บทที่ 4
บทสรุป

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การตรวจสอบการมีไซโตพลาสซึมปกติและเป็นหมันในทานตะวัน ด้วยวิธี PCR เพิ่มปริมาณยีนตรวจสอบ *atpA* และบริเวณใกล้เคียง เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพ สามารถระบุการมีไซโตพลาสซึมปกติและไซโตพลาสซึมเป็นหมันได้อย่างชัดเจน นอกจากนี้ ยังทราบผลได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว มีงานน้อย และประหยัดค่าใช้จ่ายกว่าการใช้วิธีผสมกลับเพื่อระบุลักษณะดังกล่าว ดังนั้นจึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ทานตะวัน โดยเฉพาะการผลิตทานตะวันพันธุ์ลูกผสม ซึ่งต้องมีทั้งสายพันธุ์ที่มีไซโตพลาสซึมปกติและเป็นหมันเข้าร่วมในการผลิต

ปัจจัยชนิดเนื้อเยื่อ สายพันธุ์ วิธีการแยกโปรโตพลาสต์ และระดับความเข้มข้นเอนไซม์ cellulase มีอิทธิพลต่อทั้งผลผลิตและความมีชีวิตของโปรโตพลาสต์ ซึ่งเป็นตัวกำหนดความสำเร็จในการแยกโปรโตพลาสต์เพื่อให้ได้จำนวนโปรโตพลาสต์มีชีวิตมากเพียงพอสำหรับใช้ในการรวมและเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ โดยปัจจัยเหมาะสมสำหรับการแยกโปรโตพลาสต์ในพืชแต่ละสายพันธุ์และเนื้อเยื่อมักมีความแตกต่างกัน จึงต้องเลือกใช้ให้เหมาะสม โดยพบว่า การแยกโปรโตพลาสจากเนื้อเยื่อลำต้นอ่อนด้วย 1% (w/v) macerozyme, 1% (w/v) BSA ร่วมกับ 1.0% (w/v) cellulase เหมาะสมสำหรับสายพันธุ์ PI 441983 ส่วนการใช้ 0.5% (w/v) macerozyme ร่วมกับ 1.0% (w/v) cellulase เหมาะกับสายพันธุ์ 10A แต่สำหรับการแยกโปรโตพลาสต์จากเนื้อเยื่อใบ พบว่า การใช้ 0.05% (w/v) driselase, 0.02% (w/v) macerozyme, 0.1% (w/v) BSA ร่วมกับ 0.1 และ 0.5% (w/v) cellulase เหมาะสมสำหรับสายพันธุ์ 10A และ PI 441983 ตามลำดับ

วิธีการเพาะเลี้ยง และความหนาแน่นโปรโตพลาสต์ ล้วนมีอิทธิพลต่อการเจริญและพัฒนาของโปรโตพลาสต์ โดยเฉพาะอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งนอกจากจำเป็นต้องมีการปรับเปลี่ยนให้เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของโปรโตพลาสต์แต่ละระยะแล้ว ยังต้องมีความเหมาะสมกับชนิดของโปรโตพลาสต์ (แหล่งเนื้อเยื่อ) และสายพันธุ์ที่ทำการเพาะเลี้ยงด้วย จึงจะประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยง โดยพบว่า การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์ด้วยวิธีการ L4 regeneration ที่ความหนาแน่นโปรโตพลาสต์สูง (5×10^4 โปรโตพลาสต์/มล.) มีประสิทธิภาพเหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์จากลำต้นอ่อนของทานตะวันสายพันธุ์ 10A

ปัจจัยชักนำการรวมโปรโตพลาสต์ที่มีประสิทธิภาพจำเป็นต้องให้เปอร์เซ็นต์การเกิด binary fusion สูง ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์สำหรับการผลิตเซลล์ลูกผสม และเกิด multi fusion ต่ำ จากการทดลองพบว่า ระดับความเข้มข้น PEG 8000 และระยะเวลาชักนำให้เกิดการรวมโปรโตพลาสต์ มีอิทธิพลต่อการชักนำให้เกิดการรวมโปรโตพลาสต์ระหว่างโปรโตพลาสต์ลำต้นอ่อนจากสายพันธุ์ 10A

และโปรโตพลาสต์ใบจากสายพันธุ์ PI 441983 โดยการชักนำให้เกิดการรวมโปรโตพลาสต์ด้วย 20% (w/v) PEG 8000 ในสารละลายที่ประกอบด้วย 5% (v/v) DMSO, 90 mM mannitol, 60 mM $CaCl_2$ และ 25 mM glycine, pH 5.6-5.7 เป็นระยะเวลา 15 นาที เหมาะสมสำหรับชักนำให้เกิดการรวมกันระหว่างโปรโตพลาสต์จากเนื้อเยื่อทานตะวันทั้งสองสายพันธุ์ที่สุด

ความรู้ที่ได้นี้จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาสายพันธุ์บี โดยวิธีรวมโปรโตพลาสต์ ซึ่งจะนำไปสู่การผลิตทานตะวันพันธุ์ลูกผสมที่เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมการปลูกในประเทศไทย ซึ่งนอกจากจะช่วยลดการนำเข้าผลิตภัณฑ์ทานตะวันจากต่างประเทศ และลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกรแล้ว ความรู้ที่ได้ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับการปรับปรุงพันธุ์พืชชนิดอื่นโดยวิธีรวมโปรโตพลาสต์ได้ในอนาคต