ระดับโครงการ

กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

รายงานผลสัมฤทธิ์สำหรับทุนสนับสนุนงานพื้นฐาน (Fundamental Fund)

ปีงบประมาณ พ.ศ. 2564

หน่วยงาน กรมวิชาการเกษตร

รายงานโครงการวิจัย

การปรับปรุงพันธุ์พริกหวานทนร้อน

Breeding of hot-tolerant sweet pepper

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัย

นางสาวทัศนีย์ ดวงแย้ม

Ms. Tatsanee Duangyam

ปี 2564

กรมวิชาการเกษตร

บทสรุปผู้บริหาร

พื้นที่ปลูกพริกหวานมีรายงานในปี 2563 มีพื้นที่ปลูกทั้งสิ้น 1,630 ไร่ ผลผลิต 2,112 ตัน ราคาขายสูงสุดอยู่ในช่วงเดือนธันวาคมของปี ในแต่ละปีผลผลิตของพริกหวานสามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรต่อรอบประมาณ 6-7 หมื่นบาท ปัญหาใหญ่ของการปลูกพริกหวานคือ ความต้องการเมล็ดพันธุ์ในแต่ละปีสูง ซึ่งเกษตรกรส่วนใหญ่จะต้องซื้อเมล็ดพันธุ์ซึ่งนำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ถ้าเป็นพริกหวานสีแดง เมล็ดละ 5.60 บาท สีเหลือง 5.50 บาท ต้นทุนค่าเมล็ดพันธุ์ต่อการปลูก 1 ไร่ 17,600-19,500 บาท (3,200-3,500 ต้น/ไร่) ในปี 2563 มีมูลค่าเมล็ดพันธุ์สูงถึง 20 ล้านบาทและนับวันจะสูงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมล็ดพันธุ์ทั้งหมดเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสมแต่เมื่อเกษตรกรปลูก เก็บผลผลิตแล้วไม่สามารถเก็บเมล็ดไว้ปลูกในปีต่อไปได้เกษตรกรต้องสูญเสียเงินในการซื้อเมล็ดพันธุ์ทุกปี การสร้างสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเป็นวิธีการหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์เนื่องจากเป็นการสร้างพืชสายพันธุ์แท้ (double haploid) ได้ภายในระยะเวลาสั้น พืชที่ได้ไม่มีการข่มของยีน ประกอบด้วยพันธุกรรมรูปแบบต่างๆ ที่ไม่มีการกระจายตัวของลักษณะอีก (fixed recombination) ทำให้ช่วยลดเวลาในการปรับปรุงพันธุ์พริก ทั้งการคัดเลือกพันธุ์เพื่อนำไปใช้เป็นพ่อหรือแม่ในการผลิตลูกผสมหรือใช้เป็นประชากรในการศึกษาแผนที่โครโมโซม การวิจัยนี้จะทำให้ได้พริกหวานลูกผสมที่เกษตรกรสามารถนำไปปลูกเป็นพันธุ์การค้า และได้สายพันธุ์บริสุทธิ์ที่มีลักษณะทนร้อน และให้ผลผลิตสูงที่ผ่านการคัดเลือกเพื่อให้ได้พันธุ์พริกหวานพันธุ์ใหม่สำหรับเกษตรกร โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อให้ได้พันธุ์พริกหวานที่มีลักษณะตรงตามพันธุ์ และพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะทนร้อน ให้ผลผลิตสูง

โครงการนี้ประกอบด้วย 2 การทดลอง โดยการทดลองที่ 1 การผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกหวาน การสร้างประชากรสำหรับการคัดเลือก โดยผสมพันธุ์พริกหวานจำนวน 7 พันธุ์กับพริกหยวก 3 พันธุ์ เพื่อคัดเลือกพริกหวานที่สามารถเจริญเติบโต ให้ผลผลิตได้ดีในช่วงฤดูร้อนและมีลักษณะรูปทรงเหมือนพริกหวาน การทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเพื่อสร้างพริกหวานสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์ เป็นวิธีการที่มีประโยชน์ต่อปรับปรุงพันธุ์เนื่องจากเป็นการลดระยะเวลาในการสร้างพืชสายพันธุ์แท้ เพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพริกหวานกับพริกหยวกเพื่อสร้างพริกหวานสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์ที่มีลักษณะทนร้อนและมีผลผลิตสูง

ผลการศึกษา พบว่า เมื่อผสมพันธุ์พริกหวานจำนวน 7 พันธุ์กับพริกหยวก 3 พันธุ์ ได้ลูกผสมจำนวน 13 คู่ผสม ในการปลูกคัดเลือก ดำเนินการเชียงรายและกาญจนบุรี ได้พริกหวานที่สามารถเจริญเติบโต ให้ผลผลิตได้ดีในช่วงฤดูร้อนและมีลักษณะรูปทรงเหมือนพริกหวาน ได้จำนวน 3 คู่ผสมๆละ 5 สายต้น มาปลูกเพื่อทำการคัดเลือกในรุ่น F2 จำนวน 15 สายต้นๆละ 50 ต้น ได้ทั้งสิ้น 750 ต้น แยกเก็บเมล็ดแต่ละต้นเป็นสายพันธุ์ ในการปลูกคัดเลือกรุ่นที่ 3 ดำเนินการที่เชียงราย ได้พริกหวานที่คัดเลือกไว้ 75 สายพันธุ์ เพื่อปลูกคัดเลือกในชั่วที่ 4 ต่อไป และได้เทคนิคการสร้างสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรได้สูตรอาหารและสภาวะที่เหมาะสมคือชักนำให้เกิดเอ็มโอในอาหารสูตร C ที่เติม 2,4-D 0.1 มก./ล. ร่วมกับ Kinetin 0.1 มก./ล. ที่มืด 35 องศาเซลเซียส 6 วัน

การนำไปใช้ประโยชน์ด้านวิชาการ ปี 2565 นักวิชาการ/นักวิจัย สามารถนำองค์ความรู้ เรื่อง การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเพื่อสร้างพริกหวานดับเบิลแฮพลอยด์ ไปพัฒนาต่อเพื่อลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์พริกให้ได้ลักษณะทางการเกษตรที่ดีต่อไป ใน ปี 2566-2568 คัดเลือกพริกหวานทนร้อนจนถึงชั่วรุ่นที่ 6 รวมทั้งคัดเลือกพริกหวานดับเบิลแฮพลอยด์สายพันธุ์ทนร้อนผลผลิตสูง และปลูกเปรียบเทียบพันธุ์พริกหวานจากการคัดเลือกในแหล่งปลูกต่าง ๆ และเสนอขอรับรองพันธุ์พริกหวานทนร้อน ส่วนด้านสังคมและชุมชน ปี 2569 ทดสอบและขยายผลพันธุ์พริกหวานทนร้อน

กรมวิชาการเกษตร

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้ประกอบด้วย 2 การทดลองมีวัตถุประสงค์เพื่อเพื่อให้ได้พันธุ์พริกหวานที่มีลักษณะตรงตามพันธุ์ และพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะทนร้อน ให้ผลผลิตสูง จากการทดลองการผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกหวาน การสร้างประชาการสำหรับการคัดเลือก โดยผสมพันธุ์พริกหวานจำนวน 7 พันธุ์กับพริกหยวก 3 พันธุ์ ได้ลูกผสมจำนวน 13 คู่ผสม ในการปลูกคัดเลือก ดำเนินการเชียงรายและกาญจนบุรี ได้พริกหวานที่สามารถเจริญเติบโต ให้ผลผลิตได้ดีในช่วงฤดูร้อนและมีลักษณะรูปทรงเหมือนพริกหวาน ได้จำนวน 3 คู่ผสมๆละ 5 สายต้น มาปลูกเพื่อทำการคัดเลือกในรุ่น F2 จำนวน 15 สายต้นๆละ 50 ต้น ได้ทั้งสิ้น 750 ต้น แยกเก็บเมล็ดแต่ละต้นเป็นสายพันธุ์ ในการปลูกคัดเลือกรุ่นที่ 3 ดำเนินการที่เชียงราย ได้พริกหวานที่คัดเลือกไว้ 75 สายพันธุ์ เพื่อปลูกคัดเลือกในชั่วที่ 4 ต่อไป

การสร้างสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์เป็นวิธีการที่มีประโยชน์ต่อปรับปรุงพันธุ์เนื่องจากเป็นการลดระยะเวลาในการสร้างพืชสายพันธุ์แท้ เพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพริกหวานกับพริกหยวกเพื่อสร้างพริกหวานสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์ที่มีลักษณะทนร้อนและมีผลผลิตสูง ทำการศึกษาลักษณะของดอกพริกที่มีไมโครสปอร์อยู่ในระยะ late-uninucleate ด้วยการย้อมสี DAPI แล้วตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ เมื่อนำอับละอองเกสรเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร C ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มก./ล.ร่วมกับไคเนติน ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. มีการพัฒนาเป็นต้นสูงสุด 2.5 ต้นต่อ 100 อับละอองเกสร เมื่อตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซมด้วยการนับจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุมพบว่าต้นพริกที่เป็นดิพลอยด์เป็นต้นพริกดับเบิลแฮพลอยด์ที่เกิดจากการเพิ่มจำนวนโครโมโซมขึ้นเองในสภาพเพาะเลี้ยงมีจำนวนทั้งสิ้น 21 ต้น และต้นพริกที่เป็นต้นแฮพพลอยด์ 23 ต้น อย่างไรก็ตามต้นพริกที่ได้มีความหลากหลายของลักษณะมากดังนั้นการนำต้นลูกผสมที่ผ่านการคัดเลือกตามเกณฑ์มาแล้วอย่างน้อยชั่วหนึ่งมาทำการเพาะเลี้ยงอาจเป็นวิธีการที่จะเพิ่มโอกาสให้ได้ต้นพริกสายพันธุ์แท้ที่มีลักษณะตามต้องการมากขึ้น

กรมวิชาการเกษตร

Abstract

This research project consisted of 2experiments with the objective of obtaining cultivars of sweet peppers that matched the cultivars and new cultivars with heat-tolerant characteristics and high yields.From the experimental mixing and selection of sweet pepper cultivars found that population formation for selection by crossing 7 varieties of sweet peppers with 3 varieties of hot peppers: 13 hybrids. In selective cultivation operate Chiang Rai and Kanchanaburi get sweet peppers that can grow yields well in the summer and has a shape like a sweet pepper. 3 pairs of 5 stalks each were planted for selection in the F2 series of 15 stalks, 50 trees each, totaling 750 plants separately. Each seed was collected separately is a species in the 3rd generation of selective cultivation, it was carried out in Chiang Rai. 75 cultivars of sweet peppers were selected for selection in the 4th period.

Pepper double haploid lines are useful as breeding material for parental lines in hybrid development. Anther cultures of the pepper F1 hybrid of sweet pepper x bell pepper were performed. Characteristics of pepper flowers with microspores at late-uninucleate stage of development with DAPI staining and then examined with a fluorescent microscope. The anthers were cultured on C medium supplemented with combination of 0.1 mg/l 2,4-D and 0.1 mg/l kinetin. The highest member of plantlets at 2.5 plantlets/100 anthers. Chloroplast count techniques from leaves of regenerated plants was be used to determine the ploidy level. The results revealed that all 23 haploid plants were obtained. All of the diploid plants were spontaneous double haploid for the total number of 21 plants. However, the resulting pepper plants have a wide variety of characteristics. Therefore, cultivating a hybrid plant that has been selected for at least some time may be a way to increase the chances of a double haploid pepper with the desired characteristics.

กรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คณะกรรมการวิชาการของสถาบันวิจัยพืชสวน รวมทั้งคณะผู้เชี่ยวชาญกรมวิชาการเกษตรทุก ๆ ท่าน ที่ช่วยพิจารณาแก้ไขการเสนอ โครงการวิจัย และขอขอบคุณคณะผู้ร่วมดำเนินงานวิจัยทุกท่าน และผู้เกี่ยวข้องอื่น ๆ ที่ได้ช่วยกันดำเนินงานวิจัยและร่วมกันแก้ปัญหาที่เกิดขึ้น ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าข้อมูลที่ได้ทำการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะสามารถเป็นประโยชน์กับนักวิชาการ และผู้สนใจได้ไม่มากก็น้อย

ทัศนีย์ ดวงแย้ม
หัวหน้าโครงการวิจัย ฯ

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทสรุปผู้บริหาร	2
บทคัดย่อ	3
Abstract	4
กิตติกรรมประกาศ	5
สารบัญ	6
สารบัญภาพ	7
สารบัญตาราง	8
บทที่ 1 บทนำ	9
บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน	11
บทที่ 3 ผลการศึกษา	14
บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล	33
เอกสารอ้างอิง	34
ภาคผนวก	35

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1	แสดงต้นพริกหวานอายุต้น 120 วัน ปลูก ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย	14
ภาพที่ 2	แสดงต้นพริกหยวกสายพันธุ์พ่ออายุต้น 120 วัน ปลูก ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย	14
ภาพที่ 3	แผนผังแสดงการสร้างพริกหวานสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์	22
ภาพที่ 4	กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ และไมโครสปอร์ระยะ late-unnucleate ของพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ย้อมสี DAPI	23
ภาพที่ 5	แสดงขั้นตอนการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกตามวิธีของ Dumas de Vaulx et al., 1981	23
ภาพที่ 6	แสดงการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกหยวกพันธุ์ ‘ปากคลอง’	24
ภาพที่ 7	แสดงจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม	25
ภาพที่ 8	การตรวจสอบที่มาของเซลล์ที่พัฒนาเป็นต้นดิพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร โดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดไมโครแซลเทลไลท์ CA516439	26
ภาพที่ 9	แสดงลักษณะสัณฐานดอกพริกแต่ละคู่ผสม ที่มีไมโครสปอร์อยู่ ในระยะ late-unnucleate	27
ภาพที่ 10	ลักษณะการเกิดแคลลัสและเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกหวาน	28
ภาพที่ 11	ลักษณะผลพริกที่ได้จากต้นพริกดิพลอยด์จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร	29
ภาพที่ 12	เอกสารเผยแพร่ผลงานวิจัย เรื่อง การผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกหวาน และการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกเพื่อสร้างสายพันธุ์ดับเบิ้ลแฮพพลอยด์	32

กรมวิชาการเกษตร

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 คู่ผสมระหว่างพริกหวานสายพันธุ์แม่และพริกหยวกสายพันธุ์พ่อ ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย 15

ตารางที่ 2 จำนวนเมล็ดจากคู่ผสมระหว่างพริกหวานสายพันธุ์แม่และพริกหยวกสายพันธุ์พ่อที่ผสมได้ ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย 15

ตารางที่ 3 แสดงรหัสที่ใช้สำหรับคู่ผสมระหว่างพริกหวานสายพันธุ์แม่และพริกหยวกสายพันธุ์พ่อที่ผสมได้ 15

ตารางที่ 4 ขนาดผล น้ำหนักผล และผลผลิตของพริกหวานชั่วที่ 2 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย 16

ตารางที่ 5 ขนาดผล น้ำหนักผล และผลผลิตของพริกหวานชั่วที่ 2 ณ ศวพ.กาญจนบุรี 17

ตารางที่ 6 ขนาดผล น้ำหนักผล และผลผลิตของพริกหวานชั่วที่ 2 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย 17

ตารางที่ 7 ขนาดผล น้ำหนักผล และผลผลิตของพริกหวานลูกผสมชั่วที่ 2 ณ ศวพ.กาญจนบุรี 18

ตารางที่ 8 ขนาดผล น้ำหนักผล และผลผลิตของพริกหวานลูกผสมชั่วที่ 3 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย 19

ตารางที่ 9 แสดงการพัฒนาเป็นต้นบนอาหารสูตร R จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกพันธุ์ปากคลองเมื่อชักนำให้ไมโครสปอร์พัฒนาเป็นเอ็มบริโอบนอาหารสูตร C ที่มีไคเนติน 0.1 มก./ล.ร่วมกับ 2,4-D 0.1 หรือ 0.3 มก./ล. โดยเพาะเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 4 6 และ 8 วัน 24

ตารางที่ 10 สรุปขั้นตอนและวิธีการสร้างพริกสารพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์ 26

ตารางที่ 11 แสดงการพัฒนาเป็นต้นบนอาหารสูตร R จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกลูกผสมชั่วที่ 1 เมื่อชักนำให้ไมโคร-สปอร์พัฒนาเป็นเอ็มบริโอบนอาหารสูตร C ที่มีไคเนติน 0.1 มก./ล.ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเพาะเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน 28

ตารางที่ 12 แสดงผลการตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซมต้นพริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร 29

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 1 บทนำ

1. วิสัยทัศน์ และพันธกิจของหน่วยงาน

<u>วิสัยทัศน์</u>

1. เป็นศูนย์กลางความเป็นเลิศทางวิชาการด้านพืชสวน
2. เป็นผู้นำในการวิจัยและพัฒนาพืชสวนของประเทศ โดยตั้งอยู่บนพื้นฐานการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

<u>พันธกิจ</u>

1. เสริมสร้างขีดความสามารถ ความเข้มแข็งทางวิชาการ และเทคโนโลยีด้านพืชสวนของประเทศให้ได้มาตรฐานสากล เพื่อเพิ่มขีดความสามารถทางการผลิตภายในประเทศและการส่งออก
2. วิจัยและพัฒนากระบวนการผลิตที่เหมาะสมกับสภาพทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมของประเทศ
3. ถ่ายทอดองค์ความรู้ และเทคโนโลยีเพื่อการพัฒนาพืชสวนสู่ภาครัฐ เอกชนและเกษตรกรที่สามารถนำไปสู่การปฏิบัติได้อย่างมีประสิทธิภาพ และสร้างมูลค่าเพิ่มให้ผลผลิต

2. ยุทธศาสตร์ชาติที่สอดคล้องกับแผนปฏิบัติงานด้าน ววน. ของหน่วยงาน **(โปรดเลือกเฉพาะยุทธศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับหน่วยงานของท่าน)**

- ❑ ยุทธศาสตร์ที่ 1 ด้านความมั่นคง
  เพื่อบริหารจัดการสภาวะแวดล้อมของประเทศให้มีความมั่นคง ปลอดภัย และมีความสงบเรียบร้อยในทุกระดับและทุกมิติ
- ☑ ยุทธศาสตร์ที่ 2 ด้านการสร้างความสามารถในการแข่งขัน
  เน้นการยกระดับศักยภาพในหลากหลายมิติควบคู่กับการขยายโอกาสของประเทศไทยในเวทีโลก
- ❑ ยุทธศาสตร์ที่ 3 ด้านพัฒนาและเสริมสร้างศักยภาพทรัพยากรมนุษย์
  คนไทยในอนาคต มีความพร้อมทั้งกาย ใจ สติปัญญา มีทักษะที่จำเป็นในศตวรรษที่ 21 มีทักษะสื่อสารภาษาอังกฤษและภาษาที่ 3 และมีคุณธรรม
- ❑ ยุทธศาสตร์ที่ 4 ด้านการสร้างโอกาสและความเสมอภาคทางสังคม
  สร้างความเป็นธรรม และลดความเหลื่อมล้ำในทุกมิติ กระจายศูนย์กลางความเจริญทางเศรษฐกิจและสังคม เพิ่มโอกาสให้ทุกภาคส่วนเข้ามาเป็นกำลังของการพัฒนาประเทศในทุกระดับ
- ❑ ยุทธศาสตร์ที่ 5 ด้านการสร้างการเติบโตบนคุณภาพชีวิตที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม
  คำนึงถึงความยั่งยืนของฐานทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ปรับเปลี่ยนพฤติกรรมของประชาชนให้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ผ่านมาตรการต่างๆ ที่มุ่งเน้นให้เกิดผลลัพธ์ต่อความยั่งยืน
- ❑ ยุทธศาสตร์ที่ 6 ด้านการปรับสมดุลและพัฒนาระบบการบริหารจัดการภาครัฐ
  การปรับเปลี่ยนภาครัฐ ยึดหลัก “ภาครัฐของประชาชนเพื่อประชาชนและประโยชน์ส่วนรวม”

3. วงเงินงบประมาณกองทุน ววน. ที่ได้รับจัดสรรในปีงบประมาณ พ.ศ. 2564 และโปรดระบุแผนงาน/โครงการให้สอดคล้องกับโปรแกรมของแผน ววน.

โปรแกรมตามแผน ววน.	งบประมาณ (บาท)
โครงการปรับปรุงพันธุ์พริกหวานทนร้อน	450,084

4. รายละเอียดโครงการ

ที่มาและความสำคัญ/หลักการและเหตุผล

พริกหวานหรือพริกยักษ์ (bell pepper, sweet pepper) ชื่อวิทยาศาสตร์ Capsicum annuum. L อยู่ในวงศ์ Solanaceae เช่นเดียวกับมะเขือเทศและมันฝรั่ง เป็นพริกที่มีรสเผ็ดน้อยเนื่องจากมีสารแคปไซซินต่ำ นิยมนำมาผัดหรือตกแต่งอาหารเนื่องจากมีสีสันสะดุดตา มีเบต้าแคโรทีน วิตามินซี เหล็ก และโพแทสเซียม มีทั้งสีแดง เหลือง และเขียว ในพริกหวานสีเหลืองมีวิตามินมากกว่าสีส้ม ส่วนพริกหวานสีเขียวมีวิตามินซีสูงสุด นอกจากนี้สารแคปไซซินในพริกสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ ลด

กรมวิชาการเกษตร

ความเสี่ยงการเป็นโรคหลอดเลือด ต้อกระจก ช่วยระบบย่อยอาหาร ลดความดันโลหิต ช่วยการไหลเวียนของเลือด พื้นที่ปลูกพริกหวานมีรายงาน มีพื้นที่ปลูกทั้งสิ้น 1,630 ไร่ ผลผลิต 2,112 ตัน ราคาขายสูงสุดอยู่ในช่วงเดือนธันวาคมของปี ข้อมูลจากโครงการหลวงปังค่า ตำบลผาช้างน้อย อำเภอปง จังหวัดพะเยา ได้ส่งเสริมให้เกษตรกรในพื้นที่ปลูกพริกหวาน ซึ่งสามารถทำให้เกษตรมีอาชีพและมีรายได้เป็นอย่างดี สามารถจำหน่ายได้กิโลกรัมละ 60-70 บาทและในแต่ละปีผลผลิตของพริกหวานสามารถสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรต่อรอบประมาณ 6-7 หมื่นบาท

ปัญหาใหญ่ของการปลูกพริกหวานในประเทศ คือ ความต้องการเมล็ดพันธุ์ในแต่ละปีสูง ซึ่งเกษตรกรส่วนใหญ่จะต้องซื้อเมล็ดพันธุ์ซึ่งนำเข้าจากประเทศเนเธอร์แลนด์ ถ้าเป็นพริกหวานสีแดง เมล็ดละ 5.60 บาท สีเหลือง 5.50 บาท ต้นทุนค่าเมล็ดพันธุ์ต่อการปลูก 1 ไร่ 17,600-19,500 บาท (3,200-3,500 ต้น/ไร่) ในปี 2563 มีมูลค่าเมล็ดพันธุ์สูงถึง 20 ล้านบาท และนับวันจะสูงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมล็ดพันธุ์ทั้งหมดเป็นเมล็ดพันธุ์ลูกผสมแต่เมื่อเกษตรกรปลูก เก็บผลผลิตแล้วไม่สามารถเก็บเมล็ดไว้ปลูกในปีต่อไปได้เกษตรกรต้องสูญเสียเงินในการซื้อเมล็ดพันธุ์ทุกปี ต้นทุนการผลิตสูง นอกจากนี้การปลูกพริกหวานของเกษตรกรยังประสบปัญหาความรุนแรงของโรคทั้งแอนแทรกโนส โรคเน่า และโรคอื่นๆ ซึ่งในสภาวะอากาศที่แปรปรวนส่งเสริมให้ระบบการผลิตมีปัญหา ส่วนปัญหาด้านการผลิต คือ เรื่องของพันธุ์ที่เหมาะสม ปริมาณผลผลิตและคุณภาพลดลงตามสภาพการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศและที่สำคัญคือ ปัญหาต้นทุนการผลิตสูง โดยเฉพาะต้นทุนค่าปุ๋ยเคมี

การสร้างสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเป็นวิธีการหนึ่งที่นำมาใช้ประโยชน์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์เนื่องจากเป็นการสร้างพืชสายพันธุ์แท้ (double haploid) ได้ภายในระยะเวลาสั้น พืชที่ได้ไม่มีการข่มของยีนประกอบด้วยพันธุกรรมรูปแบบต่างๆ ที่ไม่มีการกระจายตัวของลักษณะอีก (fixed recombination) ทำให้ช่วยลดเวลาในการปรับปรุงพันธุ์พริก ทั้งการคัดเลือกพันธุ์เพื่อนำไปใช้เป็นพ่อหรือแม่ในการผลิตลูกผสมหรือใช้เป็นประชากรในการศึกษาแผนที่โครโมโซม(พรพนัชและจุลภาค, 2553) การวิจัยนี้จะทำให้ได้พริกหวานลูกผสมที่เกษตรกรสามารถนำไปปลูกเป็นพันธุ์การค้า และได้สายพันธุ์บริสุทธิ์ที่มีลักษณะทนร้อน และให้ผลผลิตสูง

วัตถุประสงค์

ได้พันธุ์พริกหวานที่มีลักษณะตรงตามพันธุ์ และพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะทนร้อน ให้ผลผลิตสูง

ขอบเขตการศึกษา

โครงการวิจัยครอบคลุมงานวิจัยด้านการปรับปรุงพันธุ์ และการผลิตพันธุ์ พริกหวานเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีลักษณะทนร้อน

นิยามศัพท์

.....

