

บทที่ 3 วิธีการวิจัย

3.1 วิธีการศึกษาวิจัย

การทดลองที่ 1 การปรับปรุงและคัดเลือกเฮมพ์สายพันธุ์แท้ (Inbred line) ในรุ่นที่ 6 (S_6)

1. ปลุกเฮมพ์ที่ผ่านการผสมในตระกูลเดียวกัน (Sib-mating) รุ่น S_5 ที่ผ่านการคัดเลือกจากการทดลองปี 2560 อย่างน้อยจำนวน 20 สายพันธุ์ ช่วงนอกฤดู (ก.ย. 2560 - มี.ค. 2561) ที่แปลงทดลองสถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ เพื่อผลิตลูกผสม sib-mating ในรุ่นที่ 6 โดยแต่ละสายพันธุ์ปลุกในแปลงย่อยขนาด 1×1 เมตร จำนวน 20 ต้นต่อสายพันธุ์ เมื่อถึงระยะออกดอกใช้ผ้าสปันบอยนา 50 แกรม คลุมแต่ละแปลงย่อยเพื่อให้ต้นเฮมพ์มีการผสมพันธุ์ระหว่างเครือญาติผสมภายในสายพันธุ์และป้องกันการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ เมื่อเมล็ดสุกแก่เก็บเกี่ยวเมล็ดเฮมพ์ รุ่นที่ 6 (S_6) แบบแยกต้น
2. คัดเลือกเมล็ดจากต้นที่มี THC ต่ำ และเปอร์เซ็นต์เส้นใยสูง รุ่นที่ 6 (S_6) อย่างน้อยจำนวน 20 สายพันธุ์ (line) แบ่งเมล็ดเป็น สองส่วน ส่วนแรกนำไปปลูกทดสอบรุ่นลูก (progeny test) ในข้อถัดไป ส่วนที่สองนำไปเก็บไว้เพื่อสร้างลูกผสม ในปีถัดไป
3. ปลุกเมล็ดรุ่น S_6 อย่างน้อยจำนวน 20 สายพันธุ์ เพื่อทดสอบรุ่นลูกในฤดูกาล (พ.ค.-ต.ค. 2561) ในแปลงทดลองที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้พันธุ์ RPF1, RPF2, RPF3 และ RPF4 เป็นพันธุ์ตรวจสอบเปรียบเทียบ ปลูกแต่ละสายพันธุ์เป็นแถวแถวละ 10 ต้น ใช้ระยะปลูกระหว่างต้น 10 เซนติเมตร และระหว่างแถว 15 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design: RCBD) ทำซ้ำ 2 ครั้ง
4. เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวที่ระยะ 90 วันหลังเพาะเมล็ด แต่ละสายพันธุ์บันทึกข้อมูลดังต่อไปนี้
 - ความสูงของลำต้น
 - เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น ที่ตำแหน่งความสูง 1 เมตรจากผิวดิน
 - จำนวนข้อต่อต้น
 - จำนวนกิ่งต่อต้น
 - น้ำหนักต้นสด และน้ำหนักต้นแห้งหลังอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง
 - แยกเส้นใยโดยประยุกต์จากวิธีการของ Bredemann (1942) อ้างโดย Amaducci *et al.* (2008) แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์เส้นใยจากสัดส่วนน้ำหนักแห้งของเส้นใยที่แยกได้ต่อน้ำหนักต้นแห้งทั้งหมดก่อนแยกเส้นใย แล้วคูณด้วย 100
 - ปริมาณสาร THC และ CBD ในใบ โดยใช้วิธี Gas Chromatography (GC)
5. คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีค่าปริมาณสาร THC ต่ำ และมีลักษณะทางการเกษตรที่ดี เช่น เปอร์เซ็นต์เส้นใยสูงเมื่อเทียบกับพันธุ์ตรวจสอบ
6. สรุปผลการคัดเลือกเฮมพ์สายพันธุ์แท้รุ่นที่ 6 (S_6) เพื่อสร้างลูกผสม sib-mating และคัดเลือกเฮมพ์สายพันธุ์แท้ในรุ่นที่ 7 (S_7) ต่อไป

การทดลองที่ 2 การทดสอบสมรรถนะในการรวมตัวของเฮมพ์สายพันธุ์คัดเลือกรุ่นที่ 5 (S_5)

