แบบ 1

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **ชุดโครงการวิจัย** : 30 วิจัยและพัฒนาพริก

2. **โครงการวิจัย** : 84 การปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มผลผลิตพริก
   กิจกรรม : 2. การปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อโรคแอนแทรคโนสและโรคอื่นๆ
   กิจกรรมย่อย : 2.2 การปรับปรุงพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อโรคอื่นๆ

3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การผสมและคัดเลือกพันธุ์พริกชี้ฟ้าให้ต้านทานโรคใบด่างแตง (CMV)
   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Hybridization and Selection of Chili (*Capsicum annuum* L.) for Cucumber Mosaic Disease Resistance.

4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

หัวหน้าการทดลอง	: นายอำนวย อรรถลังรอง	สถาบันวิจัยพืชสวน
ผู้ร่วมงาน	: นายปัญญา ธยามานนท์	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร
	นางสาววันเพ็ญ ศรีทองชัย	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
	นายสิทธิศักดิ์ แสไพศาล	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

5. **บทคัดย่อ**

การผสมและคัดเลือกพริกชี้ฟ้าต้านทานโรค 2 สายพันธุ์และพริกชี้ฟ้าที่ให้ผลผลิตที่เหมาะสมในการปลูกผลิตเป็นพริกสด พริกแห้ง และพริกซ๊อส และคัดเลือกพริกลูกผสมดังกล่าวให้ต้านทานต่อโรคใบด่างแตงในชั่วที่ 2-4 โดยปลูกเชื้อด้วยวิธีกล เปรียบเทียบกับพันธุ์ VC27a หรือ RMN101 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอ และตรวจสอบการติดเชื้อของต้นที่คัดเลือกด้วยวิธี ELISA ดำเนินการระหว่างปี 2553-2556 ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช พบว่า พันธุ์ VC27a หรือ RMN101 แสดงอาการใบด่างอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาสองสัปดาห์ และเกิดโรคเกือบทั้งหมด แต่พริกลูกผสมที่คัดเลือกเกิดโรคช้ากว่าและแสดงอาการใบด่างแตกต่างกัน การคัดเลือกในชั่วที่ 3 และ 4 พบว่า มีความต้านทานของพริกชี้ฟ้าที่คัดเลือกต่อโรคใบด่างแตงโดยเฉลี่ย 30.19 และ 51.57 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และความต้านทานต่อการติดเชื้อ CMV ของพริกชี้ฟ้าที่คัดเลือกโดยเฉลี่ย 65.10 และ 89.41 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ คัดเลือกพริกชี้ฟ้าไว้ 9 สายพันธุ์ ได้แก่ PC310-12-02, PC309-26-08, PC310-14-05, PC310-12-04, PC310-05-11, PC310-12-06, PC312-02-06, PC310-05-01, PC313-08-02 และ PC310-14-02 ซึ่งมีความต้านทานต่อโรคใบด่างแตงระหว่าง 58.14-83.33 เปอร์เซ็นต์ โดยต้นคัดเลือกส่วนใหญ่ไม่ติดเชื้อไวรัส จึงควรนำพริกชี้ฟ้าทั้งหมดดังกล่าวไปปลูกคัดเลือกและทดสอบผลผลิตต่อไป

6. คำนำ

โรคที่เกิดจากไวรัสเป็นปัญหาในการผลิตพืชหลายชนิด เมื่อพืชเกิดโรคแล้วมักทำให้มีการเจริญเติบโตลดลง ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตลดลงด้วยเช่นกัน สำหรับการผลิตพริกของประเทศไทย โรคใบด่างซึ่งเกิดจากไวรัสมีเชื้อสาเหตุแตกต่างกันมากกว่า 10 ชนิด ซึ่งแต่ละชนิดและสายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุ (isolate / strain) มีการระบาด และความรุนแรงของโรคแตกต่างกัน ปัจจัยที่ทำให้เกิดความแตกต่างกัน ได้แก่ พันธุ์พริก พื้นที่ปลูก และระยะเวลาในการปลูก ซึ่งโดยทั่วไปในแปลงการผลิตมักพบเชื้อไวรัสที่เป็นปัญหาในการผลิตพริกมากกว่า 1 ชนิด ในการทำความเสียหายให้กับพริก ไวรัสที่มีการระบาดมากที่สุดสามอันดับแรกได้แก่ ChiVMV, CMV และ PVY พบในอัตรา 56.96, 26.67 และ 24.35 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (เครือพันธุ์ และคณะ, 2536)

