อิทธิพลของสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันที่มีผลต่อความเป็นหมันของเกสรเพศผู้ในการพัฒนาสายพันธุ์แม่ (A-line) ของพริก

EFFECTS OF MAINTAINER LINES TO MALE STERILITY FOR IMPROVEMENT OF FEMALE PLANTS IN CHILI PEPPER (*Capsicum* annuum L.)

*ปิยะพร พรมสุวรรณ์** *เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี*

Piyaporn Promsuwan, Chalermsri Nontaswatsri*

ภาควิชาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

Department of Horticultural, Faculty of Horticultural Production, Maejo University.

***Corresponding author, E-mail:** pi.promsuwan@gmail.com*

บทคัดย่อ

จากการตรวจสอบลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันในพริก 5 สายพันธุ์ (A-line) ที่ได้มาจากแหล่งต่างๆ คือ สายพันธุ์ PP1-PP5 พบว่าสายพันธุ์ PP2 และ PP4 จะเป็นหมันในฤดูร้อนและฤดูฝน แต่จะมีการสร้างละอองเกสรในฤดูหนาว ส่วนสายพันธุ์ PP1, PP3 และ PP5 จะเป็นหมันในทุกฤดู เมื่อทำการผสมกับสายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน (B-line) 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ PP6, PP7 และ PP8 เพื่อทดสอบอิทธิพลของสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันต่อความเป็นหมันของ A-line โดยตรวจสอบความเป็นหมันของลูกผสมในฤดูฝน ฤดูร้อน และฤดูหนาว พบว่าลูกผสมที่ใช้สายพันธุ์ PP6 เป็นพ่อจะให้ลูกผสมทั้งหมดมีเกสรเพศผู้เป็นหมันในทุกฤดู ส่วนลูกผสมที่ใช้สายพันธุ์ PP7 เป็นพ่อจะพบลูกผสมที่มีการสร้างละอองเกสรได้ในบางฤดูแต่ละอองเกสรไม่สามารถงอกได้เลย เมื่อใช้สายพันธุ์ PP8 เป็นพ่อ จะพบลูกผสมที่มีการสร้างละอองเกสรและงอกได้ดีในฤดูหนาว ส่วนในฤดูร้อนและฤดูฝนมีการสร้างละอองเกสร แต่ความสามารถในการงอกของหลอดละอองเกสรน้อยกว่าฤดูหนาว นอกจากนี้ลูกผสมเหล่านี้สามารถติดเมล็ดได้ ซึ่งแสดงให้เห็นอิทธิพลของสายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน ซึ่งมีผลต่อเสถียรภาพความเป็นหมันของเกสรเพศผู้ในการผลิตสายพันธุ์ A-line

คำสำคัญ: พริก เกสรเพศผู้เป็นหมัน สายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน

Abstract

The sterility in five male sterile lines (A-line; PP1-PP5) of chili pepper was investigated. It was shown that the PP2 and PP4 varieties were sterile in the hot and rainy seasons, but were able to produce pollen in the cold season. On the other hand, the PP1, PP3 and PP5 varieties were sterile in all seasons. These five male sterile lines were crossed with three maintainer lines (B-line; PP6-PP8) as male parent to examine effects of B-line to hybrid sterility in all seasons. The results revealed that the hybrids of the PP6 line were always sterile, while those of the PP7 line could produce pollen in some seasons but without germination. When the PP8 line was employed as the male parent, the hybrids

were able to generate pollen with better germination ability in the cold season than other time of the year, and also set seeds. Thus, this study showed that the B-line had several effects to the sterility in the A-line and hence, the A-line production.

Keywords: Chili Pepper, Male Sterile, Maintainer Line

บทนำ

ระบบเกสรเพศผู้เป็นหมัน เป็นระบบที่นำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตเมล็ดพันธุ์พริกลูกผสม เพื่อประหยัดเวลาและลดต้นทุนการผลิต ซึ่งการพัฒนาสายพันธุ์เกสรเพศผู้เป็นหมันนั้น จะต้องมีสายพันธุ์แม่ (A-line) สายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน (B-line) และสายพันธุ์เพศผู้ปกติ (C-line) [1] หากต้องการเพิ่มปริมาณสายพันธุ์แม่ที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมันนั้นจะต้องใช้สายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน B-line ซึ่งสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันที่ดี จะต้องทำให้สายพันธุ์แม่มีเกสรเพศผู้เป็นหมันอย่างสมบูรณ์ในทุกฤดูกาล เพื่อลดปัญหาพันธุ์ปนในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1