.....

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 2 วิธีการดำเนินงาน

1.วิธีการดำเนินการวิจัย

การทดลองที่ 1 การผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกหวาน

- อุปกรณ์ : พริกหวาน 10 สายพันธุ์ ได้แก่ California Wonder Spider ทันเดอร์ อิตาลี(สีเหลือง) เวก้า 1288 โพลาริส 1838 พริกหวานจิ๋ว พริกหยวกปากคลอง 191 พริกหยวกมณีไทย พริกหยวกมณีกาญจน์ ถุงที่ใช้ในการเก็บตัวอย่าง สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ธาตุอาหาร ปุ๋ยคอก ปุ๋ยเคมี อุปกรณ์ในการผสมพันธุ์พริก การบันทึกข้อมูล เครื่องชั่ง สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช
- วิธีการ ไม่มีการวางแผนการทดลอง นำเมล็ดพริกหวานที่ผสมได้แล้ว อย่างน้อย 6- 8 คู่ผสม ทำการปลูกคัดเลือกอย่างน้อย 7 รุ่น เพื่อให้ได้สายพันธุ์บริสุทธิ์

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. ปลูกพริกให้มีช่วงการออกดอกเหมาะสมกับการผสม โดยนำเมล็ดพันธุ์พริกแช่น้ำเปล่า นาน 1 คืน นำเมล็ดพริกมาห่อผ้าขาวบางชุบน้ำทิ้งไว้ 1 คืนหว่านเมล็ดลงบนแปลงเพาะ เมื่อต้นกล้าแตกใบแรกหรือประมาณ 7 วัน ย้ายมาเพาะต่อในถาดหลุมนาน 25-30 วัน
2. เตรียมพื้นที่ปลูกพริก โดยการไถและพรวนดินทิ้งไว้ 1 เดือนก่อนปลูก
3. ปลูกพริกหวานอย่างน้อย 50 ต้นต่อพันธุ์ในแปลงทดลองในโรงเรือนชั่วคราวที่มีการพรางแสง 50 % โดยใช้ระยะปลูก 50 x 100 เซนติเมตร แถวคู่ระยะระหว่างแปลงย่อย 100 ซม. และระยะระหว่างพันธุ์ 1 เมตร
4. ทำการผสมพันธุ์โดยมีขั้นตอนดังนี้

<u>การเตรียมต้นที่จะใช้เป็นต้นพ่อ</u> (ก่อนการผสม 1 วัน)

-เก็บดอกพริกโดยเลือกดอกที่จะบานในวันถัดไป เด็ดกลีบดอกสีขาวออกให้เหลือเกสรตัวผู้ ใช้ตาข่ายร่อนเกสรตัวผู้ลอดตาข่าย

-เก็บเกสรตัวผู้ห่อกระดาษใส่ใน siliga gel เพื่อให้ดูดความชื้นออกจากเกสร ทิ้งไว้ 1 คืน เมื่อเกสรแห้งนำไปใส่ในภาชนะที่มีผ้าขาวบางปิดไว้ เคาะเอาเฉพาะเกสรตัวผู้

<u>การเตรียมต้นที่จะใช้เป็นต้นแม่</u> (ก่อนการผสม 1 วัน) โดยใช้คีมคีบเกสรตัวผู้ออกจากดอก

- วันที่ทำการผสม นำเกสรตัวผู้ที่เตรียมไว้ใส่ในอุปกรณ์ผสมพันธุ์ แตะปลายเกสรตัวเมียในดอกที่เจริญเต็มที่
- ทำการผสมอย่างน้อย 10 ดอกต่อต้น ทำเครื่องหมายไว้เพื่อป้องกันการผสมซ้ำโดยคลุมมุ้งสีขาว

5. หากผสมติด เมื่อผลที่ผสมแก่จัดจนสุก เก็บเมล็ดแต่ละต้นไปปลูกเพื่อคัดเลือก
6. เก็บเมล็ดลูกผสม F1 แต่ละต้นที่คัดเลือกได้ นำเมล็ดไปเพาะ หลังงอกนำไปปลูกในฤดูถัดไป
7. ดำเนินการปลูกเมล็ด F2 จำนวน 15 สายพันธุ์ๆละ 50 ต้น คัดเลือกต้นที่การเจริญเติบโตดี ให้ผลผลิตดี และตรงตามเกณฑ์ 10 % (75 ต้น) ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดแยกต้น ได้เมล็ดชั่วที่ 3 ดำเนินการปลูก และคัดเลือกจนได้เมล็ด F6 อย่างน้อย 6-8 สายพันธุ์ในปี 2567

<u>หลักเกณฑ์การคัดเลือกพันธุ์พริกหวาน</u>

1. ผลเรียบ ผิวมัน สมบูรณ์ มีก้านติดที่ขั้วผลผลมีรูปร่างเหมือนพริกหวาน
2. ผลผลิตสดเท่ากันหรือมากกว่าพริกหวานพันธุ์การค้า
3. สามารถเจริญเติบโต ให้ผลผลิตดีในสภาพอากาศที่ร้อน และสามารถปลูกในพื้นที่ราบได้

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

1. วันปฏิบัติการต่าง ๆ เช่น วันเพาะกล้า วันออกดอก เป็นต้น
2. ข้อมูลการเจริญเติบโต เช่น ความสูงต้น ขนาดทรงพุ่ม รวมทั้งน้ำหนักของผลผลิต

- เวลาและสถานที่

ระยะเวลา ตุลาคม 2562 – กันยายน 2564

สถานที่ - ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย จ.เชียงราย

- ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี

กรมวิชาการเกษตร

ระยะเวลา	ขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์	สถานที่ดำเนินการ
ปี 2563	- ปลูกพริกหวานพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่ และทำการผสมข้าม (ได้เมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1) F1 - คัดเลือกคู่ผสมที่ให้ลักษณะตามเกณฑ์ที่ตั้งไว้ ได้ 3 คู่ผสม	ศวส.ชร. ศวพ.กาญจนบุรี
ปี 2564 (ปลูกปีละ 2 ครั้ง)	- ปลูก F1 ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดได้ F2 - ปลูก F2 15 สายพันธุ์ๆละ 50 ต้น ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดได้ F3	ศวส.ชร.และศวพ.กาญจนบุรี
ปี 2565 (ปลูกปีละ 2 ครั้ง)	- ปลูก F3 60 สายพันธุ์ๆละ 20 ต้น ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดได้ F4 - ปลูก F4 120 สายพันธุ์ๆละ 20 ต้น ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดได้ F5	ศวส.ชร.
ปี 2566 (ปลูกปีละ 2 ครั้ง)	- ปลูก F5 10ต้น/สายพันธุ์ ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดแยกต้น ได้ F6 - ได้เมล็ด F6 อย่างน้อย 6-8 สายพันธุ์ - เปรียบเทียบพันธุ์ ปลูก F6 อย่างน้อย 6-8 สายพันธุ์ และพันธุ์การค้า 1 พันธุ์	ศวส.ชร. ศวส.ชร., และศวพ.กาญจนบุรี
ปี 2567	- ปลูกเปรียบเทียบพันธุ์กับพันธุ์การค้า ซ้ำอีก 1 ครั้ง - เสนอขึ้นทะเบียนรับรองพันธุ์เป็นพันธุ์แนะนำอย่างน้อย 1 สายพันธุ์	ศวส.ชร., และศวพ.กาญจนบุร ศวส.ชร.

การทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเพื่อสร้างพริกหวานสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์

<u>สิ่งที่ใช้ในการทดลอง</u>

1. เมล็ดพันธุ์พริกคู่ผสมชั่วที่ 1 จำนวน 13 คู่ผสม
2. อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สารควบคุมการเจริญเติบโต
3. สารเคมี เช่น โคลชิซิน สี DAPI (4, 6-diamidino-2- phenylindole)

<u>การวางแผนการทดลอง</u>

ปลูกพริกลูกผสมชั่วที่ 1 แล้วนำมาเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร เพื่อให้ได้พริกหวานดับเบิลแฮพลอยด์ โดยได้จากสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (spontaneous double haploid) หรือเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมต้นแฮพลอยด์ด้วยสารละลายโคลชิซิน

<u>ขั้นตอนการดำเนินงาน</u>

นำต้นพันธุ์พริกที่ได้จากการทดลองที่ 1 ผสมเพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 1

1. ปลูกพริกหวานลูกผสมชั่วที่ 1 ในโรงเรือน จำนวนคู่ผสมละ 10 ต้น ดูแลรักษาให้ปุ๋ยตามระยะการพัฒนาเพื่อให้ต้นพริกสมบูรณ์ เมื่อต้นพริกออกดอกต้องปลิดดอกบานหรือผลทิ้งอย่างสม่ำเสมอ
2. ศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะสัณฐานของดอกพริกกับระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์ นำดอกพริกดอกตูมในหลายๆ ขนาด หาระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์โดยการย้อมสีไมโครสปอร์ด้วย การย้อมด้วยสี DAPI (4, 6-diamidino-2-phenylindole) แล้วตรวจสอบระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ เพื่อหาลักษณะของดอกพริกที่มีระยะของไมโครสปอร์ที่เหมาะสมคือระยะ late uninucleate
3. เพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกลูกผสมชั่วที่ 1 นำดอกพริกที่มีไมโครสปอร์อยู่ในระยะ late uninucleate ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวแยกอับละอองเกสรออกจากดอกแล้ววางบนอาหารสูตร C (Dumas de Vaulx *et al*., 1981) ซึ่งมี 2,4-D ความ

กรมวิชาการเกษตร

เข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไคเนติน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร (พรพนัช, 2553) เพาะเลี้ยงในที่มืดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน (Dumas de Vaulx *et al*., 1981) จากนั้นเพาะเลี้ยงที่มืด 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน แล้วย้ายอับละอองเกสรลงบนอาหารสูตร R (Dumas de Vaulx *et al*., 1981) ที่มีไคเนติน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่มีแสงประมาณ 25-30 μmol/m^2.s 16 ชั่วโมง มืด 8 ชั่วโมง เมื่อพบเอ็มบริโอเกิดขึ้นย้ายเอ็มบริโอลงบนอาหารสูตร R ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต

4. เมื่อเอ็มบริโอพัฒนาเป็นต้นพริกที่สมบูรณ์ ตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซมจำนวนคลอโรโพลาสต์ในเซลล์คุม (guard cell) ซึ่งต้นพริกที่ได้จากการเลี้ยงอับละอองเกสรนั้น อาจได้สายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (spontaneous double haploid) และต้นแฮพลอยด์
5. เพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมต้นพริกแฮพลอยด์ด้วยการเลี้ยงต้นพริกแฮพลอยด์ในอาหารที่มีสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนย้ายปลูก
6. ย้ายปลูกพริกหวานดับเบิลแฮพลอยด์ ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเพื่อเก็บเมล็ด แล้วปลูกคัดเลือกพันธุ์ต่อไป

- สถานที่ทำการทดลอง ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเชียงราย อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย

2. การปรับแผนงบประมาณระหว่างปี

☑ ไม่มี ☐ มี ได้รับอนุมัติเมื่อวันที่..... (โปรดแสดงหลักฐานในภาคผนวก)

☐ เปลี่ยนแปลงงบประมาณ โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

☐ เปลี่ยนแปลงวัตถุประสงค์/ผลผลิต โปรดอธิบายการเปลี่ยนแปลง.....