โรคใบด่างแตงมีเชื้อสาเหตุจาก ไวรัสใบด่างของแตง (Cucumber mosaic virus, CMV) มีอนุภาครูปทรงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 นาโนเมตร จัดอยู่ในสกุล Cucumovirus มีการแพร่ระบาดในพืชมากกว่า 40 วงศ์ และเป็นปัญหาในพืชผักและพืชเศรษฐกิจ หลายชนิด เช่น แตงกวา ฟักทอง พริก มะเขือเทศ ยาสูบ และกล้วย ไวรัสชนิดนี้สามารถถ่ายทอดได้ด้วยวิธีกล มีเพลี้ยอ่อนมากกว่า 60 ชนิดเป็นพาหะ ที่สำคัญ ได้แก่ เพลี้ยอ่อนยาสูบ (Myzus persicae), และเพลี้ยอ่อนฝ้าย (Aphis gossypii) และมีการถ่ายทอดโรคแบบ non-persistent ระยะเวลาในการรับเชื้อและการถ่ายทอดเชื้อของแมลงนานเพียงวินาที-นาที (Edward, 1997; Anonymous, 2003) ลักษณะอาการของโรคมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด (strain) ของเชื้อที่ได้รับและชนิดของพืช แต่อาการโดยทั่วไป พบว่า ใบพืชจะแสดงอาการด่าง บางครั้งพบจุดแผลตายเฉพาะแห่งสีน้ำตาลบนใบ ใบเสียรูป บิดเบี้ยว อาจลดขนาด ใบเรียวเล็กเป็นเส้นคล้ายหางหนูหรือเชือกผูกรองเท้า (shoe-string) เนื่องจากเนื้อใบไม่เจริญเติบโตแต่เส้นใบกลับเจริญเป็นปกติ ใบร่วงหลุดได้ง่าย ดอกร่วง ผลมีขนาดเล็ก ปริมาณผลพริกลดลง ผลอาจมีอาการด่างและผิวขรุขระ บิดเบี้ยว ต้นแคระแกร็น (เครือพันธุ์ และวันเพ็ญ, 2545; Nono Womdim, 2001; Berke et al., 2003) ผลผลิตลดลง 30-75 เปอร์เซ็นต์ (Sulyo et al., 1995)

การใช้พันธุ์ต้านทานโรคเป็นวิธีการป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพวิธีหนึ่ง โดยเฉพาะพันธุ์ต้านทานไวรัส (Khetarpal et al., 1998; Lecoq et al., 2004; Kang et al., 2005) มีการใช้อย่างแพร่หลายมายาวนาน เพราะสะดวก ปลอดภัย และเหมาะสมในการผลิตพืช สำหรับความต้านทานต่อ CMV ในพริก พบว่า มีแหล่งกำเนิดในแถบเอเชียและในพันธุ์ป่า (Heisey, ny) และมีการแสดงออกของยีนควบคุมความต้านทานแตกต่างกัน เช่น มีการแสดงออกแบบลักษณะปริมาณ (Heisey, ny; Pochard, 1982; Lapidot et al.,1997; Grube et al., 2000) หรือแบบข่มไม่สมบูรณ์จำนวน 2 ยีน (Saito et al., 2004) หรือยีนด้อยหลักอย่างน้อย 2 ยีน (Grube et al., 2000) แตกต่างกันตามฐานพันธุกรรมที่ศึกษา

กรมวิชาการเกษตรได้ปรับปรุงพันธุ์พริกชี้ฟ้าให้มีความต้านทานต่อโรคใบด่างแตง แต่ยังขาดลักษณะดีบางอย่างที่เหมาะสมตามความต้องการของตลาด จึงได้นำสายพันธุ์พริกชี้ฟ้าที่เหมาะสำหรับผลิตเป็นพริกสด พริกแห้ง และพริกซ๊อส มาผสมและคัดเลือกใหม่ เพื่อให้ได้พริกชี้ฟ้าที่ต้านทานโรคและมีลักษณะผลผลิตตรงตามความต้องการของตลาด

7. วิธีดำเนินการ

- วัสดุและอุปกรณ์

1. พริกชี้ฟ้าต้านทานโรค 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ อ16-318-300 ต้านทานต่อไวรัส CMV และ ChiVMV และ PC5003-151-20-1 ต้านทานต่อไวรัส ChiVMV และ โรคเหี่ยว พริกชี้ฟ้าที่ให้ผลผลิตดี 3 สายพันธุ์ ได้แก่ พจ 2-2-1-1 (พริกสด) พจ 18-1-1-1 (พริกแห้ง) และ พจ 27-1-2-1 (พริกซ๊อส) พันธุ์อ่อนแอที่ใช้ในการเปรียบเทียบ ได้แก่ VC27a และ RMN101
2. วัสดุทางการเกษตร เช่น ปุ๋ย สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เป็นต้น
3. วัสดุทางวิทยาศาสตร์ ได้แก่ สารเคมีที่ใช้สำหรับเตรียมการปลูกเชื้อ และตรวจสอบการติดเชื้อไวรัสด้วยวิธี ELISA

- วิธีการ

การสร้างประชากรสำหรับการคัดเลือก

1. ผสมพริกชี้ฟ้าระหว่างพันธุ์ต้านทานโรคฯกับพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงแบบสลับพ่อแม่ ซึ่งจะได้ลูกผสมจำนวน 12 คู่ผสม และผสมระหว่างระหว่างพันธุ์ต้านทานกับพันธุ์ต้านทานได้ลูกผสมจำนวน 2 คู่ผสม
2. ปลูกลูกผสมทั้งหมดและคัดเลือกต้นเป็นโรคทิ้งหากมีโรคเกิดขึ้น ผสมตัวเองโดยห่อดอกตูมของพริกก่อนที่ดอกจะบานหนึ่งวัน
3. เก็บเมล็ดแยกแต่ละคู่ผสม เพื่อนำไปปลูกคัดเลือกต่อไป

การคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคใบด่างแตง

1. วางแผนการคัดเลือกแบบสืบประวัติ เริ่มคัดเลือกพริกชี้ฟ้าตั้งแต่ชั่วที่ 2
2. โดยเพาะกล้าพริกชี้ฟ้าที่ต้องการคัดเลือก จำนวนครั้งละ 20-30 สายพันธุ์ๆละ 30-100 ต้น ร่วมกับพันธุ์ VC27a โดยปลูกเชื้อด้วยวิธีกล (mechanical inoculation) เมื่อต้นกล้าพริกชี้ฟ้ามีอายุประมาณ 30 และ 44 วัน บดใบของต้นยาสูบหรือลำโพงที่ติดเชื้อ CMV ในสารละลายบัฟเฟอร์ 0.03 M potassium phosphate, pH 7.2 (containing 0.1% thioglycollic acid, 0.5% sodium sulphite) อัตราส่วนใบต่อสารละลายบัฟเฟอร์เท่ากับ 1 กรัมต่อ 4 มิลลิลิตร ในโกร่งและที่บดซึ่งแช่เย็น ใส่ผง Celite (Diatomaceous earth) ลงในน้ำคั้นผสมให้เข้ากัน ปลูกเชื้อโดยใช้นิ้วจุ่มลงในน้ำคั้น แล้วค่อยๆลูบลงบนใบพริกชี้ฟาให้ทั่วทั้งใบจำนวน 3-4 ใบ ล้างใบที่ทำการปลูกเชื้อด้วยการรดน้ำสะอาดและเก็บไว้ในโรงเรือนกันแมลง
3. คัดเลือกเบื้องต้นโดยพิจารณาสายพันธุ์ที่เกิดโรคใบด่างน้อยและต้นที่ไม่แสดงอาการใบด่าง ทดสอบการติดเชื้อไวรัสของต้นที่คัดเลือกด้วยวิธี enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA) คัดเลือกซ้ำโดยพิจารณาจากต้นที่ไม่ติดเชื้อ มีลักษณะผลแบบพริกชี้ฟ้า และลักษณะอื่นๆดี ผสมตัวเองด้วยการใช้สำลีห่อดอกพริกชี้ฟ้าก่อนดอกบาน 1 วัน ปลูกคัดเลือก 3 ครั้ง (ชั่วที่ 4)

4. การบันทึกข้อมูล จำนวนต้นทั้งหมดและจำนวนต้นที่แสดงอาการใบด่างหลังปลูกเชื้อทุกสัปดาห์จำนวน 10-12 ครั้ง และคำนวณเปอร์เซ็นต์ต้านทานโรคใบด่างตามสมการ ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ต้านทานโรคฯ} = \frac{(\text{จำนวนต้นทั้งหมด-จำนวนต้นที่เกิดโรค}) \times 100}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}}$$

- เวลาและสถานที่

เวลา ก.ย. 2553 – ต.ค. 2556

สถานที่ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรพิจิตร และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

การสร้างประชากรสำหรับการปลูกคัดเลือก

การผสมพันธุ์ระหว่างพริกชี้ฟ้าต้านทานโรค 2 สายพันธุ์กับพริกชี้ฟ้าที่ให้ผลผลิตดี 3 สายพันธุ์ แบบสลับพ่อแม่ พบว่า การผสมพันธุ์สามารถสร้างลูกผสมพริกชี้ฟ้าได้ทั้งหมด 14 คู่ผสม ได้แก่ ลูกผสมระหว่างพันธุ์ต้านทานโรคใบด่างแตง อ16-318-300 กับพริกพจ 2-2-1-1 พจ 18-1-1-1 และ พจ 27-1-2-1 จำนวน 3 คู่ผสม และลูกผสมสลับพ่อแม่อีก 3 คู่ผสม ดำเนินเช่นเดียวกันในพริก PC5003-151-20-1 ซึ่งจะได้ลูกผสมและลูกผสมกลับจำนวนอย่างละ 3 คู่ผสม รวมทั้งการผสมระหว่างพริกชี้ฟ้าต้านทานทั้งสองพันธุ์อีก 2 คู่ผสม เมื่อเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์แล้วปลูกลูกผสมทั้งหมดในโรงเรือนกันแมลงคู่ผสมละ 10 ต้น ผสมตัวเองและสร้างประชากรสำหรับการคัดเลือก (F2) แต่เกิดความเสียหายจากอุทกภัยและน้ำท่วมขังนานมากกว่า 1 เดือน ลูกผสมที่เสียหายและไม่สามารถเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ได้ คือ ลูกผสมระหว่าง A303 x L318 คงเหลือลูกผสมจำนวน 13 คู่ผสม (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 พริกชี้ฟ้าลูกผสมระหว่างพริกชี้ฟ้าที่มีประวัติต้านทานโรคใบด่างแตงและพริกชี้ฟ้าที่ให้ผลผลิตดี 13 คู่ผสม

รหัส	ลูกผสม	รหัส	ลูกผสม
PC301	อ16 x A303	PC308	L318 x อ16
PC302	อ16 x L318	PC309	L327 x อ16
PC303	อ16 x L327	PC310	L302 x A303
PC304	A303 x อ16	PC311	L318 x A303
PC305	A303 x L318	PC312	L327 x A303
PC306	A303 x L327	PC313	อ16 x L302
PC307	L302 x อ16		

หมายเหตุ	พ่อ/แม่ที่ใช้ในการผสมพันธุ์	ลักษณะดีเด่น	พ่อ/แม่ที่ใช้ในการผสมพันธุ์	ลักษณะดีเด่น
	อ16 = อ16-318-300	CMV+ChiVMV	L302 = พจ 2-2-1-1	พริกสด
	A303 = PC5003-151-20-1	ChiVMV+BW	L318 = พจ 18-1-1-1	พริกแห้ง
			L327 = พจ 27-1-2-1	พริกซ๊อส

