

กมลพร มณฑาทอง : การชักนำให้เกิดต้นใหม่จากใบเลี้ยงของทานตะวันประดับในหลอด
ทดลอง (*IN VITRO* REGENERATION OF ORNAMENTAL SUNFLOWER
(*HELIANTHUS ANNUUS* L.) FROM COTYLEDONS) อาจารย์ที่ปรึกษา :
รองศาสตราจารย์ ดร.หนูเดือน เมืองแสน, 97 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อ 1) ตรวจสอบอิทธิพลของพันธุ์ สูตรอาหาร ทิศทางการวาง และอายุของใบเลี้ยงต่อการชักนำให้เกิดต้นใหม่ในทานตะวัน 2) เพื่อประเมินการปรับตัวและการเติบโตของต้นอ่อนพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในโรงเรือน และ 3) เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเซลล์วิทยาและทางเคมีของใบเลี้ยง ทำการทดลองโดยใช้ใบเลี้ยงจากต้นอ่อนทานตะวันสองพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ลูกผสมช่วงรุ่นที่ 1 (พันธุ์แปซิฟิก 22 x พราโดเรด) และพันธุ์พราโดเรดอายุ 0 1 และ 7 วัน แล้ววางด้านบนแผ่นใบเลี้ยง (อะคาเซียล) บนอาหารชักนำให้เกิดต้นจำนวน 4 สูตร (A1 - A4) เป็นเวลา 21 วัน นำส่วนยอดของต้นใหม่สูง 0.5-1.0 ซม ย้ายลงปลูกในอาหารชักนำให้เพิ่มจำนวนยอด จำนวน 5 สูตร (B1-B5) เป็นเวลา 21 วัน จากนั้นทำการย้ายส่วนยอดที่มีความสูง 1-1.5 ซม. มาเพาะเลี้ยงในอาหารชักนำให้เกิดรากจำนวน 10 สูตร (C1-C10) เป็นเวลา 21 วัน นำต้นอ่อนที่มีรากสมบูรณ์มาปลูกในกระถางพลาสติกบรรจุวัสดุปลูกจำนวน 3 สูตร (พีทมอส ทราย และพีทมอสผสมทรายอัตราส่วน 1 ต่อ 1) แล้ววางในโรงเรือนเป็นเวลา 14 วัน เพื่อประเมินอัตราการรอดชีวิต และการเติบโต นอกจากนี้ ทำการตัดตัวอย่างใบเลี้ยงจากต้นกล้าและใบเลี้ยงที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหารชักนำต้นนาน 21 วัน เพื่อนำมาข้อมูลและวิเคราะห์ลักษณะทางเซลล์วิทยาและทางเคมี ผลการทดลองพบว่าความถี่การชักนำให้เกิดต้นขึ้นกับพันธุ์ ชนิดสูตรอาหาร และอายุของใบเลี้ยง ใบเลี้ยงอายุ 1 วันตอบสนองต่ออาหารได้ดี (99.72%) มีร้อยละของยอดเพิ่มมากที่สุด (26.67%) จำนวนยอดสูงสุด (1.10 ยอด) และจำนวนรากเพิ่มมากที่สุด (17.78%) สูตรอาหารที่ประกอบด้วย BA 1 มก. ต่อลิตร (A3) ตอบสนองต่ออาหารได้ดีที่สุด (99.26 %) ร้อยละของการเกิดต้นมากที่สุด (30 %) และจำนวนต้นต่อชิ้นส่วนพืชมากที่สุด (1.15 ยอด/ชิ้นส่วนพืช) เมื่อนำส่วนยอดมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่เติม BA 2 มก. ต่อลิตร พบว่าให้จำนวนต้น (3 ต้นต่อชิ้นส่วนพืช) และจำนวนใบมากที่สุด (5 ใบต่อต้น) เมื่อนำต้นอ่อนที่สมบูรณ์มาเลี้ยงในอาหารชักนำราก พบว่าอาหารที่เติม BA 1 มก. ต่อลิตร IAA 1 มก. ต่อลิตร และผงถ่าน ให้จำนวนรากต่อต้นสูงที่สุด (7.26 รากต่อต้น) เมื่อนำต้นทานตะวันที่สมบูรณ์มาปลูกในโรงเรือนพบว่าวัสดุปลูกที่ประกอบด้วยพีทมอสอย่างเดียวสามารถให้อัตราการรอดชีวิตสูงที่สุดร้อยละ 60 มีจำนวน 6 ใบ และสูง 7 ซม.