กรมวิชาการเกษตร

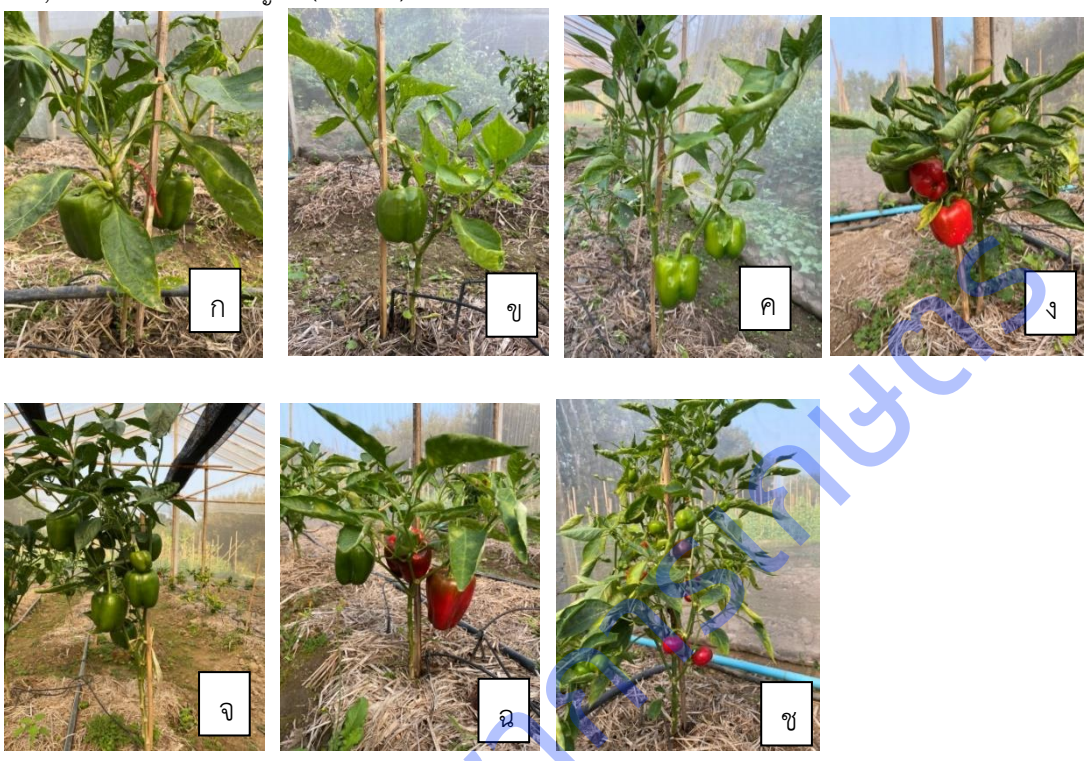
บทที่ 3 ผลการศึกษา

3.1 ผลการดำเนินงานของโครงการ

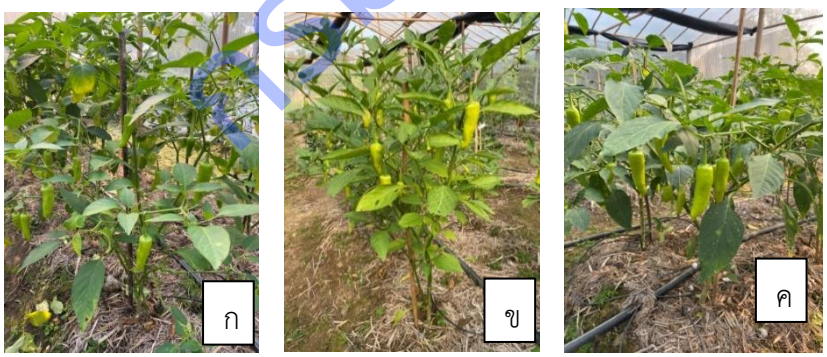
การทดลองที่ 1 การผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกหวาน

<u>การสร้างประชาการสำหรับการปลูกคัดเลือก</u>

ปลูกพริกหวานสายพันธุ์พ่อแม่ในโรงเรือน จำนวน 10 พันธุ์ ต้นพริกเริ่มออกดอกเมื่อมีอายุต้นประมาณ 60 วัน โดยจะผสมพันธุ์พริก โดยใช้พริกหวานเป็นพันธุ์แม่จำนวน 7 พันธุ์ คือ California Wonder, Spider, ทันเดอร์, อิตาลี(สีเหลือง), อิตาลี(สีแดง) ,เวก้า 1288, โพลาริส 1838 และพริกหวานจิ๋ว (ภาพที่ 1) ใช้พริกหยวกเป็นพันธุ์พ่อจำนวน 3 พันธุ์ คือ พันธุ์ปากคลอง 191, มณีไทย และ มณีกาญจน์ (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 แสดงต้นพริกหวานอายุต้น 120 วัน ปลูก ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย
ก. พันธุ์ทันเดอร์ ข. พันธุ์ California Wonder ค. พันธุ์อิตาลี(เหลือง) ง. พันธุ์ Spider
จ. พันธุ์โพลาริส 1838 ฉ. พันธุ์เวก้า 1288 ช. พันธุ์พริกหวานจิ๋ว



ภาพที่ 2 แสดงต้นพริกหยวกสายพันธุ์พ่ออายุต้น 120 วัน ปลูก ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย
ก. พันธุ์มณีกาญจน์ ข. พันธุ์ปากคลอง ค. พันธุ์มณีไทย ง. พันธุ์เจียไต๋

<u>การสร้างลูกผสมชั่วที่ 1</u>

หลังจากทำการผสมพริกหวานทุกคู่ผสม เมื่อผลพริกหวานเปลี่ยนสี สามารถเก็บเมล็ดพันธุ์ได้ 13 คู่ผสม ดังนี้ ‘California Wonder’X‘ปากคลอง191’ ‘California Wonder’X‘มณีกาญจน์’ ‘California Wonder’X‘มณีไทย’ ‘Spider X‘

ปากคลอง191’ ‘ทันเดอร์’X‘ปากคลอง191’ ‘ทันเดอร์’X‘มณีกาญจน์’ ‘ทันเดอร์’X‘มณีไทย’ ‘โพลาริส1838’X‘ปากคลอง191’ ‘โพลาริส1838’X‘มณีไทย’ ‘‘Giallo’X‘ปากคลอง191’ ‘พริกหวานจิ๋วX‘ปากคลอง191’ พริกหวานจิ๋วX‘มณีกาญจน์’ และ ‘พริกหวานจิ๋วX‘มณีไทย’ (ตารางที่ 1) และสามารถเก็บรวมรวมเมล็ดพันธุ์ของแต่ละคู่ผสมได้ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 คู่ผสมระหว่างพริกหวานสายพันธุ์แม่และพริกหยวกสายพันธุ์พ่อ ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายปี 2562/63

พันธุ์พ่อ / พันธุ์แม่	‘ปากคลอง191’	‘มณีกาญจน์’	‘มณีไทย’
‘California Wonder’	/	/	/
‘Spider’	/	x	x
‘ทันเดอร์’	/	/	/
‘เวก้า1288’	x	x	x
‘โพลาริส1838’	/	x	/
‘Giallo’	/	x	x
พริกหวานจิ๋ว	/	/	/

/ หมายถึง สามารถเก็บเมล็ดพันธุ์ได้ x หมายถึงไม่สามารถเก็บเมล็ดพันธุ์ได้

ตารางที่ 2 จำนวนเมล็ดจากคู่ผสมระหว่างพริกหวานสายพันธุ์แม่และพริกหยวกสายพันธุ์พ่อที่ผสมได้ ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ปี 2562/63

คู่ผสมที่ได้	จำนวนเมล็ดที่ได้ (เมล็ด)
‘California Wonder’ x ‘ปากคลอง’	100
‘California Wonder’ x ‘มณีกาญจน์’	125
‘California Wonder’ x ‘มณีไทย’	210
‘Spider’ x ‘ปากคลอง’	120
‘ทันเดอร์’x ‘ปากคลอง’	100
‘ทันเดอร์’x ‘มณีกาญจน์’	120
‘ทันเดอร์’x ‘มณีไทย’	100
‘โพลาริส1838’ x ‘ปากคลอง’	215
‘โพลาริส1838’ x ‘มณีไทย’	225
‘Giallo’x ‘ปากคลอง’	100
‘พริกหวานจิ๋ว’ x ‘ปากคลอง191’	120
‘พริกหวานจิ๋ว’ x ‘มณีกาญจน์’	220
‘พริกหวานจิ๋ว’ x ‘มณีไทย’	145

ตารางที่ 3 แสดงรหัสที่ใช้สำหรับคู่ผสมระหว่างพริกหวานสายพันธุ์แม่และพริกหยวกสายพันธุ์พ่อที่ผสมได้

คู่ผสมที่ได้	รหัส
‘California Wonder’ x ‘ปากคลอง’	SP01
‘California Wonder’ x ‘มณีกาญจน์’	SP02
‘California Wonder’ x ‘มณีไทย’	SP03

กรมวิชาการเกษตร

‘Spider’ x ‘ปากคลอง’	SP04
‘ทันเดอร์’x ‘ปากคลอง’	SP05
‘ทันเดอร์’x ‘มณีกาญจน์’	SP06
‘ทันเดอร์’x ‘มณีไทย’	SP07
‘โพลาริส1838’ x ‘ปากคลอง’	SP08
‘โพลาริส1838’ x ‘มณีไทย’	SP09
‘Giallo’x ‘ปากคลอง’	SP10
‘พริกหวานจิ๋ว’ x ‘ปากคลอง191’	SP11
‘พริกหวานจิ๋ว’ x ‘มณีกาญจน์’	SP12
‘พริกหวานจิ๋ว’ x ‘มณีไทย’	SP13

ผลการทดลองปีที่2 (ปี 63/64)

การคัดเลือกพันธุ์พริกหวานชั่วที่ 2

จากข้อมูลผลผลิตของพริกหวานลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย พบว่า คู่ผสมที่ให้ผลผลิตตั้งแต่ 1,000 กิโลกรัมต่อไร่ ได้แก่ SP01 SP02 SP10 SP11 SP12 และ SP13 (ตารางที่ 4) และข้อมูลผลผลิตของพริกหวานลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี พบว่า คู่ผสมที่ให้ผลผลิตตั้งแต่ 1,000 กิโลกรัมต่อไร่ ได้แก่ SP11 SP12 และ SP13 (ตารางที่ 5)

หลังจากปลูกต้นพริกหวานลูกผสมชั่วที่ 1 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย ได้จำนวน 13 คู่ผสม และที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรกาญจนบุรี ได้จำนวน 7 คู่ผสม ได้ทำการคัดเลือกคู่ผสมตามเกณฑ์การคัดเลือกที่ตั้งไว้ โดยการคัดเลือกในเบื้องต้นจะพิจารณาจากต้นที่สามารถเจริญเติบโตให้ผลผลิตได้ดีทั้ง 2 สถานที่ และรูปร่างลักษณะเหมือนพริกหวาน จึงได้คู่ผสมจำนวน 3 คู่ผสมที่มีลักษณะตามเกณฑ์มากที่สุด ได้แก่ 1 SP11 SP12 และ SP13 และได้นำเมล็ดพริกหวานจากต้นลูกผสมชั่วที่ 1 ที่คัดเลือกแล้ว จำนวน 3 คู่ผสมๆละ 5 สายต้น มาปลูกเพื่อทำการคัดเลือกในรุ่น F2 จำนวน 15 สายต้นๆละ 50 ต้น ได้ทั้งสิ้น 750 ต้น (ตารางที่ 6และ7) แยกเก็บเมล็ดแต่ละต้นเป็นสายพันธุ์

การคัดเลือกพันธุ์พริกหวานชั่วที่ 3

ปลูกต้นพริกหวานลูกผสมชั่วที่ 3 จำนวน 750 สายพันธุ์ ได้ทำการคัดเลือกคู่ผสมที่มีรูปร่างลักษณะเหมือนพริกหวานคัดเลือกไว้ 75 สายพันธุ์ (ตารางที่ 8)เพื่อปลูกคัดเลือกในชั่วที่ 4 ต่อไป

ตารางที่ 4 ขนาดผล น้ำหนักผล และผลผลิตของพริกหวานชั่วที่ 1 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

รหัส	**ขนาดผล(ซม.)**		**น้ำหนักผล (กรัม)**	**ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)**
	กว้าง	**ยาว**		
SP01	5.1	7.2	110	1,145
SP02	4.8	6.7	140	1,220
SP03	4.6	7.4	120	990
SP04	5.3	7.6	80	430
SP05	5.2	6.1	100	560
SP06	6.3	7.2	150	870
SP07	4.2	8.6	120	652
SP08	3.5	7.2	110	984
SP09	4.7	6.5	140	856
SP10	5.2	8.3	110	1,256
SP11	4.5	5.2	72	1,012

ศูนย์วิจัยการเกษตร

SP12	5.8	6.8	91	1,140
SP13	6.3	6.5	94	1,264

ตารางที่ 5 ขนาดผล น้ำหนักผล และผลผลิตของพริกหวานชั่วที่ 1 ณ ศวพ.กาญจนบุรี

รหัส	**ขนาดผล(ซม.)**		**น้ำหนักผล (กรัม)**	**ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)**
	กว้าง	**ยาว**		
SP05	4.2	7.8	130	870
SP06	3.8	8.1	140	560
SP07	4.3	6.5	110	780
SP09	5.2	6.3	120	820
SP11	4.0	5.6	85	1,210
SP12	3.8	6.2	98	1,024
SP13	4.3	5.2	74	1,040

ตารางที่ 6 ขนาดผล น้ำหนักผล และผลผลิตของพริกหวานชั่วที่ 2 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

