ชื่อเรื่อง การเลี้ยงต้นแฮพลอยด์จากออวุลของแตงกวา
ชื่อผู้เขียน นางสาวสิริรักษ์ สำเภาแก้ว
ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน
ประธานกรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชลิต พงศ์ศุภสมิทธิ์

บทคัดย่อ

การผลิตพืชแฮพลอยด์โดยใช้วิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อออวุลเป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับมานานและมีความสำคัญต่อการผลิดพืชแฮพลอยด์ เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาด้านพันธุ-ศาสตร์และการปรับปรุงพันธุ์พืช จากการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการพัฒนาไปเป็นต้นของออวุลที่ไม่ได้รับการผสมพันธุ์จากการเลี้ยงดอกเพศเมียก่อนบาน 1 วันของแตงกวาจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ NJ2 และแดงร้าน พบว่าพันธุ์ที่ตอบสนองต่อการเลี้ยงดีที่สุดคือ พันธุ์ NJ2 โดยมีความถี่ของเกิดเอ็มบริโอได้สูงสุดร้อยละ 6.90 สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเกิดแคลลัสของออวุลแตงกวาคืออาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยเติม 2,4-D ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ kinetin ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเพิ่มปริมาณแคลลัสและย้ายไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยเติม BAP 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคลลัสมีการพัฒนาเป็นเอ็มบริโอจีนิกระยะ globular และเมื่อย้ายแคลลัสลงบนอาหารสูตร CBM (regeneration medium) ดัดแปลงโดยเติม NAA ความเข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BAP ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าเอ็มบริโอจีนิกแคลลัสมีการพัฒนาไปเป็นรากและพัฒนาเป็นระยะ heart-shape เมื่อย้ายลงบนอาหารสูตร CBM (regeneration medium) พบว่าชิ้นส่วนสามารถเปลี่ยนแปลง (differentiation) ไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ได้หลังการเลี้ยงนาน 1 สัปดาห์ การศึกษาด้านเซลล์วิทยาพบความผิดปกติของจำนวนโครโมโซม การตรวจนับจำนวนโครโมโซมในรากโดยใช้เทคนิค squash พบว่ามีจำนวนโครโมโซม 2n=14, 2n=7 และ polyploidy วิธีการหยดโปรโตพลาสต์แคลลัสมีจำนวนโครโมโซมแบบ mixoploid (2n=28, 2n=14 และ 2n=7) และต้นอ่อนมีจำนวนโครโมโซม 2n=14 และ 2n=7 การตรวจด้วยเครื่องโฟลไซโตมิเตอร์ (flow cytometer) พบว่ายอดและรากมีจำนวนโครโมโซม 1, 2 และ 4 ชุด และแคลลัสมีจำนวนโครโมโซมแบบ aneuploid และ mixoploid

Title Induction of haploid plants from ovule cultures of cucumber (*Cucumis sativus* L.)

Author Miss Sirirak Sampaokaew

Degree of Master of Science in Horticulture

Advisory Committee Chairperson Assistant Professor Chalit Pongsupasamit

ABSTRACT

Haploid plant production using *in vitro* ovule cultures has long been recognized as an important tool for genetic studies and plant improvement. Factors affecting *in vitro* gynogenesis of female flowers obtained one day before anthesis of two cucumber varieties 'NJ2' and 'Tangran', were studied. It was found that unpollinated ovules of 'NJ2' gave the highest embryo formation frequency (6.90%) while the most suitable medium for the highest callus induction was the supplementation of 2.0 mg/l of 2,4-D and 1.0 mg/l of kinetin. Subculture of calli on MS medium supplemented with 2.0 mg/l of BAP led to differentiation of embryoids into globular structures, which later developed into heart-shaped stage and into roots after transfer to CBM regeneration medium supplemented with 0.05 mg/l of NAA and 0.2 mg/l BAP. Plantlets were obtained when embryoids were subsequently subcultured on growth regulator-free CBM regeneration medium for seven days. Chromosomal studies showed some numerical aberrations. Root-tip squash preparations showed diploid (2n=14), haploid (n=7) and polyploidy cells. Results from protoplast dropping technique on calli also showed mixoploidy of 4n, 2n and n while in plantlets, chromosome numbers of 14 and 7 were found. Flow cytometry analysis of root and shoot tissue gave haploid, diploid and tetraploid chromosome numbers whereas calli showed an aneuploid - mixoploid profile.