บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การถ่ายทอดยีนที่ควบคุมการเป็นหมันในไซโทพลาสซึมไปยังผักกาดเขียวปลีพันธุ์แท้ โดยอาศัยการเลี้ยงต้นพืชภายใต้สภาพควบคุม เพาะต้นกล้าที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 วัน เพื่อให้ได้รับอุณหภูมิต่ำกระตุ้นก่อน แล้วนำไปปลูกโดยเลี้ยงต้นพืชในที่ที่มีความเข้มแสง 9,000 ลักซ์ โดยให้ต้นพืชได้รับแสงอย่างต่อเนื่อง ควบคุมอุณหภูมิที่ 20 ± 3 องศาเซลเซียส เนื่องจากผักกาดเขียวปลีเป็นพืชที่ต้องการแสงในช่วงวันยาว และอุณหภูมิต่ำสำหรับกระตุ้นตาดอก (Raymond and George,1985) เมื่อเลี้ยงต้นพืชภายใต้สภาพควบคุมทำให้ผักกาดเขียวปลีสามารถแทงช่อดอกได้โดยไม่ผ่านการเข้าหัว แล้วผสมเกสรด้วยมือ ผลการทดลองแสดงว่า บางพันธุ์ติดเมล็ดมาก บางพันธุ์ติดเมล็ดน้อย อาจเป็นผลมาจากการแตกแขนงของช่อดอกและจำนวนดอกในแต่ละพันธุ์ไม่เท่ากัน ทำให้เมล็ดพันธุ์ที่ได้ในแต่ละพันธุ์มีจำนวนต่างกัน หลังจากนั้นนำเมล็ดที่ได้ไปปลูกทดสอบเพื่อดูลักษณะของดอก พบว่าในพันธุ์แท้ทุกพันธุ์ให้ดอกปกติ ส่วนในลูกผสมกลับชั่วที่ 1 และชั่วที่ 5 ที่เกิดขึ้นจากการผสมกลับระหว่างสายพันธุ์แม่ที่มียีนควบคุมการเป็นหมันในไซโทพลาสซึมกับสายพันธุ์พ่อที่เป็นพันธุ์แท้ พบว่าลูกผสมกลับทุกคู่ให้ดอกที่มีลักษณะเป็นหมัน ทั้งนี้เพราะละอองเกสรไม่มีไซโทพลาสซึมจึงไม่สามารถนำส่วนของไซโทพลาสซึมที่มีลักษณะปกติติดไปด้วย แสดงว่าลักษณะการเป็นหมันดังกล่าวถูกควบคุมโดยหน่วยในไซโทพลาสซึม (กฤษฎา,2527)

จากการศึกษาวิธีการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมผักกาดเขียวปลีในแปลงผลิตขนาดกว้าง 2 เมตร ยาว 3 เมตร สูง 2 เมตร โดยวิธีการต่าง ๆ พบว่าการผสมเกสรโดยอาศัยมือให้ผลดีกว่าการผสมเกสรโดยอาศัยผึ้ง และการผสมเกสรตามธรรมชาติ เป็นผลเนื่องมาจากกลไกในการแพร่กระจายของละอองเกสรที่แตกต่างกัน ทำให้การแพร่กระจายของละอองเกสรตัวผู้ไปตกบนยอดเกสรตัวเมียได้แตกต่างกัน (ลาวัลย์, 2534) ซึ่งพบว่า การผสมเกสรด้วยมือทำให้ติดเมล็ดดีกว่าวิธีอื่น ๆ เนื่องจากสามารถควบคุมปริมาณของเกสรตัวผู้ที่จะไปตกบนเกสรตัวเมียได้ดีกว่าวิธีอื่น และการผสมเกสรโดยผึ้งก็ให้ผลดีกว่าการผสมเกสรตามธรรมชาติ เพราะในขณะที่ผึ้งทำการเก็บเกสรและน้ำหวานบนดอกผักกาดเขียวปลี มีละอองเกสรตัวผู้ติดไปกับส่วนต่างๆของผึ้งจึงทำให้เกิดการติดเมล็ดได้ดีกว่าการติดเมล็ดตามธรรมชาติ (หลวงบุเรศรบำรุงการ, 2524) สาเหตุหนึ่งที่ทำให้การผสมเกสรโดยใช้ผึ้งให้ผลไม่ดีเท่าที่ควรเมื่อเทียบกับการผสมเกสรด้วยมือ อาจเป็นเพราะการจัดการสภาพแวดล้อมในขณะที่ทำการผสมพันธุ์ไม่เหมาะสม เช่น กรงมีขนาดเล็กเกินไป ทำให้การระบายอากาศไม่ดี ส่งผลให้พฤติกรรมในการบินและการหาอาหารของผึ้งเปลี่ยนแปลงไป ประกอบกับช่วงเวลาการบานของดอกในช่วงเช้ามีอุณหภูมิต่ำ ทำให้ผึ้งออกหาอาหารช้าลงจึงทำให้การทดลองได้ผลไม่ดีเท่าที่ควร (พิชัย และสมนึก, 2537) ในการศึกษาครั้งต่อไปควรเพิ่มขนาดของกรงที่ใช้ในการผสมเกสรให้มีขนาดใหญ่ขึ้นเพื่อลดผล

