บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

พริก (*Capsicum* spp.) จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae ซึ่งมีประมาณ 20-30 ชนิด มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนของทวีปอเมริกา และถูกนำเข้ามาเผยแพร่ในทวีปเอเชียโดยชาวโปรตุเกส นักอนุกรมวิธานสมัยใหม่จำแนกพันธุ์ปลูกได้ 5 ชนิด ได้แก่ *Capsicum annuum* L., *Capsicum frutescens* L., *Capsicum chinense* Jacquin, *Capsicum pendulum* Willdenow และ *Capsicum pubescens* Ruiz & Pevon (Greenleaf, 1968) สำหรับในประเทศไทย พบว่า มีปลูกกัน 2 ชนิด ได้แก่ *Capsicum annuum* เรียกว่า พริกหวาน (bell peppers or sweet pepper) และ *Capsicum annuum* cv. group. *longum* และ *Capsicum frutescens* เรียกว่า พริกขี้หนู (Hutton and Mealin, 1998) โดยมีแหล่งปลูกที่สำคัญอยู่ในภาคเหนือและภาคอีสาน (มณีฉัตร, 2541) พริกมีจำนวนโครโมโซม 2n = 24 เป็นพืชผสมตัวเองตามธรรมชาติ แต่สามารถผสมข้ามได้ประมาณ 16 เปอร์เซ็นต์ (Purseglove, 1968)

2.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของพริก

1. ลำต้น ลำต้นแตกกิ่งก้านสาขา สูง 1-6 ฟุต (30-180 ซม.) ผิวเรียบ ไม่มีขน (glabrous) ตามธรรมชาติมักพบเป็นไม้ล้มลุกหรือไม้พุ่ม (Bailey, 1961) และพบว่า ต้นพริกที่สมบูรณ์มีกิ่งแตกขึ้นมาจากต้นที่ระดับดินหลายกิ่ง จนดูคล้ายกับว่ามีหลายต้นอยู่รวมที่เดียวกัน ดังนั้นจึงมักไม่พบลำต้นหลัก แต่พบเพียงกิ่งหลักๆ เท่านั้น ทั้งลำต้นและกิ่งนั้น ในระยะต้นอ่อน ลำต้นมีลักษณะเป็นไม้เนื้ออ่อน เมื่อมีอายุมากขึ้นลำต้นและกิ่งแข็งเหมือนไม้เนื้อแข็งมากขึ้น แต่กิ่งหรือต้นพริกยังคงเปราะและหักง่าย ลำต้นเมื่อยังอ่อนมีลักษณะเป็นเหลี่ยมมีสีเขียว และกลมเรียบขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น และมีสีเทาน้ำตาลหรือบางพันธุ์มีสีม่วงที่ข้อ กิ่งหรือใบ (สุชีลา, 2549)

2. ใบ รูปไข่หรือรูปกึ่งวงรี เรียวแหลม ค่อยๆ เรียวลงทีละเล็กละน้อยจนถึงปลายแหลมและขอบข้างเว้าจนถึงปลาย ผิวใบเรียบ ใบเรียงตัวแบบเกลียวบนลำต้น (spiral) มักพบ 2-3 ใบ เกิดตรงจุดเดียวกัน และมีขนาดไม่เท่ากัน ตั้งตรงไม่มีกิ่งก้านสาขา (Bailey, 1961)

3. ดอก กลีบดอกสีขาวหรือขาวปนเขียว อาจพบกลีบดอกสีม่วง สมมาตรตามรัศมี ดอกเกิดที่ข้อ ตรงมุมที่เกิดใบหรือกิ่ง เป็นดอกเดี่ยวหรือ 2-3 ดอก เกิดตรงจุดเดียวกัน การวางตัวของดอกโค้งลง วงกลีบเลี้ยงเป็นรูประฆัง ขอบด้านบนตัดแยกกัน 5 หรือมากกว่า 5 อัน เป็นฟันเล็กๆ และขยายใหญ่ขึ้นหลังดอกบาน วงกลีบดอกเกลี้ยง เรียบ ไม่มีขน รูปทรงกระบอกสั้น ส่วนปลายดอกขยาย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ออกคล้ายปากแตรลึก 5 ส่วน แยกเป็นแฉก ๆ จรดกัน เกสรเพศผู้มี 5 อัน ตรงปลายของวงกลีบดอกมีก้านชูอับเรณูเกลี้ยง ติดที่ฐานของอับเรณู ซึ่งมีลักษณะยาว ประกอบด้วย 2 ช่อง แตกตามยาว รังไข่เกลี้ยงประกอบด้วย 2-4 ช่อง มีออวุลมาก ก้านเกสรเพศเมียเป็นรูปเส้นด้าย (filiform) หรือรูปคล้ายกระบอง (clavate) ยอดเกสรเพศเมียมีทั้งเหนียวหรือไม่เหนียว (Bailey, 1961)

4. ผล เป็นผลสดมีเนื้อ หลายเมล็ด (berry) หรือฝักที่ไม่มีน้ำ ติดอยู่บนวงกลีบเลี้ยงที่แบนหรือเป็นรูปถ้วย ซึ่งมีรูปร่างและขนาดแตกต่างกันไปไม่แน่นอน เกลี้ยง (ผิวเรียบ) ค่อนข้างแห้ง ผนังผลเหนียวเหมือนหนัง (coriaceous) ผนังกั้นผลเกือบหายไป มีเมล็ดมาก เมล็ดมีรูปร่างแบนกึ่งวงกลมหนา ขอบเป็นสันชัดเจน มีเอมบริโอโค้ง มีทั้งเผ็ดน้อยและเผ็ดมาก ความเผ็ดอยู่ที่เมล็ดและผนังของผล (Bailey, 1961)

2.2 การจำแนกพริกในประเทศไทย

ปรัชญา (2550) แบ่งพริก (*Capsicum*) ที่พบในประเทศไทย ดังนี้

1. *Capsicum annuum* L.
   - var. *annuum* หรือพริกหยวก ชื่อท้องถิ่น ดีปลีเมือง (ภาคใต้)
   - var. *acuminatum* หรือพริกชี้ฟ้า ชื่อท้องถิ่น พริกเดือยไก่ พริกหนุ่ม พริกหลวง (ภาคเหนือ) พริกมัน พริกเหลือง (กรุงเทพฯ) พริกแล้ง (เชียงใหม่)
   - var. *cerasiforme* หรือพริกตุ้ม ชื่อท้องถิ่น พริกปุ่ม (ภาคกลาง) พริกม่วง (กรุงเทพฯ)
   - var. *grossum* หรือพริกยักษ์ ชื่อท้องถิ่น พริกมะยม (ลำปาง)
2. *Capsicum chinensis* Jacq. หรือพริกน้อย
3. *Capsicum frutescens* L.
   - var. *frutescens* หรือพริกขี้หนู ชื่อท้องถิ่น ดีปลี (ปัตตานี) ดีปลีขี้นก พริกขี้นก (ภาคใต้) พริกแด้ พริกแต้ พริกแต้หนู พริกนก (ภาคเหนือ) หมักเพ็ด (ภาคอีสาน)
   - var. *baccatum* หรือพริกน้ำเมี่ยง ชื่อท้องถิ่น พริกมะต่อม (เชียงใหม่)
   - var. *fasciculatum* หรือพริกซ่อม ชื่อท้องถิ่น พริกก้นชี้ พริกก้นปิ้น (ภาคเหนือ)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3 พันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะเพศผู้เป็นหมัน

