

การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกลูกผสมกลับข้ามชนิด (*C. annuum* x *C. baccatum*) ที่มีความต้านทานโรคแอนแทรคโนส

Anther culture of peppers from inter-specific backcross (*C. annuum* x *C. baccatum*) carrying anthracnose resistance

อัญชลี รวีโรจน์วิบูลย์^{1,3*}, พรพนัช มีกุล^{2,3} และ จุลภาค ชุ่มวงศ์^{1,2,3}

Anchalee Raweerotwiboon^{1,3*}, Pornpanuch Meekul^{2,3} and Julapark Chunwongse^{1,2,3}

บทคัดย่อ: พริกบางช้าง (CA365) เป็นพริกพันธุ์การค้า (*Capsicum annuum*) ที่มีลักษณะอ่อนแอต่อโรคแอนแทรคโนส การปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสจึงจำเป็นต้องนำลักษณะความต้านทานโรคจากพริก *C. baccatum* มาถ่ายทอดลักษณะเข้าสู่พริก *C. annuum* การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกลูกผสมกลับข้ามชนิดระหว่างพริก CA365 (*C. annuum*) กับ พริกลูกผสมกลับ BC₂F₃ 365 x 80C₅(1) (*C. annuum* x *C. baccatum*) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นแฮพลอยด์และต้นดิพลอยด์ของพริกลูกผสมกลับข้ามชนิดของพริกคู่นี้ จากการศึกษาพบว่า สูตรอาหารชักนำ C medium ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4 -D ความเข้มข้น 0.01 มก./ล., kinetin ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 0.25 ก./ล. มีอัตราการเกิดต้นสูงสุดคือ 6.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอัตราการเกิดต้นจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรที่มาจากสายพันธุ์พ่อต่างต้นกัน พบว่ามีความแตกต่าง แสดงว่าพริกแต่ละจีโนไทป์มีการตอบสนองต่อการชักนำการเกิดต้นแตกต่างกัน

คำสำคัญ: ต้นดิพลอยด์, พริก, การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร, ความต้านทานโรคแอนแทรคโนส

ABSTRACT: Pepper ‘Bangchang or CA365’ (*Capsicum annuum*) is susceptible for anthracnose disease. Breeding for anthracnose disease resistance for *C. annuum*, resistance must be transferred from *C. baccatum*. Anther culture of the interspecific backcross pepper between CA365 (*C. annuum*) and BC₂F₃ 365 x 80C₅(1) (*C. annuum* x *C. baccatum*) were studied. The aim of the research was to find out the conditions for haploid or double haploid plants induction of interspecific backcross pepper between CA365 and BC₂F₃ 365 x 80C₅(1). The highest frequency of plantlet regeneration was found to be 6.67 % on an induction medium (C medium) supplemented with 0.01 mg/l 2,4-D, 0.1 mg/l kinetin and 0.25 g/l activated charcoal. Individual parents showed different rate of plant regeneration. Therefore, the donor plant genotype is critical for double haploid plant regeneration.

Keywords: doubled haploid, pepper, anther culther, anthracnose resistance

¹ คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

² ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand.

³ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนานวัตกรรมศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900, Thailand.