ระบบเกสรเพศผู้เป็นหมันในพริก ถูกค้นพบโดย Peterson [2] ซึ่งมี 2 ระบบ คือระบบ Genic Male Sterillity (GMS) ที่ถูกควบคุมโดยยีนในนิวเคลียส และระบบ Cytoplasmic Genetic Male Sterility (CGMS) ที่ถูกควบคุมโดยยีนในไซโทพลาซึมและยีนในนิวเคลียส ซึ่งสภาพแวดล้อมมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะเพศผู้เป็นหมันเช่นกัน ในปี ค.ศ. 1997 Shifriss [3] ทำการศึกษาความเป็นหมันในพริก (*Capsicum annuum* L.) พบว่าการถ่ายทอดลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมัน เกิดจากการควบคุมโดยยีนในนิวเคลียสและยีนในไซโทพลาซึม ซึ่งจะต้องมีสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันไว้ เพื่อคงความเป็นหมันของสายพันธุ์แม่ (A-line) ซึ่งลักษณะความเป็นหมันที่ถูกนำไปใช้มากในปัจจุบัน เป็นลักษณะความเป็นหมันที่ควบคุมด้วยยีนในนิวเคลียสและยีนในไซโทพลาซึม นอกจากนี้ Lee และคณะ [4] รายงานว่าระบบเพศผู้เป็นหมันในไซโทพลาซึมถูกควบคุมด้วยยีนหลัก (Restorer-of-fertility, *Rf*) และยีนประกอบ (modifiers) หลายยีน และสภาพแวดล้อมยังมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะเพศผู้เป็นหมัน ซึ่งสอดคล้องกับ Lui และ Gniffke (2004) [5] ที่รายงานว่าอุณหภูมิต่ำมีผลทำให้พริกที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน สามารถเกิดการแสดงออกของลักษณะเกสรเพศผู้ปกติได้ นอกจากนี้ Ma และคณะ [6] ทำการศึกษา สายพันธุ์รักษาความเป็นหมันและสายพันธุ์แก้ความเป็นหมันในระบบเกสรเพศผู้เป็นหมันของพริก โดยพบว่าเมื่อนำสายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน (B-line) ผสมกับสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน (A-line) จะให้ลูกผสมทั้งที่มีเกสรเพศผู้ปกติและเกสรเพศผู้เป็นหมัน

ยีน ψatp6-2 เป็นยีนที่พบในไมโทคอนเดรีย Kim และคณะ [8-9] ได้ศึกษาเกี่ยวกับยีน ψatp6-2 ในพริก ซึ่งสามารถตรวจสอบลักษณะความเป็นหมันของเกสรเพศผู้ในพริกได้ นอกจากนี้ มีการใช้ยีนนี้ตรวจสอบความเป็นหมันในพืชอื่น เช่น ดอกทานตะวัน ข้าวโพด และยาสูบ เป็นต้น

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาอิทธิพลของสายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน (B-line) ที่มีผลต่อความเป็นหมันของลูกที่ได้จากการผสมกับสายพันธุ์เกสรเพศผู้เป็นหมัน (A-line)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การตรวจสอบความเป็นหมันของสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน

ตรวจสอบการมีเกสรเพศผู้เป็นหมันโดยนำสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมันจากแหล่งต่าง ๆ (รวบรวมโดย บริษัท ฮอทิเจนเนติคส์ รีเสิร์ช (เอส.อี.เอเชีย) จำนวน 5 สายพันธุ์ คือ PP1, PP2, PP3, PP4 และ PP5 มาปลูกและตรวจสอบความเป็นหมัน ในฤดูฝนระหว่างเดือนกรกฎาคม ถึงเดือนตุลาคม ซึ่งมีอุณหภูมิต่ำสุด – สูงสุดที่ 18.70 – 44.44 ˚C ฤดูหนาวระหว่างเดือนพฤศจิกายน ถึงเดือนกุมภาพันธ์ มีอุณหภูมิต่ำสุด – สูงสุดที่ 8.59 – 36.88 ˚C และฤดูร้อนระหว่างเดือนมีนาคม ถึงเดือนมิถุนายน มีอุณหภูมิต่ำสุด – สูงสุดที่ 12.58 – 41.10 ˚C โดยทำการศึกษาความสามารถในการสร้างละอองเกสร ความมีชีวิตของละอองเกสร ความสามารถในการงอกของละอองเกสร และความสามารถในการผสมตัวเองโดยดำเนินการดังนี้

