

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของน้ำกรองจากการเลี้ยงเชื้อรา Fusarium oxysporum
f.sp. cucumerinum ที่มีต่อการเจริญของแคลลัสแตงกวา
(Cucumis sativus Linn.) สามพันธุ์

ชื่อผู้เขียน นางสาว สุรัชวีวัลย์ เมฆกมล

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ :

รศ.ดร. ทิพย์มณี	ภระตะศิลาปิ่น	ประธานกรรมการ
รศ.ดร. นุชนารถ	จงเลขา	กรรมการ
ดร. กอบเกียรติ	แสงนิล	กรรมการ

บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาชนิดของชิ้นเนื้อเยื่อและสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยการเลี้ยงชิ้นเนื้อเยื่อส่วน cotyledon, hypocotyl และ petiole ของแตงกวา 3 พันธุ์ (Spring Swallow, Fountain 275 และ Sweet Crunch) ในอาหารสูตร MS ที่ผสม auxin และ cytokinin 5 คู่ ในสัดส่วนความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าชิ้นเนื้อเยื่อทุกชนิดสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและกระบวนการ organogenesis ได้ แคลลัสจากชิ้นเนื้อเยื่อ hypocotyl เหมาะสมที่สุดในการสร้างยอดใหม่ซึ่งบางยอดเกิดดอกตัวผู้ somatic embryo จำนวนเล็กน้อย เกิดขึ้นในความเข้มข้นบางระดับของ NAA ร่วมกับ BA หรือ zeatin แต่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ อาหารที่ดีที่สุดในการชักนำให้เกิดต้นใหม่คือ อาหาร MS ที่ผสม NAA 3.0 $\mu\text{M}/\text{l}$ ร่วมกับ zeatin 4.0 $\mu\text{M}/\text{l}$ จึงเลือกชิ้นเนื้อเยื่อและอาหารดังกล่าวมาทำการทดลองต่อไป

ทำการเลี้ยงแคลลัสจากชิ้นเนื้อเยื่อ hypocotyl ของแตงกวา 3 พันธุ์ ในอาหารข้างต้นที่ผสมน้ำกรองจากการเลี้ยงเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum ในความเข้มข้น 1, 5, 10, 15, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ หลังจาก 1 เดือนพบว่าแคลลัสมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลดลงตามความเข้มข้นของน้ำกรองจากการเลี้ยงเชื้อราที่เพิ่มขึ้น ที่ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปเริ่มปรากฏการตายของแคลลัสบางส่วนและตายทั้งหมดที่ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์ จึงทำการย้ายแคลลัสที่รอดตายไปเลี้ยงในอาหารที่ผสมน้ำกรองจากการเลี้ยงเชื้อราความเข้มข้นเดิมคือ 15, 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ต่อไปอีก 3 ครั้งสลับกับอาหารที่ไม่ผสมน้ำกรองจากการเลี้ยงเชื้อราอีก 1 ครั้งในระหว่างการย้ายเลี้ยง 2 ครั้งหลัง จากนั้นย้ายแคลลัสที่รอดตายทั้งหมดไปเลี้ยงในความเข้มข้นที่สูงขึ้นคือ 40 เปอร์เซ็นต์ ก่อนจะย้ายไปเลี้ยงในอาหารสุดท้ายที่ไม่ผสมน้ำกรองจากการเลี้ยงเชื้อรา ดังนั้นจึงมีการย้ายเลี้ยงทั้งหมด 6 ครั้งแต่ละครั้งใช้เวลานาน 1 เดือนพบว่าแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงในความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ตายทั้งหมด ส่วนแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงในความเข้มข้น 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์หลังการย้ายเลี้ยง 6 ครั้งเหลือแคลลัสของพันธุ์ Fountain 275 รอดมา 6 เปอร์เซ็นต์และพันธุ์ Spring Swallow 4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนพันธุ์ Sweet Crunch แคลลัสตายทั้งหมดหลังการย้ายเลี้ยงครั้งที่ 4 แคลลัสที่รอดตายไม่สามารถเจริญไปเป็นรากหรือยอดได้และคาดว่ามีความทนทานต่อน้ำกรองจากการเลี้ยงเชื้อรา Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum

Thesis Title The Effect of Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum
Culture Filtrate on Callus Development of Three
Cultivars of Cucumber (Cucumis sativus Linn.)

Author Miss Sureewan Mekkamol

M.S. Biology

Examining Committee :

Assoc.Prof.Dr. Thipmani Paratasilpin

Chairman

Assoc.Prof.Dr. Nuchnart Jonglaekha

Member

Dr. Kobkiat Saengnil

Member

Abstract

Types of explant and growth regulator were investigated by culturing cotyledonary, hypocotyl and petiole explants of 3 cucumber cultivars (Spring Swallow, Fountain 275 and Sweet Crunch) on MS media containing 5 pairs of auxins and cytokinins at various concentrations and combinations. Callus formation and organogenesis were found with all types of explant. Calli derived from hypocotyl explants were the most suitable to regenerate plantlets, some of which produced male flowers. A few somatic embryos were also induced in some concentrations of NAA and BA or zeatin but were unable to grow. The best medium to regenerate plantlets was MS, containing 3.0 $\mu\text{M/l}$ NAA and 4.0 $\mu\text{M/l}$ zeatin. This explant type and medium were then selected for the following experiments.

Calli derived from hypocotyl explants of 3 cucumber cultivars were cultured on the above medium, containing culture filtrate of Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum at concentrations of 1, 5, 10, 15, 20, 30 and 40 percent. After 1 month, callus fresh and dry weights decreased inversely with concentration. Mortality were observed in some calli at concentrations of 15 percent upward and 100 percent mortality occurred at a concentration of 40 percent. The surviving calli were transferred 3 times to media containing the original concentrations of culture filtrate at 15, 20 or 30 percent, alternating with 1 time to the medium without culture filtrate between the last two subcultures. All surviving calli were then transferred again to the medium containing a higher concentration of 40 percent, before subculturing to the final medium, containing no culture filtrate. There were therefore 6 subcultures altogether with a duration of 1 month in each. All calli cultured in the 15 percent culture filtrate died, while some of those cultured in concentrations of 20 and 30 percent survived. Survival rates were 6 percent for cucumber cv. Fountain 275 and 4 percent for cv. Spring Swallow after the 6th subculture. For cv. Sweet Crunch, all calli died after the 4th subculture. The surviving calli could not develop root nor shoot and were expected to tolerate the culture filtrate of Fusarium oxysporum f.sp. cucumerinum.