บทคัดย่อ

โรคราน้ำค้างที่เกิดจากเชื้อ *Pseudoperonospora cubensis* เป็นโรคที่ทำความเสียหายแก่ผลผลิตแตงกวาทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย การเพาะเลี้ยงรังไข่เพื่อผลิตสายพันธุ์แท้เป็นทางเลือกหนึ่งในการปรับปรุงพันธุ์แตงกวาลูกผสมเพื่อให้ต้านทานโรคราน้ำค้างที่มีประสิทธิภาพและรวดเร็ว งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ประเมินความต้านทานโรคราน้ำค้างเบื้องต้นจากแตงกวาพันธุ์ต่าง ๆ 2) เพื่อพัฒนาวิธีการที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงรังไข่สำหรับผลิตแตงกวาสายพันธุ์แท้ 3) เพื่อพัฒนาวิธีการใช้เครื่องหมายโมเลกุล สำหรับตรวจสอบและแยกความแตกต่างของต้นสายพันธุ์แท้ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่และต้นที่พัฒนาจากเนื้อเยื่อต้น donor การศึกษาครั้งนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ การประเมินความต้านทานโรคราน้ำค้างของแตงกวาพันธุ์ต่าง ๆ การเปรียบเทียบสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวาเพื่อผลิตสายพันธุ์แท้ และการตรวจสอบแตงกวาสายพันธุ์แท้ โดยการนับจำนวนโครโมโซม และการใช้เครื่องหมาย inter-simple sequence repeat (ISSR) จากการศึกษาความต้านทานโรคราน้ำค้างของแตงกวา จำนวน 23 พันธุ์ หลังการปลูกเชื้อ 65 วัน พบว่าสามารถจัดระดับความต้านทานได้ 3 ระดับคือ ต้านทาน จำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ ไฉไล CU 075 และ CU 4305 ต้านทานปานกลางจำนวน 11 พันธุ์ และอ่อนแอจำนวน 9 พันธุ์ จากการทดลองเปรียบเทียบสูตรอาหารเพาะเลี้ยงรังไข่แตงกวา พบว่าต้นแตงกวาที่เกิดจากการเพาะเลี้ยงรังไข่เจริญมาจาก embryo-like structure (ELS) โดยการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25°ซ มีประสิทธิภาพในการชักนำให้เกิด ELS มากกว่า 35°ซ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 1.3 เท่า และอาหารระยะที่ 1 สูตร $I2G_{MA}$ มีแนวโน้มให้เปอร์เซ็นต์การเกิด ELS สูง และเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดกลุ่มสูงที่สุด อาหารระยะที่ 2 และ 3 มีส่วนช่วยในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงของ ELS และแคลลัส รวมทั้งการพัฒนาไปเป็นยอดกลุ่ม อย่างไรก็ตามการพัฒนาเป็นต้นสมบูรณ์เกิดขึ้นในอาหารชักนำต้นที่ปราศจากฮอร์โมน คืออาหารสูตร MS0 โอวุลของแตงกวาพันธุ์ไฉไลและบิ๊กซีสามารถพัฒนาเป็นต้นได้ไม่แตกต่างกัน โดยพบว่าได้ต้นดับเบิลแฮพลอยด์ ($2n = 2x = 14$) 60% ต้นแฮพลอยด์ ($2n = 1x = 7$) 30% และต้นทริพลอยด์ ($2n = 3x = 21$) 10% และการวิเคราะห์ ISSR ยืนยันว่าต้นดับเบิลแฮพลอยด์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรังไข่ของแตงกวาทั้งสองพันธุ์เป็นสายพันธุ์แท้ซึ่งมีพันธุกรรมต่างจากต้น donor ทุกต้น

Abstract

Downy mildew caused by *Pseudoperonospora cubensis*, is one of the most destructive cucumber diseases worldwide including Thailand. Production of inbred lines by ovary culture is an alternative strategy for rapid and efficient breeding of cucumber hybrids for downy mildew resistance. The objectives of this research were 1) to preliminarily evaluate the levels of downy mildew resistance in various cucumber cultivars, 2) to develop a suitable ovary culture method for the production of cucumber pure lines and 3) to develop molecular markers capable of differentiation between pure line plantlets arisen from ovary culture and hybrid plantlets regenerated from donor tissues. The study was divided into three parts: evaluation of downy mildew resistance levels of different cucumber cultivars, comparisons of various ovary culture media for pure line production, and assessment of inbred lines by chromosome counting and inter-simple sequence repeat (ISSR) analysis. When the resistance levels of 23 cucumber cultivars were evaluated at 65 days after inoculation, three resistance levels were observed; resistance (3 cultivars; Chailai, CU 075 and CU 4305), moderately resistance (11 cultivars) and susceptible (9 cultivars). It was found from repeated experiments using various culture media that ovary-derived plantlets arose directly from ELS. Culturing at 25˚C resulted in 1.3-fold significantly higher ELS induction efficiency than 35˚C. The 1st stage medium I2G$_{MA}$ tended to give high percentage of ELS induction and the highest percentage of multiple shoot formation. Differentiation media (2nd and 3rd stage media) stimulated the growth and differentiation of ELS and callus, as well as the development of multiple shoots. However, regeneration into complete plantlets occurred on the regeneration medium without any phytohormones (MS0). Ovules of Chai Lai and Big C were equally competent at plantlet formation, producing 60% doubled haploid (2*n* = 2*x* = 14), 30% haploid (2*n* = 1*x* = 7), and 10% triploid (2*n* = 3*x* = 21). The ISSR analysis confirmed that all the doubled haploid plantlets derived from the ovary culture of both cucumber cultivars were pure lines which differed genetically from donor plants.