augmented analysis for yield and some yield components in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Pak. J. Bot.* 45(1):215-218.
- Sayar, R., H. Khemira, A. Kameli and M. Mosbahi. 2008. Physiological test as predictive appreciation for drought tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Agronomy Research* 6(1): 79-90.
- Small, E. and H.D. Beckstead. 1973. Common cannabinoid phenotypes in 350 stocks of *Cannabis*. *Lloydia* 36:144-165.
- Small, E. and D. Marcus. 2002. Hemp: a new crop with new uses for North America. Available source: <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/ncnu02/v5-284.html> (October 20, 2008).
- Small, E. and D. Marcus. 2003. Tetrahydrocannabinol level in hemp (*Cannabis sativa*) germplasm resources. *Economic Botany* 57(4): 545-558.
- Small, E. and T. Antle. 2003. A preliminary study of pollen dispersal in *Cannabis sativa* in relation to wind direction. *Journal of Industrial Hemp* 8(2): 37-50.
- Snijders, C.H.A. 1990. Response to selection in F2 generations of winter wheat for resistance to head blight caused by *Fusarium culmorum*. *Euphytica* 50 : 163-169.
- Steel, R.G.D. and G.H. Torrie. 1960. Principles and procedures of statistics. Mc. Grwa Hill Book Comp. Inc. New York.
- Tipparat, P., W. Kunkaew, S. Julsrigival, S. Pinmanee and S. Natakankitkul. 2014. Classification of cannabis plants grown in northern Thailand using Physico-Chemical propoties. *Journal of Natural Science Research* 4(4):46-54.
- Torjek, O., N. Bucherna, E. Kiss, H. Homoki, Z. Finta-Korpelova, I. Bocsa, I. Nagg and L.E. Heszky. 2002. Novel male-specific molecular markers (MADC5, MAD6) in hemp. *Euphytica* 127: 209-218.
- Truta, E., E. Gille, E. Toth and M. Maniu. 2002. Biochemical differences in *Cannabis sativa* L. depending on sexual phenotype. *J. Appl. Genet.* 43(4): 451-462.
- Vogl, C.R., G. Lissek-Wolf and A. Surbock. 2004. Comparing hemp seed yields (*Cannabis sativa* L.) of an on-farm scientific field experiment to an on-farm agronomic evaluation under organic growing conditions in lower Austria. *Journal of Industrial Hemp* 9(1): 37-49.

Xin, C., W. Sorajjapinun, S. Reiwthongchum and P. Srinives. 2003. Identification of parental mungbean lines for production of hybrid varieties. *Chiang Mai University Journal* 2(2) : 97-105.





ภาคผนวกที่ 1 ตัวอย่างการวิเคราะห์สมรรถนะในการผสมโดยใช้โปรแกรมสถิติ R

R version 3.4.1 (2017-06-30) -- "Single Candle"

Copyright (C) 2017 The R Foundation for Statistical Computing

Platform: x86_64-w64-mingw32/x64 (64-bit)

R is free software and comes with ABSOLUTELY NO WARRANTY.

You are welcome to redistribute it under certain conditions.

Type 'license()' or 'licence()' for distribution details.

R is a collaborative project with many contributors.

Type 'contributors()' for more information and
'citation()' on how to cite R or R packages in publications.

Type 'demo()' for some demos, 'help()' for on-line help, or
'help.start()' for an HTML browser interface to help.

Type 'q()' to quit R.

[Previously saved workspace restored]

```
> d<-read.table('clipboard',header=T)
```

```
> d
```

	Cross1	Cross2	Rep	ht	nd	br	stdm	plwt	FB	THC	CBD
1	5	6	1	206.33	14.67	8.33	8.76	42.93	22.14	0.569	1.108
2	5	7	1	300.67	22.33	16.67	16.61	261.55	20.52	0.023	0.537
3	5	8	1	298.67	27.33	25.33	21.90	438.87	17.39	0.066	1.242
4	6	7	1	294.50	26.50	22.50	16.75	300.90	17.68	0.065	1.303
5	6	8	1	273.00	23.00	21.00	16.53	164.90	18.82	0.044	0.557

6	7	8	1	302.67	27.33	23.33	20.14	282.67	18.13	0.058	1.002
7	5	8	2	239.50	21.50	20.00	12.41	72.80	24.05	0.064	1.158
8	6	8	2	246.50	18.50	14.50	12.42	70.75	18.48	0.056	0.874
9	5	7	2	238.33	21.33	15.00	13.64	163.47	24.02	0.064	1.291
10	5	6	2	308.67	26.67	22.00	17.34	242.33	22.00	0.493	1.111
11	7	8	2	344.00	28.67	20.33	15.97	184.17	18.79	0.062	1.008
12	6	7	2	336.00	28.67	25.67	21.18	412.40	18.76	0.062	1.220
13	7	8	3	325.00	25.00	20.67	17.94	220.10	21.74	0.051	0.995
14	6	7	3	340.33	27.00	20.33	17.71	245.10	15.73	0.055	1.155
15	5	6	3	317.50	29.00	23.00	17.27	246.75	18.95	0.498	1.021
16	6	8	3	233.00	15.00	7.00	12.08	63.70	30.56	0.036	0.479
17	5	7	3	300.67	23.00	20.00	16.72	253.10	19.91	0.052	0.911
18	5	8	3	293.00	23.00	18.00	15.40	156.50	21.00	0.068	1.114
19	5	6	4	242.50	22.00	20.00	15.43	213.35	20.15	0.432	0.688
20	6	8	4	305.00	27.00	23.00	14.63	94.70	21.05	0.027	0.583
21	7	8	4	329.33	25.33	21.33	21.01	335.27	19.79	0.043	0.968
22	6	7	4	318.50	28.00	22.50	16.83	237.75	20.53	0.082	1.805
23	5	8	4	332.00	21.00	14.00	15.17	191.50	20.20	0.271	0.752
24	5	7	4	320.33	25.33	20.33	17.79	306.67	17.31	0.066	1.231