ลักษณะเพศผู้เป็นหมันในพริกถูกพบครั้งแรกใน *Capsicum frutescens* (Martin and Crawford, 1951) ต่อมา Peterson (1958) พบลักษณะเพศผู้เป็นหมันที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างไซโทพลาซึม (S-type) และยีนในนิวเคลียส (ms) ใน *Capsicum annuum* Shifriss (1997) รวบรวมลักษณะเพศผู้เป็นหมันจากธรรมชาติมาจำแนกและศึกษา พบว่า ลักษณะเพศผู้เป็นหมันมีทั้งที่เกิดจากยีนในนิวเคลียส และปฏิกิริยาระหว่างไซโทพลาซึมและยีนในนิวเคลียสร่วมกัน ซึ่งลักษณะเพศผู้เป็นหมันในพริก เกิดจากเรณูที่มีการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสเป็นปกติ จนถึงระยะกลุ่มละสี่ (tetrad) แต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นเซลล์สืบพันธุ์ (gamete) ที่สมบูรณ์ได้ โดยเรณูแตกในลอนอับเรณู (anther sac) เนื่องจากทาพีตัม (tapetum) บวมผิดปกติและกดละอองเรณูในช่องออวุล และไมโตคอนเดรียในทาพีตัมมีแวคิวโอลปริมาณมาก และไม่มีการสะสมสปอโรพอลเลนิน (sporopollenin) บนผิวของเรณู ทำให้มีการสลายตัวของทาพีตัม (Luo, 2006)

การฉายรังสีเอ๊กซ์ให้กับเมล็ดแห้งของผลพริกสุกสามารถทำให้ต้นพริกเกิดการกลายพันธุ์เป็นต้นที่มีลักษณะเพศผู้เป็นหมันได้ และใช้ผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมได้ดี และไม่สามารถขยายพันธุ์ลักษณะเพศผู้เป็นหมันได้ด้วยวิธีการติดตาต่อกิ่ง (Grafting) (Daskaloff, 1968)

ลักษณะเพศผู้เป็นหมันของพริกถูกควบคุมด้วยยีน 2 แบบ (นพพร, 2546)

1. ลักษณะเพศผู้เป็นหมันที่ควบคุมด้วยยีนในนิวเคลียส (Genetic male sterility) ควบคุมด้วยยีนในนิวเคลียส 1 คู่ ให้ชื่อว่า Ms และ ms โดยพืชที่เป็นฮอโมไซกัสในลักษณะด้อยมีเกสรเพศผู้เป็นหมัน เมื่อนำต้นแม่ที่เกสรเพศผู้เป็นหมัน (msms) ผสมกับต้นพ่อที่มีเกสรเพศผู้ที่เป็นเฮเทอโรไซกัส (Msms) ได้ลูกผสม (ภาพที่ 2)

ต้นแม่ชนิดเกสรเพศผู้เป็นหมัน × ต้นพ่อชนิดเฮเทอโรไซกัส

msms Msms

↓

F_1 : 1/2 Msms + 1/2 msms

ปกติ เกสรเพศผู้เป็นหมัน

ภาพที่ 2 การขยายพันธุ์แม่เกสรเพศผู้เป็นหมัน

ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมนั้นถึงแม้มีการใช้ลักษณะความเป็นหมันแบบนี้ช่วยได้แต่ต้องมีสิ่งอื่นประกอบด้วย การผลิตพันธุ์ลูกผสมมี 3 ขั้นตอน คือ การรักษาเพศผู้เป็นหมัน (พันธุ์แม่)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเลือกต้นพ่อ และการผสมพันธุ์ การรักษาพันธุ์แม่ทำโดยนำพันธุ์เกสรเพศผู้เป็นหมันมาผสมกับพันธุ์พ่อปกติที่เป็น Msms ซึ่งมียีนควบคุมลักษณะที่ต้องการเหมือนกัน ให้ลูกที่มีลักษณะตามที่ต้องการครึ่งหนึ่ง และมีลักษณะเหมือนต้นพ่ออีกครึ่งหนึ่ง การคัดเลือกพันธุ์พ่อต้องเลือกต้นที่มียีนควบคุมความเป็นหมันอยู่ในสภาพฮอโมไซกัส ซึ่งเป็นต้นที่ให้ลูกเหมือนกันเมื่อผสมตัวเอง ลูกผสมที่ได้ติดเมล็ดทั้งหมด

2. ลักษณะเพศผู้เป็นหมันที่ควบคุมด้วยยีนในไซโทพลาซึม (cytoplasmic genetic male sterility) และมียีนรักษาเพศผู้เป็นหมันอยู่ในนิวเคลียส (restorer gene) ซึ่งใช้สัญลักษณ์ Rf และ rf โดยที่ยีนเด่น Rf สามารถแก้ความเป็นหมันที่เกิดจากยีน S ในไซโทพลาซึมได้ จีโนไทป์ของพืชที่อาจพบได้คือ

1. ต้นที่เกสรเพศผู้เป็นหมัน มีจีโนไทป์ S(rfrf)
2. ต้นที่เกสรเพศผู้ปกติ มีจีโนไทป์ S(RfRf), F(RfRf), S(Rfrf), F(Rfrf) หรือ F(rfrf)

ความเป็นหมันแบบนี้มีประโยชน์มากในการผสมพันธุ์เพื่อการคัดเลือกพันธุ์ใหม่ ซึ่งการใช้ต้นพ่อที่มียีนรักษาเพศผู้เป็นหมันเป็นฮอโมไซกัสลักษณะเด่น (RfRf) เหมาะสมที่สุดในการผลิตเมล็ดลูกผสม ส่วนต้นพ่อที่มียีนรักษาเพศผู้เป็นหมันเป็นฮอโมไซกัสลักษณะด้อย (rfrf) สามารถนำไปใช้ผสมกับต้นแม่เพื่อรักษาพันธุ์เพศผู้เป็นหมันไว้ใช้ต่อไปได้

2.4 การประเมินพันธุกรรมโดยตรวจสอบความมีชีวิตของเรณู

การผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมโดยอาศัยลักษณะเพศผู้เป็นหมันต้องใช้พันธุ์ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมภายในนิวเคลียส การประเมินพันธุกรรมภายในนิวเคลียสของพันธุ์ที่มีลักษณะทางพืชสวนที่ดีจึงจำเป็นสำหรับการคัดเลือกพันธุ์ที่ต้องการใช้ผลิตเมล็ดพันธุ์ ซึ่งวิธีการที่นิยมใช้มี 2 วิธี ได้แก่ การตรวจสอบความมีชีวิตของเรณู (pollen viability) และการทดสอบการงอกของเรณู (pollen germination) Gulyas *et al.* (2006) ประเมินความมีชีวิตของเรณูในพันธุ์พ่อ และพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ถึงชั่วที่ 4 ของพริก โดยการย้อมสีเรณูด้วยสารละลายอะซีโตคาร์มีน ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ คัดเลือกพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน (restorer lines) ที่สามารถผลิตเรณูได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ของเรณูในอับเรณูได้ 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ No. 209 และ No. 210 เมื่อผสมทดสอบกับพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (CMS) นำลูกผสมชั่วที่ 1 มาผสมตัวเองได้ประชากรรุ่นที่ 2 ตรวจสอบความมีชีวิตของเรณู เพื่อดูการกระจายตัวของยีนที่ควบคุมระบบการรักษาเพศผู้เป็นหมัน (restoration system) พบว่า มีต้นที่มีเกสรเพศผู้ปกติ 89 ต้น และต้นที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน 30 ต้น แสดงว่า การ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กระจายตัวของยีนรักษาเพศผู้เป็นหมัน (3:1, χ^2 = 0.0028, 0.95<p<0.975) เป็นแบบ mono-factorial inheritance

