



บทที่ ๒

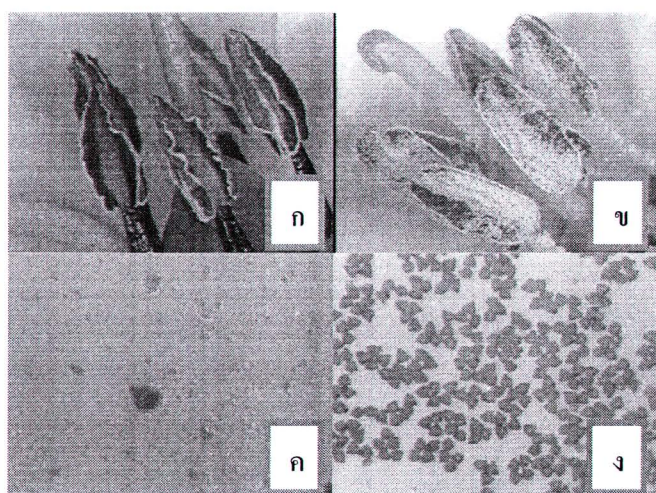
วิธีการทดลอง

ตอนที่ ๑ การประเมินพันธุ์กรรมพริกเพศผู้เป็นในไฮโดรพลาสซึม

๑.๑ การประเมินพันธุ์กรรมพริกเพศผู้เป็นในไฮโดรพลาสซึมด้วยวิธี fertility scoring โดยใช้พันธุ์ PEPAC 32 และ PEPAC38

๑.๑.๑ ผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ ฤดูหนาว ๒๕๕๒

เพาะเมล็ดพันธุ์พริก ๑๖ สายพันธุ์ พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (A line) ๒ พันธุ์ ประมาณวันที่ ๑-๓๐ สิงหาคม ๒๕๕๒ จึงย้ายต้นกล้าลงในถุงดำขนาด ๘" x ๑๐" โดยไม่วางแผนการทดลอง และครอบมุ้งให้พริกแต่ละพันธุ์อยู่ในมุ้งเดียวกัน เพื่อป้องกันแมลงศัตรูพืช และป้องกันการผสมข้ามพันธุ์ ใส่ปุ๋ยสูตร ๑๕-๑๕-๑๕ อัตรา ๓๐๐ กรัม สูตร ๑๓-๐-๔๖ อัตรา ๑๓๐ กรัม และสูตร ๐-๕๒-๓๔ อัตรา ๑๕๐ กรัม และธาตุอาหารรอง ประกอบด้วย เหล็ก ๔.๐ % แมงกานีส ๔.๐% ทองแดง ๑.๕ % โคบอลท์ ๐.๐๕ % สังกะสี ๑.๕ % โบรอน ๐.๕ % โมลิบดีนัม ๐.๑ % อัตรา ๓๐ กรัม ผสมน้ำ ๒๐๐ ลิตร รดปุ๋ยนี้ ๖ วันต่อสัปดาห์ นำเกสรของพริกที่ต้องการทดสอบพันธุ์กรรมผสมพันธุ์ กับพันธุ์หมายเลข PEPAC 32 (A line, B = 9907-99611) ชื่อ CCA 4758 พันธุ์กรรม Seungchon (cms)/6* Til Paris, Saegochu/5* PBC 385 และ PEPAC 38 (A line, B = PBC 292) ชื่อ CCA 4917 พันธุ์กรรม Suwon (cms)/7* PBC 292 ซึ่งเป็นพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (A line) แล้วจึงนำผลพริกที่ผสมแล้ว และเจริญเต็มที่สีแดงสด ทำการแกะเมล็ดตากให้แห้ง (ตารางที่ ๑)



รูปที่ ๑

- ก. อับละอองเกสรเพศผู้เป็นหมัน ค. อับละอองเกสรเพศผู้เป็นหมัน
ข. อับละอองเกสรเพศผู้ปกติ ง. อับละอองเกสรเพศผู้มีชีวิต

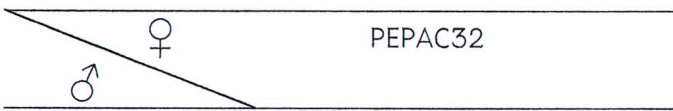
ตารางที่ ๑ แผนการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน กับพริกพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน
ฤดูหนาว ๒๕๕๒

♂ \ ♀	PEPAC32	PEPAC38
CA1445	X	
CA1445-1	X	X
CA1445-7-8	X	
CA1447-4-12	X	
CA1447-8-12	X	
CA1448-1-3	X	
CA1448-5-13	X	
CA1449-2-4	X	
CA1449-3-8		X
CA1449-3-9	X	
CA1450-2-14	X	X
CA1450-3-6	X	
CA1450-5-7	X	
CA1450-6-9	X	
CA1450-7-10	X	
CA1450-7-11	X	

๑.๑.๒ ผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ ฤดูหนาว ๒๕๕๓

เพาะเมล็ดพันธุ์พริก ๑๖ สายพันธุ์ พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (A line) ๒ พันธุ์ ประมาณเดือนธันวาคม ๒๕๕๓ จึงย้ายต้นกล้าลงในถุงดำขนาด ๘" x ๑๐" โดยไม่วางแผนการ ทดลอง และครอบมุ้งให้พริกแต่ละพันธุ์อยู่ในมุ้งเดียวกัน เพื่อป้องกันแมลงศัตรูพืช และ ป้องกันการผสมข้ามพันธุ์ ใส่ปุ๋ยเช่นเดียวกับการผลิตครั้งแรก นำเกสรของพริกที่ต้องการ ทดสอบพันธุ์กรรมผสมพันธุ์ กับพันธุ์หมายเลข PEPAC 32 ซึ่งเป็นพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (A line) แล้วจึงนำผลพริกที่ผสมแล้ว และเจริญเต็มที่สีแดงสด ทำการแกะเมล็ดตากให้แห้ง (ตารางที่ ๒)

ตารางที่ ๒ แผนการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน กับพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน
ฤดูหนาว ๒๕๕๓

	
CA1445-2-4-10	X
CA1445-7-8-32	X
CA1445-2-6-18	X
CA1447-8-12-8	X
CA1447-3-2-1	X
CA1447-4-12-8	X
CA1447-3-2-1	X
CA1448-5-13-8	X
CA1448-2	X
CA1449-3-9-8	X
CA1449-3-9-13	X
CA1450-2-14-1	X
CA1450-6-9-1	X
CA1450-5-17-14	X

๑.๑.๓ ประเมินพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑

เริ่มเพาะเมล็ดลูกผสมชั่วที่ ๑ ระหว่าง A line และ B line ลูกผสมชั่วที่ ๑ ของพันธุ์ PEPAC32 และ PEPAC38 กับพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน ในเดือนมีนาคม ๒๕๕๓ (ตารางที่ ๓) และลูกผสมชั่วที่ ๑ ของพันธุ์ PEPAC32 กับพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันฤดูฝน ในเดือนกรกฎาคม ๒๕๕๔ (ตารางที่ ๔) เพื่อประเมินความมีชีวิตของละอองเกสรเพศผู้ เพาะกล้าคู่ผสมละ ๓๐ ต้น เมื่อดอกบานนำดอกที่จะบานในวัดถัดไป ตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสรเพศผู้ โดยสุ่มเก็บต้นละ ๕ ดอก ทดสอบความมีชีวิตของเกสรเพศผู้โดยสารละลาย ๑ % อะซีโตคาร์มีน การทดสอบทำ ๓ ช่วงการเจริญเติบโตของต้นพริก ความมีชีวิตของเกสรเพศผู้แสดงออกถึงพันธุ์กรรมของพ่อพันธุ์พริกที่ใช้ ดังนี้

ก. คู่ผสมที่มีละอองเกสรที่ย้อมสีไม่ติดทั้ง ๓๐ ต้น แสดงว่าต้นพ่อที่นำมาใช้สร้างคู่ผสมนี้มียีนที่ควบคุมลักษณะความเป็นหมันในนิวเคลียสเป็น msms และยีนในไซโตพลาซึมเป็นปกติ (N)

ข. คู่ผสมที่มีละอองเกสรที่ย้อมติดสีทั้ง ๓๐ ต้น แสดงว่าพ่อพันธุ์ที่นำมาใช้สร้างคู่ผสมนี้มียีนที่ควบคุมลักษณะความเป็นหมัน เป็น MsMs และยีนในไซโตพลาซึมอาจเป็นปกติ (N) หรือเป็นหมัน (S)