1.1 การตรวจสอบความมีชีวิตของละอองเกสร

เขี่ยละอองเกสรเพศผู้ของพริกลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้นย้อมสีด้วย Aceto-carmine ประมาณ 20 นาที นำไปส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูความมีชีวิตของละอองเกสร

1.2 การตรวจสอบความสามารถในการงอกของละอองเกสร

เลี้ยงละอองเกสรของพริก โดยใช้อาหารสังเคราะห์ร่วมกับน้ำตาลซูโครสที่ระดับความเข้มข้น 10% แล้วนำละอองเกสรเขี่ยลงบนแผ่นสไลด์ ตามวิธีการ Hanging drop technique ภายใต้ความชื้นสัมพัทธ์ 100% นาน 3-5 ชั่วโมง นำแผ่นสไลด์ไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อดูการงอกของหลอดละอองเกสร

1.3 การตรวจสอบความสามารถในการผสมตัวเองและติดเมล็ด

สุ่มดอกพริกเบอร์ PP1-PP5 เพื่อผสมตัวเองเบอร์ละ 100 ดอก ส่วนคู่ผสมอื่นๆ สุ่มดอกพริกเพื่อผสมตัวเองต้นละ 30 ดอก เพื่อคำนวณหาเปอร์เซนต์การผสมตัวเองติด และจำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล

2. การตรวจสอบอิทธิพลของสายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน (B-line) ต่อสายพันธุ์เกสรเพศผู้เป็นหมัน (A-line) ในรุ่นลูก

สร้างลูกผสมโดยทำการผสมแบบพบกันหมด (Diallel cross) ใช้สายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน (B-line) คือ สายพันธุ์ PP6, PP7 และ PP8 เป็นสายพันธุ์พ่อ และสายพันธุ์เกสรเพศผู้เป็นหมัน (PP1 - PP5) เป็นสายพันธุ์แม่ จากนั้นทำการศึกษาความสามารถในการสร้างละอองเกสร ความมีชีวิตของละอองเกสร ความสามารถในการงอกของละอองเกสร และความสามารถในการผสมตัวเองติดในลูกผสม โดยใช้วิธีการเช่นเดียวกับการตรวจสอบความเป็นหมันของสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมัน

สกัดดีเอ็นเอของพริกโดยใช้ใบอ่อนจากต้นพริกใส่ในหลอด microcentrifuge ขนาด 1.5 มิลลิลิตร บดร่วมกับ extraction buffer จนชิ้นส่วนใบอ่อนพืชละเอียด จากนั้นเติม Phenol : Chloroform : Iso-amyl alcohol (25:24:1) ลงไป นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 12,000 – 15,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายส่วนใส เติม Ethanol 95% นำไป centrifuge ด้วยความเร็ว 12,000 – 15,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ล้างดีเอ็นเอด้วย Ethanol 95% และ 70% ละลายดีเอ็นเอด้วย TE buffer ตรวจสอบความเข้มข้นและคุณภาพของดีเอ็นเอ ด้วยเครื่อง Single Beam UV-VIS spectrometer Drawell รุ่น T-6 โดยใช้ความเข้มข้นของดีเอ็นเอเท่ากับ 20 ng/μl

การตรวจสอบลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันโดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีน ψatp6-2 (Forward: 5'-GTAGTTCATTCGGACCTAGTAG-3' และReverse: 5'-TGGATCTCGCTATTAACCAC-3') [7] โดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ ประกอบด้วยขั้น pre-denature ที่อุณหภูมิ 95 ˚C นาน 5 นาที ขั้น denature ที่อุณหภูมิ 95 ˚C นาน 30 วินาที

ขั้น annealing ที่อุณหภูมิ 58 ˚C นาน 30 วินาที ขั้น extension ที่อุณหภูมิ 72 ˚C นาน 2 นาที เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจำนวน 35 รอบ และขั้น final extension ที่อุณหภูมิ 72 ˚C นาน 10 นาที ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ รุ่น MJ Mini Personal Thermal Cycler (BIO-RAD) จากนั้นตรวจสอบดีเอ็นเอที่ได้จากการทำพีซีอาร์ โดยการทำเจลอิเล็กโตรโฟเรซิส (ความเข้มข้นของ agarose gel 0.8%) ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอภายใต้แสง UV และบันทึกภาพ โดยใช้เครื่อง Gel documentation รุ่น Gene Flash (Syngene Bio Imaging)