Fernandez-Munoz *et al.* (1995) ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของความมีชีวิตของละอองเรณูมะเขือเทศที่สามารถผลิตได้ในสภาพอุณหภูมิต่ำ จากการผสมข้ามชนิดกับมะเขือเทศพันธุ์ป่าซึ่งทนต่อสภาพอุณหภูมิต่ำ (cold tolerance) และการผสมภายในชนิด (*L. esculentum*) ตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเรณูโดยการย้อมสีด้วยสายละลายอะซีโตคาร์มีน เปรียบเทียบกับพ่อแม่พันธุ์ พบว่า ลูกผสมที่ได้จากการผสมภายในชนิด (intra-specific tomato) สามารถผลิตเรณูสูงกว่าพันธุ์พ่อแม่ แสดงว่า ความมีชีวิตของละอองเรณูถูกควบคุมด้วยยีนข่ม (dominance) ส่วนการผสมข้ามชนิด พบว่า ลูกผสมระหว่าง *L. esculentum* × *L. pimpinellifolium* แสดงความดีเด่นของลูกผสมทางบวก สายพันธุ์ลูกผสม *L. esculentum* × *L. pennellii* และ *L. esculentum* × *L. hirsutum* ผลิตเรณูที่มีชีวิตปนกับเรณูที่ไม่มีชีวิต (intermediate inheritance) แต่ในกลุ่มของ *L. esculentum* × *L. pennellii* มีการถ่ายทอดความมีชีวิตของละอองเรณูแบบยีนข่ม และไม่มีปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนต่างตำแหน่งกัน (non-allelic interactions) (homozygosis × homozygosis) ซึ่งการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมรูปแบบนี้เป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดสำหรับการผลิตละอองเรณูที่มีชีวิต การควบคุมด้วยยีนข่ม ทำให้ผลิตละอองเรณูที่มีชีวิตเพิ่มขึ้นในสภาพอุณหภูมิต่ำ ซึ่งดูเหมือนถูกควบคุมด้วยยีนย่อยเป็นจำนวนมาก (polygenetic)

Kato (1989) ศึกษาระยะการบานของดอกและความสมบูรณ์พันธุ์ในพริกผลเขียวที่ได้รับอุณหภูมิต่ำ พบว่า อายุของเรณูและเกสรเพศเมียไม่ใช่อุปสรรคในการปฏิสนธิ เพราะเกสรเพศเมียและเรณูสามารถมีชีวิตอยู่ได้ 2-3 วันหลังจากดอกบาน แต่เรณูที่เก็บในวันดอกบาน แล้วนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารเป็นเวลา 24 ชม. มีอัตราการงอกต่ำ 11.8 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเก็บที่เวลา 12.00 น. พบว่า มีอัตราความเป็นหมันสูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ในการถ่ายละอองเกสรตามธรรมชาติ พบว่า มีปริมาณของเรณูที่ปล่อยลงบนยอดเกสรเพศเมีย และความมีชีวิตของเรณูต่ำกว่าปกติ ทำให้มีอัตราการปฏิสนธิต่ำกว่าปกติ ดังนั้นการปลูกพันธุ์การค้าของพริกผลเล็กในสภาพอุณหภูมิต่ำ จึงต้องเพิ่มปริมาณเรณูที่ใช้ในวันดอกบาน ทำให้มีการปฏิสนธิสมบูรณ์มากขึ้น ซึ่งพัฒนาได้โดยการผสมทางกล (artificial pollination) โดยใช้เรณูจากพันธุ์พริกผลเล็กหรือพันธุ์พริกผลใหญ่ การผสมเกสรโดยแมลง เช่น ผึ้ง (honey bee) จึงอาจใช้สำหรับการปลูกพริกในโรงเรือน และวิธีการปลูกพริกผลเล็กสลับกับพริกผลใหญ่ อาจช่วยพัฒนาการผลิตพริกผลเล็กได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.5 การประเมินพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

พืชแต่ละชนิดมีความหลากหลายทางพันธุกรรม (genetic diversity) หรือความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genetic variation) ในการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบมาตรฐาน (conventional breeding) คัดเลือกลักษณะที่ต้องการจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืช และการเปลี่ยนแปลงชีวเคมีในพืช ซึ่งลักษณะส่วนใหญ่มักได้รับผลกระทบจากสิ่งแวดล้อมและระยะการเจริญเติบโตของพืช เทคนิคเครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker technique) ซึ่งไม่ได้รับอิทธิพลจากสภาพแวดล้อม และระยะการเจริญเติบโตของพืช จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์มากมายในการปรับปรุงพันธุ์พืช เช่น การจัดจำแนกพืชและการศึกษาความหลากหลายของพืช (อรรัตน์, 2548)

เครื่องหมายโมเลกุลถูกแบ่งเป็น 2 ประเภท ตามหลักการพื้นฐาน ได้แก่ hybridization-based marker และ PCR-based marker โดย hybridization-based marker เป็น marker ในระบบดั้งเดิมที่มีมาก่อน hybridization-based marker ที่รู้จักกันดีคือ restriction fragment length polymorphisms (RFLP) และ PCR-based marker อาศัยเทคนิคการเพิ่มปริมาณ DNA ในหลอดทดลอง ด้วยปฏิกิริยา polymerase chain reaction (PCR) ปฏิกิริยา PCR ใช้ enzyme DNA polymerase และ DNA สังเคราะห์ชิ้นสั้นๆ (10-24 nucleotides) เรียกว่า primer เพื่อทำการเพิ่มปริมาณ DNA ในบริเวณที่ต้องการ ยังมีเทคนิคอื่นๆ ที่อาศัยหลักการพื้นฐานทั้ง PCR และ DNA digestion ได้แก่ AFLP (amplified fragmant length polymorphisms) ซึ่งใช้ศึกษาจีโนไทป์พริกเพื่อหาระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ระหว่างพันธุ์พริกพันธุ์ต่าง ๆ เพื่อสร้างรูปแบบความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม Kochieva and Ryzhova (2003) ใช้การวิเคราะห์ AFLP เพื่อประเมินพันธุกรรมของพริกหวานที่มีผลขนาดใหญ่ พบว่า มี primer 9 คู่ สามารถจำแนกพันธุ์ที่ศึกษาได้ ซึ่งมี polymorphism 16.5 เปอร์เซ็นต์ และในแต่ละพันธุ์มี AFLP pattern แตกต่างกัน ซึ่งมี primer หลายคู่ที่แสดงให้เห็นได้กับพันธุ์ 7 พันธุ์