ค. คู่ผสมที่มีละอองเกสรที่ย้อมติดสี และบางต้นย้อมไม่ติดสีปนกัน แสดงว่าต้นพ่อที่นำมาใช้สร้างคู่ผสมนี้มียีนที่ควบคุมลักษณะความเป็นหมันเป็น Msms และยีนในไซโตพลาซึม อาจเป็นปกติ (N) หรือเป็นหมัน (S)

ตารางที่ ๓ รายชื่อเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ ของพันธุ์ PEPAC 32 x B line และ PEPAC 38 x B line ที่เพาะในเดือนมีนาคม ๒๕๕๓

PEPAC 32 x B line

ลำดับ	พันธุ์
๑	PP32 x CA1445-1
๒	PP32 -42 x CA1445-1
๓	PP32 -7 x CA1445-7-8
๔	PP32 -10 x CA1447-4-12-9
๕	PP32 -18 x CA1447-8-12-9
๖	PP32 -23 x CA1448-1-3-10
๗	PP32 -7 x CA1448-5-13-8
๘	PP32 -25 x CA1448-5-13-9
๙	PP32 -7-3 x CA1449-2-4-1
๑๐	PP32 -7-3 x CA1449-2-4-7
๑๑	PP32 -35 x CA1449-2-5-10
๑๒	PP32 -126 x CA1449-3-8-3
๑๓	PP32 -37 x CA1449-3-9-8
๑๔	PP32 -7-6 x CA1450-2-14-1
๑๕	PP32 -6 x CA1450-3-6-9
๑๖	PP32 -7-9 x CA1450-5-17-2
๑๗	PP32 -7-8 x CA1450-6-9-1
๑๘	PP32 -7 x CA1450-7-10-1
๑๙	PP32 x CA1450-7-10-10

ตารางที่ ๓ รายชื่อเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ ของพันธุ์ PEPAC 32 x B line และ PEPAC 38 x B line ที่เพาะในเดือนมีนาคม ๒๕๕๓ (ต่อ)

PEPAC 38 x B line

ลำดับ	พันธุ์
๑	PP38 -11 x CA1445-1
๒	PP38 -30 x CA1450-7-10
๓	PP38 -87 x CA1450-7-11

ตารางที่ ๔ รายชื่อเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ ของพันธุ์ PEPAC 32 x B line ที่เพาะในเดือนกรกฎาคม ๒๕๕๔

PEPAC 32 x B line

ลำดับ	พันธุ์
๑	PP32-76 x CA1445-2-6-18-1
๒	PP32-5 x CA1445-2-4-19-5
๓	PP32-1 x CA1445-7-8-32-2
๔	PP32-5-26 x CA1447-3-2-1-5
๕	PP(32 x 33)-9 x CA1448-2-5
๖	PP32-3 x CA1448-5-13-8-3
๗	PP32-1 x CA1449-3-9-13-8
๘	PP(32 x 31) x CA1450-2-14-1-4

๑.๒ การประเมินพันธุ์กรรมพริกเพศผู้เป็นในไฮโดรพลาสซึมด้วยวิธีการใช้
เครื่องหมาย โมเลกุล (DNA marker)

๑.๒.๑ เก็บตัวอย่างใบอ่อนจากพริก ๓ พันธุ์ที่เคยประเมินพันธุ์
มาแล้ว และมี พันธุ์กรรมครบทั้ง ๓ แบบ ๆ ละ ๕-๑๐ ต้น (ตารางที่ ๕) ได้แก่พริกพันธุ์CA
1445-7-8-32 (N/S MsMs), CA1445-2-4-10 (N/S Msms), CA1445-2-6-18 (N msms),
CA 1447-4-12-8 (N/S MsMs), CA1447-4-12-1 (N/S Msms), CA1447-3-2-1 (N msms),
CA 1450-2-14-1 (N/S MsMs), CA 1450-5-17-14 (N/S Msms) และ CA 1450-7-10 (N
msms)

ตารางที่ ๕ รายชื่อพันธุ์พริกใหญ่ที่เคยประเมินพันธุ์กรรม

พันธุ์	พันธุ์กรรม
CA1445-2 4-10	N/S Msms
CA1445-7-8-32	N/S MsMs
CA1445-2-6-18	N msms
CA1447-8-12-8	N/S MsMs
CA1447-3-2-1	N/S Msms
CA1447-4-12-8	N/S MsMs
CA1447-3-2-1	N msms
CA1448-5-13-8	N/S Msms
CA1448-2	N/S MsMs
CA1449-3-9-8	N msms
CA1449-3-9-13	N msms
CA1450-2-14-1	N/S MsMs
CA1450-6-9-1	N/S Msms
CA1450-7-10	N msms

๑.๒.๒ การสกัดและตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอ ประยุกต์จากวิธีของ Fulton *et al.* (1995) ตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอโดยทำ electrophoresis ใน ๑% agarose gel

๑.๒.๓ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ

๑. คัดกรองไพรเมอร์เพิ่มเติม ใช้ไพรเมอร์ ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) ๒๐ ชนิด และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีของ Blair (1999) ปฏิกริยา ๒๐ ไมโครลิตร ประกอบด้วย ๑๐x PCR buffer ๒ µl, ๑๐ mM dNTP mix ๐.๘ µl, ๕๐ mM MgCl₂ ๑ µl, ๑๐ µM ISSR primer ๑.๖ µl, DNA template (๕๐ ng/µl) ๑ µl, Taq polymerase (๕ unit/µl) ๐.๒ µl และ ddH₂O ๑๓.๔ µl

เงื่อนไขการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์

๙๔ °C	๕	นาที	}	๓๕ รอบ
๙๔ °C	๑	นาที		
๕๙ °C	๑	นาที		
๓๒ °C	๒	นาที		
๓๒ °C	๔	นาที		



ไพรเมอร์ ISSR

1	(AG)11A	AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGA	11	(TC)10C	TCTCTCTCTCTCTCTCTCTCC
2	(AG)10C	AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGC	12	(TC)11T	TCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
3	(AG)11T	AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGT	13	(CCG)5A	CCGCCGCCGCCGCCGA
4	(CT)11A	CTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTA	14	(CCG)5C	CCGCCGCCGCCGCCGC
5	(CT)10C	CTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTC	15	(CCG)5T	CCGCCGCCGCCGCCGT
6	(CT)11T	CTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTT	16	(CGC)5A	CGCCGCCGCCGCCGCA
7	(GA)11A	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAA	17	(CGC)5C	CGCCGCCGCCGCCGCC
8	(GA)10C	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAC	18	(CGC)5T	CGCCGCCGCCGCCGCT
9	(GA)11T	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAT	19	(CGG)5A	CGGCGGCGGCGGCGGA
10	(TC)11A	TCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCA	20	(CGG)5C	CGGCGGCGGCGGCGGC

๒. การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ของแถบคัดเลือก โดยการโคลน ใช้ไพรเมอร์

จำเพาะ (Forward primer : GTTGATGCTCTATGGTTGGAGAAC และ Reverse primer GCACTATTCCTATTGGCTTTCTG) พัฒนาโดย Kim (2005) และเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีของ Blair (1999) ปฏิกริยา ๒๐ ไมโครลิตร ประกอบด้วย ๑๐x PCR buffer ๒ μ l, ๑๐ mM dNTP mix ๐.๘ μ l, ๕๐ mM $MgCl_2$ ๑ μ l, ๑๐ μ M Forward primer ๐.๘ μ l, ๑๐ μ M Reverse primer ๐.๘ μ l, DNA template (๕๐ ng/ μ l) ๑ μ l, *Taq* polymerase (๕ unit/ μ l) ๐.๒ μ l และ ddH₂O ๑๓.๔ μ l เงื่อนไขการทำปฏิกริยาพีซีอาร์ เช่นเดียวกับข้อ ๑