รหัส	**ขนาดผล(ซม.)**		**น้ำหนักผล (กรัม)**	**ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)**
	กว้าง	**ยาว**		
SP11-1	4.4	6.4	75	1,237
SP11-2	3.5	5.4	98	1,093
SP11-3	5.8	5.3	74	1,123
SP11-4	4.4	4.9	85	1,460
SP11-5	3.9	5.3	85	1,238
SP12-1	4.5	5.6	87	1,244
SP12-2	4.6	5.3	78	1,394
SP12-3	4.0	6.4	84	1,049
SP12-4	5.3	5.4	95	1,024
SP12-5	5.8	5.6	79	965
SP13-1	3.7	5.9	87	1,207
SP13-2	4.3	6.2	75	1,545
SP13-3	4.7	5.6	74	1,235
SP13-4	4.9	6.4	78	1,043
SP13-5	5.3	5.7	89	1,021

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 7 ขนาดผล น้ำหนักผล และผลผลิตของพริกหวานลูกผสมชั่วที่ 2 ณ ศวพ.กาญจนบุรี

รหัส	ขนาดผล(ซม.)		น้ำหนักผล (กรัม)	ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)
	กว้าง	ยาว		
SP11-1	5.2	6.7	75	983
SP11-2	4.3	5.9	78	844
SP11-3	4.6	5.3	89	1,103
SP11-4	4.3	5.2	87	1,021
SP11-5	5.6	6.7	77	1,167
SP12-1	4.2	6.2	72	958
SP12-2	4.6	5.7	70	873
SP12-3	5.8	6.8	77	854
SP12-4	5.4	6.3	97	1,034
SP12-5	4.7	5.6	79	982
SP13-1	5.7	6.4	74	1,012
SP13-2	5.6	7.4	72	1,123
SP13-3	7.4	7.8	70	943
SP13-4	5.7	6.5	82	1,003
SP13-5	6.4	7.5	93	1,211

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 8 ขนาดผล น้ำหนักผล และผลผลิตของพริกหวานลูกผสมชั่วที่ 3 ณ ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

รหัส	ขนาดผล(ซม.)		น้ำหนักผล (กรัม)	ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)
	กว้าง	ยาว		
SP11-1-1	4.2	6.2	87	1,345
SP11-1-5	3.8	5.3	85	1,043
SP11-1-33	3.9	6.2	84	1,242
SP11-1-36	4.3	6.1	85	1,450
SP11-1-46	4.3	5.6	73	1,201
SP11-2-2	4.7	6.4	74	1,223
SP11-2-11	4.8	6.3	78	1,300
SP11-2-33	5.3	6.7	68	1,216
SP11-2-41	4.7	6.2	89	1,033
SP11-2-47	4.8	5.8	79	894
SP11-3-7	4.2	6.1	86	1,012
SP11-3-9	4.4	5.6	89	1,145
SP11-3-24	4.3	6.3	74	1,400
SP11-3-36	4.6	6.3	62	1,100
SP11-3-40	4.8	6.8	78	928
SP11-4-4	4.3	6.7	78	878
SP11-4-16	4.7	5.6	78	985
SP11-4-29	5.6	6.7	65	897
SP11-4-35	5.3	6.3	77	1,326
SP11-4-39	5.2	6.4	86	1,200
SP11-5-2	4.7	5.7	78	873
SP11-5-11	4.3	5.9	89	830
SP11-5-17	4.5	6.4	76	940
SP11-5-21	3.4	6.4	67	1,033
SP11-5-25	6.2	7.5	65	1,490
SP12-1-4	4.5	6.5	84	1,393
SP12-1-8	4.1	5.2	88	985
SP12-1-24	4.6	5.3	68	870
SP12-1-38	3.7	4.4	69	1,090

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 8 (ต่อ)

รหัส	ขนาดผล(ซม.)		น้ำหนักผล (กรัม)	ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)
	กว้าง	ยาว		
SP12-1-48	5.0	5.6	76	1,022
SP12-2-3	4.1	5.6	78	980
SP12-2-17	4.3	6.3	87	1,130
SP12-2-38	4.2	6.5	86	1,021
SP12-2-41	5.2	6.9	85	1,157
SP12-2-47	4.1	5.8	78	1,290
SP12-3-7	4.1	5.7	79	940
SP12-3-18	5.3	6.5	83	900
SP12-3-29	5.1	6.9	95	1,034
SP12-3-35	4.2	5.8	84	1,033
SP12-3-46	5.2	6.7	79	1,134
SP12-4-1	5.1	6.8	76	1,230
SP12-4-7	5.7	6.8	84	1,356
SP12-4-10	6.4	6.9	94	1,029
SP12-4-15	6.2	7.5	87	1,211
SP12-4-26	5.4	6.5	78	943
SP12-4-29	4.3	7.4	85	865
SP12-4-35	4.5	5.4	86	856
SP12-4-37	5.1	5.4	76	790
SP12-4-48	5.3	6.8	67	970
SP12-4-50	4.3	5.6	86	985
SP13-1-8	4.2	5.4	84	1,033
SP13-1-17	4.1	5.6	64	1,094
SP13-1-43	3.7	4.8	68	1,210
SP13-1-46	3.8	4.5	78	1,370
SP13-1-49	3.4	5.4	58	980
SP13-2-7	4.3	5.8	87	879
SP13-2-15	4.3	5.2	65	986
SP13-2-23	4.1	5.3	67	750
SP13-2-31	4.6	5.7	63	760

กรมวิชาการเกษตร

ตารางที่ 8 (ต่อ)

รหัส	ขนาดผล(ซม.)		น้ำหนักผล (กรัม)	ผลผลิต (กิโลกรัม/ไร่)
	กว้าง	ยาว		
SP13-2-41	5.1	6.8	76	1,220
SP13-3-5	4.1	6.7	75	889
SP13-3-7	4.2	6.3	78	1,160
SP13-3-23	4.0	6.7	86	1,204
SP13-3-25	5.2	6.4	76	1,120
SP13-3-31	4.1	5.6	73	988
SP13-4-8	4.1	5.7	67	1,000
SP13-4-19	5.3	6.4	69	980
SP13-4-20	5.1	6.8	79	876
SP13-4-22	4.4	5.6	85	985
SP13-4-27	5.2	7.3	83	1,000
SP13-5-6	5.3	6.4	78	1,124
SP13-5-22	6.2	6.4	70	980
SP13-5-25	5.2	6.8	78	1,100
SP13-5-43	6.1	6.8	87	1,210
SP13-5-50	5.7	7.2	83	1,100

การทดลองที่ 2 การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเพื่อสร้างพริกหวานสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์

ในปี พ.ศ. 2563 ได้ผสมพันธุ์พริกหวาน 7 พันธุ์ ได้แก่ California wonder Spider ทันเดอร์ โพลาริส1838 เวก้า1288 พริกหวานจิ๋วและ Giallo ผสมกับพริกหยวก พันธุ์ปากคลอง มณีกาญจน์ และ มณีไทย ได้เมล็ดพันธุ์คู่ผสมชั่วที่ 1 จำนวน 13 คู่ผสม ประกอบด้วย 1.) California wonderXปากคลอง 2.) California wonder Xมณีกาญจน์ 3.) California wonderXมณีไทย 4.) ทันเดอร์Xปากคลอง 5.) ทันเดอร์Xมณีกาญจน์ 6.) ทันเดอร์Xมณีไทย 7.) SpiderXปากคลอง 8.) SpiderXมณีไทย 9.) พริกหวานจิ๋วXปากคลอง 10.) พริกหวานจิ๋วXมณีกาญจน์ 11.) พริกหวานจิ๋วXมณีไทย 12.) โพลาริส1838Xปากคลอง 13.) GialloxปากคลองX

ทำการสร้างพริกหวานสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์ตามขั้นตอนในแผนผังดังภาพที่ 3 โดยศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะสัณฐานของดอกพริกกับระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์แล้วนำดอกพริกที่มีไมโคร สปอร์ในระยะที่เหมาะสมไปเพาะเลี้ยง เมื่อได้ต้นพริกจากการเพาะเลี้ยงทำการตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซม ต้นพริกที่มีโครโมโซมชุดเดียวหรือต้นแฮพลอยด์ทำการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมโดยใช้สารโคลชิซิน ต้นพริกที่มีโครโมโซมสองชุดหรือต้นดิพลอยด์ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรนั้นอาจพบได้ โดยเกิดจากการพัฒนาของผนังอับละอองเกสรซึ่งมีพันธุกรรมเช่นเดียวกับต้นพริกที่ให้อับละอองเกสร หรืออาจเกิดการพัฒนาขึ้นจากเซลล์สืบพันธุ์ที่มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมขึ้นเองในสภาพเพาะเลี้ยง (spontaneous chromosome doubling) จะทำการตรวจสอบโดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 3 แผนผังแสดงการสร้างพริ

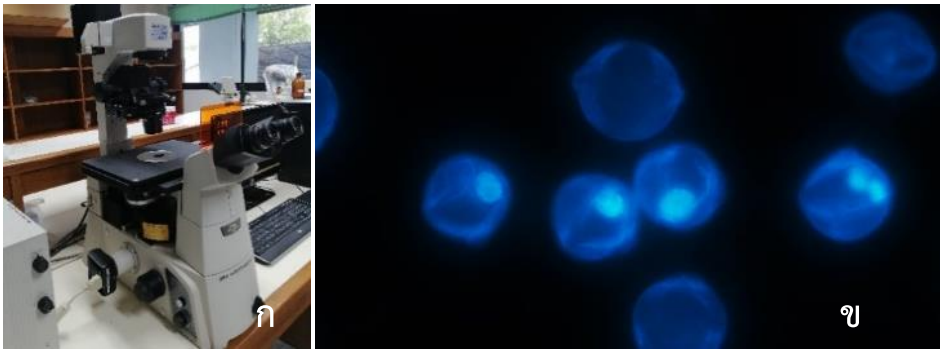
1. ศึกษาวิธีการในการสร้างพริกสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์โดยการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร

ในการสร้างสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์ ประกอบด้วยหลาย ๆ ขั้นตอน ซึ่งวิธีการจากรายงานที่เคยศึกษามาก่อนนั้นอาจยังไม่เหมาะสมเนื่องจากพันธุกรรมของพริกหรือสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ดังนั้นในระหว่างการผสมพริกพ่อแม่พันธุ์เพื่อสร้างพริกลูกผสมชั่วที่ 1 จึงได้ศึกษาสภาวะและวิธีการที่เหมาะสมในการสร้างพริกสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์โดยใช้พริกหยวกพันธุ์ปากคลอง เพื่อจะได้ใช้วิธีการดังกล่าวในการสร้างพริกหวานสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์ต่อไป

1.1 ศึกษาระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์

ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของลักษณะสัณฐานของดอกพริกกับระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์ โดยนำดอกพริกดอกตูมในหลาย ๆ ขนาด หาระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์โดยการย้อมสีด้วย DAPI (4, 6-diamidino-2- phenylindole) แล้วตรวจสอบระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ เพื่อหาลักษณะของดอกพริกที่มีระยะของไมโครสปอร์ที่เหมาะสมคือระยะ late-uninucleate ซึ่งเป็นระยะที่แวคิวโอลขยายขนาดใหญ่เกือบเต็มทั้งเซลล์ นิวเคลียสจะเคลื่อนจนกระทั่งติดกับผนังเซลล์และเตรียมแบ่งตัวแบบไมโทซิสครั้งที่ 1 ทำการบดอับละอองเกสรในสารละลาย DAPI ความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วคีบเศษอับละอองเกสรออก บ่มสไลด์ในที่มืด 10 นาทีแล้วตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ ณ ฝ่ายปฏิบัติการ งานกล้องจุลทรรศและเครื่องถ่ายภาพ สถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์มหาวิทยาลัยแม่โจ้ (ภาพที่ 4) พบว่าไมโครสปอร์มีรูปร่างกลม นิวเคลียสภายในติดสีเรืองแสงชัดเจน โดยไมโครสปอร์ที่อยู่ในระยะ late-uniucleate ตำแหน่งของนิวเคลียสจะติดกับผนังเซลล์ ส่วนไมโครสปอร์ที่ผ่านการแบ่งตัวแบบไมโทซิสครั้งที่ 1 แล้ว จะมี 2 นิวเคลียส หรือเรียกว่าระยะ binucleate