Geleta *et al.* (2005) ได้ศึกษาจีโนไทป์ของพริกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและเครื่องหมาย AFLP ทำการประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยา 20 ลักษณะ และใช้ primer 6 คู่ ประเมินระยะห่างทางพันธุกรรม ผลพบว่า ระยะห่างทางพันธุกรรมของพริกที่จีโนไทป์ต่างกันแสดงให้เห็นว่า พริกกลุ่มนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง แต่ในกลุ่มของ Ethiopian pungent elongated-fruit มีระยะห่างทางพันธุกรรมต่ำกว่าพริกนำเข้า พริกที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา และ AFLP จัดจีโนไทป์ของขนาดผลเหมือนกัน และมีความสัมพันธ์ในทางบวก

Microsatellite หรือ simple sequence repeats เป็นลำดับดีเอ็นเอที่มีความแปรปรวนสูง ซึ่งสามารถใช้เป็นเครื่องหมายในการวิเคราะห์พันธุกรรมพืชและสัตว์ได้ Lee *et al.* (2004) ได้ศึกษาการใช้ microsatellite loci ในพริกที่สกัดจาก small insert genomic libraries และ the GenBank

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

database โดยใช้ oligonucleotides เป็น probe 5 ชนิด ได้แก่ $(AT)_{15}$, $(GA)_{15}$, $(GT)_{15}$, $(ATT)_{10}$ และ $(TTG)_{10}$ และได้พัฒนา 40 clones เป็นเครื่องหมายโมเลกุล และในจีโนมพริก microsatellite $(GA)_n$ และ $(GT)_n$ พบมากที่สุดที่พัฒนาขึ้น ตามด้วย $(TTG)_n$ และ $(AT)_n$ มี microsatellite จาก GenBank และแหล่งอื่น ในการวัดข้อมูลของเครื่องหมายโมเลกุลนี้ทำโดยคำนวณค่า polymorphism information contents (PICs) พบว่า เครื่องหมายโมเลกุลจากจีโนมพริกจาก libraries มีค่า PICs สูงเท่ากับ 0.76 เป็น 2 เท่า ของเครื่องหมายโมเลกุลจาก GenBank และเมื่อนำ microsatellite loci มาทำแผนที่ยีนโดยอาศัย SNU-RFLP linkage map ที่ได้จากการผสมข้ามชนิดระหว่าง *Capsicum annuum* "TF-68" และ *Capsicum chinense* "Habanero" จึงได้แผนที่ยีนใหม่ของจีโนมพริก "SNU2" ที่ประกอบด้วย 333 เครื่องหมายโมเลกุล ในความสัมพันธ์ของยีน (linkage group) 15 ชุด ที่มี SSR 46 ซ้ำ และเครื่องหมาย RFLP 287 ชนิด มีระยะห่าง 1,761.5 เซนติมอร์แกน ซึ่งมีระยะห่างเฉลี่ยระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล 5.3 เซนติมอร์แกน

Baoxi *et al*. (2000) ศึกษายีนหลัก (major gene) และยีนประกอบ (minor gene) ควบคุมการรักษาเพศผู้เป็นหมันในระบบลักษณะเพศผู้เป็นหมันในไซโทพลาซึมของพริก ดังนั้น Bulked segregant analysis (BSA) ถูกนำมาใช้เพื่อจำแนกเครื่องหมายโมเลกุลที่เกี่ยวเนื่องกับยีนหลัก (Rf) โดยใช้ประชากรรุ่น F_2 ของพริกสายพันธุ์ลูกผสมระหว่าง Niujiaojiao No. 21 (rfrf) กับ Xiangtanwan (RfRf) ได้พบเครื่องหมายโมเลกุล RAPD 2 ชนิดที่เกี่ยวเนื่องกับยีนหลัก (Rf) ซึ่งเป็นยีนควบคุมลักษณะเพศผู้เป็นหมันของพริก โดยใช้ primer 520 decamer พบว่า เครื่องหมายโมเลกุล $OP13_{1400}$ มีความเกี่ยวเนื่องแน่นกับยีนรักษาเพศผู้เป็นหมัน มีระยะห่างทางพันธุกรรม 0.37 เซนติมอร์แกน ส่วนเครื่องหมายโมเลกุล $OW19_{800}$ อยู่ตรงกันข้ามและมีระยะห่างทางพันธุกรรม 8.12 เซนติมอร์แกน ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุล 2 ชนิดนี้พบบ่อยและประเมินง่าย Kumar *et al*. (2004) ได้ทดสอบความสัมพันธ์ของยีนรักษาเพศผู้เป็นหมัน (fertility restorer (Rf) gene) กับเครื่องหมายโมเลกุล RAPD 2 ชนิด ได้แก่ $OPP13_{1397}$ และ $OPW19_{800}$ เพื่อจำแนกพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันของพริก พบว่า เครื่องหมายโมเลกุลทั้ง 2 ชนิด ไม่สอดคล้องกับยีนรักษาเพศผู้เป็นหมัน แสดงว่าเครื่องหมายโมเลกุลมีการกระจายตัวและมีจุดกำเนิดแคบ จึงควรมีการหาเครื่องหมายโมเลกุลที่เกี่ยวเนื่องกับยีนรักษาเพศผู้เป็นหมัน เพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการหาพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันของพริกบางชนิด (Kumar *et al*., 2007)

