

อติทยา ศรีทิพย์ : การเพาะเลี้ยงรังไข่ที่ไม่ได้รับการผสมของแตงกวาเพื่อผลิต
สายพันธุ์แท้ (CUCUMBER UNPOLLINATED OVARY CULTURE FOR INBRED
LINE PRODUCTION) อาจารย์ที่ปรึกษา : ศาสตราจารย์ ดร.ปิยะดา อภิวัฒน์ ต้นตสวัสดิ์,
68 หน้า.

การเพาะเลี้ยงรังไข่เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการผลิตพืชสายพันธุ์แท้ ซึ่งความสำเร็จในการ
เพาะเลี้ยงรังไข่ขึ้นอยู่กับจีโนไทป์ของพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงและสภาวะการเพาะเลี้ยง การศึกษาครั้งนี้
มีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) พัฒนารูปแบบที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงรังไข่ที่ไม่ได้รับการผสมของ
แตงกวา (*Cucumis sativus* L.) และ (2) เพื่อชักนำและพัฒนาเนื้อเยื่อที่มีลักษณะคล้ายเอ็มบริโอ
(embryo-like structures; ELS) และแคลลัสจากเนื้อเยื่อรังไข่ การวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง
คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัส ซึ่งประกอบด้วย
อุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 25 °ซ และ 35°ซ แตงกวาจำนวน 5 พันธุ์ คือ ไฉไล บิ๊กชี สายฟ้า-185 มีชัย และ
มินิคิงซ์ อาหารระยะที่ 1 (induction medium) สูตร I1-I5 และอาหารระยะที่ 2 สูตร D1-D3 ผลการ
ทดลองพบว่า การปรับสภาพรังไข่ที่ไม่ได้รับการผสมโดยเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิสูง 35°ซ ลด
เปอร์เซ็นต์การเกิด ELS 1.3 เท่า แต่ไม่มีผลต่อการเกิดแคลลัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รังไข่ของ
แตงกวาทั้ง 5 พันธุ์ สามารถพัฒนาไปเป็น ELS และแคลลัสแต่มีศักยภาพการเกิด ELS และแคลลัส
แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การเติม thidiazuron (TDZ) ที่ความเข้มข้น 1 มก./ล. ร่วมกับ 6-
benzylaminopurine (BAP) ที่ความเข้มข้น 1 มก./ล. (I2) ในอาหารระยะที่ 1 ให้เปอร์เซ็นต์การเกิด
ELS สูงที่สุดตั้งแต่ 42.3 ถึง 91.4% โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 60.4% ส่วนอาหารระยะที่ 1 ที่เติม BAP
ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ร่วมกับ indole-3-acetic acid (IAA) ความเข้มข้น 1 มก./ล. gibberellic acid
(GA₃) ความเข้มข้น 1 มก./ล. และ putrescine ความเข้มข้น 32 มก./ล. (I5) สามารถชักนำให้เกิด
แคลลัสได้สูงที่สุด (70.8%) ในทางกลับกันอาหารระยะที่ 2 ไม่มีอิทธิพลต่อศักยภาพการเกิดทั้ง ELS
และแคลลัส การทดลองที่ 2 พัฒนาสูตรอาหารเพาะเลี้ยงรังไข่เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารระยะ
ที่ 1 และระยะที่ 2 ในการชักนำให้เกิด ELS และแคลลัสจากเนื้อเยื่อ รังไข่ โดยศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อ
การเกิด ELS และแคลลัส 3 ปัจจัย คือ แตงกวาจำนวน 4 พันธุ์/สายพันธุ์ คือ ไฉไล บิ๊กชี CN-3 และ
CN-4 อาหารระยะที่ 1 จำนวน 5 สูตร คือ I2 I2A I2B I2C และ I2E และอาหารระยะที่ 2 จำนวน 3
สูตร คือ D2 D2+ และ D2++ พบว่าอาหารระยะที่ 1 สูตร I2A ที่เติม triacontanol (TRIA) ความ
เข้มข้น 2 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิด ELS และแคลลัสได้ สูงที่สุด (83.1%) และการเติม TRIA
ร่วมกับ silver nitrate (AgNO₃) ในอาหารระยะที่ 2 (D2++) ไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อ
เปอร์เซ็นต์การเกิด ELS และแคลลัส แต่ให้ ELS ที่มีสีเขียวและแข็งแรงกว่าเมื่อเทียบกับอาหารระยะ
ที่ 2 สูตรอื่น สำหรับแตงกวาทั้ง 4 พันธุ์ที่นำมาเพาะเลี้ยงพบว่า รังไข่ของแตงกวาพันธุ์บิ๊กชีมี