การคัดเลือกพันธุ์ต้านทาน

การคัดเลือกพันธุ์พริกชี้ฟ้าชั่วที่ 2

ปลูกพริกชี้ฟ้าจำนวน 13 คู่ผสม คู่ผสมละ 112-148 ต้น/คู่ผสม จำนวนรวม 1,758 ต้นร่วมกับพันธุ์ VC27a พบว่า พริก VC27a แสดงอาการใบด่างสีเขียวเข้มสลับสีเขียวอ่อน หลังการปลูกเชื้อนาน 2 สัปดาห์ และเกิดโรคเกือบทั้งหมด แสดงว่าการปลูกเชื้อ CMV สามารถทำให้เกิดโรคในพริกชี้ฟ้าที่คัดเลือกได้ เนื่องจากพันธุ์เปรียบเทียบเกิดโรคเกือบ 85 เปอร์เซ็นต์ พริกชี้ฟ้าที่ปลูกคัดเลือกมีความต้านทานต่อโรคใบด่างแตงระหว่าง และ 37-75 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความต้านทานต่อโรคใบด่างแตงเฉลี่ย 15.15 เปอร์เซ็นต์ ในเบื้องต้นคัดเลือกต้นพริกชี้ฟ้าที่ไม่แสดงอาการใบด่างไว้สายพันธุ์ละ 30 ต้น แต่พริกชี้ฟ้าที่คัดเลือกเหล่านี้เกิดโรคใบด่างไปจำนวนหนึ่ง จึงคัดเลือกทิ้งและเหลือพริกชี้ฟ้าที่คัดเลือกทั้งหมด 183 ต้น แตกต่างกันไปตามคู่ผสม และเก็บตัวอย่างไปตรวจสอบการติดเชื้อด้วยวิธี ELISA พบว่า พริกชี้ฟ้าลูกผสมเกือบทั้งหมดไม่ติดเชื้อ CMV ยกเว้น ลูกผสม PC301 PC303 และ PC308 ซึ่งต้านทานต่อการติดเชื้อ 83.33 93.33 และ 90.91 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ขณะที่ พริก VC27a ติดเชื้อ 90 เปอร์เซ็นต์ คัดเลือกพริกชี้ฟ้าที่ต้านทานต่อโรคใบด่างสูงที่สุดและรองลงมา พิจารณาร่วมกับเปอร์เซ็นต์ต้านทานการติดเชื้อ CMV ไว้ 5 สายพันธุ์ จำนวน 20 ต้น ได้แก่ PC309, PC310, PC311, PC312 และ PC318 ซึ่งมีต้นพริกที่คัดเลือกจำนวน 6, 6, 2, 3 และ 3 ต้นตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การคัดเลือกพริกชี้ฟ้าลูกผสมชั่วที่ 2

รหัส	จำนวนต้น		% ต้านทานโรคใบด่างแตง	คัดเลือก	ติดเชื้อ	% ต้านทานการติดเชื้อ CMV	จำนวนต้นที่คัดเลือก
	ทั้งหมด	คงเหลือ *					
PC301	147	95	64.63	18	3	83.33	0
PC302	148	75	50.68	6	0	100.00	0
PC303	140	80	57.14	15	1	93.33	0
PC304	112	53	47.32	15	0	100.00	0
PC305	131	67	51.15	7	0	100.00	0
PC306	126	68	53.97	4	0	100.00	0
PC307	144	54	37.50	14	0	100.00	0
PC308	139	79	56.83	11	1	90.91	0
PC309	**146**	**97**	**66.44**	**27**	**0**	**100.00**	**6**
PC310	**130**	**80**	**61.54**	**17**	**0**	**100.00**	**6**
PC311	**126**	**94**	**74.60**	**22**	**0**	**100.00**	**2**
PC312	**130**	**89**	**68.46**	**13**	**0**	**100.00**	**3**
PC313	**139**	**83**	**59.71**	**14**	**0**	**100.00**	**3**
รวม	1,758	1,014	57.68	183	5	97.27	20
VC27a	33	5	15.15	10	9	10.00	0