1. ปลุกเฮมพ์รุ่น S_5 ที่ผ่านการคัดเลือกจากการทดลองปี 2560 อย่างน้อยจำนวน 20 สายพันธุ์ เพื่อผสมพันธุ์กับเฮมพ์พันธุ์ RPF3 ช่วงนอกฤดู (ก.ย. 2560 - มี.ค. 2561) ที่แปลงทดลอง สถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ โดยปลูกแต่ละสายพันธุ์เป็นพันธุ์พ่อ ในแปลงย่อยขนาด 1×1 เมตรร่วมกับพันธุ์ RPF3 (Top cross) จำนวนแปลงละ 10 ต้นเป็น พันธุ์แม่ เมื่อถึงระยะออกดอกใช้ผ้าสปันบอลลินา 50 แกรม คลุมแต่ละแปลงย่อย ตรวจสอบ และกำจัดต้นตัวผู้ของพันธุ์ RPF3 เหลือไว้เฉพาะต้นตัวเมีย เพื่อให้รับละอองเกสรจากสายพันธุ์ ที่คัดเลือก เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยว เก็บเมล็ดลูกผสมจากต้นแม่ RPF3 นำไปปลูกทดสอบรุ่นลูก
2. ปลูกทดสอบรุ่นลูก อย่างน้อย 20 คู่ผสม ช่วงในฤดูกาล (พ.ค.-ต.ค. 2561) ที่แปลงทดลอง สถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้พันธุ์ RPF1, RPF2, RPF3 และ RPF4 เป็นพันธุ์ตรวจสอบเปรียบเทียบ ปลูกแต่ละคู่ผสมเป็นแถว แถวละ 10 ต้น ใช้ระยะ ปลูกระหว่างต้น 10 เซนติเมตร และระหว่างแถว 15 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบ บล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design: RCBD) ทำซ้ำ 2 ครั้ง
3. การบันทึกข้อมูล เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวที่ระยะ 90 วันหลังเพาะเมล็ด แต่ละคู่ผสมบันทึกความ สูงของลำต้น เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น จำนวนข้อต่อต้น จำนวนกิ่งต่อต้น เปอร์เซ็นต์เส้นใย น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น
4. วิเคราะห์สมรรถนะในการรวมตัวของสายพันธุ์เฮมพ์ หากสายพันธุ์คัดเลือกรุ่นที่ 5 (S_5) ที่ผสม พันธุ์กับ RPF3 แล้วให้ลูกผสมที่มีผลผลิตสูง เช่น ลำต้นสูง เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นใหญ่ เปอร์เซ็นต์เส้นใยและน้ำหนักแห้งของต้นสูง เมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ RPF3 จัดเป็นสายพันธุ์ที่ มีความสามารถในการรวมตัวสูงกว่าสายพันธุ์ที่ให้ลูกผสมผลผลิตต่ำ
5. สรุปผลการทดสอบสมรรถนะในการรวมตัวของเฮมพ์สายพันธุ์คัดเลือกรุ่นที่ 5 (S_5) ใช้ข้อมูล จากการทดลองนี้ ร่วมในการคัดเลือกสายพันธุ์ดีจากการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 การประเมินความเป็นไปได้ในการสร้างพันธุ์สังเคราะห์ของเฮมพ์

1. ปลุกเฮมพ์รุ่น S_5 ที่ผ่านการทดสอบความสามารถในการรวมตัวในรุ่นที่ 4 จำนวน 7 สายพันธุ์ ช่วงนอกฤดู (ก.ย. 2560 - มี.ค. 2561) ที่แปลงทดลองสถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ โดยปลูกทุกสายพันธุ์รวมกับในแปลงขนาด 3×3 เมตร ปลูกสายพันธุ์ละ 50 ต้น เมื่อถึงระยะออกดอกใช้ผ้าสปันบอลลินา 50 แกรม คลุมทั้งแปลงเพื่อให้มีการผสมพันธุ์ แบบอิสระ (Random mating) และป้องกันละอองเกสรจากภายนอก เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยว เก็บเมล็ดลูกผสมจากต้นตัวเมียทั้งหมดนำมาเมล็ดมารวมกัน เพื่อนำไปปลูกทดสอบรุ่นลูก
2. ปลูกทดสอบรุ่นลูก ช่วงในฤดูกาล (พ.ค.-ต.ค. 2561) ที่แปลงทดลองสถานีเกษตรหลวงปางดะ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้พันธุ์ RPF1, RPF2, RPF3 และ RPF4 เป็นพันธุ์ ตรวจสอบเปรียบเทียบ โดยปลูกเป็นแถวใช้ระยะปลูกระหว่างต้น 10 เซนติเมตร และระหว่าง แถว 15 เซนติเมตร
3. การบันทึกข้อมูล เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวที่ระยะ 90 วันหลังเพาะเมล็ด บันทึกความสูงของลำต้น จำนวนข้อต่อต้น จำนวนกิ่งต่อต้น เปอร์เซ็นต์เส้นใย น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้น
4. สรุปผลการประเมินความเป็นไปได้ในการสร้างพันธุ์สังเคราะห์ของเฮมพ์

3.2 สถานที่ดำเนินการวิจัย

1. สถานีเกษตรหลวงปางดะ อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่

2. ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยา สาขาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