* Corresponding author: rdianr@ku.ac.th

บทนำ

พริก (*Capsicum* spp.) เป็นพืชผักที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง ชนิดที่นิยมปลูกทั่วโลกรวมทั้งในประเทศไทยคือ พริก *C. annuum* ซึ่งไม่มีลักษณะความต้านทานโรคแอนแทรกคโนส ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อโรคแอนแทรกคโนสจึงจำเป็นต้องนำลักษณะความต้านทานโรคจากพริกชนิดอื่นถ่ายทอดเข้าสู่พริก *C. annuum* ซึ่งพริกที่มีความต้านทานโรคแอนแทรกคโนสในระดับสูง (immune) คือ พริก *C. chinense* สายพันธุ์ PBC932 และพริก *C. baccatum* สายพันธุ์ PBC80 (AVRDC, 2003) การนำลักษณะความต้านทานโรคแอนแทรกคโนสเข้าสู่พริก *C. annuum* นั้นเกิดปัญหาการผสมไม่ติดของพริกข้ามชนิด (species) และต้องใช้วิธีการ embryo rescue เพื่อช่วยคัพเพาะให้รอดชีวิตเนื่องจากพันธุกรรมของพืชเข้ากันไม่ได้ (cross incompatibility) โรคแอนแทรกคโนส (anthracnose disease) มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สามารถเข้าทำลายเกือบทุกส่วนของพริกตั้งแต่ ต้นกล้า ลำต้น ใบ และ ผล อาการของโรคปรากฏชัดเจนที่ระยะผล โดยเฉพาะผลพริกที่แก่จัดหรือสุก ถ้าเข้าทำลายในระยะผลอ่อน เซลล์บริเวณที่เชื้อเข้าทำลายจะหยุดการเจริญเติบโต ส่วนรอบๆ จะเจริญไปตามปกติ (ศักดิ์, 2537) จึงเป็นปัญหาที่สำคัญของการผลิตพริกในประเทศไทย ทำให้เกิดความสูญเสียของผลผลิตทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยว สำหรับประเทศไทยมีรายงานว่าเชื้อชนิด *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* พบมากในเขตภาคตะวันตก ขณะที่เชื้อ *C. acutatum* พบมากในเขตภาคเหนือ และจากการศึกษาการตอบสนองของพริกจำนวน 9 สายพันธุ์รวมทั้งพริก *C. chinense* สายพันธุ์ PBC932 และพริก *C. baccatum* สายพันธุ์ PBC80 ต่อเชื้อ *C. capsici* จำนวน 11 ไอโซเลท พบว่า พริก *C. baccatum* มีความต้านทานโรคแอนแทรกคโนสมากกว่าพริก *C. chinense* (Montri et al., 2009) สอดคล้องกับพิชญภา (2552) ที่รายงานว่า พริก *C. baccatum* สายพันธุ์ PBC80 มีความต้านทานต่อเชื้อ *C. Capsici* และเชื้อ *C. acutatum* จำนวน 13 ไอโซเลท และมีความต้านทานโรคแอนแทรกคโนสที่มากกว่าพริก *C. chinense* สายพันธุ์

PBC932 และจากการศึกษาของเฉลิมศรี (2551) รายงานว่า พริก BC₂F₂ 365 x 80C₅(1) บางต้นมีความต้านทานทั้งเชื้อ *C. acutatum* และ *C. capsici*

การเพาะเลี้ยงอับละของเกสรพริกลูกผสมประสบความสำเร็จและมีรายงานครั้งแรก โดย Wang et al. (1973) และ George and Narayanaswamy (1973) ในพริก *C. annuum* ต่อมา Sibi et al. (1979) ได้มีการพัฒนาเทคนิคให้สามารถชักนำการเกิดต้นโดยไม่ผ่านแคลลัส และพัฒนาให้เกิดต้นจำนวนมากโดย Dumas de Vaulx et al. (1981) จากการดำเนินงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงอับละของเกสรของพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ของพริกคู่ผสมระหว่าง 'PEPAC25' กับ 'PEPAC4' (พริกจี๊ด กับพริกเผ็ด), พริกคู่ผสมระหว่าง '83-168' (ต้านทานไวรัส ChiVMV) กับ 'PEPAC25' (จุลภาคและคณะ, 2554) และ พริกคู่ผสมระหว่าง 'CA500' กับ 'CA2106' (ต้านทานไวรัส CMV) (อัญชลีและคณะ, 2554) และสามารถสร้างประชากรพริกดับเบิลแฮพลอยด์ได้สำเร็จ ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงอับละของเกสรที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นแฮพลอยด์และดับเบิลแฮพลอยด์ของพริกลูกผสมกลับข้ามชนิดระหว่างพริก 'CA365' (*C. annuum*) กับ พริกลูกผสมกลับ BC₂F₂ 365 x 80C₅(1) (*C. annuum* x *C. baccatum*)

วิธีการทดลอง

พริก 'CA365' หรือ 'พริกบางช้าง' (*C. annuum*) ได้รับความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์จากศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม และพริกลูกผสมกลับ BC₂F₃ 365 x 80C₅(1) (*C. annuum* x *C. baccatum*) ได้รับความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์จาก ผศ.ดร.เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ นำเมล็ดพันธุ์พริกทั้งสองสายพันธุ์มาผสมข้ามโดยใช้พริก 'CA365' เป็นต้นแม่ เพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์พริกลูกผสมกลับข้ามชนิดสำหรับเป็นแหล่งพันธุกรรมในการเพาะเลี้ยงอับละของเกสร ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขต

ร่อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ทำการเพาะเมล็ดพันธุ์พริกลูกผสมกลับข้ามชนิดและตรวจสอบความเป็นลูกผสมด้วยดีเอ็นเอเครื่องหมาย HpmE032 เพื่อคัดเลือกต้นพริกสำหรับเป็นแหล่งของอัลโลเอนของเกสรการเพาะเลี้ยง จากนั้นทำการศึกษาระยะการพัฒนามิโครสปอร์ที่เหมาะสม โดยการย้อมด้วยสี DAPI (4'-6-diamidino-2 phenylindole) และตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ การศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงอัลโลเอนของเกสรพริกดัดแปลงจากวิธีการของ Dumas de Vault และคณะ (1981) โดยศึกษาผลของอาหารชักนำ (induction medium) คือ อาหารเพาะเลี้ยงสูตร C medium ที่เติมสาร 2,4-D ความเข้มข้น 0.01, 0.1, 0.3 และ 0.5 มก./ล. ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. จำนวน 4 สูตร ไม่เติมผงถ่านกัมมันต์ (activated charcoal) และ จำนวน 4 สูตร เติมผงถ่านกัมมันต์อัตรา 0.25 ก./ล. รวมทั้งสิ้น 8 สูตร ในอาหารทุกสูตรใช้ saccharose 30 ก./ล. pH 5.8 รุ่ง 7 ก./ล. เมื่อสังเกตเห็นการพัฒนาของเอ็มบริโอในอัลโลเอนของเกสรจึงทำการย้ายเอ็มบริโอมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร R medium ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืชเพื่อการพัฒนาเป็นต้นอ่อนต่อไป บันทึกประสิทธิภาพการเกิดต้นจากจำนวนต้นทั้งหมดที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงอัลโลเอนของเกสรต่อจำนวนอัลโลเอนของเกสรทั้งหมดที่เพาะเลี้ยง และการตรวจสอบความเป็น

สายพันธุ์แท้ของต้นพริกที่ได้จากการเพาะเลี้ยงใช้ดีเอ็นเอเครื่องหมาย SSRs และจำนวนชุดโครโมโซมด้วยเครื่อง Flow cytometer รุ่น PARTEC PAII ดำเนินงานวิจัยระหว่างเดือนสิงหาคม 2555 - มกราคม 2557 ณ ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน และศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การศึกษาระยะการพัฒนามิโครสปอร์

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดดอกกับระยะการพัฒนาของมิโครสปอร์ พบว่า ระยะกลีบดอกยาวพ้นกลีบเลี้ยงประมาณ 1/2 ของความยาวดอก อัลโลเอนของเกสรมีสีม่วงอ่อนประมาณ 3/4 ของอัลโลเอนของเกสรและมีสีเขียวอ่อนประมาณ 1/4 ของอัลโลเอนของเกสร พบว่า มิโครสปอร์ส่วนมากอยู่ในระยะ Late-uninucleate และมีบางส่วนอยู่ในระยะ binucleate (Figure1; A, B) ซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงอัลโลเอนของเกสร โดย Kim และคณะ, (2004) รายงานว่าระยะการพัฒนามิโครสปอร์ของพริกที่เหมาะสมคือ ระยะ Late-uninucleate ดังนั้นจึงคัดเลือกดอกตูมของพริกในระยะนี้มาใช้ในการเพาะเลี้ยงอัลโลเอนของเกสร

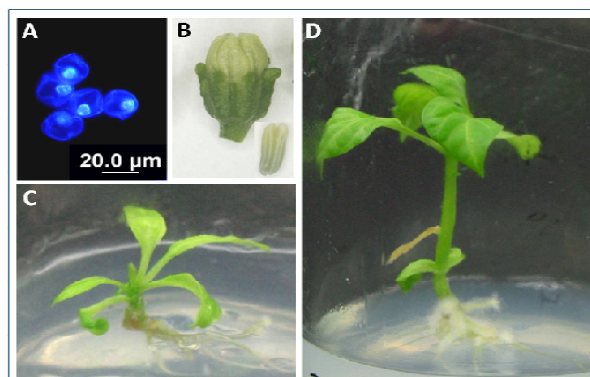


Figure 1 Anther culture in pepper between 'CA365' and 'BC₂F₂ 365 x 80C₅(1)' A. Microspore development at late uninucleate. B. Pepper bud at the optimal stage for anther culture. C. Seedling, 4 weeks after embryo germination. D. DH plant grown *in vitro*, with an apical shoot and root for transplanting.