จากนั้นเพิ่มปริมาณแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในตัวอย่างพริกพันธุ์ CA 1445 ที่มี พันธุกรรม MM ขนาดประมาณ ๗๕๐ bp โดยการโคลนดังนี้ ตัดแถบดีเอ็นเอ และนำไปแช่ใน ๑ x TE buffer ๒๐ μ l ตั้งทิ้งไว้ ที่อุณหภูมิห้องนาน ๑๐ นาที จากนั้นบดให้ละเอียดด้วยปลาย tip นำไปปมที่ อุณหภูมิ ๙๕°C นาน ๑๕ นาที ก่อนนำไปปม ที่อุณหภูมิ ๔°C ช้ามคืน นำ สารละลายดีเอ็นเอที่ได้ มาเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกริยาพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะที่พัฒนา มาจาก CAPS marker โดย Kim (2005) เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยวิธีของ Blair (1999) ปฏิกริยา ๒๐ ไมโครลิตร ประกอบด้วย ๑๐x PCR buffer ๒ μ l, ๑๐ mM dNTP mix ๐.๕ μ l, ๒๕ mM $MgCl_2$ ๑.๒ μ l, ๑๐ μ M Forward primer ๐.๔ μ l, ๑๐ μ M Reverse primer ๐.๔ μ l, *Taq* polymerase (๕ unit/ μ l) ๐.๑ μ l, DNA template (๕๐ ng/ μ l) ๑ μ l และ ddH₂O ๑๔.๔ μ l

เงื่อนไขการทำปฏิกริยาพีซีอาร์

๙๔ °C	๓	นาที	}	๓๐ รอบ
๙๔ °C	๓๐	วินาที		
๔๕ °C	๑	นาที		
๗๒ °C	๑	นาที	}	๓๐ รอบ
๙๔ °C	๓๐	วินาที		
๕๐ °C	๑	นาที		
๗๒ °C	๑	นาที		
๗๒ °C	๕	นาที		

เมื่อได้แถบดีเอ็นเอที่ต้องการมีเพียงแถบเดียว นำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้โคลนเข้าสู่เวกเตอร์เพื่อเพิ่มปริมาณดังนี้

๑.๒.๔ ปฏิบัติการ TOPO Cloning และ Transformation

เชื่อมผลิตภัณฑ์พีซีอาร์เข้ากับ pCR8®/GW/TOPO® Vector ขนาด 2817 bp ด้วย เอนไซม์ Topoisomerase I และนำเข้าสู่เซลล์แบคทีเรีย One Shot® TOP10 Chemically Competent *E.coli* ตามวิธีการ heat shock ที่ระบุในผลิตภัณฑ์ เลี้ยงเซลล์ใน RT SOC medium จากนั้นนำอาหารที่มีเซลล์ ๒๐ และ ๔๐ µl ไปเลี้ยงบนอาหารแข็งที่มีสารปฏิชีวนะ spectinomycin ปุ่มที่ ๓๗ °C ข้ามคืน

ตอนที่ ๒ พัฒนาพริกเทศผู้เป็นหมันโดยใช้พันธุ์รักษาเกสรเทศผู้เป็นหมัน (maintainer)

พัฒนาแม่พันธุ์พริกเทศผู้เป็นหมัน (KY16 และ PEPAC32)

๒.๑ ผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ และลูกผสมกลับโดยใช้พันธุ์เทศผู้เป็นหมัน (KY16)

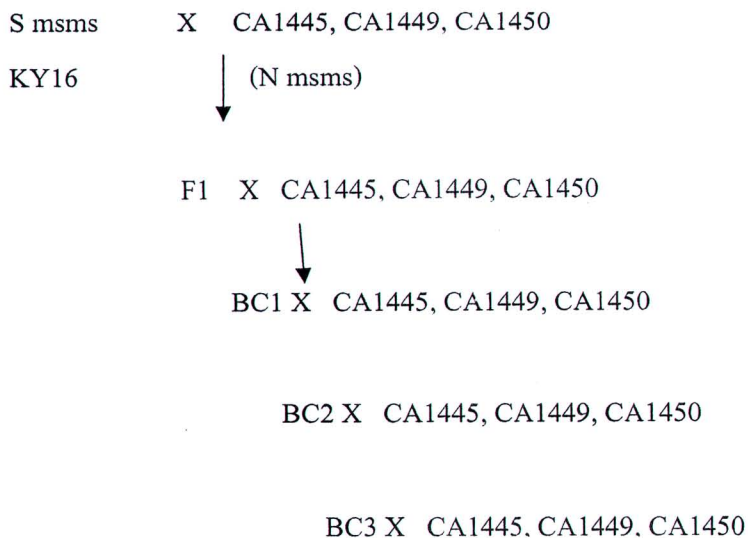
โดยทำการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ ระหว่างพันธุ์รักษาเทศผู้เป็นหมัน และพันธุ์เทศผู้เป็นหมัน (KY16) และลูกผสมกลับ

๒.๑.๑ นำพันธุ์รักษาเทศผู้เป็นหมัน (B line) มีลักษณะทางพืชสวนที่ดี ๓ สายพันธุ์ ได้แก่พันธุ์ CA1445-7-8, CA1449-2-4, และ CA1450-7-10 แม่พันธุ์เทศผู้เป็นหมัน จำนวน ๓ สายพันธุ์ ได้แก่ KY16-2, KY16-52 และ KY16-60 โดยนำเมล็ดพันธุ์พริกทำการเพาะเมล็ดพันธุ์ พริก วันที่ ๑๙ มิถุนายน ๒๕๕๐ ย้ายต้นกล้าลงในถุงดำขนาด ๘" x ๑๐" โดยไม่วางแผนการทดลอง และครอบมุ้งให้พริกแต่ละพันธุ์อยู่ในมุ้งเดียวกัน เพื่อป้องกันแมลงศัตรูพืช และป้องกันการผสมข้ามพันธุ์ ใส่ปุ๋ยสูตร ๑๕-๑๕-๑๕ อัตรา ๓๐๐ กรัม สูตร ๑๓-๐-๔๖ อัตรา ๑๓๐ กรัม และสูตร ๐-๕๒-๓๔ อัตรา ๑๕๐ กรัม และธาตุอาหารรอง ประกอบด้วย เหล็ก ๔.๐ % แมงกานีส ๔.๐ % ทองแดง ๑.๕ % โคบอลท์ ๐.๐๕ % สังกะสี ๑.๕ % โบรอน ๐.๕ % โมลิบดีนัม ๐.๑ % อัตรา ๓๐ กรัม ผสมน้ำ ๒๐๐ ลิตร รดปุ๋ยนี้ ๖ วัน ต่อสัปดาห์ เมื่อดอกบานจึงทำการผสมพันธุ์ระหว่างแม่พันธุ์ และพ่อพันธุ์ ทำการผสมโดย นำถุงกระต่ายคลุม ดอกพริกแม่พันธุ์ที่พร้อมจะบานในวันรุ่งขึ้น เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการผสมข้ามดอก และป้องกันแมลง สำหรับ ดอกพริกพ่อพันธุ์ เก็บดอกที่พร้อมจะบานในวันรุ่งขึ้นใน petri dish และปิดไว้เพื่อไม่ให้ละออง เกสรเพศผู้พันธุ์อื่นปน โดยเวลาที่เหมาะสำหรับการผสมพันธุ์ คือ ๘.๐๐-๑๐.๐๐ นาฬิกา และ ๑๖.๐๐-๑๗.๓๐ นาฬิกา เมื่อผสมเสร็จแล้ว จึงคลุมดอกไว้ดังเดิม และเขียน บ้ายบอกชื่อพันธุ์ วัน เดือน ปี ที่ผสม ทั้งผลที่ติดให้สุกแดงเต็มที่ จึงแกะเมล็ด

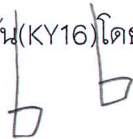
ได้เมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ ๓ คู่ ได้แก่ KY16-2 x CA 1445-7-8, KY16-60 x CA 1449-2-4, KY16-1 x CA 1450-7-10 ใช้ในการผสมกลับ

๒.๑.๒ นำเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ จำนวน ๓ คู่ ได้แก่ KY16-2 x CA 1445-7-8, KY16-60 x CA 1449-2-4 และ KY16-1 x CA 1450-7-10 ทำการผสมกลับกับพันธุ์รักษาเพศผู้ เป็นหมันจำนวน ๓ พันธุ์ ได้แก่ CA 1445-7-8, CA 1449-2-4, CA 1450-7-10 โดยเพาะเมล็ด ในวันที่ ๓ มีนาคม ๒๕๕๒ ทำการผสมข้าม ได้เมล็ดพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ ๑ จำนวน ๓ พันธุ์ ได้แก่ BC1KY16-2 x CA1445-7-8, BC1KY16-60 x CA 1449-2-4 และ BC1KY16-1 x CA 1450-7-10