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเซลล์วิทยาและทางเคมี พบว่าใบเลี้ยงจากต้นกล้า และใบเลี้ยงที่ผ่านการเพาะเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ ประกอบด้วยชั้นของเซลล์ ดังนี้ อะคาเซียล

พาราศิมมา อะบาเซียม พาราศิมมา โพรแคมเบียม เอพิเคอร์มิสด้านบนและเอพิเคอร์มิสด้านล่าง พบเม็ดแป้งกระจายอยู่ภายในเซลล์พาราศิมมาเฉพาะใบเลี้ยงที่ได้จากต้นกล้าเท่านั้น ลักษณะทางเซลล์วิทยาของใบเลี้ยง พบว่าจำนวนเซลล์ พื้นที่ของเซลล์ และความหนาของใบเลี้ยงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบทั้งสามปัจจัย ได้แก่ พันธุ์ อายุใบเลี้ยงและสภาพการเพาะเลี้ยง ใบเลี้ยงอายุ 7 วันที่ผ่านการเพาะเลี้ยงบนอาหารมีจำนวนเซลล์น้อยที่สุด (13.33 เซลล์ต่อไมโครเมตร) แต่พื้นที่ของเซลล์และความหนาของใบเลี้ยงมีค่ามากที่สุด (6,894 ไมโครเมตร และ 1.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ) สำหรับอาหารที่สะสมในใบเลี้ยง (โปรตีน ไขมันรวม น้ำตาลรวม และซูโครส) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยใบเลี้ยงที่ได้จากต้นกล้า 0 วัน จะพบปริมาณไขมัน น้ำตาลรวม และซูโครสมากที่สุด ในขณะที่ปริมาณโปรตีนพบน้อยที่สุด เมื่อนำใบเลี้ยงมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์พบว่าปริมาณโปรตีนมากกว่าและพบมากที่สุด ใบเลี้ยงอายุ 7 วัน โดยสรุป งานวิจัยนี้ได้ทราบปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการขยายพันธุ์ทานตะวันด้วยวิธีเพาะเลี้ยงใบเลี้ยงของต้นกล้า ได้ต้นใหม่ที่สมบูรณ์ และได้ทราบการเปลี่ยนแปลงทางเซลล์วิทยาและอาหารสะสมของใบเลี้ยงในหลอดทดลอง



สาขาวิชาชีววิทยา

ปีการศึกษา 2560

ลายมือชื่อนักศึกษา

สมิทธิ์ อธิพานิช

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

สมิทธิ์ อธิพานิช

KAMONPHON MONTATHONG : *IN VITRO* REGENERATION OF
ORNAMENTAL SUNFLOWER (*HELIANTHUS ANNUUS* L.) FROM
COTYLEDONS. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. NOODUAN
MUANGSAN, Ph.D. 97 PP.

CALLUS/ COTYLEDON/ CELL NUMBER/ TOTAL FAT/ SUNFLOWER

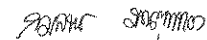
The main objectives of this research were; 1) to examine the effect of variety, media type and age of cotyledons on shoot induction of sunflower, 2) to evaluate acclimation and growth of regenerated plantlets in a greenhouse condition, and 3) to investigate cytological and chemical changes of cotyledons in seedlings and *in vitro* culture. Cotyledons of the F1 hybrid (Pacific 22 x Prado Red) and Prado Red varieties of 0, 1 and 7 days-old seedlings, as explants, were surface sterilized and placed on adaxial sides on 4 shoot induction media, A1-A4, for 21 days. Regenerated shoots with 0.5-1.5 cm in height were subcultured on 5 multiple shoot induction media, B1- B5, to increase the number of shoots for 21 days. The shoots with 1-1.5 cm in height were then subcultured on 10 root induction media, C1-C10, for 21 days. After that, complete plantlets were planted in plastic pots filled with sand, peat moss, and peat moss and sand with ratio 1:1 for 14 days and then were subjected for survival and growth measurement. Cotyledons of seedlings and *in vitro* culture were subjected to cytological and chemical analyses. The results showed that shoot induction frequency was affected by variety, media type and age of explants. Cotyledons of 1 day-old seedlings gave best response (99.72%), the highest percentage of shoot induction (26.67%), number of shoot per explant (1.10) and the root induction (17.78%). MS medium supplemented with 1 mg/l BA gave best response (99.26%), the highest

percentage shoot induction (30%) and number of shoot per explant (1.15). For shoot multiplication, the maximum shoot number (3.00) and number of leaves (5.60) were obtained on MS medium containing 2 mg/l BA. MS medium added with 1 mg/l BA, 1 mg/l IAA and charcoal powder gave the highest number of roots per plant (7.26). For acclimation and growth in a greenhouse, the peat moss gave the highest survival rate (60%) with 6 leaves and 7 cm in height.

Cross sections study revealed that cotyledon consisted of a layer of adaxial parenchyma, abaxial parenchyma, procambium, upper and lower epidermis. Starch granules only appeared within parenchymal cells of cotyledon seedlings. Cell number, cell area and cotyledon thickness were significantly different among conditions, varieties and ages. Cotyledons of 7 days-old seedlings after 21 days of culture had the lowest number of cells (13.33 cell/ μm^2), but the highest cell area (6,894 μm^2) and cotyledon thickness (1.22 mm). For chemical analysis, there was a statistically significant difference among varieties, cotyledon ages and conditions. The 0 day-old cotyledons both in seedlings and *in vitro* condition showed the highest values of total fat, total sugar and sucrose, but the lowest value of protein content. In conclusion, this study has determined factors influencing sunflower propagation using cotyledons as explants *in vitro*, and successfully obtained complete plantlets, as well as indicated the changes of cytology and food reserve of cotyledon explants *in vitro*.

School of Biology

Academic Year 2017

Student's Signature 

Advisor's Signature 