กระทบของสภาพแวดล้อมภายในกรงที่มีผลต่อพฤติกรรมการหาอาหารและการผสมเกสรของผึ้ง และควรศึกษาหาจำนวนของผึ้งที่เหมาะสมสำหรับการผสมเกสรในกรงขนาดต่างๆ

การผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมผักกาดเขียวปลีโดยอาศัยผึ้งในการผสมเกสรพบว่าเมล็ดพันธุ์ลูกผสมที่ได้ของแต่ละพันธุ์มีจำนวนต่างกัน เป็นผลเนื่องมาจากลักษณะทางพันธุกรรมของแต่ละพันธุ์ที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในขณะที่ทำการทดลอง กล่าวคือ พันธุ์ที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี สามารถเจริญเติบโตได้ดี มีจำนวนแขนงของกิ่งดอก และจำนวนช่อดอกต่อต้นมาก โอกาสที่จะติดเมล็ดก็สูงกว่าพันธุ์ที่ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมนั้นไม่ดีส่งผลทำให้เมล็ดพันธุ์ที่ได้มีจำนวนแตกต่างกันในแต่ละพันธุ์ (Falconer,1987) เมื่อนำลูกผสมที่ได้ไปปลูกทดสอบเพื่อประเมินพันธุ์พบว่าลูกผสมส่วนใหญ่ไม่มีการห่อหัว เนื่องจากการห่อหัวของผักกาดเขียวปลีถูกควบคุมโดยยีนหลายชุดทำให้การผสมกลับไม่สามารถคืนการห่อหัวของผักกาดเขียวปลีได้ ในการศึกษาครั้งต่อไปควรศึกษาระบบของยีนที่ควบคุมการห่อหัวเพื่อที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป สำหรับลูกผสม 2 สายพันธุ์ที่ห่อหัวและแสดงลักษณะที่ดีได้แก่พันธุ์ (4 - 4 X 19-H-12) X $40R_2$-3-4 และ (4-4X2R_2) X$40R_2$-3-4 ซึ่งมีการห่อหัวดี หัวกลม ส่วนของลำต้นสั้นและห่อหัวแน่น ลักษณะดังกล่าวเป็นที่ต้องการของตลาดในปัจจุบัน ควรนำไปปลูกทดสอบในแปลงเกษตรกรต่อไป เมื่อดูการเกิดโรคของผักกาดเขียวปลีที่ทำการทดสอบ พบว่าเกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุการเกิดของโรคส่วนหนึ่งมาจากการให้น้ำแบบปล่อยตามร่อง ภายในแปลงที่มีการระบายน้ำไม่ดี ถ้าจัดการเรื่องการระบายน้ำที่ดีก็ทำให้การเกิดของโรคเกิดมีน้อยลง

ในการใช้เทคนิคทางอิเล็กโทรโฟรีซีสในการตรวจสอบลูกผสมผักกาดเขียวปลีโดยทำการศึกษาเอนไซม์ 3 ชนิดได้แก่ peroxidase, acid phosphatase และ esterase พบว่าการใช้เอนไซม์ peroxidase สามารถมองเห็นแถบของเอนไซม์ได้ชัดเจน โดยพบว่าในสายพันธุ์พ่อและแม่จะมีแถบ ไอโซไซม์ 2 แถบส่วนในลูกผสมจะมีแถบไอโซไซม์เพิ่มขึ้น โดยในสายพันธุ์ (4-4X67) X $40R_2$-3-4 มีแถบไอโซไซม์ที่เพิ่มขึ้นมา 2 แถบ ได้แก่ แถบที่ 1 และแถบที่ 4 และในพันธุ์ (4-4X19H-1)X67 มีแถบไอโซไซม์ แถบที่ 3 เพิ่มขึ้นมา ส่วนในพันธุ์ (4-4X64-4)X67 มีแถบไอโซไซม์ แถบที่ 2 เพิ่มขึ้นมา เชื่อว่าแถบไอโซไซม์ที่เพิ่มขึ้นมานั้นมีสาเหตุจากการเกิด heterosis ของลูกผสมเดี่ยวที่เกิดจากพ่อแม่ที่มีความแตกต่างกันทำให้เกิดลักษณะ heterosis เกิดขึ้น ส่งผลให้มีแถบไอโซไซม์เพิ่มขึ้นมาในลูกผสมที่ทำการศึกษา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Sekhon and Gupta ในปี 1992 ที่ทำการศึกษาไอโซไซม์ในเมล็ดของผักกาดเขียวปลี