หมายเหตุ * ต้นคงเหลือหลังปลูกเชื้อ 70 วัน

การคัดเลือกพันธุ์พริกชี้ฟ้าชั่วที่ 3

ปลูกคัดเลือกพริกชี้ฟ้าลูกผสมชั่วที่ 3 จำนวน 20 สายพันธุ์ พบว่า พริกชี้ฟ้าที่ปลูกคัดเลือกแสดงอาการใบด่างจำนวนมากมีความต้านทานต่อโรคใบด่างแตง 33-66 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ VC27a และ RMN101 เกิดโรค 79.49 และ 71.43 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีพริกชี้ฟ้า 9 สายพันธุ์ ได้แก่ PC310-01, PC313-02, PC309-26, PC309-01, PC309-04, PC310-14, PC310-02, PC309-07 และ PC309-24 ที่มีระดับความต้านทานต่อโรคใบด่างแตงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ พริกชี้ฟ้าทั้งหมดที่คัดเลือกมีความต้านทานต่อโรคใบด่างแตงเฉลี่ย 30.19 เปอร์เซ็นต์ ในเบื้องต้นคัดเลือกพริกชี้ฟ้าสายพันธุ์ละ 15 ต้น จากนั้นคัดเลือกสายพันธุ์พริกชี้ฟ้าที่ต้านทานต่อโรคใบด่างแตงน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ทิ้งไป คงเหลือสายพันธุ์พริกชี้ฟ้าที่เก็บตัวอย่างไปตรวจสอบการติดเชื้อด้วยวิธี ELISA จำนวน 17 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์พริกชี้ฟ้าที่ทดสอบติดเชื้อระหว่าง 20-93 เปอร์เซ็นต์ โดยติดเชื้อ CMV เฉลี่ยทั้งหมด 65.10 เปอร์เซ็นต์ มีพริกชี้ฟ้า 6 สายพันธุ์ที่ไม่ติดเชื้อตั้งแต่ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ได้แก่ PC310-14, PC309-07, PC313-08, PC310-12, PC309-24 และ PC311-15 จึงคัดเลือกต้นที่ไม่แสดงอาการใบด่างและไม่ติดเชื้อไว้จำนวน 2, 1, 5, 3, 2 และ 1 ต้นตามลำดับ ในการคัดเลือกพันธุ์พริกนอกจากพิจารณาลักษณะที่ไม่ติดเชื้อ CMV แล้วยังพิจารณาจากลักษณะเปอร์เซ็นต์ต้านทานต่อโรคใบด่างหรือการแสดงอาการใบด่างหลังปลูกเชื้อ และลักษณะทางการเกษตรอื่นๆโดยเฉพาะลักษณะผลแบบพริกชี้ฟ้า ซึ่งมีการคัดเลือกเพิ่มเติมอีก 5 สายพันธุ์ ได้แก่ PC309-04, PC312-03, PC310-05, PC313-14 และ PC309-26 จำนวน 2, 1, 3, 5 และ 1 ต้นตามลำดับ (ตารางที่ 3)

การคัดเลือกพันธุ์พริกชี้ฟ้าชั่วที่ 4

ปลูกคัดเลือกพริกชี้ฟ้าลูกผสมชั่วที่ 4 จำนวน 26 สายพันธุ์ พบว่า พริกชี้ฟ้าที่ปลูกคัดเลือกแสดงอาการใบด่างจำนวนมากมีความต้านทานต่อโรคใบด่างแตง 26-83 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่ VC27a และ RMN101 เกิดโรค 93.94 และ 98.33 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีพริกชี้ฟ้าที่แสดงความต้านทานต่อโรคใบด่างแตงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ 13 สายพันธุ์ ได้แก่ PC309-26-08, PC310-05-01, PC310-05-11, PC310-12-02, PC310-12-04, PC310-12-06, PC310-14-02, PC310-14-05, PC312-02-06, PC313-08-02, PC313-08-04, PC313-14-04 และ PC313-14-06 แต่มีพริกชี้ฟ้าเพียงสายพันธุ์เดียวที่มีความต้านทานต่อโรคใบด่างแตงมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่คัดเลือกไม่ติดเชื้อทั้งหมด คือ PC310-12-02 ขณะที่การติดเชื้อ CVM ของพริกที่คัดเลือก พบว่า พริกชี้ฟ้าจำนวน 24 สายพันธุ์ไม่ติดเชื้อ CMV ตั้งแต่ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป ยกเว้น PC309-04-03 และ PC309-04-05 ที่ไม่ติดเชื้อ 66.67 และ 61.54 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

คัดเลือกพริกชี้ฟ้าที่ความต้านทานต่อโรคใบด่างแตงดีที่สุดและรองลงมา 9 สายพันธุ์ ได้แก่ PC310-12-02, PC309-26-08, PC310-14-05, PC310-12-04, PC310-05-11, PC310-12-06, PC312-02-06, PC310-05-01, PC313-08-02 และ PC310-14-02 ซึ่งมีความต้านทานต่อโรคใบด่างแตง 83.33, 74.47, 73.68, 69.57, 65.31, 60.47, 60.00, 58.62 และ 58.14 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ซึ่งทั้งหมดมีต้นคัดเลือกที่ไม่ติดเชื้อตั้งแต่ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป โดยมีพริกชี้ฟ้ามากถึง 4 สายพันธุ์ที่ไม่ติดเชื้อ CVM (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 การคัดเลือกพริกชี้ฟ้าลูกผสมชั่วที่ 3

รหัส	จำนวนต้น		% ต้านทาน โรคใบด่างแตง	คัดเลือก	ติดเชื้อ	% ต้านทาน การติดเชื้อ CMV	จำนวนต้น ที่คัดเลือก
	ทั้งหมด	คงเหลือ *					
PC309-01	91	41	45.05	15	8	46.67	0
PC309-04	**84**	**36**	**42.86**	**15**	**4**	**73.33**	**2**
PC309-07	**97**	**41**	**42.27**	**15**	**1**	**93.33**	**1**
PC309-23	96	16	16.67	15	8	46.67	0
PC309-24	**90**	**33**	**36.67**	**15**	**2**	**86.67**	**2**
PC309-26	**47**	**14**	**29.79**	**15**	**8**	**46.67**	**1**
PC310-01	47	16	34.04	15	8	46.67	0
PC310-02	93	40	43.01	15	4	73.33	0
PC310-12	**100**	**22**	**22.00**	**15**	**2**	**86.67**	**3**
PC310-14	**98**	**44**	**44.90**	**15**	**1**	**93.33**	**2**
PC310-05	**110**	**31**	**28.18**	**15**	**7**	**53.33**	**3**
PC310-03	91	21	23.08	15	12	20.00	0
PC311-21	101	35	34.65	15	7	53.33	0
PC311-15	**97**	**31**	**31.96**	**15**	**3**	**80.00**	**1**
PC312-02	41	3	7.32	0	n	n	0
PC312-11	43	4	9.30	0	n	n	0
PC313-02	24	0	0	0	n	n	0
PC313-08	**85**	**25**	**29.41**	**15**	**2**	**86.67**	**5**
PC313-14	**98**	**17**	**17.35**	**15**	**7**	**53.33**	**5**
PC312-03	**100**	**23**	**23.00**	**15**	**5**	**66.67**	**1**
รวม	1,633	493	30.19	255	89	65.10	26
VC27a	39	8	20.51	10	10	0.00	0
RMN101	14	4	28.57	10	10	0.00	0