Ercan et al., 2006 รายงานว่าถ้าต้นพริกมีอายุมากแต่เก็บดอกในระยะที่เหมาะสมก็จะยังคงประสิทธิภาพที่ดีของการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรได้ ขนาดและลักษณะภายนอกของดอกพริกใช้เป็นข้อบ่งชี้ทางอ้อมในการกำหนดระยะการพัฒนารูปของไมโครสปอร์ (Sibi et al., 1979) ความแตกต่างของสีม่วง (anthocyanin) ที่ปลายอับละอองเกสรไม่สามารถใช้ระบุระยะดอกที่เหมาะสมกับพริกทุกสายพันธุ์ได้ เนื่องจากพันธุกรรมของพริกแต่ละชนิดจะมีโครงสร้างของตาดอกที่แตกต่างกัน อีกทั้งระยะการพัฒนารูปของไมโครสปอร์จะแตกต่างกันระหว่างชนิด (species) และระหว่างสายพันธุ์ (varieties) ภายในชนิดเดียวกัน และที่สำคัญจะต้องเป็นระยะที่ไมโครสปอร์มีชีวิตอยู่รอดได้ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร (Irikova et al., 2011) ดังนั้น จึงมีความจำเป็นต้องศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างขนาดดอกกับระยะการพัฒนารูปของไมโครสปอร์ของพริกแต่ละสายพันธุ์

การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร

การเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกถูกผสมกลับข้ามชนิดระหว่างพริก 'CA365' (*C. annuum*) กับ พริกถูกผสมกลับ BC₂F₃ 365 x 80C₅ (1) (*C. annuum* x *C. baccatum*) โดยใช้อาหารชักนำซึ่งเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D, kinetin และผงถ่านกัมมันต์ ในระดับความเข้มข้นต่างๆ พบการเกิดเอ็มบริโอโดยไม่

ผ่านแคลลัสและพัฒนาเป็นต้นพืชได้โดยตรง (direct embryogenesis) (Figure1;C,D) จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรจำนวนทั้งสิ้น 797 อับละอองเกสร พบว่า สูตรอาหารซึ่งเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.01 มก./ล., kinetin ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ มีอัตราการเกิดต้นสูงสุดคือ 6.67 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือสูตรอาหารซึ่งเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4-D ความเข้มข้น 0.3 มก./ล., ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ และไม่ใส่ผงถ่านกัมมันต์ โดยมีอัตราการเกิดต้นเท่ากับ 2.56 และ 1.22 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Table 1) จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรบนอาหารทุกสูตรสามารถชักนำให้เกิดต้นรวม 5 ต้น ประกอบด้วยต้นแฮพลอยด์ 2 ต้น และดับเบิลแฮพลอยด์ 3 ต้น หรือมีสัดส่วนการเกิดต้นแฮพลอยด์ต่อต้นดับเบิลแฮพลอยด์ (H:DH) เท่ากับ 1: 1.5 และเมื่อพิจารณาอัตราการเกิดต้นจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรที่มาจากคู่ผสมซึ่งเกิดจากสายพันธุ์พ่อแม่ต้น (Table 2) พบว่าต้นที่ 5 มีการเกิดต้นสูงสุดเท่ากับ 2.75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งประกอบด้วยต้นแฮพลอยด์และดับเบิลแฮพลอยด์ในสัดส่วน 2:1 (H:DH) แต่ต้นที่ 3 และ 4 ไม่มีการเกิดต้น แสดงว่าพันธุกรรมของพริกแต่ละต้นมีอิทธิพลต่อการชักนำการเกิดต้น ของพริกคู่ผสมกลับข้ามชนิดระหว่างพริก CA365 x BC₂F₃ 365x80C₅ (1)

Table 1 Efficiency of induction medium for plant regeneration in anther culture of inter-specific pepper between 'CA365' and 'BC₂F₃365x80 C₅(1)

Induction medium	No. of cultured anthers	No. of regenerated plantlets			No. of plantlets per 100 cultured anther		
		H	DH	Total	H	DH	Total
C0.01	13	0	0	0	0.00	0.00	0.00
C0.01+AC	15	1	0	1	6.67	0.00	6.67
C0.1	153	0	0	0	0.00	0.00	0.00
C0.1+AC	47	0	0	0	0.00	0.00	0.00
C0.3	245	1	2	3	0.41	0.82	1.22
C0.3+AC	39	0	1	1	0.00	2.56	2.56
C0.5	183	0	0	0	0.00	0.00	0.00
C0.5+AC	102	0	0	0	0.00	0.00	0.00
	797	2	3	5	0.25	0.38	0.63

H - haploid; DH - double haploid; AC - activated charcoal; C - C medium supplement with 2,4-D concentration (mg/l)

Table 2 The effectiveness of individual parent from 'BC₂F₃365x80 C₅(1) plants in anther culture.