๒.๑.๓ นำเมล็ดพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ ๑ จำนวน ๓ พันธุ์ ได้แก่ BC1KY16-2 x CA 1445-7-8, BC1KY16-60 x CA 1449-2-4 และ BC1KY16-1 x CA 1450-7-10 โดยเพาะเมล็ดในเดือนตุลาคม ๒๕๕๒ จึงย้ายต้นกล้าลงในถุงดำขนาด ๘" x ๑๐" โดยไม่วางแผนการทดลอง ทำการผสมกลับกับพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันจำนวน ๓ พันธุ์ ได้แก่ CA 1445-7-8, CA 1449-2-4, CA 1450-7-10 ได้เมล็ดพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ ๒ จำนวน ๓ พันธุ์ ได้แก่ BC2KY16-2 x CA 1445-7-8, BC2KY16-60 x CA 1449-2-4 และ BC2KY16-1 x CA 1450-7-10

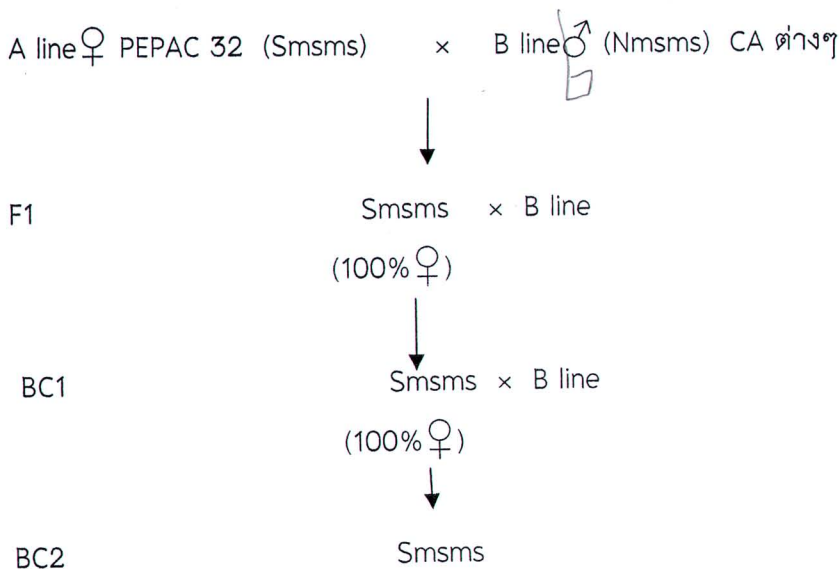


รูปที่ ๒ แผนการพัฒนาแม่พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน(KY16)โดยการผสมกลับ



๒.๑.๔ นำเมล็ดพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ ๒ จำนวน ๓ พันธุ์ ได้แก่ BC2KY16-2 x CA 1445-7-8, BC2KY16-60 x CA 1449-2-4 และ BC2KY16-1 x CA 1450-7-10 โดยเพาะเมล็ด ในเดือนพฤษภาคม ๒๕๕๓ จึงย้ายต้นกล้าลงในถุงดำขนาด ๘" x ๑๐" โดยไม่วางแผนการ ทดลอง ทำการผสมกลับกับพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันจำนวน ๓ พันธุ์ ได้แก่ CA 1445-7-8, CA 1449-2-4, CA 1450-7-10 ได้เมล็ดพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ ๓ จำนวน ๓ พันธุ์ ได้แก่ BC3KY16-2 x CA 1445-7-8, BC3KY16-60 x CA 1449-2-4 และ BC3KY16-1 x CA 1450-7-10

๒.๒ ผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ และลูกผสมกลับโดยใช้พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน PEPAC32 ทำการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ ระหว่างพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน และพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (PEPAC 32) ซึ่งมีพันธุ์กรรม Smsms และลูกผสมกลับ (รูปที่ ๓)



รูปที่ ๓ แผนการผสมพันธุ์เพื่อพัฒนาแม่พันธุ์เพศผู้เป็นหมันโดยใช้ พันธุ์ PEPAC32

๒.๒.๑ เพาะเมล็ดพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน ๑๙ สายพันธุ์ พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน PEPAC32 ประมาณวันที่ ๑-๓๐ สิงหาคม ๒๕๕๓ ย้ายกล้างถุงดำขนาด ๘x๑๐ นิ้ว ใช้ปุ๋ยน้ำ ย้ายปลูกโดยไม่วางแผนการทดลองเพื่อทำการผสมพันธุ์ เมื่อดอกบานทำการผสมระหว่างพันธุ์ เพศผู้เป็นหมัน PEPAC32 กับพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน ๑๙ สายพันธุ์ (ตารางที่ ๖)

ตารางที่ ๖ แผนการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (A line) กับพันธุ์รักษาเพศผู้ เป็นหมัน (B line)

♂ B line	♀ PEPAC32 A line
CA1303	X
CA1303-6-20	X
CA1303-6-1	X
CA1286	X
CA1286-4-2	X
CA1286-4-9	X
CA1441-J	X
CA1441-J-3-6	X
CA1441-J-8-3	X
CA1442	X
CA1443	X
CA1445	X
CA1445-7-8	X
CA1445-1	X
CA1449-2-4	X
CA1449-3-8	X
CA1450-5-7	X
CA1450-6-9	X
CA1450-7-10	X



๒.๒.๒ ผลิตเมล็ดลูกผสมชั่วที่ ๑ ระหว่างพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน PEPAC32 และ พันธุ์ รักษาเพศผู้เป็นหมัน (B line) เพาะเมล็ดพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน PEPAC32 และพันธุ์ รักษาเพศผู้ เป็นหมัน ๒๓/ สายพันธุ์ ประมาณวันที่ ๑๕ ธันวาคม ๒๕๕๓ ย้าย กล้าลงถุงดำขนาด ๘x๑๐ นิ้ว ใช้ปุ๋ยน้ำ ย้ายปลูกโดยไม่วางแผนการทดลองเพื่อทำการผสม พันธุ์ เมื่อดอกบานทำการผสม ระหว่าง พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน PEPAC32 กับ พันธุ์รักษาเพศผู้ เป็นหมัน ๒๓/ สายพันธุ์(ตารางที่ ๓)

ตารางที่ ๓ รายชื่อพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน

พริกหนุ่มเขียว	พริกหนุ่มขาว	พริกหยวก
CA1445-2-4	CA1286-5	CA1441-J-8-3-11
CA1445-2-5	CA1286-8	CA1441-J-8-3-86
CA1450-6-9-7	CA1286-4-2-8	CA1442-1
CA1450-6-9-15	CA1286-4-2-14	CA1442-50
CA1450-7-10-7	CA1286-4-9-2	CA1443-6
CA1450-7-10-32	CA1286-4-9-5	CA1443-38
CA1450-7-10-35	CA1303-6	
CA1450-7-10-40	CA1303-39	
	CA1303-6-8-3	
	CA1303-6-8-6	
	CA1303-6-20-7	
	CA1303-6-20-11	
	CA1303-6-20-18	

๒.๒.๓ ผลิตเมล็ดลูกผสมกลับชั่วที่ ๑ ระหว่างพันธุ์ลูกผสมชั่วที่๑ และ พันธุ์ รักษาเพศผู้เป็นหมัน (B line) เพาะเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่๑ ระหว่างพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน PEPAC32 และ พันธุ์ รักษาเพศผู้เป็นหมัน จำนวน ๑๖ คู่ผสม และพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (ตารางที่ ๔) วันที่ ๑๕ ธันวาคม ๒๕๕๓ ย้ายกล้าลงถุงดำขนาด ๘x๑๐ นิ้ว ใช้ปุ๋ยน้ำ ย้าย ปลูกโดยไม่วางแผนการทดลองเพื่อทำการผสมพันธุ์ เมื่อดอกบานทำการผสมระหว่างพันธุ์ ลูกผสมชั่วที่๑กับ พันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน

ตารางที่ ๘ รายชื่อพันธุ์ลูกผสมชั่วที่๑ และพ่อพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน ที่เพาะเดือนมีนาคม ๒๕๕๓