หมายเหตุ * ต้นคงเหลือหลังปลูกเชื้อ 75 วัน

n = ไม่มีข้อมูล

การเกิดโรคภายหลังการปลูกเชื้อ CMV พบว่า ส่วนใหญ่พริก VC27a และ RMN101 แสดงอาการใบด่างหลังการปลูกเชื้อภายในสองสัปดาห์ และเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเกือบหมดภายใน 3-4 สัปดาห์ โดยใบมีลักษณะด่างสีเขียวเข้มสลับสีเขียวอ่อน หรือใบเสียรูป บิดเบี้ยว และลดขนาด สอดคล้องกับ เครือพันธุ์ และวันเพ็ญ (2545) ส่วนการเก็บตัวอย่างใบพืชมาทดสอบการติดเชื้อด้วยวิธี ELISA พบว่า พริกพันธุ์อ่อนแอทั้งสองสายพันธุ์ติดเชื้อเกือบทั้งหมด

ส่วนการแสดงอาการใบด่างในพริกลูกผสมที่คัดเลือกซึ่งมีประวัติต้านทานต่อโรคใบด่าง พบว่า พริกลูกผสมที่คัดเลือกส่วนใหญ่เกิดโรคค่อนข้างช้า และอาจเริ่มแสดงอาการใบด่างจำนวนมากหลังปลูกเชื้อนานเกือบ 1 เดือน ส่วนหนึ่งน่าจะเกิดจากมีพันธุกรรมต้านทานโรคใบด่างในพริกที่คัดเลือกดังกล่าว โดยพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานต่อ CMV ในพริกมีรายงานแตกต่างกันไป แต่ส่วนใหญ่รายงานว่าเกี่ยวข้องกับยีน

อย่างน้อย 2 คู่ รวมทั้งมีการแสดงออกแบบลักษณะปริมาณ (Heisey, ny; Pochard, 1982; Lapidot *et al*.,1997; Grube *et al*., 2000) นอกจากนี้อาการของโรคยังอาจเกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อม เช่นรายงานของ Cho และคณะ (2004) ซึ่งพบว่าอุณหภูมิทำให้พริกสายพันธุ์ VC27a ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อ ChiVMV แสดงอาการของโรคแตกต่างกัน แต่ไม่มีผลต่อการติดเชื้อไวรัสดังกล่าว

ตารางที่ 4 การคัดเลือกพริกชี้ฟ้าลูกผสมชั่วที่ 4

รหัส	จำนวนต้น		% ต้านทาน โรคใบด่างแตง	คัดเลือก	ติดเชื้อ	% ต้านทาน การติดเชื้อ CMV	สายพันธุ์ ที่คัดเลือก
	ทั้งหมด	คงเหลือ *					
PC309-04-03	49	22	44.90	15	5	66.67	0
PC309-04-05	49	13	26.53	13	5	61.54	0
PC309-07-05	50	22	44.00	15	0	100.00	0
PC309-24-01	47	23	48.94	15	3	80.00	0
PC309-24-06	49	24	48.98	15	1	93.33	0
PC309-26-08	47	35	74.47	15	1	93.33	1
PC310-05-01	29	17	58.62	15	3	80.00	1
PC310-05-03	43	19	44.19	15	3	80.00	0
PC310-05-11	49	32	65.31	15	0	100.00	1
PC310-12-02	30	25	83.33	15	0	100.00	1
PC310-12-04	46	32	69.57	15	0	100.00	1
PC310-12-06	43	26	60.47	15	1	93.33	1
PC310-14-02	46	25	54.35	15	0	100.00	0
PC310-14-05	38	28	73.68	15	0	100.00	1
PC311-15-02	34	17	50.00	15	3	80.00	0
PC312-02-06	50	30	60.00	15	2	86.67	1
PC313-08-01	48	16	33.33	15	1	93.33	0
PC313-08-02	43	25	58.14	15	1	93.33	1
PC313-08-03	40	15	37.50	14	1	92.86	0
PC313-08-04	50	27	54.00	15	0	100.00	0
PC313-08-05	50	25	50.00	15	0	100.00	0
PC313-14-01	47	22	46.81	15	2	86.67	0
PC313-14-02	49	17	34.69	15	3	80.00	0
PC313-14-03	50	18	36.00	15	3	80.00	0
PC313-14-04	49	25	51.02	15	3	80.00	0
PC313-14-06	50	26	52.00	15	0	100.00	0
รวม	1,175	606	51.57	387	41	89.41	9
VC27a	33	2	6.06	15	15	0.00	0
RMN101	60	1	1.67	15	12	20.00	0