Plant no.	No. of cultured anthers	No. of plantlets		% of plantlets		Ratio
		H	DH	%H	%DH	
3	169	0	0	0.00	0.00	0
4	303	0	0	0.00	0.00	0
5	109	2	1	1.83	0.92	2:1
7	216	0	2	0.00	0.93	0:0.9
	797	2	3	0.25	0.38	1:1.5

H - haploid; DH - doubled haploid

พันธุกรรมของพืชมีผลต่อประสิทธิภาพการเกิดต้นจากละอองเกสร (androgenesis) จากการศึกษาที่ผ่านมา มีรายงานว่า พริกแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพการเกิดเอ็มบริโอและต้นที่แตกต่างกัน โดยพบว่าประสิทธิภาพการเกิดต้นดีที่สุด คือ พริกชนิด *C. annuum* พรพนซ์ และจุลภาค (2553) รายงานว่าการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพริก '83-168' และ 'PEPAC25' (*C. annuum*) มีประสิทธิภาพการเกิดต้นดีที่สุด 9.5 % สำหรับการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรของลูกผสมข้ามชนิด (inter-specific hybrid) ศึกษาโดย Nowaczyk et al. (2009) รายงานว่าพริกลูกผสมรุ่น F₂ ของ *C. frutescens* x *C. annuum* และ *C. frutescens* x *C. chinense* พบประสิทธิภาพการเกิดต้นเพียง 0.19 และ 0.49 % ตามลำดับ และจากการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรของพริกคู่ผสมละ 19 ต้น พบว่ามีพริก F₂ *C. frutescens* x *C. annuum* จำนวน 4 ต้น และ *C. frutescens* x *C. chinense* จำนวน 2 ต้น เท่านั้นที่สามารถชักนำการเกิดต้นได้ แสดงว่าพันธุกรรมของพริกแต่ละต้นมีผลต่อกระบวนการ androgenesis เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นว่าได้ว่าพริกลูกผสมกลับข้ามชนิดระหว่าง *C. annuum* กับ *C. baccatum* นั้น มีประสิทธิภาพการเกิดต้นบนอาหารที่เหมาะสมที่สุด 6.67 % และมีค่าเฉลี่ยของการเกิดต้นเท่ากับ 0.63 % จะเห็นได้ว่าการเกิดต้นของการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรของพริกลูกผสมข้ามชนิด (inter-specific hybrid) นั้น มีประสิทธิภาพค่อนข้างต่ำเช่นกัน อาจเป็นเพราะการเข้า

คู่ของโครโมโซมไม่ค่อยเสถียรจากความแตกต่างทางพันธุกรรม สิ่งที่น่าสนใจคือต้นพริกดับเบิลแฮพลอยด์ที่ออกปลูกลูกนั้นให้ผลพริกที่มีรูปทรงของผลตรง สีแดงสวย เช่นเดียวกับพริก CA365 แต่ทรงต้นแตกต่างกับ CA365 หากได้มีการพัฒนาเทคนิคการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรให้สามารถผลิตต้นพริกดับเบิลแฮพลอยด์ได้มากขึ้น ก็คาดว่าจะสามารถผลิตต้นพริกชี้ฟ้าสายพันธุ์แท้ที่มีความต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสได้หลายสายพันธุ์ สำหรับการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่าแหล่งพันธุกรรมของพริกส่งผลโดยตรงต่อการชักนำการเกิดต้นและจำเป็นต้องพัฒนาเทคนิคให้เหมาะสมกับคุณลักษณะที่จำเพาะของพืชก็จะช่วยเพิ่มความสามารถในการผลิตต้นดับเบิลแฮพลอยด์ได้มากขึ้น