เปอร์เซ็นต์การเกิด ELS สูงกว่าพันธุ์อื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (78.9%) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าประสิทธิภาพการเกิด ELS นั้นขึ้นอยู่กับจีโนไทป์ โดยประสิทธิภาพการเกิด ELS ที่สูงขึ้นจากการทดลองนี้ช่วยเพิ่มโอกาสสำเร็จในการผลิตพืชแฮพลอยด์และดัมเบิลแฮพลอยด์จากแตงกวาเพื่อผลิตสายพันธุ์แท้ในอนาคต



ATTITAYA SORNTIP : CUCUMBER UNPOLLINATED OVARY CULTURE
FOR INBRED LINE PRODUCTION. THESIS ADVISOR : PROF. PIYADA
ALISHA TANTASAWAT, Ph.D., 68 PP.

Cucumis sativus L./CALLUS/DIFFERENTIATION MEDIA/ELS/GENOTYPE/
INDUCTION MEDIA/THERMAL SHOCK

Ovary culture is one of the methods used for inbred line production. Its success depends on donor plant genotypes and is also affected by cultural conditions. The objectives of this study were (1) to develop suitable procedures for unpollinated ovary culture of cucumber (*Cucumis sativus* L.) and (2) to induce and develop embryo-like structures (ELSs) and calli from ovary tissues. There were two experiments in this study. In the first experiment, the effects of various factors including thermal shock pretreatment (25 and 35°C), genotypes of donor plants (Chi-Li, Big-C, Saifha-185, Meechai and Mini-King), induction (I1-I5) and differentiation (D1-D3) media were evaluated on percentages of ELS and callus formation. It was found that thermal shock pretreatment reduced the percentage of ELS formation *ca.* 1.3-fold, but had no significant effect on callus formation. All five cucumber cultivars produced ELS and calli, although their ELS and callus formation potentials varied significantly. Addition of 1 mg/L thidiazuron (TDZ) and 1 mg/L 6-benzylaminopurine (BAP) (I2) into the induction medium resulted in the highest percentage of ELS formation, ranging from 42.3 to 91.4% with an average of 60.4%. However, the highest percentage of callus formation was observed in an induction medium containing 2 mg/L BA, 0.5 mg/L indole-3-acetic acid (IAA), 1 mg/L gibberellic acid (GA₃) and 32 mg/L putrescine (I5) (70.8%). By contrast, differentiation media had no significant effect on formation potentials of both ELSs and calli. The second

experiment was performed to enhance the efficiencies of induction and differentiation media for the formation of ELSs and calli from ovary tissues. The effects of three factors; genotypes (Chi-Li, Big-C, CN-3 and CN-4), induction media (I2, I2A, I2B, I2C and I2E) and differentiation media (D2, D2+ and D2++) were evaluated on ELS and callus formation. The highest percentages of ELS and callus formation (83.1%) were obtained with I2A induction medium containing 2 mg/L triacontanol (TRIA). The addition of TRIA and silver nitrate (AgNO_3) into the differentiation medium (D2++) had no significant effect on the percentages of ELS and callus formation but produced ELSs that were greener and more vigorous than other differentiation media. Among the four cultivars used as donor parents, 'Big C' gave significantly higher percentages of ELS formation (78.9%), suggesting that ELS formation efficiencies were genotype-dependent. The higher ELS formation efficiencies achieved in the present study are promising for future production of haploid/doubled haploid cucumbers for inbred line production.

School of Crop Production Technology

Academic Year 2015

Student's Signature _____

Advisor's Signature _____