ผลการวิจัย

จากการตรวจสอบความเป็นหมันของเกสรเพศผู้ในสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมันจำนวน 5 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ PP1 – PP5 โดยทำการตรวจสอบความเป็นหมันใน 3 ฤดู พบว่าสายพันธุ์ PP1, PP3 และ PP5 มีระดับความเป็นหมันที่ระดับ 0 คือไม่มีการสร้างละอองเกสรในทั้ง 3 ฤดู (ตารางที่ 1) ส่วนสายพันธุ์ PP2 และ PP4 พบว่ามีการสร้างละอองเกสรในฤดูหนาว โดยละอองเกสรเหล่านั้นมีชีวิต สามารถงอกหลอดละอองเกสรได้ และสามารถผสมตัวเองได้ โดยติดเมล็ดสูงถึง 6 และ 27% ตามลำดับ และเมื่อทำการผสมสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์กับสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันจำนวน 3 สายพันธุ์ คือ PP6, PP7 และ PP8 แบบพบกันหมด และทำการตรวจสอบความเป็นหมันของเกสรเพศผู้ของลูกผสม พบว่าเมื่อใช้สายพันธุ์ PP6 เป็นพ่อ จะให้ลูกผสมทั้งหมดที่ไม่มีการสร้างละอองเกสรในทุกฤดู ส่วนสายพันธุ์ PP7 เป็นพ่อ จะให้ลูกผสมที่มีการกระจายตัวของลักษณะเพศผู้เป็นหมันในแนวทางเดียวกัน คือ พบลูกผสมบางต้นสามารถสร้างละอองเกสรได้ในฤดูต่างๆ และละอองเกสรมีชีวิตแต่ไม่สามารถงอกหลอดละอองเกสรได้ (ตารางที่ 2) ส่วนลูกผสมของสายพันธุ์ PP8 เมื่อผสมกับสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ พบว่าทุกฤดูพบต้นที่สามารถสร้างละอองเกสร ละอองเกสรมีชีวิต และสามารถงอกได้ทุกฤดู (ตารางที่ 2) การระบุระดับความเป็นหมันของเกสรเพศผู้เป็น 0, 1 และ 2 นั้น อ้างอิงตาม Lui และ Gniffke [5] นอกจากนี้ เมื่อศึกษาถึงการผสมตัวเองติดของลูกผสม พบว่ามีเพียงลูกผสมจากสายพันธุ์พ่อ PP8 เท่านั้น ที่พบลูกผสมที่สามารถผสมตัวเองติดและได้เมล็ดที่สามารถงอกได้ในฤดูฝนและฤดูหนาว (ตารางที่ 3)

จากการแสดงออกของลักษณะเพศผู้เป็นหมันในลูกผสมของสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมันกับสายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน แสดงให้เห็นอิทธิพลของสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันต่อลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันของลูกผสมอย่างชัดเจน กล่าวคือ หากสายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน มีความสามารถในการรักษาความเป็นหมันได้ในระดับ 0 จะทำให้ลูกผสมทั้งหมดไม่มีการสร้างละอองเกสรเลยในทุกฤดู ไม่ว่าสายพันธุ์แม่ (A-line) จะมีระดับความเป็นหมันที่ระดับ 0, 1 หรือ 2 ก็ตาม ส่วนสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันที่มีความสามารถในการรักษาความเป็นหมันได้ในระดับ 1 (มีการสร้างละอองเกสรแต่ละอองเกสรไม่งอก) ก็พบว่าลูกที่ได้จะมีการกระจายตัวตั้งแต่ไม่สร้างละอองเกสรจนถึงมีการสร้างละอองเกสรแต่ไม่สามารถงอกหลอดละอองเกสรได้ (ความเป็นหมันระดับ 1) ไม่ว่าจะผสมกับสายพันธุ์แม่ที่มีระดับความเป็นหมัน 0 1 หรือ 2 และสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันที่มีความสามารถในการรักษาความเป็นหมันในระดับ 2 จะพบลูกที่มีระดับความเป็นหมันในระดับ 2 เมื่อผสมกับสายพันธุ์แม่ที่มีระดับความเป็นหมัน 0 1 หรือ 2 เช่นกัน จะเห็นได้ว่าลูกที่ได้จากสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันที่มีความสามารถในการรักษาความเป็นหมันในระดับใด จะพบลูกที่มีระดับความเป็นหมันในระดับเดียวกับพ่อ Peterson [2] ได้กล่าวว่าลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันของพริก

ในระบบ CGMS ที่ควบคุมด้วยยีนหลักที่พบในนิวเคลียสเป็นยีนด้อย คือ ยีน *rf* ซึ่งทำงานร่วมกับยีนในไซโทพลาซึมที่ควบคุมความเป็นหมัน คือ ยีน *S* นอกจากนี้ยังพบว่ามียีนอีก 1 ตำแหน่ง (Minor gene) ซึ่งควบคุมด้วยยีนเด่นจะแสดงออกเมื่อยีนหลักเป็นยีนด้อย ซึ่งแนวคิดนี้สอดคล้องกับผลการกระจายตัวของลูกผสมในการวิจัยนี้ นักปรับปรุงพันธุ์พืชมักจะมองข้ามอิทธิพลของยีนรองของสายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน เนื่องจากเข้าใจว่ายีนที่ควบคุมความเป็นหมันนั้นควบคุมด้วยยีนด้อยเพียง 1 คู่ (*msms*) และทำงานร่วมกับยีน *S* เท่านั้น ดังนั้นสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันก็เพียงแต่มีพันธุกรรมคล้ายสายพันธุ์ A-line ซึ่งมียีนในนิวเคลียสเป็น *msms* และมียีนในไซโทพลาซึมเป็นปกติ (*N*) ก็เพียงพอ โดยไม่สนใจถึงอิทธิพลของยีนรอง ซึ่งทำให้การควบคุมลักษณะเพศผู้เป็นหมันได้ไม่ดีพอ หากเข้าใจอิทธิพลของยีนรองก็จะสามารถคัดเลือกสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันที่ควบคุมความเป็นหมันได้สมบูรณ์ ซึ่งจะทำให้ได้สายพันธุ์ A-line ที่มีความเป็นหมันที่สมบูรณ์และไม่ผันแปรตามอุณหภูมิ ทำให้ไม่มีปัญหาการปนของสายพันธุ์ เนื่องจากสายพันธุ์ A-line สร้างเกสรเพศผู้

จากการศึกษานี้ สายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน PP6 นั้นรักษาความเป็นหมันได้ดีที่สุด ให้ลูกที่มีความเป็นหมันที่สมบูรณ์ในทุกฤดู จึงเหมาะสำหรับใช้เป็นสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันที่ดีได้

การตรวจสอบความเป็นหมันโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล พบว่าการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยเทคนิคพีซีอาร์ด้วยไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีน ψatp6-2 สามารถแสดงแถบดีเอ็นเอขนาด 3032 คู่เบส Kim และคณะ [8] ได้ในต้นพริกที่ไม่มีการสร้างละอองเกสรและมีการสร้างละอองเกสรแต่ละอองเกสรไม่งอก ส่วนต้นใดที่พบละอองเกสรที่งอกได้จะไม่พบแถบดีเอ็นเอ (ภาพที่ 2) ดังนั้นจึงสามารถนำไพรเมอร์นี้มาช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์แม่ที่เป็นหมันได้

ตารางที่ 1 ความมีชีวิตและความงอกของสายพันธุ์แม่ทั้ง 5 สายพันธุ์ในฤดูหนาว

สายพันธุ์	% ความมีชีวิตของละอองเกสร	% ความงอกของละอองเกสร	% การผสมตัวเองติด
PP1	0	0	0
PP2	3.70	0.16	6
PP3	0	0	0
PP4	3.10	0.23	27
PP5	0	0	0

หมายเหตุ : ฤดูร้อนและฤดูฝน ไม่มีการสร้างละอองเกสร

ตารางที่ 2 ความมีชีวิตและความงอกของละอองเกสรเพศผู้ของลูกผสม

สายพันธุ์ลูกผสม	จำนวนต้นทั้งหมด	ฤดูฝน		ฤดูหนาว		ฤดูร้อน		ระดับความเป็นหมัน
		มีชีวิต:ไม่มี	งอก:ไม่งอก	มีชีวิต:ไม่มี	งอก:ไม่งอก	มีชีวิต:ไม่มี	งอก:ไม่งอก	
PP1xPP6	28	-	-	-	-	-	-	0
PP2xPP6	23	-	-	-	-	-	-	0
PP3xPP6	30	-	-	-	-	-	-	0
PP4xPP6	20	-	-	-	-	-	-	0
PP5xPP6	30	-	-	-	-	-	-	0
PP1xPP7	20	-	-	5 : 15	-	1 : 19	-	1
PP2xPP7	30	7 : 23	-	26 : 4	-	13 : 17	-	1
PP3xPP7	20	-	-	10 : 10	-	-	-	1
PP4xPP7	30	5 : 25	-	13 : 17	-	19 : 11	-	1
PP5xPP7	30	-	-	-	-	-	-	0
PP1xPP8	30	8 : 22	-	29 : 1	28 : 2	2 : 28	-	2
PP2xPP8	30	23 : 7	15 : 15	30 : 0	24 : 6	8 : 15*	-	2
PP3xPP8	30	6 : 24	5 : 25	30 : 0	24 : 6	3 : 23*	-	2
PP4xPP8	30	6 : 24	1 : 29	29 : 1	25 : 5	10:18*	1 : 27*	2
PP5xPP8	30	-	-	19 : 11	16 : 14	-	-	2