> attach(d)

> library(DiallelAnalysisR)

> THC<-Griffing(y=THC,Rep=Rep,Cross1=Cross1,Cross2=Cross2,data=d,Method=4,Model=1)

> THC

\$Means

Cross2 Cross3 Cross4

Cross2 0.498 0.05125 0.11725

Cross3 NA 0.06600 0.04075

Cross4 NA NA 0.05350

\$ANOVA

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
gca	3	0.100159	0.033386	49.036	5.488e-08 ***
sca	2	0.059179	0.029590	43.460	5.738e-07 ***
Error	15	0.010213	0.000681		

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

\$Genetic.Components

Components	
gca	0.01635266
sca	0.02890872
gca/sca	0.56566538

\$Effects

	Cross1	Cross2	Cross3	Cross4
Cross1	0.1265625	0.1379583	-0.09179167	-0.04616667
Cross2	NA	0.0956875	-0.04616667	-0.09179167
Cross3	NA	NA	-0.12131250	0.13795833
Cross4	NA	NA	NA	-0.10093750

\$StdErr

[1] 0.008540574 0.008052130 0.007796442 0.013946699 0.013946699 0.000000000

>

ภาคผนวกที่ 2 ตัวอย่างการวิเคราะห์ความดีเด่นของถูกผสมโดยใช้โปรแกรมสถิติ R

R version 3.4.1 (2017-06-30) -- "Single Candle"

Copyright (C) 2017 The R Foundation for Statistical Computing

Platform: x86_64-w64-mingw32/x64 (64-bit)

R is free software and comes with ABSOLUTELY NO WARRANTY.

You are welcome to redistribute it under certain conditions.

Type 'license()' or 'licence()' for distribution details.

R is a collaborative project with many contributors.

Type 'contributors()' for more information and
'citation()' on how to cite R or R packages in publications.

Type 'demo()' for some demos, 'help()' for on-line help, or
'help.start()' for an HTML browser interface to help.

Type 'q()' to quit R.

[Previously saved workspace restored]

```
> d<-read.table('clipboard',header=T)
```

```
> d
```

```
cross Rep  ht  nd  br stdm plwt wt40  FB  THC  CBD
1   1  1 277.33 26.33 24.33 18.01 241.63 42.90 24.15 0.379 1.112
2   2  1 274.00 23.67 20.33 15.15 200.07 39.97 21.45 0.560 1.303
3   3  1 216.67 19.67 16.00 16.95 200.20 40.90 19.84 0.064 1.533
4   4  1 291.00 24.67 22.00 20.82 412.60 81.03 20.17 0.080 1.829
5   5  1 302.00 24.00 21.00 16.21 197.00 36.80 18.63 0.066 1.044
6   6  1 164.00 14.00 11.00 11.34 54.50 14.60 18.18 0.052 0.724
7   2  2 288.67 25.00 22.00 16.96 235.57 45.70 15.94 0.109 1.831
8   3  2 304.33 30.67 26.00 16.06 204.33 36.90 17.06 0.113 1.276
```