ลูกผสมชั่วที่๑	พ่อพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน
พริกหนุ่มเขียว	
PP32-42 x CA1445-1	CA1445-5
PP32-10 x CA1445-7-8-1	CA1445-5
PP32-7-3 x CA1449-2-4-7	CA1449-3-9
	CA1449-3-9-13
PP32-126 x CA1449-3-8-3	CA1449-3-9
	CA1449-3-9-13
PP32-6 x CA1450-7-10-10	CA1450-7-10-32
	CA1450-7-10-35
	CA1450-7-10-40
PP32-7-5 x CA1450-2-14-1	CA1450-7-10-32
	CA1450-7-10-35
	CA1450-7-10-40
PP32-7-10 x CA1450-5-17-8	CA1450-7-10-32
	CA1450-7-10-35
	CA1450-7-10-40
PP32-8 x CA1450-7-10-3	CA1450-7-10-32
	CA1450-7-10-35
	CA1450-7-10-40
PP32-7-8 x CA1450-6-9-1	CA1450-7-10-32
	CA1450-7-10-35
	CA1450-7-10-40

ตารางที่ ๘ รายชื่อพันธุ์ลูกผสมชั่วที่๑ และพ่อพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน(ต่อ)

ลูกผสมชั่วที่๑	พ่อพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน
พริกหนุ่มขาว	
PP32-80 x CA1286-4-2-6	CA1286-4-9-2
	CA1286-4-2-5
	CA1286-4-2-8
	CA1286-4-2-14
PP32-82 x CA1286-4-9-5	CA1286-4-9-2
	CA1286-4-2-5
	CA1286-4-2-8
	CA1286-4-2-14
PP32-89 x CA1303-6-8-7	CA1303-6-20-7
	CA1303-6-20-18
PP32-94 x CA1303-8-1-5	CA1303-6-20-7
	CA1303-6-20-18

๒.๒.๔ ผลิตเมล็ดลูกผสมกลับชั่วที่ ๒ ระหว่างพันธุ์ลูกผสมชั่วที่๑ และพันธุ์ รักษา เพศผู้ เป็นหมัน (B line) เพาะเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่๒ ระหว่างพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน PEPAC32 และพันธุ์ รักษาเพศผู้เป็นหมัน จำนวน ๓๕ คู่ผสม และ พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (ตารางที่ ๙) วันที่ ๑๕ ธันวาคม ๒๕๕๔ ย้ายกลัลงถุงดำขนาด ๔ x ๑๐ นิ้ว ใช้ปุ๋ยน้ำ ย้ายปลูกโดยไม่วางแผนการทดลองเพื่อทำการผสมพันธุ์ เมื่อดอกบานทำการผสมระหว่างพันธุ์ ลูกผสมชั่วที่๑ กับพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน



ตารางที่ ๙ รายชื่อพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ ๑ และพ่อพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน ที่เพาะเดือน
มิถุนายน ๒๕๕๔

ลูกผสมกลับชั่วที่ ๑	พ่อพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน
แม่พันธุ์	พ่อพันธุ์
๑.BC ₁ F ₁ (PP32-3 × CA1286-4-9-2-1)	CA1286-4-9-5
๒.BC ₁ F ₁ (PP32-3 × CA1286-4-9-2-1)	CA1286-4-9-8
๓.BC ₁ F ₁ (PP32-3 × CA1286-4-9-2-8-1)	CA1286-4-2-6
๔.BC ₁ F ₁ (PP32-1 × CA1286-4-9-5)	CA1286-4-9-5
๕.BC ₁ F ₁ (PP32-1 × CA1286-4-9-5-1)	CA1286-4-9-5
๖.BC ₁ F ₁ (PP32-1 × CA1286-4-9-5-1)	CA1286-4-9-8
๗.BC ₁ F ₁ (PP32-6 × CA1303-6-8-3-6)	CA1303-6
๘.BC ₁ F ₁ (PP32-6 × CA1303-6-8-3-6)	CA1303-6-8-3
๙.BC ₁ F ₁ (PP32-6 × CA1303-6-8-3-6)	CA1303-6-8-8
๑๐.BC ₁ F ₁ (PP32-6 × CA1303-6-8-8-6)	CA1303-6-8-8
๑๑.BC ₁ F ₁ (PP32-92 × CA1303-6-20)	CA1303-6-20-7
๑๒.BC ₁ F ₁ (PP32-1 × CA1303-6-20-7-1)	CA1303-6-20-7
๑๓.BC ₁ F ₁ (PP32-3 × CA1303-6-20-7-4)	CA1303-6-20-7
๑๔.BC ₁ F ₁ (PP32-3 × CA1303-6-20-7-4)	CA1303-6-20-17
๑๕.BC ₁ F ₁ (PP32 × CA1442-5-7)	CA1442-1-1
๑๖.BC ₁ F ₁ ((PP32 × CA1442-5)-12) × 1442-1-10)	CA1442-1-1
๑๗.BC ₁ F ₁ ((PP32 × CA1442-5)-12) × CA1442-1-10)	CA1442-42
๑๘.BC ₁ F ₁ (PP32 × CA1442-50-7)	CA1442-1-1
๑๙.BC ₁ F ₁ (PP32 × CA1442-50-7)	CA1442-4-9
๒๐.BC ₁ F ₁ (PP32 × CA1443-5)	CA1443-38
๒๑.BC ₁ F ₁ (PP32-4 × CA1443-6-6)	CA1443-38
๒๒.BC ₁ F ₁ ((PP32 × CA1445-1)-2 × CA1445-1-8-1)	CA1445-1-1
๒๓.BC ₁ F ₁ (PP32-1 × CA1445-1-8-1)	CA1445-1-1
๒๔.BC ₁ F ₁ (PP32-3 × CA1445-1-8-1)	CA1445-1-1
๒๕.BC ₁ F ₁ (PP32-3 × CA1445-1-8-5)	CA1445-1-1

ตารางที่ ๙ รายชื่อพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ ๑ และพ่อพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน ที่เพาะเดือน มิถุนายน ๒๕๕๔ (ต่อ)

ลูกผสมกลับชั่วที่ ๑	พ่อพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน
แม่พันธุ์	พ่อพันธุ์
๒๖.BC ₁ F ₁ (PP32-6 × CA1445-1-8-5)	CA1445-1-1
๒๗.BC ₁ F ₁ (PP32-6 × CA1445-1-8-8)	CA1445-1-1
๒๘.BC ₁ F ₁ (PP32-3 × CA1445-2-6-18-3)	CA1445-2-6-11
๒๙.BC ₁ F ₁ (PP32-3 × CA1445-2-6-18-3)	CA1445-2-6-18-3
๓๐.BC ₁ F ₁ (PP32-8 × CA1445-2-6-18-3)	CA1445-2-6-18-3
๓๑.BC ₁ F ₁ (PP32-9 × CA1450-7-10-35)	CA1450-7-10-35
๓๒. BC ₁ F ₁ (PP32-8 × CA1450-7-10-35-8)	CA1450-7-10-35
๓๓.BC ₁ F ₁ (PP32-9 × CA1450-7-10-35-8)	CA1450-7-10-35
๓๔.BC ₁ F ₁ (PP32-9×CA1450-7-10-35-16)	CA1450-7-10-35
๓๕.BC ₁ F ₁ (PP32-6×CA1450-7-10-35-17)	CA1450-7-10-35

ตอนที่ ๓ ความดีเด่นและความสามารถในการรวมตัวของพริกพันธุ์รักษาเพศผู้เป็น หมัน (B line)

ศึกษาความสามารถในการรวมตัวของพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน (B line) ๓ พันธุ์กับพันธุ์ ปกติ (C line) ๓ พันธุ์ โดยทดสอบความสามารถในการรวมตัวโดยใช้พันธุ์แม่ CA (C line) จำนวน ๓ พันธุ์ ได้แก่ CA 683-8-7, CA 1447-5-10 และ CA 1448-5-13 และพันธุ์พ่อ พริกที่ทดสอบแล้วทราบแน่นอนว่าเป็น B line (N msms) มีลักษณะผลสีเขียวยาว จำนวน ๓ พันธุ์ ได้แก่พันธุ์ CA1445-7-8, CA1449-2-4 และ CA1450-7-10 นำพันธุ์พ่อผสมกับพันธุ์แม่(ตารางที่ ๑๐) เพื่อ ผลิตลูกผสมชั่วที่ ๑ และบันทึกลักษณะทางพืชสวนตาม IBPGR descriptor (1995) ของพันธุ์พ่อ กับพันธุ์แม่ ดังนี้ ลักษณะทรงพุ่ม ความสูงของต้น ความกว้างของทรงพุ่ม สีผลอ่อน สีผลแก่ ความยาวผล ความกว้างผล รูปร่างลักษณะผล การวางตัวของผล การติดผล น้ำหนักผลผลิต และการเป็นหมันของเกสรเพศผู้

