บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

การขยายพันธุ์ผักกาดขาวปลีด้วยวิธีการถ่ายเรณูในต้นเดียวกันเป็นวิธีรักษาสายพันธุ์แท้เอาไว้ โดยอาศัยเทคนิคการผสมดอกอ่อน เนื่องจากดอกตูมไม่สามารถที่จะแยกแยะความแตกต่างของละอองเรณูที่มีจีโนไทป์ของมันเองหรือต้นอื่น (Opena *et al.*, 1988) ดอกตูมที่ได้รับการถ่ายเรณูจะมีการติดเมล็ดที่ไม่แน่นอน คือ ดอกตูมบริเวณปลายช่อดอกและโคนช่อดอกจะติดเมล็ดไม่ดีเป็นผลมาจากอายุของดอกไม่เหมาะสมสำหรับการถ่ายเรณู ดอกตูมบริเวณตอนกลางของช่อดอกจะติดเมล็ดมากที่สุด Wiering (1953) ได้แนะนำการเลือกดอกที่จะถ่ายเรณูในต้นเดียวกันควรเลือกดอกตูมที่มีอายุ 2 - 3 วันก่อนดอกบาน ดอกตูมจะมีสีเหลืองบริเวณปลายดอกซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมที่สุด ดอกตูมที่มีอายุ 1 วันก่อนดอกบานมีกลีบดอกสีเหลืองชัดเจนเป็นระยะที่การติดเมล็ดลดลงเนื่องจากลักษณะผสมตัวเองไม่ได้ (Hinata, 1981 ; Opena, *et al.*, 1988)

การผลิตผักกาดขาวปลีพันธุ์ลูกผสมจากการผสมแบบสลับพ่อแม่เพื่อคัดคู่ผสมที่ดีที่สุด พบว่า คู่ผสม 40-9 x 142-5 ให้น้ำหนักเมล็ดสูงสุด คู่ผสมที่ให้น้ำหนักเมล็ดรองลงมา คือ 40-9 x 27-3-7 และ 40-9 x 23-3-4 ตามลำดับ โดยพันธุ์ 40-9 เป็นพันธุ์แม่ที่ให้เมล็ดสูงสุดอีกด้วย

จากการปลูกทดสอบเปรียบเทียบพันธุ์ในฤดูหนาว พบว่า ผักกาดขาวปลีพันธุ์ลูกผสมมีการเจริญเติบโต และให้ผลผลิตอยู่ในเกณฑ์ดี แต่ยังมีปัญหาเรื่องการเข้าปลี เนื่องจากอุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลงบางช่วงเวลา โดยเฉพาะช่วงการเข้าปลี มีสภาพอากาศร้อนซึ่งจะไปมีผลต่อการเข้าปลี ทำให้ปลีไม่แน่น และมีการตัดแต่งสูง น้ำหนักปลีหลังตัดแต่งจึงน้อยตามไปด้วย ความสม่ำเสมอ ดรรชนีรูปร่างของปลี และลำต้นที่พบในพันธุ์ลูกผสม เป็นลักษณะที่ไม่ค่อยดีนัก โดยปลีค่อนข้างกลม และลำต้นยาวเป็นลักษณะที่ไม่ต้องการของตลาดซึ่งต้องการปลีที่มีรูปร่างยาวและลำต้นเตี้ยมากกว่า พันธุ์ลูกผสม 142-5x40-9 ให้น้ำหนักปลีสูงที่สุด คือ 6,170 กิโลกรัมต่อไร่ คิดเป็น 36.33 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งดีกว่าพันธุ์มาตรฐาน และพันธุ์ลูกผสมอื่นที่มีแนวโน้มที่ดี ได้แก่ พันธุ์ลูกผสม 23 x 27, 23 x 142, 23-3-4 x 40-9, 27 x 23, 27-3-7 x 23-3-4 และ 142 x 23 เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง และมีลักษณะปลีค่อนข้างดี ส่วนลำต้นยังยาวมากกว่าพันธุ์มาตรฐาน ดังนั้น ควรที่จะมีการปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมเหล่านี้ให้ดีขึ้น โดยนำพันธุ์พ่อแม่ไปพัฒนาพันธุ์และทดสอบจนไม่มีการกระจายตัวของยีนแล้ว จึงนำไปใช้ในการผลิตผักกาดขาวปลีพันธุ์ลูกผสมที่ดีต่อไปในอนาคต