เทคนิค PCR-based marker 2 ชนิด ได้แก่ Random Amplified Polymorphic DNA (RAPDs) และ Single Primer Amplification Reations (SPARs) ถูกใช้ในการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ลูกผสม (Ballester and Vicenta, 1998)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Ilbi (2003) ได้ทดสอบหาเครื่องหมายโมเลกุล RAPDs ที่สามารถจำแนกพันธุ์ และทดสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรมของพริกได้ โดยใช้ primer 12 abitrary 10-mer ทดสอบในพริกพันธุ์ลูกผสม Jalepeno 5 พันธุ์ และพ่อแม่พันธุ์ มีเครื่องหมายโมเลกุล RAPD 4 ชนิด ที่จำเพาะเจาะจงกับสายพันธุ์ลูกผสม 3 พันธุ์ ส่วน primer อีก 12 ชนิด พบว่า มี 6 ชนิด พัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุล RAPD ได้ 11 ชนิด ซึ่งสามารถใช้ประเมินความบริสุทธิ์ของพันธุ์ลูกผสมที่ทดสอบได้ทั้งหมด Jang *et al.* (2004) ได้พัฒนาวิธีการทดสอบความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ง่ายที่สุด โดยสกัด DNA ในนิวเคลียส (genomic DNA) ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) นำเครื่องหมายโมเลกุล RAPD 2 ชนิด ที่สามารถใช้จำแนกพันธุ์พ่อแม่ได้เพิ่มปริมาณ (PCR product) และหาลำดับเบส (sequence) แล้วสร้าง primer ที่ยาวขึ้น เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุล SCAR วิธีการนี้สามารถตรวจพบเมล็ดปนเปื้อนได้อย่างแม่นยำ เครื่องหมายโมเลกุลโดยใช้เทคนิค PCR-based marker เหมาะสำหรับบริษัทเมล็ดพันธุ์ทดสอบความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ นอกจากนี้ผล PCR ของเครื่องหมายโมเลกุลถูกจำแนกได้โดยการย้อมสีโดยตรง เช่น ethidium bromide และ pellet painting โดยไม่ต้องทำ electrophoresis ธีระชัย (2542) ได้พัฒนาเทคนิค RAPD เพื่อการจำแนกและรับรองพันธุ์พริก โดยเก็บตัวอย่างพริก 14 สายพันธุ์ ตรวจสอบกับ primer 72 ชนิด พบว่า primer 70 ชนิด สามารถเพิ่มปริมาณ DNA ได้หรือคิดเป็น 97 เปอร์เซ็นต์ และได้เลือก primer 20 ชนิด ที่สามารถเพิ่มปริมาณ DNA ได้ในปริมาณสูงอย่างชัดเจนตรวจสอบกับ DNA ของพริกทั้งหมด พบว่าสามารถแยกความแตกต่างพันธุ์ได้ โดย primer บางชนิดทำให้เกิดแถบ DNA ที่จำเพาะกับพันธุ์ใดพันธุ์หนึ่ง ซึ่งสามารถจำแนกพริกทั้ง 14 พันธุ์ได้ด้วย primer เพียงชนิดเดียว อย่างไรก็ตาม ในการตรวจสอบพันธุ์ที่ถูกต้องนั้น ควรใช้ primer หลายชนิด และควรมีพันธุ์มาตรฐานไว้เปรียบเทียบด้วยเพื่อให้น่าเชื่อถือยิ่งขึ้น และจากการเปรียบเทียบรูปแบบของแถบ DNA ในแต่ละพันธุ์สามารถวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการได้ Wang *et al.* (2004) ได้วิเคราะห์ Quantitative trait locus (QTL) ที่สัมพันธ์กับการรักษาเพศผู้เป็นหมัน (fertility restoration) ของลักษณะเพศผู้เป็นหมันในไซโทพลาซึม ซึ่งเป็นลักษณะเชิงปริมาณและขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อม โดยผสมกับพันธุ์ 77013A (S msms) และพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ได้จากการผสมระหว่างพันธุ์ Yolo wonder (N msms) และพันธุ์ Perennial (N/S MsMs) เพิ่มจำนวนโครโมโซมเป็น 2 ชุด นำลูกผสมที่ได้ปลูกทดสอบในโรงเรือนและแปลงเปิด พบว่าตำแหน่ง QTL หลัก ที่เกี่ยวข้องกับการรักษาเพศผู้เป็นหมัน อยู่บนโครโมโซม P6 ซึ่งมีลักษณะต่าง ๆ มีความแตกต่างกันในทุกสภาพแวดล้อม มีความแปรปรวนของฟีโนไทป์ 20-69 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับลักษณะที่ศึกษาและสภาพแวดล้อมในการปลูก และมีตำแหน่ง QTL อื่นอีก 4 ตำแหน่ง ตั้งอยู่บนโครโมโซม P5, P2 และมี linkage group กับยีน PY3 และ PY1 ซึ่งมีความแปรปรวนของฟีโนไทป์ 7-17 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ฟีโนไทป์และศึกษาพันธุกรรม พบว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การปรับปรุงพันธุ์พริกเพื่อให้แม่พันธุ์เป็นหมันที่สมบูรณ์ และลูกผสมมีความมีชีวิตสูงนั้น ต้องการการรวมตัวของยีนหลายอัลลีลจากทั้งพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ และควบคุมสภาพแวดล้อมที่ควบคุมได้

Lee *et al.* (2007) ได้ศึกษายีนรักษาเพศผู้เป็นหมันไม่สมบูรณ์ (partial restoration (pr) locus) ที่มีความสัมพันธ์กับการรักษาเพศผู้เป็นหมันของ CMS โดยใช้เทคนิค CAPS วิเคราะห์หาเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความใกล้ชิดกับยีนรักษาเพศผู้เป็นหมันไม่สมบูรณ์ (Pr) มากที่สุด โดยใช้ประชากรรุ่น F_2 ได้เครื่องหมายโมเลกุล 2 ชนิด คือ E-AGC/M-GCA_{122} และ ETCT/M-CCG_{116} ที่มีระยะห่างทางพันธุกรรมประมาณ 1.8 เซนติมอร์แกน ได้ B-AGC/M-GCA_{122} เป็น primer ในเทคนิค CAPS เพื่อใช้ในการแยกพันธุ์เพศผู้ปกติ 100 เปอร์เซ็นต์ (Pr/Pr) และคัดทิ้งพันธุ์เพศผู้ปกติบางส่วน (pr/pr) และพันธุ์เฮเทอโรไซกัส (potential lines, Pr/pr)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3 การประเมินพันธุกรรมพริกโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

พืช	เทคนิคที่ใช้	ผลที่ได้รับ	ผู้วิจัย
พริก	AFLP	จำแนกพริกโดยใช้ระยะห่างทางพันธุกรรม	Kochieva and Ryzhova, 2003
พริก	สัณฐานวิทยา และ AFLP	จำแนกพริกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และระยะห่างทางพันธุกรรม	Geleta *et al.*, 2005
พริก	microsatellite loci	ทำแผนที่ทางพันธุกรรม	Lee *et al.*, 2004
พริก	RAPD ($OP13_{1400}$ and $OW19_{800}$)	จำแนกเครื่องหมายโมเลกุลที่เกี่ยวเนื่องกับยีนหลัก (Rf)	Baoxi *et al.*, 2000
พริก	RAPD ($OPP13_{1397}$ and $OPW19_{800}$)	จำแนกพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน	Kumar *et al.*, 2004
พริก	RAPD ($OPP13_{1400}$ and $OPW19_{800}$)	จำแนกพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน	Kumar *et al.*, 2007
พริก	RAPD and SPAR	ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ลูกผสม	Ballester and Vicenta, 1998
พริก	RAPD	จำแนกพันธุ์ และทดสอบความบริสุทธิ์ทางพันธุกรรม	Ilbi, 2003
พริก	RAPD	ทดสอบความบริสุทธิ์ของเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1	Jang *et al.*, 2004
พริก	RAPD	จำแนกและรับรองพันธุ์	ธีระชัย, 2542
พริก	QTL	หาตำแหน่งของกลุ่มยีนที่เกี่ยวเนื่องกับการรักษาเพศผู้เป็นหมัน	Wang *et al.*, 2004
พริก	CAPS	จำแนกพันธุ์เพศผู้ปกติ 100 เปอร์เซ็นต์ (Pr/Pr) พันธุ์เพศผู้ปกติบางส่วน (pr/pr) และพันธุ์เฮเทอโรไซกัส (potential lines, Pr/pr)	Lee *et al.*, 2007

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6 การปรับปรุงพันธุ์พริกโดยใช้ลักษณะเพศผู้เป็นหมันในไซโทพลาซึม