๓.๑. ทำการผสมข้ามระหว่าง B line ๓ พันธุ์ (เป็น ♀) และ C line ๓ พันธุ์ (เป็น ♂) ในฤดูฝน ๒๕๕๒

B line ๓ พันธุ์ ได้แก่พันธุ์ CA1445-7-8, CA1449-2-4 และ CA1450-7-10 C lineใหม่ ใช้เป็น ♂ และ จำนวน ๓ พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ CA 683-8-7, CA 1447-5-10 และ CA 1448-5-13 ย้ายกล้างลงถุงดำขนาด ๔x๑๐ นิ้ว ใช้ปุ๋ยน้ำ ย้ายปลูกโดยไม่วางแผนการทดลองเพื่อทำการผสมพันธุ์ เมื่อดอกบานทำการผสมระหว่างพันธุ์ B lineกับพันธุ์ C line

ตารางที่ ๑๐ แผนการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน (B line) กับพันธุ์เพศผู้ปกติ (C line)

♀ B line	♂ C line		
	CA 683-8-7	CA 1447-5-10	CA 1448-5-13
CA1445-7-8	x	x	x
CA1449-2-4	x	x	x
CA1450-7-10	x	x	x

๓.๒ ทำการผสมข้ามระหว่าง B line ๑๘ พันธุ์ (เป็น ♀) และ C line ๑๘ พันธุ์ (เป็น ♂) ในฤดูฝน

ใน เดือนกรกฎาคม ๒๕๕๔ (ตารางที่ ๑๑) ย้ายกล้างถุงดำขนาด ๘x ๑๐ นิ้ว ใช้ปุ๋ยน้ำ ย้ายปลูกโดยไม่วางแผนการทดลองเพื่อทำการผสมพันธุ์ เมื่อดอกบานทำการผสม ระหว่างพันธุ์ B lineกับพันธุ์ C line

ตารางที่ ๑๑ แผนการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน (B line) กับพันธุ์เพศผู้ปกติ (C line)

B line	C line
พริกหนุ่มขาว	
๑. CA1286-19	๑. CA1450-3-6-1
๒. CA1286-29	๒. CA1447-8-12-12
๓. CA1303-6-20-26	๓. CA1450-3-6-9
๔. CA1303-6-20-29	๔. CA1451-5-11-12
พริกหยวก	
๑. CA1442-12	๑. CA1447-4-12-1,18
๒. CA1442-21	๒. CA1448-5-13-18,19
๓. CA1442-46	๓. CA1451-5-11-8-9
๔. CA1442-2	๔. CA1446-8-2-6,7
๕. CA1442-39	๕. CA1450-3-6-12
๖. CA1443-3	๖. CA1446-8-2-1,2,8
๗. CA1443-10	๗. CA1447-4-19-2,3
๘. CA1443-21	๘. CA1448-5-13-11,20
๙. CA1443-32	๙. CA1450-3-1-5
พริกหนุ่มเขียว	
๑. CA480-5	๑. CA1447-8-12-1
๒. CA1445-7-8-1	๒. CA1446-8-2-1,2,3
๓. CA1445-7-8-27	๓. CA1449-2-5-1,2,3
๔. CA1450-7-10-7	๔. CA1447-4-12-4
๕. CA1450-7-10-5	๕. CA1451-7-6-16

๓.๓ ประเมินความสามารถในการรวมตัว

เพาะเมล็ดลูกผสมชั่วที่ ๑ จำนวน ๙ พันธุ์ แม่พันธุ์ ๓ พันธุ์ พ่อพันธุ์ ๓ พันธุ์ และพันธุ์การค้าเป็นพันธุ์มาตรฐาน ๓ พันธุ์ เดือนพฤศจิกายน ๒๕๕๓ (ตารางที่ ๑๒) วางแผนแบบ RCBD ๓ ซ้ำ เพาะเดือนธันวาคม ๒๕๕๓ ย้ายกล้าลงแปลงวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก ๓ ซ้ำ ให้ปุ๋ยและน้ำแบบระบบน้ำหยด ใส่ปุ๋ยสูตร ๑๕-๑๕-๑๕ อัตรา ๓๐๐ กรัม สูตร ๑๓-๐-๔๖ อัตรา ๑๓๐ กรัม และสูตร ๐-๕๒-๓๔ อัตรา ๑๕๐ กรัม และธาตุอาหาร รอง ประกอบด้วย เหล็ก ๔.๐ % แมงกานีส ๔.๐ % ทองแดง ๑.๕ % โคบอลท์ ๐.๐๕ % สังกะสี ๑.๕ % โบรอน ๐.๕ % โมลิบดีนัม ๐.๑ % อัตรา ๓๐ กรัม ผสมน้ำ ๒๐๐ ลิตร รดปุ๋ยนี้ ๖ วันต่อ สัปดาห์

ตารางที่ ๑๒ รายชื่อลูกผสมชั่วที่ ๑, แม่พันธุ์, พ่อพันธุ์ และพันธุ์มาตรฐานของพริกหนุ่มเขียว

ลำดับที่	ลูกผสม	แม่พันธุ์	พ่อพันธุ์	พันธุ์มาตรฐาน
๑.	CA 1445-7-8 x CA 683-8-7	CA 1445-7-8	CA 683-8-7	จักรพรรดิ
๒.	CA 1445-7-8 x CA 1447-5-10	CA 1449-2-4	CA 1447-5-10	จอมทอง
๓.	CA 1445-7-8 x CA 1448-5-13	CA 1450-7-10	CA 1448-5-13	หยกสยาม
๔.	CA 1449-2-4 x CA 683-8-7			
๕.	CA 1449-2-4 x CA 1447-5-10			
๖.	CA 1449-2-4 x CA 1448-5-13			
๗.	CA 1450-7-10 x CA 683-8-7			
๘.	CA 1450-7-10 x CA 1447-5-10			
๙.	CA 1450-7-10 x CA 1448-5-13			



๓.๔ บันทึกลักษณะทางพืชสวนตาม IBPGR descriptor (1995) ของพันธุ์ พ่อ พันธุ์ แม่ และ ลูกผสมชั่วที่หนึ่ง

ลักษณะทรงพุ่ม ความสูงของต้น ความกว้างของทรงพุ่ม สีผลอ่อน สีผลแก่
ความยาวผล ความกว้างผล รูปร่างลักษณะผล การวางตัวของผล การติดผล น้ำหนัก
ผลผลิต และการเป็น หมั่นของเกสรเพศผู้ ดังนี้

๑. ช่อดอกและผล (inflorescence and fruit)

๑.๑. สีของผลอ่อน (fruit color in immature stage) คะแนน (๑) เขียว
(green), (๒) เหลือง(yellow), (๓) ส้ม(orange), (๔) แดง(red), (๕) ม่วง(purple), (๖) น้ำตาล(
brown), (๗) ดำ(black), (๘) สีเขียวอ่อน

๑.๒. สีผลแก่ (fruit color in mature stage) คะแนน (๑) เขียว(green), (๒)
เหลือง(yellow), (๓) ส้ม(orange), (๔) แดง(red), (๕) ม่วง(purple), (๖) น้ำตาล(brown), (๗) ดำ
(black), (๘) สีเขียวอ่อน

๑.๓. การวางตัวของผล (fruit position) คะแนน (๓) ห้อยลง(declining), (๕)
ระดับ ปานกลาง(intermediate), (๗) ผลตั้ง(erect)

๑.๔. ความยาวผล (fruit length) คะแนน (๑) สั้นมาก(น้อยกว่า ๑
ซม.), (๓) สั้น(น้อยกว่า ๕ ซม.), (๕) ปานกลาง(ประมาณ ๑๐ ซม.), (๗) ยาว(ประมาณ
๑๕ ซม.), (๙) ยาวมาก(มากกว่า ๒๕ ซม.)