หมายเหตุ * มีต้นพริกตายในฤดูร้อนเนื่องจากมีอายุมาก และติดเชื้อไวรัส

- ไม่มีการสร้างละอองเกสรเพศผู้

ระดับ 0 ไม่มีละอองเกสร

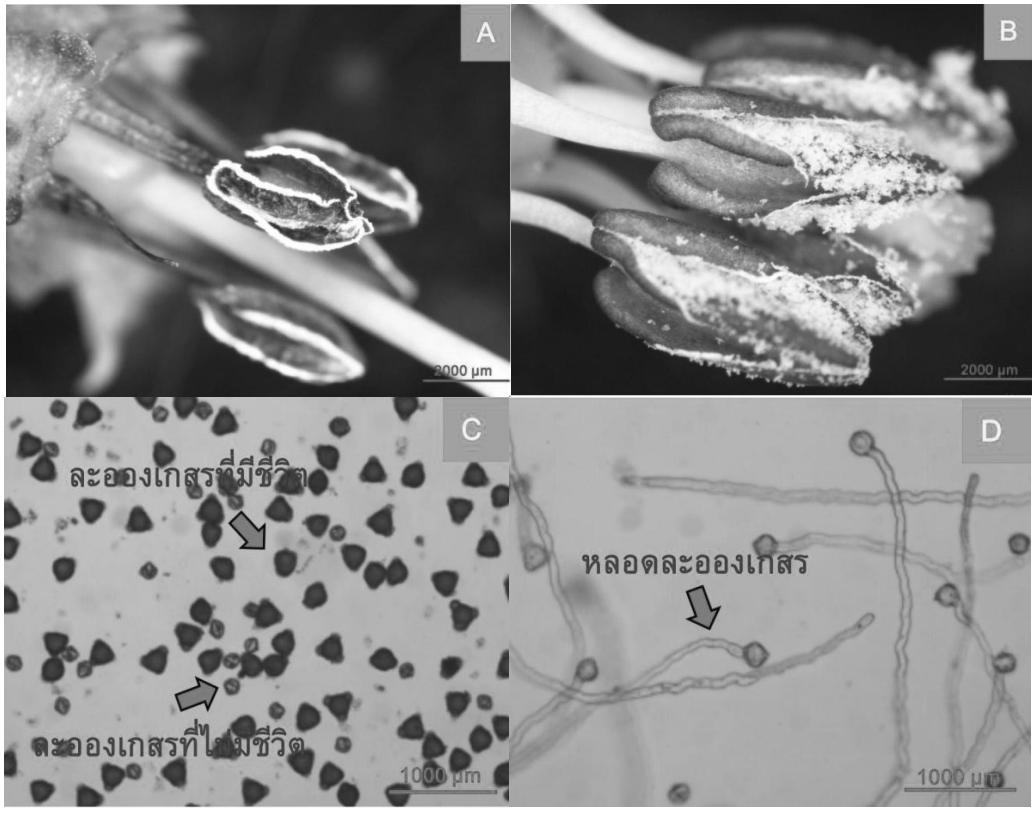
ระดับ 1 มีละอองเกสรแต่ละอองเกสรไม่สามารถงอกได้