การใช้เมล็ดพันธุ์ลูกผสมของพริกนิยมใช้ในต่างประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา ยุโรป ญี่ปุ่น และไต้หวัน พันธุ์ลูกผสมส่วนใหญ่เป็นพริกหวาน เนื่องจากนิยมบริโภคพริกหวานเป็นหลัก สำหรับประเทศไทยใช้พริกเผ็ดเป็นส่วนใหญ่ ปัจจุบันมีแนวโน้มการใช้พันธุ์ลูกผสมพริกเผ็ดอย่างแพร่หลาย มีบริษัทหลายแห่งทำการปรับปรุงพันธุ์พริกลูกผสมออกจำหน่าย เนื่องจากพันธุ์พริกลูกผสมให้ผลผลิตสูงกว่าและมีความสม่ำเสมอมากกว่าพันธุ์แท้ พันธุ์พริกลูกผสมนิยมใช้พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 โดยใช้ยีนเพศผู้เป็นหมันในรูปของ genetic male sterility หรือ cytoplasmic genetic sterility (มณีฉัตร, 2541) จึงมีการผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมันให้มีลักษณะทางพืชสวนที่ต้องการ พีชณิตดา (2549) ได้พัฒนาพันธุ์พริกประดับเพื่อให้ได้พันธุ์เกสรเพศผู้เป็นหมัน โดยผสมข้ามระหว่างพริกประดับสายพันธุ์ที่ 67 ซึ่งคาดว่ามีจีโนไทป์เป็น N MsMs เป็นพันธุ์แม่ และพริกขี้หนูลูกผสมพันธุ์การค้า ซึ่งคาดว่ามีจีโนไทป์เป็น S Msms เป็นพันธุ์พ่อ ลูกผสมที่ได้เก็บเมล็ดรวมและสุ่มปลูก ได้ลูกผสม 20 ต้น เพื่อคัดพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน (Maintainer line, B-line) คาดว่ามีจีโนไทป์เป็น N MsMs และ N Msms สกัดพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (A-line) จากพริกขี้หนูลูกผสมพันธุ์การค้า โดยให้พริกขี้หนูลูกผสมพันธุ์การค้าผสมตัวเอง คัดเลือกต้นที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมัน คาดว่ามีจีโนไทป์เป็น S msms (A18) ผสมข้ามกับลูกผสมระหว่างพริกประดับสายพันธุ์ที่ 67 กับพริกขี้หนูลูกผสมพันธุ์การค้า เพื่อทดสอบต้นที่คาดว่ามีจีโนไทป์เป็น N Msms และเพื่อคัดเลือกต้นที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมัน ปลูกลูกผสมที่ได้ คัดเลือกต้นที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันไว้ นำต้นที่คาดว่ามีจีโนไทป์เป็น N Msms จากการทดสอบมาผสมตัวเองเพื่อสกัดพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน (Maintainer line) ซึ่งลูกผสมที่ได้คาดว่ามีจีโนไทป์เป็น N MsMs, N Msms และ N msms ผสมกับพริกที่มีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันที่คัดเลือกไว้ เพื่อทดสอบหาพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน (Maintainer line (N msms)) ต่อไป

บุณฑริกา (2550) ได้ผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกประดับที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน ซึ่งมีลักษณะต้นเตี้ย ออกผลเป็นช่อ ผลอ่อนมีสีเหลืองอ่อน พร้อมคัดเลือกพันธุ์รักษาความเป็นหมัน โดยนำพริกจำนวน 2 พันธุ์ ที่ได้รับการคัดเลือกจากพีชณิตดา (2549) คือ พันธุ์ที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมันที่มีจีโนไทป์ S msms และพันธุ์ที่มีเกสรเพศผู้ปกติที่มีจีโนไทป์ N MsMs, N Msms และ N msms จำนวน 42 ต้น ผสมพันธุ์กันได้ทั้งหมด 42 คู่ผสม พบว่า มี 19 คู่ผสม (490 ต้น) ที่ให้ลูกที่มีเกสรเพศผู้ปกติทั้งหมด แสดงว่า พันธุ์พ่อทั้ง 19 พันธุ์ มีจีโนไทป์เป็น N MsMs และ อีก 23 คู่ผสม ให้ลูกที่มีเกสรเพศผู้ปกติและเกสรเพศผู้เป็นหมันปนกัน แสดงว่า พันธุ์พ่อทั้ง 23 พันธุ์ มีจีโนไทป์เป็น N Msms ลูกผสมที่ได้มีจำนวนวันที่ใช้ในการเจริญเติบโตตั้งแต่เพาะเมล็ดจนดอกแรกบาน ความสูง และความกว้างทรงพุ่มน้อยกว่าพันธุ์พ่อแม่ ลักษณะการติดผลมีทั้งผลเดี่ยว และผลช่อปนกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คัดเลือกพริกประดับลูกผสม 6 สายพันธุ์ ที่มีอัตราส่วนเกสรเพศผู้ปกติต่อเกสรเพศผู้เป็นหมัน 1:1 ซึ่งมีลักษณะที่ต้องการผสมระหว่างพี่น้อง (full sib) ทั้งหมด 14 คู่ผสม พบว่า ลูกผสมที่ได้มีจำนวนวันดอกแรกบานเร็วกว่าพันธุ์พ่อแม่ และมีต้นเตี้ย ติดผลเป็นช่อ ผลอ่อนมีสีเหลืองอ่อน ทำให้ได้พริกประดับที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมันตามที่ต้องการ โดยจะทำการคัดเลือกและรักษาพันธุ์ด้วยวิธีการผสมพันธุ์ระหว่างพี่น้องในรุ่นต่อไป

2.7 ความดีเด่นของลูกผสม

พันธุ์ลูกผสม (hybrid variety) หมายถึง ลูกผสมรุ่นแรก (F_1) จากการผสมระหว่างสองประชากรที่มีพันธุกรรมแตกต่างกัน ประชากรเหล่านี้อาจเป็นพันธุ์แท้ พันธุ์ลูกผสม พันธุ์ผสมเปิด พันธุ์สังเคราะห์ หรืออื่น ๆ ถ้ายังมีการควบคุมการผสมเกสรเพื่อป้องกันการผสมตัวเอง โดยมีต้นแม่และต้นพ่อเพียง 2 กลุ่ม และเก็บเมล็ดพันธุ์จากแถวต้นแม่เท่านั้น ถือว่าเมล็ดพันธุ์ที่ได้เป็นพันธุ์ลูกผสม ดังนั้นพันธุ์ลูกผสมอาจมาจากพ่อแม่ในรุ่น F_n ของพันธุ์ลูกผสมแบบต่างๆ ดังเช่น พันธุ์ลูกผสม $F_2 = F_2(A/B) / F_2(C/D)$ (กฤษฎา, 2546)

ความดีเด่นของลูกผสม หมายถึง ปรากฏการณ์ของลักษณะอันใดอันหนึ่ง เมื่อลูกผสม F_1 แสดงความสามารถเหนือกว่าความสามารถของพ่อแม่ที่แสดงออกในลักษณะดังกล่าว เมื่อปลูกในสภาพที่เปรียบกันได้ ซึ่งปรากฏการณ์ของความดีเด่นของลูกผสมที่แสดงผลผลิตสูงถูกใช้ในการประเมินเพื่อการสร้างพันธุ์ลูกผสม (ดำเนิน, 2545)

Geleta and Labuschagne (2004) เปรียบเทียบศักยภาพของผลผลิตและความดีเด่นของลูกผสมของพริกพันธุ์ลูกผสมเดี่ยว พันธุ์ลูกผสมสามทาง และพันธุ์ลูกผสมคู่ พบว่า พันธุ์ลูกผสมเดี่ยวมีความสม่ำเสมอมากที่สุด พันธุ์ลูกผสมสามทางมีจำนวนวันออกดอกแรก เส้นผ่านศูนย์กลางผลและน้ำหนักต่อผลสูงกว่าพันธุ์ลูกผสมชนิดอื่น และแสดงความดีเด่นในลักษณะผลผลิตและความยาวผล 36.1 และ 13.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พันธุ์ลูกผสมคู่แสดงความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อหรือแม่ที่สูงกว่าในลักษณะผลผลิต (35.6 เปอร์เซ็นต์) จำนวนผล (24 เปอร์เซ็นต์) และน้ำหนักต่อผล (16.9 เปอร์เซ็นต์) แสดงว่า พันธุ์ลูกผสมสามทางและพันธุ์ลูกผสมคู่สามารถใช้ปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมพริกได้

การปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ทำได้โดยทำการทดสอบหาความสามารถในการรวมตัวกับพันธุ์ผสมเปิด ซึ่งเรียกว่า ความสามารถในการรวมตัวทั่วไป (general combining ability) ซึ่งใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์รวม (synthetic variety) หรือทดสอบหาความสามารถในการรวมตัวกับพันธุ์แท้ ซึ่งเรียกว่าความสามารถในการรวมตัวแบบเฉพาะเจาะจง (specific combining ability)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ซึ่งใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมเท่านั้น (มณีฉัตร, 2541) ซึ่งเป็นการทดสอบสายพันธุ์อินเบรดที่ดีก่อนนำเข้าคู่ผสม

การทดสอบคู่ผสมแบบพบกันหมด (diallel cross) เป็นวิธีที่ตรงไปตรงมา แต่วิธีการนี้ขาดประสิทธิภาพเมื่อมีสายพันธุ์จำนวนมาก เนื่องจากจำนวนคู่ผสมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เท่ากับ n(n-1)/2 เมื่อ n = จำนวนสายพันธุ์แท้ที่เกี่ยวข้อง ดังนั้นวิธีการนี้จึงเหมาะสำหรับการจับคู่ผสมในขั้นสุดท้าย เมื่อเหลือสายพันธุ์แท้จำนวนน้อย การคัดเลือกสายพันธุ์แท้ด้วยสายตา และวิธีการผสมกับสายพันธุ์ทดสอบ (topcross) จึงเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้กันทั่วไป ในการลดจำนวนของสายพันธุ์แท้ในเบื้องต้น (กฤษฎา, 2546) Geleta and Labuschagne (2004) ได้ศึกษาศักยภาพของผลผลิตและลักษณะอื่นๆ ในพริกพันธุ์ลูกผสม (*Capsicum annuum* L.) โดยนำพริกพันธุ์แท้ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม 7 พันธุ์ ผสมแบบพบกันหมด (half diallele) พบว่า สายพันธุ์ลูกผสมมีลักษณะส่วนใหญ่ดีกว่าพันธุ์แท้ สายพันธุ์ลูกผสม 3 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตสูงและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพันธุ์มาตรฐาน สายพันธุ์ลูกผสมทั้งหมดและพันธุ์แท้ 5 พันธุ์ ออกดอกเร็วและสุกก่อนพันธุ์มาตรฐาน ลักษณะส่วนใหญ่แสดงความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าค่าเฉลี่ยระหว่างค่าของพ่อและแม่ (MPH), ค่าเฉลี่ยของพ่อหรือแม่ที่สูงกว่า (HPH) และพันธุ์มาตรฐาน (SH) จึงสรุปได้ว่า พันธุ์ลูกผสมพริกมีศักยภาพของผลผลิตดี ออกดอกและสุกแก่เร็วสูงกว่าพันธุ์พ่อแม่ ถ้าพัฒนาจากสายพันธุ์พ่อแม่ที่เหมาะสม