การตรวจสอบลักษณะผสมตัวเองไม่ได้โดยวิธีการถ่ายเรณูดอกตูมและดอกบานภายในช่อดอกเดียวกัน พบว่า ผักกาดขาวปลีทุกพันธุ์มีลักษณะผสมตัวเองไม่ได้ ซึ่งให้ผลที่แตกต่างจากวิธีการตรวจหาหลอดเรณูภายในก้านเกสรเพศเมียในสายพันธุ์ 23 และ 142-5 ที่มีลักษณะผสมตัวเองไม่ได้ปานกลาง เนื่องจากการตรวจสอบโดยวิธีการถ่ายเรณูดอกตูมและดอกบานภายในช่อดอกเดียวกันใช้การติดฝักและเมล็ดเป็นตัวกำหนดลักษณะผสมตัวเองไม่ได้ เพราะการติดฝักและเมล็ดเป็นผลมาจากการปฏิสนธิระหว่างไข่และสเปิร์มแล้วพัฒนาต่อจนสมบรูณ์ ซึ่งได้ผลชัดเจนและสังเกตได้ง่ายกว่าวิธีการตรวจหาหลอดเรณูภายในก้านเกสรเพศเมียที่ใช้การตรวจนับจำนวนหลอดเรณูที่งอกลงไปในก้านเกสรเพศเมีย แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าหลอดเรณูที่พบในก้านเกสรเพศเมียจะส่งสเปิร์มลงไปปฏิสนธิกับไข่ได้ อาจทำให้การตรวจสอบผิดพลาดได้

ในการสังเกตการงอกของหลอดเรณูจะดูได้จากผนังเซลล์ของหลอดเรณูที่มีสาร callose สะสมอยู่ซึ่งไม่มีในเนื้อเยื่อของเกสรเพศเมีย และติดสีเฉพาะ aniline blue โดยจะเรืองแสงเมื่อใช้ฟลูออเรสเซนต์ฉายแสงสีฟ้าหรือ ultra violet โดยสาร callose จะปรากฏเป็นสีเขียวเหลืองที่สว่างตัดกับพื้นสีดำได้อย่างชัดเจน หลอดเรณูจะถูกกำหนดรูปร่างโดย callose และ callose plug ซึ่งจะถูกเรียงเป็นระยะทางไม่สม่ำเสมอภายในหลอดเรณู (Kho and Baer, 1968) การแทงผ่านของหลอดเรณูจะถูกยับยั้งบริเวณจุดที่ปุ่มเล็กและหลอดเรณูสัมผัสกัน ซึ่งจะเห็นสาร callose สะสมอยู่ในบริเวณนั้น (Hajd-Arab, 1990a : 1990b) อย่างไรก็ตาม วิธีการถ่ายเรณูดอกตูมและดอกบานภายในช่อดอกเดียวกันต้องใช้แรงงานมากเพราะต้องทำในแปลงทดลอง จนกระทั่งติดฝักและเมล็ดจึงสรุปผลได้ และอาจเกิดการปนเปื้อนในการถ่ายเรณู และเก็บเมล็ดรวมกัน นอกจากนี้ ปัจจัยสิ่งแวดล้อมอาจมีอิทธิพลต่อปฏิกิริยาผสมตัวเองไม่ได้ (Opena, *et al.*, 1988) โดยเฉพาะสภาพอากาศต้องมีอากาศที่เย็นประมาณ 15 - 20 องศาเซลเซียส และไม่แตกต่างกันมากตลอดระยะเวลาการทดลอง อุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้ลักษณะผสมตัวเองไม่ได้ลดลง (El Murabaa, 1957 ; Johnson, 1972 ; Nasrallah and Wallace, 1968 ; Ockendon, 1973 ; Roggen and van Dijk, 1976 ; Visser, 1977) นั่นคือ การติดเมล็ดเพิ่มมากขึ้นซึ่งทำให้ผลการตรวจสอบผิดพลาดได้ และการตรวจสอบโดยวิธีการตรวจหาหลอดเรณูในก้านเกสรเพศเมียของผักกาดขาวปลีสายพันธุ์ต่างๆ สามารถตรวจสอบได้รวดเร็วและใช้เวลาน้อย ทำได้ในห้องปฏิบัติการตลอดเวลา และประหยัดแรงงานด้วย