หมายเหตุ * ต้นคงเหลือหลังปลูกเชื้อ 75 วัน

ความสัมพันธ์ระหว่างอาการใบด่างและการติดเชื้อไวรัส พบว่า มีความสัมพันธ์กันไม่แน่นอน แต่มักพบการติดเชื้อในพริกที่แสดงอาการใบด่าง เนื่องจากการทดลองทำในสภาพโรงเรือนกันแมลง จึงสามารถลดความคลาดเคลื่อนดังกล่าวลงระดับหนึ่ง ในบางกรณีพริกพันธุ์ต้านทานโรคอาจติดเชื้อไวรัสแต่ไม่แสดงอาการ หรือแสดงอาการไม่รุนแรงและเจริญเติบโตได้ตามปกติ เรียกความต้านทานดังกล่าวว่า ความต้านทานระดับแปลง (field resistance) (Schlegel, 2010) โดยพืชอาจติดเชื้อไวรัส แต่เชื้อไวรัสไม่สามารถเพิ่มจำนวนหรือถูกจำกัดการแพร่ขยาย (Hull, 2002) พริกต้านทานโรคบางสายพันธุ์จึงพบการติดเชื้อไวรัส แต่ไม่แสดงอาการใบด่าง เช่นเดียวกับการทดลองของ Rashid และคณะ (2007) ซึ่งตรวจพบเชื้อไวรัส CMV และ/หรือ ChiVMV ในตัวอย่างพริกหวานที่ไม่แสดงอาการใบด่างซึ่งปลูกทดสอบในแปลงทดลอง

ลักษณะความต้านทานต่อโรคไวรัสในพืช อาจจำแนกได้ดังนี้ คือ ต้านทานต่อแมลงพาหะที่ถ่ายทอดโรคหรือพืชมีความสามารถติดเชื้อไวรัสต่ำ พืชมีภูมิคุ้มกันโรค (immunity) ต้านทานต่อการเคลื่อนย้ายของไวรัสระหว่างเซล ต้านทานต่อการเคลื่อนย้ายไวรัสภายในต้นพืช ต้านทานต่อการเพิ่มจำนวนไวรัสในพืช และต้านทานต่อการเพิ่มจำนวนหรือลดความสามารถของไวรัสในแมลงพาหะ (Lecoq *et al*., 2004)

การผสมและคัดเลือกพริกชี้ฟ้าให้ต้านทานโรคใบด่างแตงจนถึงชั่วที่ 4 สามารถคัดเลือกพริกชี้ฟ้า 9 สายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรคใบด่างแตงระหว่าง 58.14-83.33 เปอร์เซ็นต์ และต้นที่คัดเลือกส่วนใหญ่ไม่ติดเชื้อไวรัส ได้แก่ สายพันธุ์ PC310-12-02, PC309-26-08, PC310-14-05, PC310-12-04, PC310-05-11, PC310-12-06, PC312-02-06, PC310-05-01, PC313-08-02 และ PC310-14-02 ซึ่งควรนำพันธุ์เหล่านี้ไปปลูกทดสอบผลผลิตต่อไป

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การผสมพันธุ์พริกชี้ฟ้าต้านทานโรค 2 สายพันธุ์และพริกชี้ฟ้าที่ให้ผลผลิตที่เหมาะสมในการปลูกผลิตเป็นพริกสด พริกแห้ง และพริกซ๊อส แบบสลับพ่อแม่ 12 คู่ผสม และระหว่างพันธุ์ต้านทาน 2 คู่ผสม เมื่อนำลูกผสมเหล่านี้มาปลูกคัดเลือกให้ต้านทานต่อโรคใบด่างแตง พบว่า ระดับความต้านทานต่อโรคใบด่างแตงเฉลี่ยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีการคัดเลือกซ้ำ การปลูกคัดเลือกจนถึงชั่วที่ 2-4 โดยเพาะกล้าพริกที่จะคัดเลือกในแต่ละชั่วและพันธุ์อ่อนแอที่ใช้ในการเปรียบเทียบ 1-2 พันธุ์ ได้แก่พันธุ์ VC27a และ RMN101 และปลูกเชื้อไวรัส CMV 2 ครั้ง เมื่ออายุประมาณ 30 และ 44 วัน ในแต่ละชั่วที่คัดเลือกและเก็บตัวอย่างใบของต้นที่คัดเลือกไปตรวจสอบการติดเชื้อไวรัสด้วยวิธี ELISA คัดเลือกสายพันธุ์พริกที่ต้านทานต่อการเกิดโรคใบด่างแตงระหว่าง 58.14-83.33 เปอร์เซ็นต์ไว้ 9 สายพันธุ์ ได้แก่ PC310-12-02, PC309-26-08, PC310-14-05, PC310-12-04, PC310-05-11, PC310-12-06, PC312-02-06, PC310-05-01, PC313-08-02 และ PC310-14-02 ซึ่งสายพันธุ์และต้นที่คัดเลือกส่วนใหญ่ไม่ติดเชื้อไวรัส ขณะที่พันธุ์อ่อนแอ VC27a และ/หรือ RMN101 เกิดโรคใบด่างและติดเชื้อเกือบทั้งหมด จึงควรนำพริกทั้งหมดดังกล่าวไปปลูกคัดเลือกและทดสอบผลผลิตต่อไป