สรุป

สามารถพัฒนาวิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรที่เหมาะสมต่อการผลิตต้นแฮพลอยด์และดับเบิลแฮพลอยด์ของพริกลูกผสมกลับข้ามชนิดของพริกลูกผสมกลับข้ามชนิดระหว่างพริก CA365 (*C. annuum*) กับพริกลูกผสมกลับ BC₂F₃ 365 x 80C₅(1) (*C. annuum* x *C. baccatum*) ได้สำเร็จ พบว่า สูตรอาหารชักนำ C medium ซึ่งเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต 2,4 -D ความเข้มข้น 0.01 มก./ล., kinetin ความเข้มข้น 0.1 มก./ล. ร่วมกับผงถ่านกัมมันต์ 0.25 ก./ล. มีแนวโน้มในการชักนำการเกิดต้นสูงสุด คือ 6.67 เปอร์เซ็นต์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนานวัตกรรมการศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษากระทรวงศึกษาธิการ ที่สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณ ผศ.ดร.เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ.เชียงใหม่ และ ดร.สิริกุล วะสี ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม ที่ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์พริกเพื่อการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- จุลภาค คูนวงศ์, อัญชลี วโรจนวิบูลย์, และอรอุบล ชมเดช. 2554. โปรแกรมการวิจัยด้านการพัฒนาดีเอ็นเอเครื่องหมายเพื่อการปรับปรุงพันธุ์พืช Phase II. รายงานการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรม ฉบับสมบูรณ์ ประจำปี 2554. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
- เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี. 2551. การศึกษาความสามารถในการผสมและการต้านทานโรคแอนแทรคโนสของลูกผสมพริกข้ามชนิด. รายงานการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรม ฉบับสมบูรณ์ ประจำปี 2551. สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
- พิชญภา มหาสุข. 2552. การศึกษาพันธุกรรมความต้านทานโรคแอนแทรคโนสในพริก *Capsicum baccatum* 'PBC80'. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- พรพนัช มีกุล, และจุลภาค คูนวงศ์. 2553. การสร้างและตรวจสอบสายพันธุ์แท้ของพริกลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพริกพันธุ์ '83-168' และ 'PEPAC25' โดยการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสร. ว.วิทย.เกษตร. 41(2):203-212.
- ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2537. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ
- อัญชลี วโรจนวิบูลย์, พรพนัช มีกุล, และจุลภาค คูนวงศ์. 2554. การผลิตต้นแฮพลอยด์และดิวเปิลแฮพลอยด์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรของพริกลูกผสมชั่วที่ 1 (CA500 x CA2106). น. 130. ใน: กำหนดการและบทคัดย่อการประชุมวิชาการพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ 10. 18-20 พฤษภาคม 2554. คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- AVRDC. 2003. AVRDC Progress Report. Development of anthracnose-resistant lines. Thinan, Taiwan. 52-57.
- Dumas de Vaulx, R., D. Chambonnet, and E. Pochard. 1981. Culture *in vitro* d'anthers de piment (*Capsicum annuum* L.): amélioration des taux d'obtention de plantes chez différents géotypes par des trgtitement à + 35°C. Agronomie 1:859-864.
- Ercan, N., F.A. Sensoy, and A.S. Sensoy. 2006. Influence of growing season and donor plant age on anther culture response of some pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.). Sci. Hortic. 110:16-20.
- George, L. and L. Narayanaswamy. 1973. Haploid *Capsicum* through experimental androgenesis. Protoplasma 78:467-470.
- Irikova, T., S. Grozeva, and V. Rodeva. 2011. Anther culture in pepper (*Capsicum annuum* L.) *in vitro*. Acta Physiol. Plant 33:1559-1570.
- Kim, M., J. Kim, M. Yoon, D.I. Choi, and K.M. Lee. 2004. Origin of multicellular pollen and pollen embryos in cultured anthers of pepper (*Capsicum annuum* L.). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 77:63-72.
- Montri, P., P.W.J. Taylor, and O. Mongkolporn. 2009. Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the Causal Agent of Chili Anthracnose, in Thailand. Plant Disease. 93:17-20.
- Nowaczyk, P., D. Olszewska, and A. Kisiala. 2009. Individual reaction of *Capsicum* F₂ hybrid genotypes in anther cultures. Euphytica 168:225-233.
- Sibi, M., R. Dumas de Vaulx, and D. Chambonnet. 1979. Obtention de plantes haploïdes par androgenèse *in vitro* chez le Piment (*Capsicum annuum* L.). Ann. Amélior Plantes 29:583-606.
- Wang, J.J., C.S. Sun, C.C. Wang, and N.F. Chein. 1973. The induction of pollen plantlets of *Triticale* and *Capsicum annuum* from anther culture. Sci. Sinica XVI (1):147-151.