๑.๕. ลักษณะผล (fruit shape) คะแนน (๑) ผลยาว(elongate), (๒) ผล
ป้อม (oblate), (๓) ผลกลม(round), (๔) ผลรูปกรวยปลายแหลม(conical), (๕) ผลที่หูดตัว
ในส่วนปลาย ผล(campanulate), (๖) ผลรูประฆัง (bell or blocky)

๑.๖. ลักษณะผลติดผล (fruit set) คะแนน (๓) ต่ำ(low), (๕) ปานกลาง
(intermediate), (๗) สูง(high)

๑.๗. ความเป็นหมั่นของเกสรเพศผู้ (male sterility) คะแนน (๐) ไม่มี
(absent), (๑) มี(present) ๑.๘. ความกว้างของผล (fruit width) วัดเป็นเซนติเมตรใน
ส่วนของผลที่กว้างที่สุด

๒. ลักษณะการเจริญเติบโตทางลำต้น (plant growth habit)

๒.๑ ลักษณะทรงพุ่ม (plant growth habit) คะแนน (๓) ต้นเตี้ยแผ่กิ่งก้านสาขา, (๕) ทรงพุ่ม(compact), (๗) ทรงต้นสูง(erect)

๒.๒ ความสูงของต้นต่อสัปดาห์ (plant height) วัดเป็นเซนติเมตรจากระดับผิวดินถึงส่วนสูง

๒.๓ ความกว้างทรงพุ่มต่อสัปดาห์ (plant width) วัดเป็นเซนติเมตรในส่วนที่กว้างสุด, ความยาวใบ, ความกว้างใบ

๒.๔ จำนวนวันที่ออกดอกแรก (Day of first flower)

๒.๕ จำนวนวันที่ออกดอก ๕๐%

๒.๖ ความยาวและความกว้างของผล

๒.๗ ความหนาของเนื้อผล

๒.๘ น้ำหนักผลเฉลี่ย

๒.๙ น้ำหนักผล/ต้น

๒.๑๐ จำนวนผล/ต้น

๒.๑๑ จำนวนผล/กก.

๒.๑๒ จำนวนเมล็ด/ผล

๒.๑๓ น้ำหนักเมล็ด ๑๐๐ เมล็ด (กรัม)

๓.๕ ประเมินความดีเด่นของลูกผสมชั่วที่ ๑

ประเมินความดีเด่นของลูกผสม (heterosis) ซึ่งคำนวณได้ดังนี้ (ดำเนิน, 2545)

$$\% \text{ heterosis} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยผลผลิตของลูกผสมต่อต้น} - \text{ค่าเฉลี่ยผลผลิตของพ่อต่อต้น}}{\text{ค่าเฉลี่ยของพ่อต่อต้น}} \times 100\%$$

๓.๖ **คำนวณความสามารถในการรวมตัวทั่วไป (general combining ability, gca) และความสามารถในการรวมตัวเฉพาะ (specific combining ability, sca)**

วิเคราะห์หาความแปรปรวนระหว่างแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์เพศผู้ปกติโดยวิธี Female x Male Analysis ดัดแปลงจากวิธีของ Kempthorne (1957) โดย female เป็นแม่พันธุ์ และเป็นพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมัน ๓ พันธุ์ ส่วน male เป็นพ่อพันธุ์เพศผู้ปกติ ๓ พันธุ์ลูกผสม หรือปฏิกริยาระหว่างแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์เพศผู้ปกติ เรียกว่า female x male ๙ พันธุ์ แล้วทำการ ประเมินความสามารถในการรวมตัวทั่วไปของแม่พันธุ์และ พ่อพันธุ์เพศผู้ปกติ และความสามารถ ในการ รวมตัวเฉพาะของพันธุ์ลูกผสม

การวิเคราะห์หาความแปรปรวนระหว่างแม่พันธุ์และพ่อพันธุ์เพศผู้ปกติโดย วิธี Female x Male Analysis ตามวิธีของ Kempthorne (1957) (ภาคผนวกที่ ๑)

๓.๗ **วัดคุณภาพสมบัติทางเคมีของผลของพริกหนุ่มเขียวหลังการเก็บเกี่ยว**

บันทึกคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยว ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ปริมาณวิตามินซี สีผิวและเนื้อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ ปริมาณน้ำและปริมาณแคบไซซิน ดังวิธีการต่อไปนี้

๑. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total soluble solids; TSS) โดยใช้เครื่องวัด ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (Digital refractometer) อ่านค่าจากน้ำคั้นของผลพริก แต่ ละซ้าที่ปั่นรวมกันด้วยเครื่องปั่นผักและผลไม้จนกระทั่งละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน มี หน่วยเป็น เปอร์เซนต์

๒. ปริมาณวิตามินซี วิเคราะห์หาด้วยวิธี 2,6-Dichlorophenol-Indophenol Visual Titration (Ranganna, 1986) โดยนำส่วนของพริกที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งละเอียดเป็น เนื้อเดียวกันมา ๑๐ กรัม แล้วเติมกรดออกซาลิกความเข้มข้น ๐.๔ เปอร์เซนต์ ให้ได้ปริมาตร เท่ากับ ๑๐๐ มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 บีบอัดสารละลายที่กรอง ได้มา ๑๐ มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอลความเข้มข้น ๐.๐๔ เปอร์เซนต์ จนถึงจุดยุติ ซึ่งสารละลายมีสีชมพูประมาณ ๑๕ วินาที แล้วคำนวณหา ปริมาณวิตามินซี โดยใช้ปริมาณ 2,6-ไดคลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอลที่ใช้กับสารตัวอย่างเทียบ กับ 2,6-ได คลอโรฟีนอล-อินโดฟีนอลที่ใช้กับวิตามินซีมาตรฐาน โดยคำนวณตามสูตร มี หน่วยเป็นมิลลิกรัม/ ๑๐๐ กรัมน้ำหนักสด ดังนี้

ปริมาตร indophenol dye a มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ ๑ มิลลิกรัม (จาก Standard)

ปริมาตร indophenol dye b มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ $(a \times b) / c$ มิลลิกรัม (จากสารละลายตัวอย่าง) เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลาย ๑๐ มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ c มิลลิกรัม

สารละลาย ๑๐๐ มิลลิลิตร มี ascorbic acid เท่ากับ $(c \times ๑๐๐) / ๑๐$ มิลลิกรัม เท่ากับ d มิลลิกรัม

เนื้อตัวอย่าง ๑๐ กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ d มิลลิกรัม

เนื้อตัวอย่าง ๑๐๐ กรัม มี ascorbic acid เท่ากับ $(d \times ๑๐๐) / ๑๐$ มิลลิกรัม เท่ากับ e มิลลิกรัม/๑๐๐ กรัม น้ำหนักสด

๓. สีผิวและสีเนื้อ โดยการวัดสีผิวภายนอกผลละ ๑ ตำแหน่ง จำนวน ๙ ผล/ซ้ำ ด้วยเครื่อง Chromameter ค่าที่ได้แสดงเป็น L^* , a^* , b^* แล้วคำนวณหาค่า Chroma และ Hue angle ซึ่งมีตำแหน่งบริเวณกลางผล

๔. ปริมาณคลอโรฟิลล์ ตามวิธีของ Whitham et al.(1971) โดยนำส่วนของพริก ที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันมา ๑ กรัม บดในโถรงบด ขณะบดเติมอะซีโตน ๘๐ เปอร์เซ็นต์ ลงไปเล็กน้อย เมื่อบดละเอียดให้กรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.๑ ล้าง และปรับปริมาตรด้วยอะซีโตนให้ได้ปริมาตร ๒๐ มิลลิลิตร ในกระบอกตวง นำสารละลายที่ กรองแล้วไปวัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น ๖๔๕ และ ๖๖๓ นาโนเมตร บันทึก ค่าที่ได้แล้วนำไปคำนวณตามสูตร มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/๑๐๐ กรัม น้ำหนักสด

สูตรคำนวณ คือ

$$\text{Chlorophyll a} = \frac{(12.7(\text{OD } 663) - 2.69(\text{OD } 645)) \times V}{1,000 \times W}$$

$$\text{Chlorophyll b} = \frac{(22.9(\text{OD } 645) - 4.68(\text{OD } 663)) \times V}{1,000 \times W}$$

$$\text{Total chlorophyll} = \frac{20.2(\text{OD } 645) + 8.02(\text{OD } 663) \times V}{1,000 \times W}$$

โดยที่ V คือ ปริมาตรของสารละลายที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