9	1	2	292.67	27.00	24.33	17.95	256.87	41.83	17.80	0.068	1.636
10	4	2	306.33	24.67	22.67	18.59	294.17	54.40	19.15	0.082	1.802
11	5	2	291.50	25.50	20.00	15.05	171.85	30.55	16.08	0.073	0.612
12	6	3	304.00	28.00	26.00	18.43	278.60	53.20	14.74	0.061	1.039
13	5	3	286.67	21.67	19.33	16.06	226.53	40.73	16.14	0.274	0.976
14	2	3	290.00	24.33	21.00	14.64	187.13	35.77	20.52	0.541	1.325
15	1	3	270.67	24.67	22.00	15.32	155.93	30.27	17.78	0.358	1.374
16	3	3	300.33	28.00	24.33	15.79	229.90	41.37	17.52	0.051	1.244
17	4	3	292.00	24.00	20.33	17.63	269.70	43.57	19.99	0.066	1.249
18	3	4	308.67	30.33	28.00	23.05	447.13	74.40	19.64	0.383	1.132
19	1	4	331.67	31.33	29.33	18.06	242.60	39.53	16.74	0.392	0.873
20	4	4	274.33	22.67	19.00	15.77	181.90	34.67	20.82	0.028	0.595
21	2	4	283.67	24.67	21.33	15.11	182.47	31.00	21.22	0.369	1.331
22	7	1	206.33	14.67	8.33	8.76	42.93	8.60	22.14	0.569	1.108
23	8	1	300.67	22.33	16.67	16.61	261.55	49.53	20.52	0.023	0.537
24	9	1	298.67	27.33	25.33	21.90	438.87	76.17	17.39	0.066	1.242
25	10	1	294.50	26.50	22.50	16.75	300.90	56.55	17.68	0.065	1.303
26	11	1	273.00	23.00	21.00	16.53	164.90	32.20	18.82	0.044	0.557
27	12	1	302.67	27.33	23.33	20.14	282.67	55.07	18.13	0.058	1.002
28	9	2	239.50	21.50	20.00	12.41	72.80	13.05	24.05	0.064	1.158
29	11	2	246.50	18.50	14.50	12.42	70.75	14.10	18.48	0.056	0.874
30	8	2	238.33	21.33	15.00	13.64	163.47	29.27	24.02	0.064	1.291
31	7	2	308.67	26.67	22.00	17.34	242.33	45.80	22.00	0.493	1.111
32	12	2	344.00	28.67	20.33	15.97	184.17	32.43	18.79	0.062	1.008
33	10	2	336.00	28.67	25.67	21.18	412.40	72.80	18.76	0.062	1.220
34	12	3	325.00	25.00	20.67	17.94	220.10	36.77	21.74	0.051	0.995
35	10	3	340.33	27.00	20.33	17.71	245.10	41.93	15.73	0.055	1.155
36	7	3	317.50	29.00	23.00	17.27	246.75	43.95	18.95	0.498	1.021
37	11	3	233.00	15.00	7.00	12.08	63.70	12.20	30.56	0.036	0.479
38	8	3	300.67	23.00	20.00	16.72	253.10	46.57	19.91	0.052	0.911
39	9	3	293.00	23.00	18.00	15.40	156.50	29.10	21.00	0.068	1.114
40	7	4	242.50	22.00	20.00	15.43	213.35	37.05	20.15	0.432	0.688
41	11	4	305.00	27.00	23.00	14.63	94.70	16.30	21.05	0.027	0.583
42	12	4	329.33	25.33	21.33	21.01	335.27	58.20	19.79	0.043	0.968
43	10	4	318.50	28.00	22.50	16.83	237.75	34.90	20.53	0.082	1.805
44	9	4	332.00	21.00	14.00	15.17	191.50	31.30	20.20	0.271	0.752
45	8	4	320.33	25.33	20.33	17.79	306.67	48.77	17.31	0.066	1.231
46	RPF1	1	304.00	27.33	23.00	22.10	477.80	96.10	18.52	0.623	0.635
47	RPF1	2	306.67	27.00	23.67	20.36	377.10	70.80	16.96	0.237	0.943

```

48 RPF1 3 315.00 28.00 25.00 22.38 545.12 101.50 18.03 0.071 1.183
49 RPF1 4 320.33 26.00 20.00 19.28 322.50 51.70 17.05 0.118 1.075
50 RPF3 1 230.67 20.33 14.00 11.08 99.83 18.73 18.79 0.134 0.376
51 RPF3 2 216.67 16.67 8.33 9.76 56.83 10.67 23.91 0.033 0.753
52 RPF3 3 278.33 22.00 16.67 14.91 153.17 26.33 21.76 0.104 0.881
53 RPF3 4 272.00 22.33 19.00 18.82 294.77 89.13 15.25 0.062 1.074

```

```
> attach(d)
```

```
> colnames(d)[colnames(d)=="THC"]<-"y"
```

```
> source("D:\\statistic\\R\\R-scripts\\heterosis-hemp-25-08-2017.r")
```

```
Hs1 SE t-value Pr(>|T|)
```

```

C1 14.11 0.15 95.84 0
C2 50.52 0.16 309.80 0
C3 -41.75 0.15 -283.13 0
C4 -75.60 0.13 -600.71 0
C5 -47.51 0.14 -333.17 0
C6 -78.46 0.13 -626.13 0
C7 89.90 0.13 700.57 0
C8 -80.46 0.13 -640.52 0
C9 -55.29 0.14 -408.64 0
C10 -74.83 0.13 -596.99 0
C11 -84.46 0.13 -673.69 0
C12 -79.60 0.13 -635.32 0

```

```
Hs2 SE t-value Pr(>|T|)
```

```

C1 259.46 0.08 3220.81 0
C2 374.17 0.11 3501.96 0
C3 83.48 0.08 1030.17 0
C4 -23.12 0.03 -903.34 0
C5 65.37 0.07 910.90 0
C6 -32.13 0.02 -1410.70 0
C7 498.20 0.04 13904.82 0
C8 -38.44 0.02 -1573.46 0
C9 40.84 0.06 730.49 0
C10 -20.72 0.02 -898.87 0
C11 -51.05 0.02 -2204.13 0
C12 -35.74 0.02 -1573.21 0

```

```
>
```