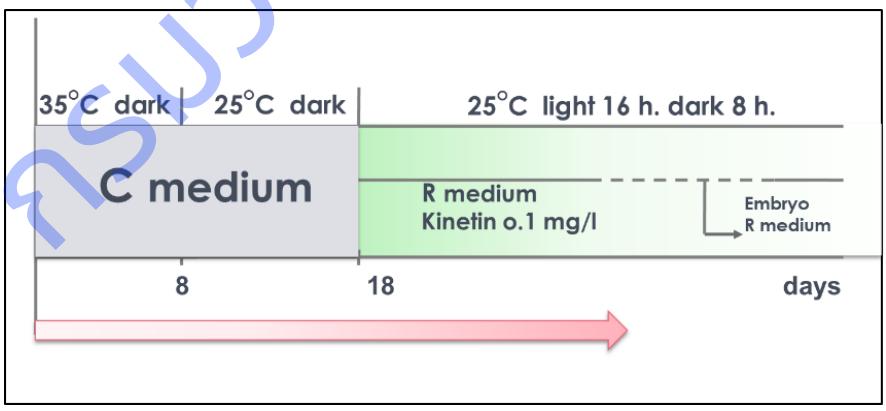
กรมวิชาการเกษตร



ภาพที่ 4 ก) กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ ณ ฝ่ายปฏิบัติการ งานกล้องจุลทรรศและเครื่องถ่ายภาพ สถาบันบริการตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ข) ไมโครสปอร์ระยะ late-unnucleate ของพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ย้อมสี DAPI ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์ กำลังขยาย 400 เท่า

1.2 การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริก

จากรายงานของ Dumas de Vaulx และคณะ (1981) ประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกผลใหญ่หลายพันธุ์โดยสามารถชักนำให้เกิดต้นได้ 5-40 ต้นต่อ 100 อับละอองเกสร โดยรายงานว่าการใช้อุณหภูมิสูงในการ pretreatment สามารถกระตุ้นการเกิดเอ็มบริโอได้ดีโดยเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน หรือ 8 วัน พบว่าการใช้อุณหภูมิสูงเป็นเวลา 8 วัน ส่งเสริมการเกิดเอ็มบริโอได้ดีกว่า 2 วัน ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกตามวิธีของ Dumas de Vaulx *et al*., 1981 แสดงดังภาพที่ 5 เมื่อฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวแล้วแยกอับละอองเกสรออกจากดอกแล้ววางบนอาหารสูตร C (Dumas de Vaulx *et al*., 1981) ซึ่งมี 2,4-D ร่วมกับไคเนติน เพาะเลี้ยงในที่มืดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน (Dumas de Vaulx *et al*., 1981) จากนั้นเพาะเลี้ยงที่มืด 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน แล้วย้ายอับละอองเกสรลงบนอาหารสูตร R (Dumas de Vaulx *et al*., 1981) ที่มีไคเนติน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่มีแสงประมาณ 25-30 μmol/m^2.s 16 ชั่วโมง มืด 8 ชั่วโมง เมื่อพบเอ็มบริโอเกิดขึ้นย้ายเอ็มบริโอลงบนอาหารสูตร R ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตเพื่อให้พัฒนาเป็นต้นพริกที่สมบูรณ์



ภาพที่ 5 แสดงขั้นตอนการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกตามวิธีของ Dumas de Vaulx *et al*., 1981

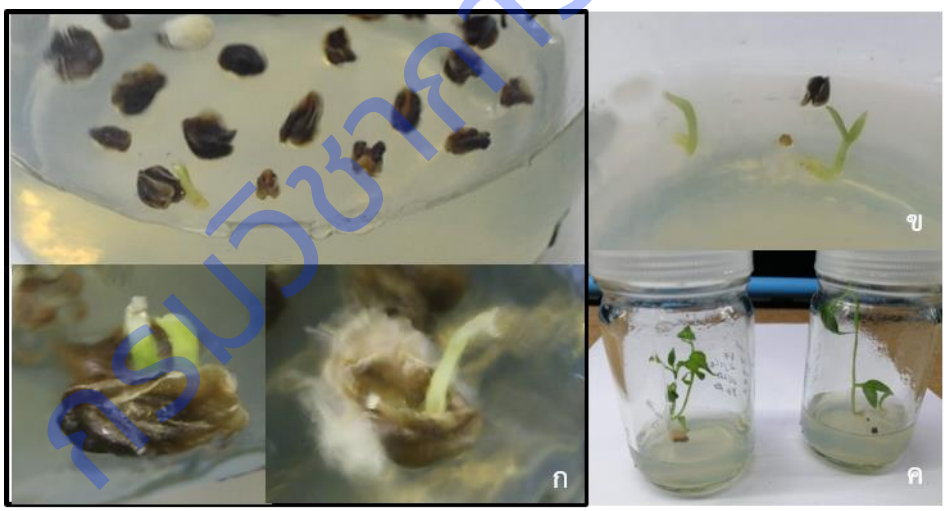
ได้ศึกษาสภาวะในการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริก โดยใช้พริกหยวกพันธุ์ปากคลอง เพาะเลี้ยงอับละอองเกสรในอาหารสูตร C ที่เติม 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 หรือ 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไคเนติน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในที่มืดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 4 6 หรือ 8 วัน ผลการศึกษาพบว่าการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในอาหาร C ที่มี 2,4-D ทั้งสองระดับความเข้มข้น เป็นเวลา 8 วัน มีจำนวนต้นพริกที่เกิดขึ้นน้อยลง โดยเกิดต้นสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร C 2,4-D

กรมวิชาการเกษตร

ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในที่มืดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 6 วัน จำนวนต้น ต่อ100 อับละอองเกสร สูงสุดเท่ากับ 5.8 (ตารางที่ 9) ดังนั้นจะใช้สูตรอาหารและสภาวะดังกล่าวในการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพริกหวานกับพริกหยวก

ตารางที่ 9 แสดงการพัฒนาเป็นต้นบนอาหารสูตร R จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกพันธุ์ปากคลองเมื่อชักนำให้ไมโครสปอร์พัฒนาเป็นเอ็มบริโอบนอาหารสูตร C ที่มีไคเนติน 0.1 มก./ล.ร่วมกับ 2,4-D 0.1 หรือ 0.3 มก./ล. โดยเพาะเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส 4 6 และ 8 วัน

ทรีทเมนต์	จำนวนวัน	จำนวนอับละอองเกสร	จำนวนเอ็มบริโอที่เกิดขึ้น	จำนวนต้นพริกที่พัฒนา	จำนวนต้นต่อจำนวนอับละอองเกสร 100 ชิ้น
2,4-D 0.1 มก./ล. + Kinetin 0.1 มก./ล.	4	207	32	7	3.4
2,4-D 0.1 มก./ล. + Kinetin 0.1 มก./ล.	6	226	34	13	5.8
2,4-D 0.1 มก./ล. + Kinetin 0.1 มก./ล.	8	216	13	4	1.9
2,4-D 0.3 มก./ล. + Kinetin 0.1 มก./ล.	4	214	22	11	5.1
2,4-D 0.3 มก./ล. + Kinetin 0.1 มก./ล.	6	207	11	3	1.4
2,4-D 0.3 มก./ล. + Kinetin 0.1 มก./ล.	8	200	10	2	1.0
		1,270	122	40	3.1



ภาพที่ 6 แสดงการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกหยวกพันธุ์ ‘ปากคลอง’

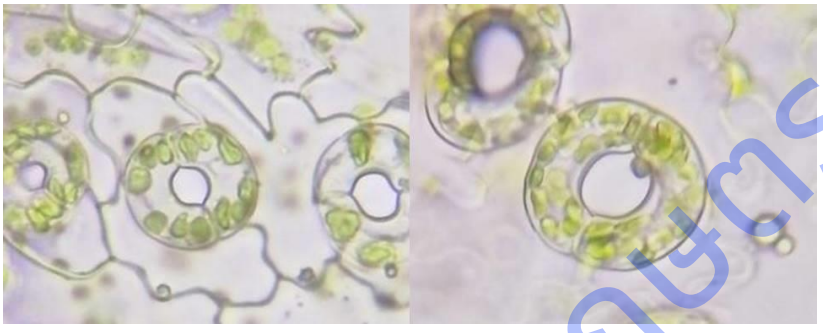
ก การเกิดเอ็มบริโอลักษณะเป็นเส้นสีขาวหรือสีเขียว หลังการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเป็นเวลา 60 วัน
ข เอ็มบริโอพริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร บนอาหาร R ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 10 วัน
ค ต้นพริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร พริกหยวกพันธุ์ ‘ปากคลอง’

กรมวิชาการเกษตร

1.3 การตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซม

จากรายงานของ Arjunappa H.M. และคณะ (2015) ได้ศึกษาวิธีตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซมพริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร โดยศึกษา 3 วิธี คือ การนับจำนวนโครโมโซม การนับจำนวนคลอโรพลาสต์และการใช้เครื่องโฟลไซโตมิเตอร์ ผลการทดลองพบว่าทุกวิธีสามารถใช้ตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซมได้ การนับจำนวนโครโมโซมและการนับจำนวนคลอโรพลาสต์มีข้อดีกว่าการใช้โฟลไซโตมิเตอร์คือมีค่าใช้จ่ายที่น้อยกว่า ข้อมูลจากการศึกษาการนับจำนวนชุดโครโมโซมและจำนวนคลอโรพลาสต์พบว่าแฮพลอยด์มีจำนวน โครโมโซม 12 แท่ง มีจำนวนคลอโรโพลาสต์ในเซลล์คุม (guard cell) 8-10 คลอโรพลาสต์ ต้นดับเบิลแฮพลอยด์มีโครโมโซม 24 แท่ง มีคลอโรพลาสต์ 16-20 คลอโรพลาสต์ (ภาพที่ 7)

ได้นำต้นพริกจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกหยวกพันธุ์ปากคลอง ตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซมด้วยการนับจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม พบว่าต้นพริกที่เป็นดิพลอยด์จำนวน 22 ต้น และแฮพลอยด์ 18 ต้น



ภาพที่ 7 แสดงจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม ก ต้นพริกแฮพลอยด์ ข ต้นพริกดิพลอยด์

1.4 เพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม

จากรายงานของ Gemesne, J. A. และคณะ (2001) รายงานวิธีการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมพริกแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร โดยย้ายการต้นพริกแฮพลอยด์ลงในอาหารสูตร R ที่มีโคลชิซินความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 วัน แล้วย้ายปลูก พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมพริกแฮพลอยด์เป็นดับเบิลแฮพลอยด์ได้ 50-95 เปอร์เซ็นต์ จึงได้นำต้นพริกแฮพลอยด์จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกปากคลอง จำนวน 18 ต้น ดำเนินการตามวิธีการดังกล่าว เมื่อย้ายปลูกพบว่าต้นพริกบางส่วนตาย บางส่วนรอดชีวิตแต่เจริญเติบโตช้าอาจจะเกิดจากความเป็นพิษจากสารเคมี บางส่วนมีลักษณะต้นสมบูรณ์ แผ่นใบใหญ่ มีละอองเกสรมากซึ่งเป็นลักษณะของต้นดิพลอยด์ ส่วนต้นแฮพลอยด์จะมีใบเรียว ปล้องถี่ ดอกเรียวเล็ก

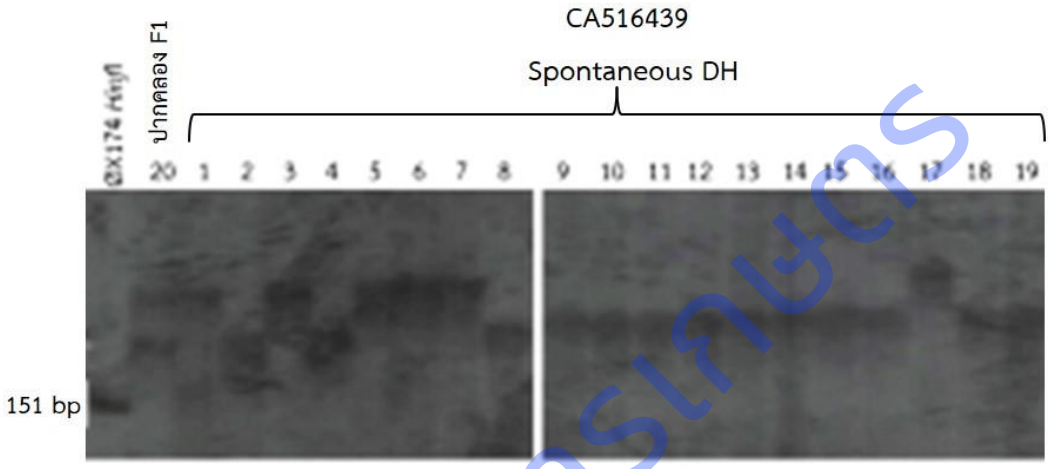
1.5 ตรวจสอบ spontaneous double haploid โดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมาย

ต้นพริกดิพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลียงอับละอองเกสรจะต้องมีการตรวจสอบเซลล์ที่พัฒนาเป็นต้นพริกโดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายเนื่องจากต้นดิพลอยด์ที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรนั้นอาจเกิดจากการพัฒนาของผนังอับละอองเกสรซึ่งมีพันธุกรรมเช่นเดียวกับต้นพริกที่ให้อับละอองเกสร หรืออาจเกิดการพัฒนาขึ้นจากเซลล์สืบพันธุ์ที่มีการเพิ่มจำนวนโครโมโซมขึ้นเองในสภาพเพาะเลี้ยง (spontaneous chromosome doubling) ส่งผลให้ต้นดิพลอยด์ที่เกิดขึ้นเป็นสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ในงานปรับปรุงพันธุ์ ดังนั้นจึงต้องนำต้นดิพลอยด์ที่ได้มาตรวจสอบด้วยดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์

การใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์สามารถแยกต้นดิพลอยด์ที่เกิดจากการพัฒนาของเซลล์ร่างกายของอับละอองเกสรหรือจากเอ็มบริโอพัฒนามาจากเซลล์สืบพันธุ์ที่เพิ่มจำนวนโครโมโซมขึ้นเองในสภาพเพาะเลี้ยง (spontaneous chromosome doubling) ได้ โดยการเปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอของต้น ดิพลอยด์ที่ได้กับแถบดีเอ็นเอของต้นที่ให้อับละออง

กรมวิชาการเกษตร

เกสร โดยต้นดิพลอยด์ที่เกิดจากการพัฒนาจากเซลล์ร่างกายของอับละอองเกสรได้มาจากการรวมของเซลล์สืบพันธุ์ของแม่และพ่อ ดังนั้นควรมีแถบดีเอ็นเอของทั้งแม่และพ่อ ส่วนต้นพริกที่พัฒนาจากเซลล์สืบพันธุ์ที่เพิ่มจำนวนโครโมโซมขึ้นเองในสภาพเพาะเลี้ยงนั้นจะมีแถบดีเอ็นเอเป็นแถบเดียวซึ่งอาจจะเป็นแถบใดเพียงแถบหนึ่งก็ได้ ดังนั้นได้นำต้นพริกส่งวิเคราะห์ต่อไป ณ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพพืช ศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จากผลการตรวจสอบพบว่าแถบดีเอ็นเอของพริกพันธุ์ปากคลองซึ่งเป็นลูกผสมชั่วที่ 1 (ตัวอย่างที่ 20) พบแถบดีเอ็นเอสองแถบ ตำแหน่งที่ 170 และ 160 คู่เบส ตามลำดับ ส่วนต้นพริกที่พัฒนาจากเซลล์สืบพันธุ์ที่เพิ่มจำนวนโครมโมโซมขึ้นเองในสภาพเพาะเลี้ยงนั้นจะมีแถบดีเอ็นเอเป็นแถบเดียวซึ่งอาจจะเป็นแถบใดแถบหนึ่งก็ได้ จากการทดสอบต้นพริกดิพลอยด์จำนวน 19 ต้น (ตัวอย่างที่ 1 ถึง 19) ไม่พบต้นพริกที่พัฒนามาจากเซลล์ร่างกายของอับละอองเกสร แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการเพาะเลี้ยงนี้สามารถจะชักนำการพัฒนาเอ็มบริโอจากละอองเกสรเท่านั้น



ภาพที่ 8 การตรวจสอบที่มาของเซลล์ที่พัฒนาเป็นต้นดิพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรโดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดไมโครแซลเทลไลท์ CA516439

ตารางที่ 10 สรุปขั้นตอนและวิธีการสร้างพริกสารพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์

ขั้นตอน	**วิธีการ**
ศึกษาระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์	ย้อมสีด้วย DAPI แล้วตรวจสอบระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนต์
เพาะเลี้ยงอับละอองเกสรอาหารและสภาวะในเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร	อาหารสูตร C ที่เติม 2,4-D 0.1 มก./ล. ร่วมกับ Kinetin 0.1 มก./ล. ที่มืด 35 องศาเซลเซียส 6 วัน
ตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซม	การนับจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม (guard cell)
เพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม	อาหารสูตร R ที่มีโคลชิซินความเข้มข้น 0.04 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 6 วัน
ตรวจสอบ spontaneous double haploid โดยใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมาย	ใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์

กรมวิชาการเกษตร

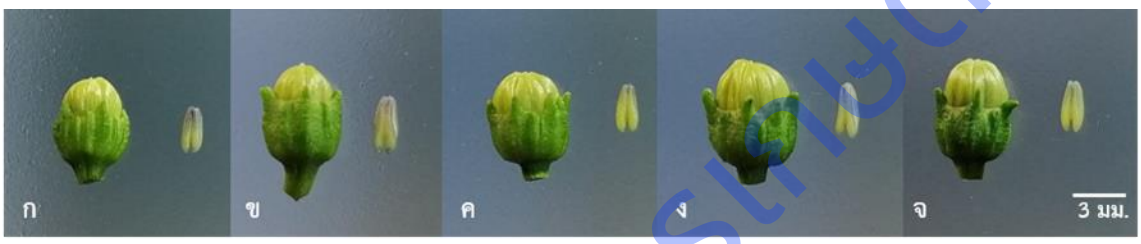
2. การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกลูกผสมชั่วที่ 1

ทำการสร้างสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์จากพริก จำนวน 13 คู่ผสม ประกอบด้วย 1.) California wonderXปากคลอง 2.) California wonder Xมณีกาญจน์ 3.) California wonderXมณีไทย 4.) ทันเดอร์Xปากคลอง 5.) ทันเดอร์Xมณีกาญจน์ 6.) ทันเดอร์Xมณีไทย 7.) SpiderXปากคลอง 8.) SpiderXมณีไทย 9.) พริกหวานจิ๋วXปากคลอง 10.) พริกหวานจิ๋วXมณีกาญจน์ 11.) พริกหวานจิ๋วXมณีไทย 12.) โพลาริส1838Xปากคลอง 13.) Giallox ปากคลอง

2.1 ศึกษาระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์

ผลการศึกษาพบว่าลักษณะสัณฐานของดอกพริกที่มีไมโครสปอร์อยู่ในระยะ late unnucleate ในพริกแต่ละคู่ผสมมีลักษณะแตกต่างกัน ดังภาพที่ 9 พริกลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่าง พริกหวานจิ๋วXปากคลอง 'โพลาริส1838'X 'ปากคลอง' และ 'Giallo'x'ปากคลอง' ลักษณะของดอกพริกจะมีกลีบดอกที่พ้นกลีบเลี้ยงขนาดใกล้เคียงกับขนาดของกลีบเลี้ยงและอับละอองเกสรมีสีม่วงประมาณสามส่วนสี่ ส่วนลักษณะของพริกคู่ผสม'แคลิฟอร์เนีย'X'ปากคลอง' และ 'ทันเดอร์'X'ปากคลอง' กลีบดอกยาวพ้นกลีบเลี้ยงเล็กน้อยและอับละอองเกสรสีม่วงประมาณหนึ่งส่วนสอง

ภาพที่ 9 แสดงลักษณะสัณฐานดอกพริกแต่ละคู่ผสม ที่มีไมโครสปอร์อยู่ ในระยะ late-unnucleate



ก พริกหวานจิ๋วX'ปากคลอง' ข 'แคลิฟอร์เนีย'X'ปากคลอง'

ค 'ทันเดอร์'X'ปากคลอง' ง 'โพลาริส1838'X'ปากคลอง'

จ 'Giallo'x'ปากคลอง'

2.2 การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร

ได้เริ่มเพาะเลี้ยงอับละอองพริกลูกผสมชั่วที่ 1 นำดอกพริกที่มีไมโครสปอร์อยู่ในระยะ late-uninucleate ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวแยกอับละอองเกสรออกจากดอกแล้ววางบนอาหารสูตร C (Dumas de Vaulx et al., 1981) ซึ่งมี 2,4-D ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไคเนติน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยวางอับละอองเกสรขวดละ 15 อับละอองเกสร เพาะเลี้ยงในที่มืดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน จากนั้นเพาะเลี้ยงที่มืด 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน แล้วย้ายอับละอองเกสรลงบนอาหารสูตร R (Dumas de Vaulx *et al.*, 1981) ที่มีไคเนติน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่มีแสงประมาณ 25-30 μmol/m^2.s 16 ชั่วโมง มืด 8 ชั่วโมง เมื่อพบเอ็มบริโอเกิดขึ้นย้ายเอ็มบริโอลงบนอาหารสูตร R ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ประมาณ 40 วัน พบว่าพริกหวานแต่ละคู่ผสมมีการตอบสนองต่อสภาวะในการเพาะเลี้ยงแตกต่างกัน เช่น คู่ผสม California wonderXปากคลอง เกิดแคลลัสจำนวนมาก คู่ผสมพริกหวานจิ๋วXมณีไทย ไม่มีแคลลัสเกิดขึ้นเลยพบเพียงเอ็มบริโอเป็นลักษณะเส้นสีขาวเล็ก ๆ แทงออกจากอับละอองเกสร (ภาพที่ 10) ผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Parra-Vega Vero´nica และคณะ (2013) ที่ได้เพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริก 4 พันธุ์ โดยใช้วิธีการของ Dumas de Vaulx et al. (1981) เช่นเดียวกัน พบว่าพริกแต่ละพันธุ์มีการตอบสนองต่อสภาวะการเพาะเลี้ยงในการพัฒนาเป็นแคลลัสหรือการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอที่แตกต่างกันและได้รายงานว่าการเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกนั้นแคลลัสจะเจริญมาจากผนังของอับละอองเกสร และมักจะไม่พัฒนาเป็นต้น ส่วนเอ็มบริโอที่เกิดขึ้นเกิดจากการพัฒนาของไมโครสปอร์ และเมื่อพัฒนาเป็นต้นต้นดิพลอยด์ที่ได้จะเป็น spontaneous double haploid จากผลการเพาะเลี้ยงพบว่า

กรมวิชาการเกษตร

คู่ผสมระหว่างพริกหวานจิ๋วxมณีไทย สามารถชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุดคือร้อยละ 2.5 อย่างไรก็ตามร้อยละการพัฒนาเป็นต้นพริกจากการเพาะเลี้ยงยังเกิดจำนวนต่ำมาก อาจเนื่องจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของต้นพริกที่ให้อับละอองเกสรเพราะอากาศหนาวจัดในฤดูหนาว หรืออาจเกิดจากการที่ต้นที่ให้อับละอองเกสรนั้นเกิดจากการผสมระหว่างพ่อแม่ที่เป็นพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ต้นพริกลูกผสมแต่ละต้นมีพันธุกรรมแตกต่างกันการนำมาเพาะเลี้ยงจึงทำให้เกิดการตอบสนองเกิดขึ้นไม่สม่ำเสมอ

ภาพที่ 10 ลักษณะการเกิดแคลลัสและเอ็มบริโอจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกหวาน

ก อับละอองเกสรที่เกิดแคลลัส

ข อับละอองเกสรที่เกิดราก

ค และ ง ลักษณะการเกิดเอ็มบริโอหลังเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกเป็นเวลา 40 วัน

ตารางที่ 11 แสดงการพัฒนาเป็นต้นบนอาหารสูตร R จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกลูกผสมชั่วที่ 1 เมื่อชักนำให้ไมโครสปอร์พัฒนาเป็นเอ็มบริโอบนอาหารสูตร C ที่มีไคเนติน 0.1 มก./ล.ร่วมกับ 2,4-D 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเพาะเลี้ยงในที่มืด อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน

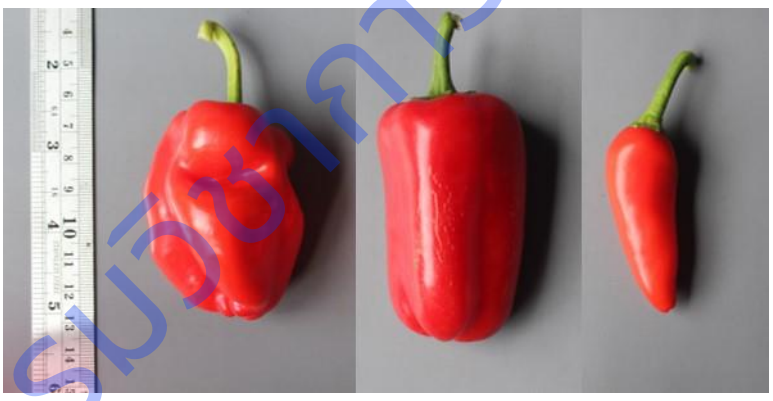
คู่ผสมพริกที่เพาะเลี้ยงอับละอองเกสร	จำนวนอับละอองเกสร	จำนวนเอ็มบริโอที่เกิดขึ้น	จำนวนต้นพริกที่พัฒนา	จำนวนต้นต่อจำนวนอับละอองเกสร 100 ชิ้น
พริกหวานจิ๋วXปากคลอง	1,154	14	3	0.26
พริกหวานจิ๋วXมณีไทย	400	14	10	2.50
California wonderXปากคลอง	498	14	2	0.40
California wonderXมณีกาญจน์	140	3	1	0.71
California wonderXมณีไทย	454	14	9	1.98
ทันเดอร์Xปากคลอง	346	6	3	0.87
ทันเดอร์Xมณีไทย	470	21	10	2.13
โพลาริส1838Xปากคลอง	186	2	0	0.00
Giallox ปากคลอง	648	11	2	0.31
SpiderXปากคลอง	390	21	3	0.77
SpiderXมณีไทย	237	9	2	0.84
รวม	**4,923**	**129**	**45**	**0.91**