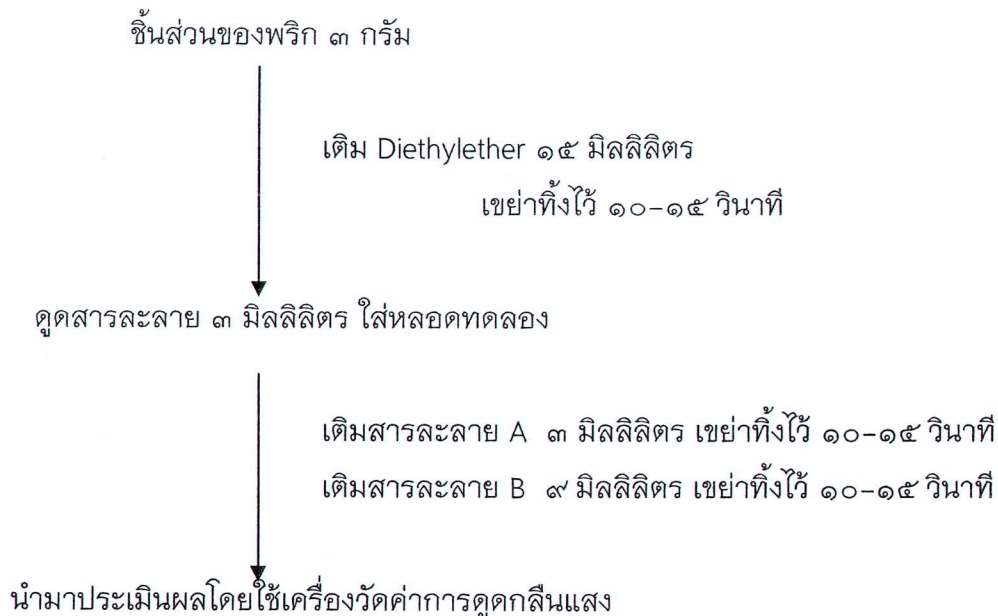
W คือ น้ำหนักของผลพริกที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ตามความยาวคลื่นที่กำหนด

๕. ปริมาณน้ำหรือความชื้น วิเคราะห์หาด้วยวิธีการอบแห้ง (Drying method) (ลักขณาและนิธิยา, ๒๕๔๔) โดยการชั่งน้ำหนักพริกใส่ลงในถุงกระดาษที่ผ่านการอบและทราบ น้ำหนักแล้ว นำถุงกระดาษไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ ๑๐๕ องศาเซลเซียส นาน ๒๔ ชั่วโมง นำออกจากตู้อบและปล่อยให้เย็นใน Desiccator แล้วชั่งหาน้ำหนักของของแข็งที่เหลืออยู่ คำนวณหา น้ำหนักที่หายไป และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นได้ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้นหรือปริมาณน้ำ} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่ใช้}}$$

๖. ปริมาณสารแคพไซซิน ตามวิธีการของ Anan *et al.* (1996) โดยนำส่วนของพริกที่ปั่นรวมกันจนกระทั่งผลละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันมา ๓ กรัม แช่ใน Diethylether ๑๕ มิลลิลิตร เขย่าและตั้งทิ้งไว้ ๑๐-๑๕ วินาที ใช้ปิเปตต์ดูดเอาส่วนที่เป็นของเหลวมา ๓ มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Sodium hydroxide ๐.๕ N ๓ มิลลิลิตร ทิ้งไว้ ๑๐ วินาที แล้วเติมสารละลาย Ferric chloride ๑ เปอร์เซ็นต์ กับสารละลาย Potassium ferricyanide ๑ เปอร์เซ็นต์ กับกรด Hydrochloric เข้มข้นที่เป็นอินดิเคเตอร์ ๓ มิลลิลิตร ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้





หมายเหตุ

๑. สารละลาย A ประกอบด้วย Sodium hydroxide ๒ กรัม และ Sodium chloride ๒ กรัม ละลายให้ เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ ๑๐๐ มิลลิลิตร

๒. สารละลาย B ประกอบด้วย Ferric chloride ๑ กรัม ในน้ำกลั่น ๑๐๐ มิลลิลิตร Potassium ferricyanide ๑ กรัม ในน้ำกลั่น ๑๐๐ มิลลิลิตร และไทเทรตด้วยกรด Hydrochloric เข้มข้น ๕ มิลลิลิตร โดยสาร B ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง เพราะเป็นสารที่มีสภาพไม่คงที่

หลังจากนั้นนำสารละลายที่ได้จากการสกัดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ๗๕๐ นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง เปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของ สารละลายแคบโซซิน มาตรฐาน

ตอนที่ ๔ ทดลองผลิตเมล็ดพันธุ์พริกผสมในแปลงเกษตรกร

โดยใช้พริก ๓ พันธุ์ ได้แก่ PEPAC32 ซึ่งเป็นพันธุ์เกษตรกรผู้เป็นหมัน (A line) และ พันธุ์ผสมเปิดที่ดี (C line) ๓ พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ CA1447-4-12-1, CA1447-8-12-8 และ CA1450-2-14-9 โดยสอนให้เกษตรกรจำนวน 10 ราย ซึ่งกำลังปลูกผักกาดเขียวปลีให้ชมการ ผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ ๑ เพาะเมล็ด เดือนธันวาคม ๒๕๕๓ และ ย้ายกล้าปลูกในแปลงที่ โรงดองหนองล่อง อำเภอยะยา จังหวัดเชียงรายเพื่อ ผลิตลูกผสมชั่วที่ ๑ ของ พันธุ์ PP32 x CA1447-4-12-1, PP32 x CA1447-8-12-8 และ PP32 x CA1450-2-14-9

ตอนที่ ๕ ผลิตเมล็ดพันธุ์พริก

ผลิตเมล็ดพันธุ์พริกผสมตัวเองโดยใช้มุ้งตาข่ายคลุมจำนวน ๖๐ พันธุ์และเมล็ดพันธุ์ ผสม เปิด ๔๔ พันธุ์ ใน พ.ศ. ๒๕๕๕ และ ผลิตเมล็ดพันธุ์พริกผสมตัวเอง พันธุ์ ๕๙ พันธุ์ ลูกผสมชั่วที่ ๑ โดยผสมข้ามระหว่างพันธุ์รักษาเพศผู้เป็นหมันและพันธุ์เพศผู้ปกติ และผลิตแม่ พันธุ์เพศผู้เป็นหมัน ๑๐ คู่ และลูกผสมกลับชั่วที่ ๒ และ ๓ โดยผสมข้ามระหว่างพันธุ์ลูกผสม กลับ และพันธุ์รักษาเพศผู้เป็น หมัน จำนวน ๓๕ พันธุ์ใน พ.ศ. ๒๕๕๔

ตอนที่ ๖ เชิญหน่วยงานเอกชนชมแปลงทดลอง

ได้เชิญหน่วยงานราชการและภาคเอกชนทั้งหมด ๑๓ หน่วยงาน ในวันที่ ๒๓ พฤศจิกายน ๒๕๕๒ และ ๔ มีนาคม ๒๕๕๓ เพื่อให้แต่ละหน่วยงานเลือกพันธุ์กรรมพริกที่ต้องการ โดยเชิญเจ้าหน้าที่จากหน่วยงานต่างๆ เลือกพันธุ์ที่ต้องการที่ศูนย์สาธิตและฝึกอบรมแม่เหียะคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ตอนที่ ๗ เสนอผลงาน

๑. เสนอผลงานที่ International Conference on Solanaceae Resistance Breeding Technologies, Genetics and Genomics February 17 -19, 2011, Le Meridien Hotel, Chiang Mai, Thailand เรื่อง Cytoplasmic male sterile and sterility maintainer cultivars of *Capsicum annuum* L. วันที่ ๑๗ กุมภาพันธ์ ๒๕๕๔ (ภาคผนวกที่ ๒ และ ๓)
๒. เสนอผลงานที่สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติเรื่อง "พันธุ์พริกใหญ่เกสรตัวผู้เป็นหมัน" วันที่ ๒๕ มีนาคม ๒๕๕๔ (ภาคผนวกที่ ๔)
๓. พิมพ์ตำราเรื่อง "พริก มะเขือเทศ" แจกให้ ๕ มหาวิทยาลัยในประเทศ

ตอนที่ ๘ จัดทะเบียนเป็นพันธุ์พืชใหม่เพื่อขอความคุ้มครองพันธุ์จากกรมวิชาการ-เกษตร

ตอนที่ ๙ ทำสัญญาขอใช้เชื้อพันธุ์กรรมพริก

ได้ขายลิขสิทธิ์การใช้เชื้อพันธุ์กรรมตั้งแต่ พ.ศ. ๒๕๕๑ ได้แก่พันธุ์พริก จำนวน ๒๖๐ สายพันธุ์ ให้แก่บริษัทจำนวน ๑๐ บริษัท