

สุภาพร แก้วมณี : การระบุสายพันธุ์ Cannabis โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลแบบ Inter-simple sequence repeats (ISSRs) (IDENTIFICATION OF Cannabis STRAINS USING INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEATS (ISSRs) MOLECULAR MARKER) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.หนึ่ง เตียอำรุง, 68 หน้า.

คำสำคัญ : กัญชา/กัญชง/เครื่องหมายระดับโมเลกุล/ISSR/การระบุสายพันธุ์

กัญชาเป็นพืชในวงศ์ Cannabaceae ซึ่งโดยทั่วไปแบ่งออกเป็นสองประเภทหลัก ได้แก่ กัญชา (Marijuana) และกัญชง (Hemp) โดยกัญชามีปริมาณสารเตตราไฮโดรแคนนาบินอล (THC) มากกว่า 0.3% ต่อมวลแห้งของพืช ในขณะที่กัญชงมีปริมาณ THC น้อยกว่า 0.3% ต่อมวลแห้งของพืช ซึ่งอยู่ในปริมาณที่กฎหมายกำหนดให้อนุญาตได้ ดังนั้น กัญชงจึงเหมาะสมสำหรับการใช้งานทั้งในด้านสุขภาพ ด้านการแพทย์และอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตาม การจำแนกความแตกต่างระหว่างกัญชาและกัญชง โดยเฉพาะในระยะการเจริญเติบโตของพืช เป็นเรื่องที่ทำนายเนื่องจากความคล้ายคลึงกันทางพันธุกรรมและลักษณะทางสัณฐานวิทยา ดังนั้น การประยุกต์ใช้เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) จึงสามารถระบุความหลากหลายทางพันธุกรรมได้อย่างแม่นยำและรวดเร็ว รวมถึงช่วยแยกความแตกต่างระหว่างกัญชาและกัญชงได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษาครั้งนี้ได้วิเคราะห์ความหลากหลายทางฟีโนไทป์และพันธุกรรมของสายพันธุ์กัญชาจำนวน 12 สายพันธุ์ที่ปลูกใน "ฟาร์มกัญชา มทส." เพื่อให้ได้การจัดจำแนกสายพันธุ์ที่แม่นยำ ได้ทำการวิเคราะห์ลักษณะทางฟีโนไทป์ร่วมกับโปรไฟล์ DNA ด้วยเครื่องหมาย ISSR และการเพิ่มจำนวนชุดยีนเฉพาะเพื่อควบคุมการสร้างสารแคนนาบินอยด์ด้วยเทคนิค PCR ในเบื้องต้นพบว่าผลการประเมินฟีโนไทป์แสดงให้เห็นความทับซ้อนของลักษณะต่างๆ อย่างมีนัยสำคัญ เช่น ความสูงของต้น (114.67–151 ซม.) และความยาวของใบ (9.3–12.67 ซม.) ทำให้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอสำหรับการระบุสายพันธุ์อย่างถูกต้อง การวิเคราะห์เครื่องหมาย ISSR โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความหลากหลายสูงจำนวน 11 ชุด สร้างแถบ DNA ได้จำนวน 782 แถบ และอัตราความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงถึง 93.47% ช่วยให้สามารถประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมและจัดกลุ่มสายพันธุ์ได้ เมื่อทำการวิเคราะห์เดนโดแกรมพบว่าตัวอย่างสามารถแบ่งออกเป็นสองกลุ่มหลัก คือ กลุ่มที่มีสายพันธุ์ที่เกี่ยวข้องกันทางพันธุกรรม 10 สายพันธุ์ และกลุ่มที่ประกอบด้วยสายพันธุ์ที่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน 2 สายพันธุ์ (RPF1 และ RPF2) นอกจากนี้ เมื่อวิเคราะห์ด้วยยีนที่ควบคุมการสร้างเฉพาะสารแคนนาบินอยด์ด้วย PCR พบว่าเพิ่มความละเอียดในการจำแนก โดยสามารถแยกสายพันธุ์ที่มี THC เด่นชัด (เช่น พันธุ์ฝอยทองและทางกระรอก) ออกจากสายพันธุ์ที่มี CBD เด่นชัด (เช่น Charlotte's Web, RPF1) โดยอาศัยแถบ DNA ขนาด 589-bp และ 169-bp ตามลำดับ วิธีการแบบผสมผสานนี้แสดงให้เห็นถึงข้อจำกัดของลักษณะทางฟีโนไทป์เพียงอย่างเดียว และเน้นย้ำถึง

ความสำคัญของเครื่องมือทางพันธุศาสตร์ในการระบุสายพันธุ์กัญชาได้อย่างถูกต้อง ซึ่งมีความสำคัญต่อโครงการปรับปรุงพันธุ์ การปฏิบัติตามกฎหมาย และการพัฒนาลักษณะพันธุ์กรรมที่ตอบสนองความต้องการของตลาด



สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2567

ลายมือชื่อนักศึกษา Sa...
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ว.พ.ม.
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ป.ม.บ./

SOUPHAPHONE KEOMANY : IDENTIFICATION OF CANNABIS STRAINS USING
INTER-SIMPLE SEQUENCE REPEATS (ISSRs) MOLECULAR MARKER. THESIS ADVISOR :
PROF. NEUNG TEAUMROONG, Ph.D., 68 PP.

Keyword: Cannabis/marijuana/hemp/ISSR/molecular marker/strain identification

Cannabis, plants in the Cannabaceae family, are generally divided into two categories: marijuana and hemp. Marijuana contains more than 0.3% tetrahydrocannabinol (THC) by dry weight per plant, whereas hemp contains less than 0.3% THC by dry weight, which is a quantity within legal limits. Therefore, hemp is suitable for both medical and industrial applications in the health sector. However, distinguishing between marijuana and hemp, particularly during the plant's growth stages, is challenging due to their genetic and morphological similarities. Therefore, the application of Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR) molecular marker techniques can accurately and rapidly identify the genetic diversity and distinguish between marijuana and hemp plants. This study investigated the phenotypic and genetic diversities of 12 cannabis strains cultivated at the "SUT Cannabis Farm". To achieve precise strain classification, an integrated approach involving phenotypic trait analysis, ISSR marker-based DNA profiling, and chemotype-specific PCR amplification was employed. Phenotypic evaluations revealed significant overlaps among traits such as plant height (114.67–151 cm) and leaf length (9.3–12.67 cm), limiting the utility of morphological features for reliable strain identification. ISSR marker analysis, utilizing 11 highly polymorphic primers, produced 782 DNA bands with a polymorphism rate of 93.01%, enabling genetic diversity assessments and clustering of strains. A dendrogram revealed two major clusters: one containing 10 genetically related strains and another with two distinct strains (RPF1 and RPF2). Chemotype-specific PCR further refined classification by distinguishing THC-dominant strains (e.g., Foithong, Hangkarok) from CBD-dominant strains (e.g., Charlotte's Web, RPF1), based on the presence of 589-bp and 169-bp amplicons, respectively. This integrated methodology highlights the limitations of phenotypic traits alone and underscores the importance of genetic tools for

accurate cannabis strain identification, with significant implications for breeding programs, regulatory compliance, and market-driven trait development.



School of Biotechnology
Academic Year 2567

Student's Signature _____
Advisor's Signature _____
Co-advisor's Signature _____