การจำแนกความแตกต่างในผักกาดขาวปลีพันธุ์ลูกผสมและพันธุ์พ่อแม่ เพื่อหาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยการใช้เทคนิคอิเล็กโทรโฟรีซิส ซึ่งได้ใช้เอนไซม์ acid phosphatase (ACT), esterase (EST) และ peroxidase (PER) โดยเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดสามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ลูกผสมและพันธุ์พ่อแม่ได้ ยกเว้นพันธุ์ลูกผสมบางพันธุ์ซึ่งมีแถบไอโซไซม์ที่เหมือนทั้งพันธุ์พ่อแม่ หรือฝ่ายใดฝ่ายหนึ่ง จำนวนแถบไอโซไซม์ในเอนไซม์ EST มีมากที่สุด

คือ 11 แถบ และให้แถบที่คมชัดที่สุด ทำให้สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ลูกผสมและพันธุ์พ่อแม่ได้ง่าย ยกเว้นพันธุ์ลูกผสม 40-9x27-3-7 ทั้งนี้เพราะเอนไซม์ EST เป็นเอนไซม์ที่พบอยู่ในพืชทั่วๆไป และมีกิจกรรมของเอนไซม์ที่ค่อนข้างคงตัวไม่ผันแปรได้ง่าย เอนไซม์ ACT เป็นเอนไซม์อีกชนิดที่ให้จำนวนแถบไอโซไซม์มากพอสมควร คือ 7 แถบ และมีความคมชัดดี สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ลูกผสมและพันธุ์พ่อแม่ได้ ยกเว้นพันธุ์ลูกผสม 142-5x40-9 ส่วนเอนไซม์ PER มีจำนวนแถบไอโซไซม์น้อยที่สุด คือ 5 แถบ และแถบไอโซไซม์ไม่ค่อยชัดเจน ซึ่งทำให้การแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ลูกผสมและพันธุ์พ่อแม่ไม่ดีเท่าที่ควร ดังนั้นจากการทดลองครั้งนี้ สามารถสรุปได้ว่า เอนไซม์ EST และ ACT มีความเหมาะสมในการแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์ลูกผสมและพันธุ์พ่อแม่ในกรณีที่เกิดแถบลูกผสมขึ้นในพันธุ์ลูกผสมได้

แถบไอโซไซม์ในพันธุ์ลูกผสมได้รับการถ่ายทอดลักษณะมาจากทั้งพ่อแม่ หรือฝ่ายใดฝ่ายหนึ่ง มีการเพิ่มและหายไปของแถบไอโซไซม์ในพันธุ์ลูกผสม โดยแถบไอโซไซม์ที่เกิดขึ้นเป็นสิ่งที่บอกถึงพันธุ์ลูกผสมอาจมีลักษณะการแสดงออกต่างๆ ที่แตกต่างจากพันธุ์พ่อแม่ก็ได้ เพราะยีนเป็นตัวควบคุมการสร้างเอนไซม์ซึ่งทำให้เกิดแถบไอโซไซม์ เนื่องจากโปรตีนเป็น primary product ที่เกิดขึ้นจากการแสดงกิจกรรมของยีนซึ่งเป็นสารพันธุกรรมที่มีอยู่ในพืช โดยเฉพาะพวกโครงสร้างยีน การเปลี่ยนแปลงใดๆ ที่เกิดขึ้นที่ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนหรือลำดับเบส ย่อมมีผลต่อการสร้างโปรตีนหรือโพลีเปปไทด์ที่มีโครงสร้างทางโมเลกุลของกรดอะมิโนที่เรียงลำดับแตกต่างกันไปด้วย (เพิ่มพงษ์, 2531)

นอกจากนั้น แถบไอโซไซม์ที่ไม่ชัดเจน ทำให้การวัดค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Rf) อาจผิดพลาดได้ ซึ่งมีสาเหตุมาจากการสร้างเอนไซม์ชนิดนั้นน้อย หรือมีความร้อนเกิดขึ้นขณะปฏิบัติงานเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการเพิ่มปริมาณกระแสไฟฟ้าหรือค่าแรงดันให้กับระบบ ซึ่งอาจมีผลไปทำให้เกิดการระเหยของสารจากตัวกลางได้ สารประกอบโปรตีนและเอนไซม์จะมีการสลายตัว คุณสมบัติของโปรตีนและเอนไซม์จะลดลงจากเดิม ซึ่งเป็นผลต่อการตรวจไม่ชัดเจน pH ของสารละลายบัฟเฟอร์มีผลต่อประจุไฟฟ้ารวมของอนุภาคของโปรตีนและเอนไซม์ จึงมีอิทธิพลต่อทิศทางและอัตราการเคลื่อนที่ของอนุภาค (ดวงพร, 2538 ; ชวนพิศ, 2538)