ระดับ 2 มีละอองเกสรและละอองเกสรสามารถงอกได้

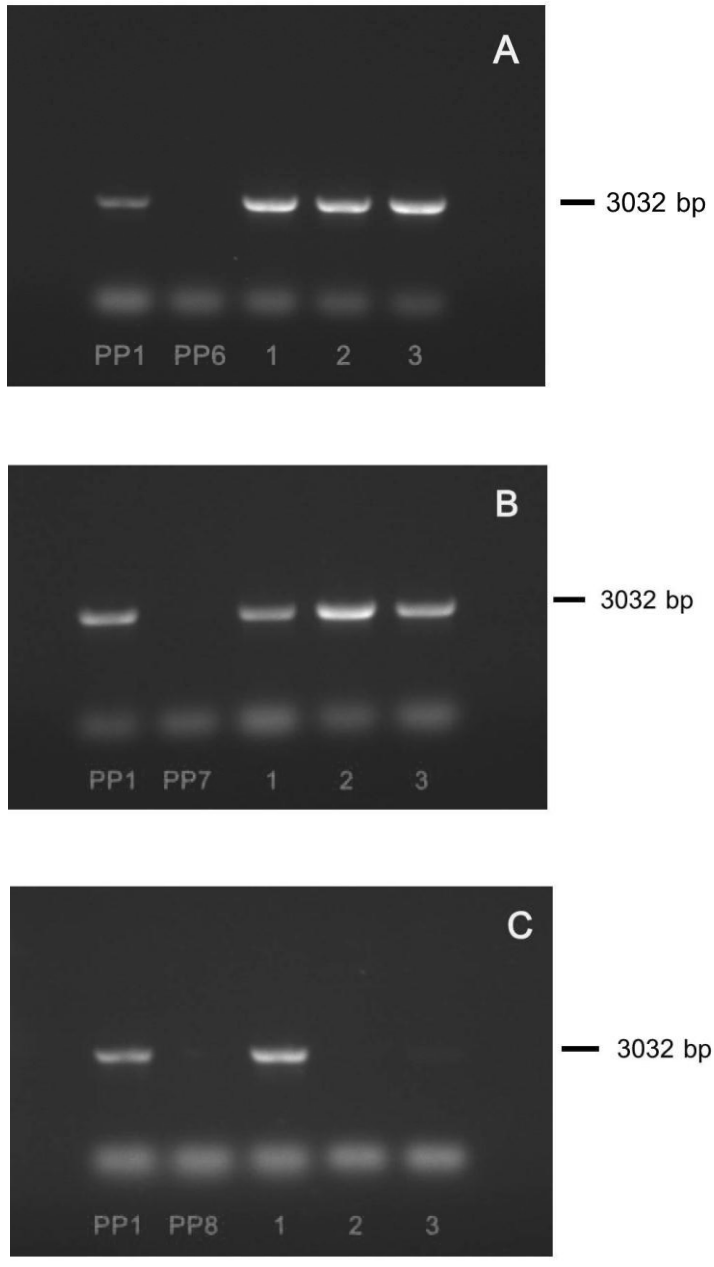
ตารางที่ 3 เปอร์เซ็นต์การผสมติด จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล และเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด

สายพันธุ์ลูกผสม	% การผสมติด		จำนวนเมล็ดเฉลี่ยต่อผล		% ความงอกของเมล็ด	
	ฤดูฝน	ฤดูหนาว	ฤดูฝน	ฤดูหนาว	ฤดูฝน	ฤดูหนาว
PP1xPP8	0	10.00	0	18.75	0	77.21
PP2xPP8	11.90	18.67	12.87	16.08	82.52	73.83
PP3xPP8	0	15.56	0	13.29	0	71.10
PP4xPP8	6.67	21.11	18.50	17.34	86.49	68.18
PP5xPP8	0	12.50	0	5.75	0	61.28

หมายเหตุ : สายพันธุ์ลูกผสม PP6 และ PP7 ไม่สามารถผสมตัวเองติดในทุกฤดู



ภาพที่ 1 องค์ประกอบของเกสรเพศผู้ของพริก (A) ลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมัน (B) เกสรเพศผู้ปกติ (C) ลักษณะละอองเกสรที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต และ (D) การงอกของหลอดละอองเกสรเพศผู้



ภาพที่ 2 การตรวจสอบลักษณะของเกสรเพศผู้ โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีน ψatp6-2 สามารถแสดงแถบดีเอ็นเอขนาด 3032 คู่เบส (A) PP1 คือสายพันธุ์แม่ที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน, PP6 คือสายพันธุ์พ่อที่มีเกสรเพศผู้ปกติ และ 1,2,3 คือ ลูกผสม PP1xPP6 ที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน (B) PP1 คือสายพันธุ์แม่ที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน, PP7 คือสายพันธุ์พ่อที่มีเกสรเพศผู้ปกติ และ 1,2,3 คือ ลูกผสม PP1xPP7 ที่มีการสร้างละอองเกสรเพศผู้แต่ไม่สามารถงอกได้ และ (C) PP1 คือสายพันธุ์แม่ที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน PP8 คือสายพันธุ์พ่อที่มีเกสรเพศผู้ปกติ 1 คือลูกผสม PP1xPP8 ที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมัน 2 และ 3 คือลูกผสม PP1xPP8 ที่มีการสร้างละอองเกสรเพศผู้ที่สามารถงอกได้

สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษาอิทธิพลของสายพันธุ์รักษาความเป็นหมันที่มีผลต่อความเป็นหมันของเกสรเพศผู้ในการพัฒนาสายพันธุ์แม่ (A-line) ของพริก พบว่าลูกผสมที่ใช้สายพันธุ์ PP6 เป็นพ่อ จะให้ลูกผสมทั้งหมดมีเกสรเพศผู้เป็นหมันในทุกฤดู ส่วนลูกผสมที่ใช้สายพันธุ์ PP7 เป็นพ่อ จะพบลูกผสมที่มีการสร้างละอองเกสรได้ในบางฤดู แต่ละอองเกสรไม่สามารถงอกได้เลย เมื่อใช้สายพันธุ์ PP8 เป็นพ่อ จะพบลูกผสมที่มีการสร้างละอองเกสรและงอกได้ดีในฤดูหนาว ส่วนในฤดูร้อนและฤดูฝนมีการสร้างละอองเกสร แต่ความสามารถในการงอกของหลอดละอองเกสรน้อยกว่าฤดูหนาว นอกจากนี้ลูกผสมเหล่านี้สามารถติดเมล็ดได้ ซึ่งแสดงให้เห็นอิทธิพลของสายพันธุ์รักษาความเป็นหมัน ซึ่งมีผลต่อเสถียรภาพความเป็นหมันของเกสรเพศผู้ในการผลิตสายพันธุ์ A-line และสามารถใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีน ψatp6-2 มาช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์แม่ที่เป็นหมันได้ โดยสามารถแสดงแถบดีเอ็นเอได้ในต้นพริกที่ไม่มีการสร้างละอองเกสรและมีการสร้างละอองเกสรแต่ละอองเกสรไม่งอก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณาจารย์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพืชสวน คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ช่วยให้คำแนะนำ สั่งสอน และอนุญาตให้ใช้สถานที่และอุปกรณ์ในงานวิจัย และขอขอบคุณบริษัท ฮอทิเจนเนติคส์ รีเสิร์ช (เอส.อี.เอเชีย) จำกัด ที่ช่วยสนับสนุนให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

[1] มณีฉัตร นิกรพันธุ์. (2541). *การปรับปรุงพันธุ์และผลิตเมล็ดพันธุ์ผักลูกผสม*. เชียงใหม่: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

[2] Peterson, P. A. (1958). Cytoplasmically inherited male sterility in *Capsicum*. The American Naturist. 92: 111-119.

[3] Shifriss. (1997). Male sterility in pepper (*Capsicum annuum* L.). Euphytica. 93: 83-88.

[4] Lee, J., Yoon, J. B., and Park, H. G. (2008). A CAPS marker associated with the partial restoration of cytoplasmic male sterility in chili pepper (*Capsicum annuum* L.). *Molecular Breeding*. 21(1): 95-104.

[5] Liu, W. Y., and Gniffke, P. A. (2004). Stability of AVRDC'S cytoplasmic male sterile (CMS) pepper lines grown under low temperatures. *Capsicum* and eggplant newsletter. 23: 85-88.

[6] Ma, Y., Huang, W., Ji, J. J., Gong, Z. H., Yin, C. C., Ahmed, S. S., and Zhao, Z. L. (2013). Maintaining and restoring cytoplasmic male sterility systems in pepper (*Capsicum annuum* L.). *Genetics and molecular research*. 12(3): 2320-2331.

[7] Kim, Y. M., Jo, Y. D., Know, J. K., Kim, I. T., and Kang, B. C. (2013). Characterization and inheritance of a novel thermo-sensitive restoration of cytoplasmic male sterility in *Capsicum annuum*. Scientia horticulturae. 164: 512-520.

[8] Kim, D. H. and Kim, B. D. (2006). The organization of mitochondrial atp6 gene region in male fertile and CMS lines of pepper (*Capsicum annuum* L.). *Curr Genet*. 49: 59-67.

[9] Kim, D. H., Kang, J. G.; and Kim, B. D. (2007). Isolation and characterization of the cytoplasmic male sterility-associated *orf*456 gene of Chile pepper (*Capsicum annuum* L.). *Plant Mol. Biol*. 63: 519-532.