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ปลูกเปรียบเทียบพันธุ์ร่วมกับพันธุ์การค้า/พันธุ์ต้านทานในศูนย์วิจัยฯต่างๆ

11. เอกสารอ้างอิง

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ Chiyoichi Noda สุวรรณา กลัดพันธุ์ และนวลจันทร์ ดีมา. 2536. การศึกษาเกี่ยวกับไวรัสของพริกและการคัดเลือกพันธุ์พริกให้ต้านทานต่อไวรัสบางชนิด. หน้า 331-340. ในรายงานการประชุมวิชาการประจำปีครั้งที่ 31, วันที่ 3-6 กุมภาพันธ์ 2536 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ และวันเพ็ญ ศรีทองชัย. 2545. โรคไวรัสที่สำคัญของพืชผักและพืชน้ำมัน. กองโรคพืชและจุลชีวิทยา กรมวิชาการเกษตร. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย กรุงเทพฯ. 88 หน้า

Anonymous. 2003. Characterization of evolution potential of the viruses analyzed. 7 p. Available at: http://www.apsnet.org/phyto/xtras/2003/0523-01E.pdf

Berke, T.G., L.L. Black, R.A. Morris, N.S. Talekar and J.F. Wang. 2003 Suggested cultural practices for sweet pepper. 5 p. Available at: http://www.avrdc.org.tw/LC/pepper/swtpepper.pdf

Cho M. C., S.C. Shieh, P.A. Gniffke, S.K.Green and D.H. Pae. 2004. Infection of Chili Veinal Mottle Virus (ChiVMV) is not affected by temperature. Pages 179. In: Proceedings of the XIIth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Capsicum and eggplant. 17-19 May, 2004. Noordwijkerhout, Netherlands,

Edward J. S. 1997. Common diseases of cucurbits. 8 p. Available at: http://www.aces.edu/pubs/docs/A/ANR-0809/ANR-0809.pdf

Grube, R. C., Y. Zhang, J. F. Murphy, F.Loaiza-Figueroa, V. K. Lackney, R. Provvidenti and M.K. Jahn. 2000. New source of resistance to *Cucumber mosaic virus* in *Capsicum frutescens*. Plant Dis. 84: 885-891. Available at: http://www.apsnet.org/pd/pdfs/2000/0616-01R.pdf

Heisey, B. ny. Managing pepper diseases by breeding for resistance. 3 p. Available at: http://ucce.ucdavis.edu/files/filelibrary/2030/19607.pdf

Hull, R. 2002. Matthews' Plant Virology, 4th edition. Academic Press, San Diego, CA. 1001 p.

Kang, B.C., I. Yeam and M.M. Jahn, 2005. Genetics of plant virus resistance. Ann. Rev. Phytopathol., 43: 581-621.

Khetarpal, R.K., B.Maisonneuve, Y. Maury, B. Chalhoub, S. Dinant, H. Lecoq and A. Varma. 1998. Breeding for resistance to plant viruses. Page 14-32. In: Plant Virus Disease Control. Hadidi, A., R.K.Khetarpal and H. Koganezawa. (eds) The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota USA

Lecoq, H., B.Moury, C. Desbiez, A. Palloix and M. Pitrat. 2004. Durable virus resistancein plants through conventional approaches: achallenge. Virus Res. 100: 31–39

Lapidot, M., I. Paran, R. Ben-Joseph, S. Ben-Harush, M. Pilowsky, S. Cohen and C. Shifriss. 1997. Tolerance to cucumber mosaic virus in pepper: Development of advanced breeding lines and evaluation of virus level. Plant Dis. 81:185-188. Available at: http://www.apsnet.org/pd/PDFS/1996/1217-05R.PDF

Nono-Womdim, R. 2001. An overview of major virus diseases of vegetable crops in Africa and some aspects of their control. 20 p. Available at: http://www.iita.org/cms/details/virology/pdf_files/213-232.pdf

Pochard, E., R. D. de Vaulx and A. Florent. 1983. Linkage between partial resistance to CMV and susceptibility to TMV in the line “PERRENIAL”: Analysis on androgenetic homozygous lines. Capsicum Newsletter. (2): 32-33.

Rashid, M. H., K. M. Khalequzzaman., M. S. Alam., S. A. Uddin. and S. K. GREEN. 2007. Screening of different sweet pepper lines against cucumber mosaic virus and chili veinal mottle virus. Int. J. Sustain. Crop Prod. 2(3):1-4.

Saito, T. T. Yoshida, A. Saito and T. Yamada. 2004. Genetics of resistance to Cucumber Mosaic Virus (CMV) in sweet pepper (Capsicum annuum L.). p. 191. *In:* Proceedings of the XIIth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Capsicum and eggplant, Noordwijkerhout, Netherlands, 17-19 May, 2004.

Schlegel, Rolf H. J. 2010. Dictionary of Plant Breeding 2nd edition. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton. 584 p.

Sulyo, Y., A.S. Duriat, N. Gunaeni and E. Korilna. 1995. Confirmation of potentially important pepper viruses in Indonesia. p. 174-180. *In*: Proceeding of the AVNET-II Midterm Workshop AVRDC, ADB and PCARRD, February 21-25, 1995. PCARD, Los Banos,Lagana,Philippines. Asia Vegetable Research and Development Center 327 p.