สำหรับการศึกษาเอนไซม์ acid phosphatase และ esterase ปรากฏว่าแถบไอโซไซม์ที่เกิดขึ้นเห็นได้ไม่ชัดเจน และในทุกพันธุ์ของผักกาดเขียวปลีมีจำนวนแถบไอโซไซม์ที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างกัน โดยในการศึกษาเอนไซม์ ACP พบว่าเกิดแถบไอโซไซม์ 2 แถบในทุกพันธุ์ของผักกาดเขียวปลีและ

ในการศึกษาเอนไซม์ EST พบว่าเกิดแถบไอโซไซม์ขึ้น 5 แถบ เหมือนกันทุกพันธุ์ทั้งนี้อาจเป็นเพราะระดับเอนไซม์ esterase และ acid phosphastase ในใบของผักกาดเขียวปลีที่ทำการทดสอบมีระดับใกล้เคียงกัน ส่วนสาเหตุที่ทำให้เห็นแถบไอโซไซม์ไม่ชัดเจนอาจเกิดขึ้นจากสภาพแวดล้อมต่างๆ ที่ทำปฏิกริยาไม่เหมาะสมเช่น อุณหภูมิ O_2 pH. ทำให้ปฏิกริยาเพอริเมอไรเซชั่น เกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ (อาภัสสรา, 2537) การศึกษาครั้งต่อไป ควรเพิ่มปริมาณของตัวอย่างพืชที่ใช้และควรทำการศึกษาเอ็นไซม์ตัวอื่นที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสอบความสำพันธุ์ระหว่างลูกผสมกับพ่อแม่ต่อไป

สรุป

1. การถ่ายทอดยีนตัวผู้เป็นหมันในไซโทพลาสซึม (4-4) ไปสู่สายพันธุ์แท้ผักกาดเขียวปลีสามารถทำได้โดยอาศัย การผสมด้วยมือซึ่งจะทำให้ลูกผสมที่เกิดขึ้นลักษณะเป็นหมัน

2. การศึกษาวิธีการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมโดยวิธีการต่าง ๆ ในแปลงขนาด กว้าง 2 เมตร ยาว 3 เมตร สูง 2 เมตร พบว่าการผสมเกสรโดยการอาศัยมือให้ผลดีกว่าการผสมเกสรโดยอาศัยผึ้งและการผสมเกสรตามธรรมชาติตามลำดับ

3. การผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมโดยอาศัยสายพันธุ์ 2-4 , 2I13 , 2M7R-2-1 , 19-H , 64-4-2 และ67 เป็นพันธุ์พ่อ พบว่าสายพันธุ์ (4-4 X 19-H-12) X40R_2-3-4 ให้น้ำหนักเมล็ดพันธุ์สูงสุด และพันธุ์ (4-4 X 64-4-2) X 2-4 ให้ให้น้ำหนักเมล็ดพันธุ์น้อยที่สุด

4. จากการประเมินพันธุ์ลูกผสมผักกาดเขียวปลีในฤดูหนาว 2540 พบว่าได้ลูกผสมที่ดีเป็นที่ต้องการของตลาด 2 สายพันธุ์ คือ (4-4X19-H-12) X 40R_2-3-4 และ (4-4X2R_2) X 40R_2-3-4

5. การตรวจสอบลูกผสม โดยอาศัยเทคนิคทางอิเล็กโทรโฟรีซีส ในการจำแนก ผักกาดเขียวปลีลูกผสมโดยใช้ใบจากต้นอ่อน พบว่าการใช้เอนไซม์ peroxidase มีความเหมาะสมกว่าใช้เอนไซม์ acid phosphatase และเอนไซม์ esterase