กรมวิชาการเกษตร

จากนั้นนำต้นพริกที่ได้ตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซมได้ต้นพริกแฮพลอยด์ 23 ต้น พริกดิพลอยด์ 21 ต้น พริกในแต่ละคู่ผสมมีร้อยละการเกิด spontaneous double haploid แตกต่างกัน (ตารางที่ 12) นำต้นพริกดิพลอยด์ย้ายปลูกเพื่อเก็บเมล็ดพันธุ์ ภาพลักษณะผลพริกแสดง ดังภาพที่ 11

ตารางที่ 12 แสดงผลการตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซมต้นพริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร

คู่ผสมพริกที่เพาะเลี้ยงอับละอองเกสร	**จำนวนต้นพริกที่พัฒนา**	**แฮพลอยด์**	**ดิพลอยด์**	**ร้อยละ spontaneous double haploid**
พริกหวานจิ๋วXปากคลอง	3	1	2	66.7
พริกหวานจิ๋วXมณีไทย	10	6	4	40.0
California wonderXปากคลอง	2	1	1	50.0
California wonderXมณีกาญจน์	1	1	0	0.0
California wonderXมณีไทย	9	5	4	44.4
ทันเดอร์Xปากคลอง	3	0	3	100.0
ทันเดอร์Xมณีไทย	10	4	5	50.0
โพลาริส1838Xปากคลอง	0	0	0	0
GialloxปากคลองX	2	1	1	50.0
SpiderXปากคลอง	3	2	1	33.3
SpiderXมณีไทย	2	2	0	0.0
รวม	45	23	21	46.7



ภาพที่ 11 ลักษณะผลพริกที่ได้จากต้นพริกดิพลอยด์จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร ก.จากคู่ผสมระหว่างพริกหวานจิ๋วXมณีไทย ข. ทันเดอร์xปากคลอง ค.พริกหวานจิ๋วXปากคลอง

กรมวิชาการเกษตร

3.2 ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง (Output)

ผลผลิตตามคำรับรอง	จำนวน	หน่วยนับ	ผลผลิตที่เกิดขึ้นจริง	จำนวน	หน่วยนับ	รายละเอียดผลผลิต (พร้อมแนบหลักฐาน)	เชิงคุณภาพ
1. องค์ความรู้	1	เรื่อง	**1. องค์ความรู้**	2	เรื่อง	1. ข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์พริกหวานที่รวบรวมและประเมินเบื้องต้น 6 พันธุ์ (คู่ผสม) (ข้อมูลการผสมและข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์จากการประเมินเบื้องต้นของพริกหวานลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 9 คู่ผสม และพริกหวานลูกผสมชั่วที่ 2ที่คัดเลือกตามเกณฑ์ จำนวน 3 คู่ผสม) 2. วิธีการสร้างสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร	1.ได้ลูกผสมจำนวน 13 คู่ผสม ในการปลูกคัดเลือก ได้พริกหวานที่สามารถเจริญเติบโต ให้ผลผลิตได้ดีในช่วงฤดูร้อน และมีลักษณะรูปทรงเหมือนพริกหวานขณะนี้ ได้พริกหวานที่คัดเลือกไว้ 75 สายพันธุ์เพื่อปลูกคัดเลือกในชั่วที่ 4 ต่อไป 2.เทคนิคการสร้างสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรได้สูตรอาหารและสภาวะที่เหมาะสมคือชักนำให้เกิดเอ็มโอในอาหารสูตร C ที่เติม 2,4-D 0.1 มก./ล. ร่วมกับ Kinetin 0.1 มก./ล. ที่มืด 35 องศาเซลเซียส 6 วัน
2. การประชุมเผยแพร่ผลงาน /สัมมนาระดับชาติ(นำเสนอแบบโปสเตอร์)	2	เรื่อง	-	-	-	เนื่องจากโครงการนี้เป็นงานปรับปรุงพันธุ์พริกหวานทนร้อนระยะที่ 1 ที่ต้องทำต่อเนื่องในระยะที่ 2 ในปี 2565-2568 จึงคาดว่าจะสามารถเผยแพร่ผลงานแบบโปสเตอร์ได้ในปี 2569	

กรมวิชาการเกษตร

3.3 ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง (Outcome) (ถ้ามี)

ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลลัพธ์
เกษตรกรมีพันธุ์เพิ่มขึ้นอย่างน้อย 1 พันธุ์และมีจำนวนแปลงปลูกพริกหวานพันธุ์ดีเพิ่มขึ้น	2567

3.4 ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง (Impact) (ถ้ามี)

ผลกระทบที่เกิดขึ้นจริง	ปีที่เกิดผลกระทบ
ด้านเศรษฐกิจ : -	
ด้านสังคม : -	
ด้านสิ่งแวดล้อม : -	

* ผลกระทบ : ผลประโยชน์ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงตามผลลัพธ์ (Results of the change) ซึ่งวัดได้อย่างชัดเจนและมีหลักฐานปรากฏชัด (Evidence-based) ทางด้านเศรษฐกิจ สังคม และสิ่งแวดล้อม ทั้งที่วัดในเชิงปริมาณได้และไม่ได้ ผลกระทบอาจเป็นได้ทั้งทางบวกและทางลบ

3.5 การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

วิธีการ/กระบวนการผลักดันงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ (โปรดแนบหลักฐานเชิงประจักษ์การนำผลงานไปใช้ประโยชน์)

.....

ด้านวิชาการ:

1. ปี 2565 นักวิชาการ/นักวิจัย สามารถนำองค์ความรู้ เรื่อง การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเพื่อสร้างพริกหวานดับเบิลแฮพลอยด์ไปพัฒนาต่อเพื่อลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์พริกให้ได้ลักษณะทางการเกษตรที่ดีต่อไป

2. ปี 2566-2568 คัดเลือกพริกหวานทนร้อนจนถึงชั่วรุ่นที่ 6 รวมทั้งคัดเลือกพริกหวานดับเบิลแฮพลอยด์สายพันธุ์ทนร้อน ผลผลิตสูง และปลูกเปรียบเทียบพันธุ์พริกหวานจากการคัดเลือกในแหล่งปลูกต่าง ๆ และเสนอขอรับรองพันธุ์พริกหวานทนร้อน

ด้านสังคมและชุมชน : ปี 2569 ทดสอบและขยายผลพันธุ์พริกหวานทนร้อน

กรมวิชาการเกษตร

ภาพที่ 12 เอกสารเผยแพร่ผลงานวิจัย เรื่อง การผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกหวาน และการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกเพื่อสร้างสายพันธุ์ดับเบิ้ลแฮพพลอยด์

กรมวิชาการเกษตร

บทที่ 4 สรุปผลและอภิปรายผล

สรุปผลและอภิปรายผล

1. จากการทดลองการผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกหวาน การสร้างประชาการสำหรับการคัดเลือก โดยผสมพันธุ์พริกหวาน จำนวน 7 พันธุ์กับพริกหยวก 3 พันธุ์ ได้ลูกผสมจำนวน 13 คู่ผสม ในการปลูกคัดเลือก ได้พริกหวานที่สามารถเจริญเติบโต ให้ผลผลิตได้ดีในช่วงฤดูร้อนและมีลักษณะรูปทรงเหมือนพริกหวาน ได้จำนวน 3 คู่ผสมๆละ 5 สายต้น มาปลูกเพื่อทำการคัดเลือกในรุ่น F2 จำนวน 15 สายต้นๆละ 50 ต้น ได้ทั้งสิ้น 750 ต้น แยกเก็บเมล็ดแต่ละต้นเป็นสายพันธุ์ ในการปลูกคัดเลือกรุ่นที่ 3 ดำเนินการที่เชียงราย ได้พริกหวานที่คัดเลือกไว้ 75 สายพันธุ์ เพื่อปลูกคัดเลือกในชั่วที่ 4 ต่อไป
2. ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรได้สูตรอาหารและสภาวะที่เหมาะสมคือชักนำให้เกิดเอ็มโอในอาหารสูตร C ที่เติม 2,4-D 0.1 มก./ล. ร่วมกับ Kinetin 0.1 มก./ล. ที่มืด 35 องศาเซลเซียส 6 วัน เมื่อได้ต้นพริกจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรตรวจสอบจำนวนชุดโครโมโซมด้วยการนับจำนวนคลอโรพลาสต์ในเซลล์คุม (guard cell) เพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมโดยใช้สารเคมีและตรวจสอบ spontaneous double haploid ใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมายชนิดไมโครแซทเทลไลท์
3. การสร้างสายพันธุ์ดับเบิลแฮพลอยด์โดยวิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเป็นวิธีการที่มีประโยชน์ต่อปรับปรุงพันธุ์ เนื่องจากเป็นการลดระยะเวลาในการสร้างพืชสายพันธุ์แท้ (double haploid) แต่อย่างไรก็ตามก็ต้องมีวิธีการเพาะเลี้ยงที่มีประสิทธิภาพเป็นอย่างมาก เพื่อจะให้ได้ต้นพริกมีจำนวนมากพอสำหรับคัดเลือกให้ได้ลักษณะตามต้องการ ดังนั้นการนำต้นลูกผสมที่ผ่านการคัดเลือกตามเกณฑ์มาแล้วอย่างน้อยชั่วหนึ่งมาทำการเพาะเลี้ยงก็อาจเป็นวิธีการหนึ่งที่จะทำให้เพิ่มโอกาสได้ต้นพริกสายพันธุ์แท้ที่มีลักษณะตามต้องการมากขึ้น

ข้อเสนอแนะต่อผู้เกี่ยวข้องสำหรับการดำเนินงานในระยะต่อไป

โครงการนี้เป็นงานที่ต้องมีการวิจัยอย่างต่อเนื่องเพื่อทำการคัดเลือกพันธุ์พริกหวานทนร้อนให้จนถึงชั่วรุ่นที่ 6 และยังต้องดำเนินการปลูกเปรียบเทียบพันธุ์พริกหวานจากการคัดเลือกในแหล่งปลูกต่าง ๆ และเสนอขอรับรองพันธุ์พริกหวานทนร้อนต่อไป

ปัญหาและอุปสรรคในการทำงาน

.....

.....

.....

.....

กรมวิชาการเกษตร

เอกสารอ้างอิง

สถานีวิทยุกระจายเสียงแห่งประเทศไทยจังหวัดพะเยา. (2560). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : www. thainews.prd.go.th. (วันที่ค้นข้อมูล : 18 เมษายน 2561).

Arjunappa H.M, Sateesh Kumar. P, Prema Latha. D. 2015. Studies on Ploidy analysis and chromosome doubling in Androgenic plants of Chilli pepper (*Capsicum annuum* L.) International Journal of Agriculture Innovations and Research Volume 4, Issue 4, ISSN (Online) 2319-1473

Dumas de Vaulx, R., D. Chambonnet and E. Pochard. 1981. Culture in vitro d'anthères de piment (*Capsicum annuum* L.): amé1ioration des taux d'obtention de plantes chez différents génotypes par des trgtitement à + 35°C. Agronomie 1: 859-864.

Gemesne, J. A., M. Petus, G. Venczel, L. Zatyko, G. Gyulai and M. Cseplo, 2001. Genetic variability of anther donor versus spontaneous double haploid descendants and colchicine induced double haploid sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) lines. Acta Horticulturae, 560: 149-152

Vero´nica Parra-Vega Begon˜a Renau-Morata • Alicia Sifres • Jose´ M. Segui´-Simarro 2013 Stress treatments and in vitro culture conditions influence microspore embryogenesis and growth of callus from anther walls of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) Plant Cell Tiss Organ Cult () 112:353–360

กรมวิชาการเกษตร

ภาคผนวก

ภาพภาคผนวก ก พริกหวานชั่วที่ 1

กรมวิชาการเกษตร

ภาพภาคผนวก ข พริกหวานชั่วที่ 1 ระหว่าง พริกหวานจิ๋ว x ปากคลอง 191

ภาพภาคผนวก ค พริกหวานชั่วที่ 1 ระหว่าง พริกหวานจิ๋ว x มณีกาญจน์

กรมวิชาการเกษตร

ภาพภาคผนวก ง พริกหวานชั่วที่ 1 ระหว่าง พริกหวานจิ๋ว x มณีไทย

ภาพภาคผนวก พริกหวานลูกผสมชั่วที่ 2 ก. พริกหวานจิ๋ว x ปากคลอง191
ข. พริกหวานจิ๋ว x มณีกาญจน์ ค. พริกหวานจิ๋ว x มณีไทย

กรมวิชาการเกษตร