Xiao *et al*. (2007) วิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัวของอัตราการสังเคราะห์แสงของพริก โดยนำพันธุ์พ่อแม่ 6 พันธุ์ ผสมแบบพบกันหมด (1/2)n(n-1) diallel crosses ได้พันธุ์ลูกผสม 15 สายพันธุ์ พบว่า ความสามารถในการรวมตัวเฉพาะมีความแปรปรวนมากกว่าความสามารถในการรวมตัวทั่วไป ซึ่งความสามารถในการรวมตัวทั่วไปของอัตราการสังเคราะห์แสงกับลักษณะที่สำคัญทางการเกษตรหรือความต้านทานต่อโรคที่สำคัญในช่วงกลางและปลายของระยะการออกดอกและติดผล มีความสัมพันธ์สูง ส่วนความสามารถในการรวมตัวเฉพาะของลักษณะต่างๆ มีค่าสูงที่ระยะต้นและปลายของการออกดอกติดผล ซึ่งอัตราการสังเคราะห์แสงมีความเกี่ยวข้องกับลักษณะใบและต้นในการเติบโตช่วงแรก แต่มีความเกี่ยวข้องกับลักษณะต้นและผลในการเติบโตช่วงหลัง Sousa and Maluf (2003) ได้ศึกษาความดีเด่นของลูกผสมและการประเมินลักษณะที่วัดได้ทางพันธุกรรมของพริกเผ็ด (*Capsicum chinense* Jacq) โดยใช้พริกเผ็ด 5 พันธุ์ มาผสมแบบพบกันหมด (diallel cross) วิเคราะห์ผลผลิตรวมและความต้านทานต่อโรคที่เกิดจาก *Xanthomonas Capestris* pv. *resicatoria* ได้ลูกผสม 10 สายพันธุ์ พบว่า ความดีเด่นของลูกผสมของลักษณะทั้งหมดที่ศึกษา เป็นผลมาจากยีนไม่เป็นผลบวก (non-additive) มากกว่ายีนผลบวก (additive) แต่น้ำหนักผลแห้งต่อต้น ปริมาณแคปไซซิน ต่อต้น และจำนวนเมล็ดต่อผล เป็นผลจาก epistasis แต่โดยทั่วไปความดีเด่น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ของลูกผสมส่วนใหญ่มาจากปฏิกิริยายีนข่ม (dominant gene action) มีตั้งแต่ข่มไม่สมบูรณ์ (incomplete dominance) จนถึงข่มเกินสมบูรณ์ (overdominance) Kumar *et al.* (2004) ได้ศึกษาอิทธิพลของจีโนไทป์และฟีโนไทป์ที่มีผลต่อผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต พริกเผ็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 30 สายพันธุ์ และพันธุ์พ่อแม่ 6 พันธุ์ พบว่า ความสามารถในการรวมตัวทั่วไป (GCA) มีความแปรปรวนสูงกว่าความสามารถในการรวมตัวเฉพาะ (SCA) ในลักษณะส่วนใหญ่ แสดงว่า อิทธิพลของยีนผลบวก (additive gene action) ควบคุมลักษณะผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์แบบจดบันทึกประวัติจึงสามารถใช้พัฒนาลักษณะเหล่านี้ได้ Kanthaswamy *et al*. (2003) ได้ศึกษาอิทธิพลของลักษณะทางสรีรวิทยาที่มีต่อความดีเด่นของลูกผสมพริกเผ็ด ลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 12 สายพันธุ์ ที่ได้จากการผสมโดยตรงและการผสมสลับกับพันธุ์พ่อแม่ 4 พันธุ์ (P1:CA-100, P2:Jayant, P3:RHRC และ P4:CA-133) พบว่า สายพันธุ์ P4 × P1 แสดงเปอร์เซ็นต์ความดีเด่นของลูกผสมทางด้านผลผลิต และอัตราการสังเคราะห์แสงสูงที่สุด รวมทั้งแสดงความดีเด่นในลักษณะอัตราการเติบโตสัมพัทธ์ อัตราการเติบโตของพืช และการทำงานของเอนไซม์ nitrate reductase สายพันธุ์ลูกผสมทั้งหมดมีดัชนีพื้นที่ใบซึ่งแสดงความดีเด่นของลูกผสมในทางลบ มีความสัมพันธ์ทางบวกกับผลผลิต อัตราการดูดซึม และอัตราการสังเคราะห์แสง น้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นตามอัตราการสังเคราะห์แสง Pandey *et al*. (2003) ได้ศึกษาความสามารถในการรวมตัวของผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตในพริกเผ็ด (*Capsicum annuum* L.) โดยผสมพันธุ์ที่ต้องการทดสอบกับพันธุ์ทดสอบ (line × tester mating system) พบว่า ความสามารถในการรวมตัวเฉพาะของลักษณะที่ศึกษาส่วนใหญ่ มีค่าสูงกว่าความสามารถในการรวมตัวทั่วไป แสดงว่า ลักษณะเหล่านี้เป็นผลมาจากยีนไม่เป็นผลบวก (non-additive gene) พ่อพันธุ์หรือแม่พันธุ์หรือทั้งสองพันธุ์ที่มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปสูง สามารถผลผลิตลูกผสมที่มีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะสูงด้วย การปรับปรุงความดีเด่นของลูกผสมจึงอาจมีประสิทธิภาพสำหรับการปรับปรุงผลผลิต และองค์ประกอบของผลผลิตในพริกเผ็ด Linganagouda *et al*. (2003) ศึกษาความดีเด่นของลูกผสมและความสามารถในการรวมตัวของลักษณะการเติบโตจากการผสมข้ามระหว่าง Capsicum × chilli พบว่า ลูกผสมมีความดีเด่นที่เหนือกว่าค่าเฉลี่ยระหว่างพ่อแม่ของเส้นรอบวงของลำต้น และความสูงที่การแตกกิ่งแรก มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปสูงกว่าความสามารถในการรวมตัวเฉพาะ แสดงว่า ถูกควบคุมด้วยยีนไม่เป็นผลบวก (non-additive) ส่วนความสูงต้นและจำนวนกิ่งทุติยภูมิ (secondary branch) เกิดจากยีนผลบวก (additive) และยีนไม่เป็นผลบวก (non-additive) และความกว้างทรงพุ่ม และจำนวนกิ่งแรก (primary branch) มีความดีเด่นของลูกผสมเกิดจากยีนไม่เป็นผลบวก (non-additive) และยีนผลบวก (additive) ตามลำดับ Prasad *et al.* (2003) ศึกษาความดีเด่นของลูกผสมในพริกเผ็ด (*Capsicum annuum* L.) พันธุ์ลูกผสม 6 สายพันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้จากการผสมแบบพบกันหมด (half diallele) 9 × 9 ของพันธุ์พริกหวาน (bell pepper) 1 พันธุ์ ได้แก่ Arka Gaurav และสายพันธุ์พริกเผ็ดที่พัฒนาแล้ว 8 พันธุ์ ได้แก่ VR-1, VR-2, VR-42, VR-14, VR-17, VR-27, VR-47 และ VR-55 พบว่า สายพันธุ์ VR-2 × VR-55 ให้น้ำหนักผลแห้งต่อต้นสูงที่สุดในกลุ่มสายพันธุ์ลูกผสมเหนือกว่าพันธุ์มาตรฐาน และพันธุ์พ่อหรือแม่ที่มีน้ำหนักผลแห้งต่อต้นสูงกว่า ส่วนสายพันธุ์ VR-1 × VR-2 ให้จำนวนผลต่อต้นเหนือกว่าพันธุ์มาตรฐาน และพันธุ์พ่อหรือแม่ที่มีน้ำหนักผลแห้งต่อต้นสูงกว่า Singh and Chaudhary (2005) ศึกษาความดีเด่นของลูกผสมและการถดถอยทางพันธุกรรมในพริกเผ็ดของลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 15 สายพันธุ์ ที่ได้รับจากพันธุ์พ่อแม่ 7 พันธุ์ ได้แก่ IC-119367, IC-119797, EC-321437, EC-305591, Pusa Sadabahar, RHRC-CE และ Punjab Lal พบว่า ผลผลิตต่อต้นแสดงความดีเด่นของลูกผสมสูง ส่วนองค์ประกอบของผลผลิตมีบางลักษณะที่แสดงความดีเด่นของลูกผสมสูง ได้แก่ จำนวนผลต่อต้น ความยาวผล และจำนวนเมล็ดต่อผล ซึ่งอิทธิพลของยีนข่ม (dominance) เกี่ยวข้องกับการแสดงความดีเด่นของลูกผสมน้อยมาก Meshram and Mukewar (1986) ศึกษาความดีเด่นของลูกผสมในพริกเผ็ด (*Capsicum annuum* L.) โดยการผสมทดสอบ (top-crossing) พันธุ์พริกที่มีพันธุกรรมต่างกัน 12 พันธุ์ กับพันธุ์ที่มีลักษณะเพศผู้เป็นหมันในนิวเคลียส (MS) ได้ลูกผสม 12 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ MS × K-2 แสดงความดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าพ่อหรือแม่ที่สูงกว่าในทางบวก (157 เปอร์เซ็นต์) และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับพ่อพันธุ์ สายพันธุ์ที่แสดงความดีเด่นของลูกผสมรองจากสายพันธุ์ MS × K-2 ได้แก่ สายพันธุ์ลูกผสม MS × Pant-C-1, MS × Japanese bunch variety และ MS × Bhiwapurtocal และพบว่า จำนวนวันที่ออกดอก, ความสูงต้น, จำนวนกิ่งปฐมภูมิ, ความยาวผล และจำนวนผลต่อต้น แสดงความดีเด่นของลูกผสมเช่นกัน แสดงว่า พันธุ์ที่มีลักษณะเพศผู้เป็นหมัน สามารถใช้ผลผลิตลูกผสมที่มีความแข็งแรงทางการค้าได้

2.8 การผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมโดยใช้ลักษณะเพศผู้เป็นหมัน

เมล็ดพันธุ์ผักลูกผสมให้ผลผลิตและคุณภาพสูงตรงตามพันธุ์ มีความสม่ำเสมอ (จานุลักษณ์, 2535) แต่การผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมต้องใช้แรงงานตอนเกสรเพศผู้ในสายพันธุ์เพศเมีย ทำให้มีค่าใช้จ่ายในการผลิตสูงขึ้น จึงใช้ลักษณะเพศผู้เป็นหมันในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสม (มณีฉัตร, 2542) Duvick (1959) ใช้ลักษณะเพศผู้เป็นหมันในไซโทพลาซึม (CMS) ผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมที่มีความดีเด่นของลูกผสม เพื่อลดต้นทุนที่เกิดจากการตอนเกสรเพศผู้ของพ่อแม่พันธุ์ที่ใช้ผลิตลูกผสม ปัจจุบันใช้วิธีการนี้ในการผลิตลูกผสมทางการค้าของหอมหัวใหญ่, มันเทศ, ข้าวโพดไร่, เมล็ดข้าวฟ่าง และพิทูเนีย และในอนาคตนำไปใช้ในการผลิตลูกผสมข้าวโพดหวาน, ข้าวโพดคั่ว, red table beets, fodder beets, fodder sorghum, หญ้าไข่มุก, แครอท และพริกประดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved