ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่ออับละอองเกสรดาวเรืองที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

ชื่อผู้เขียน นางสาว ละอองศรี พิมายกลาง

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต เกษตรศาสตร์ (สาขาวิชาพืชสวน)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์	ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. ทิพย์มณี ภะรตะศิลปิน	กรรมการ
อาจารย์ ดร. ฉันทนา สุวรรณธาดา	กรรมการ
อาจารย์ พฤกษ์ ยิบมันตะสิริ	กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของปัจจัยที่มีต่อการพัฒนาของอับละอองเกสรดาวเรืองที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าขนาดของดอกที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับพันธุ์ที่ใช้ โดยดอกดาวเรือง # 16 ที่มีดอกย่อยชั้นใน (disc floret) ยาว 2.5 มม. และดาวเรือง #17 #19 ที่มีขนาดยาว 2 มม. มีเซลระยะ uninucleate เป็นเปอร์เซ็นต์สูงที่สุด อาหารเหลวที่มีธาตุอาหารหลักสูตร Gamborg (1968) ดัดแปลง โดยเติม FeEDTA ของสูตร Murashige and Skoog (1962) มีความเหมาะสมต่อการพัฒนาของอับละอองเกสร และละอองเกสรมากกว่าสูตรอื่นที่ทดลอง การพัฒนาของอับละอองเกสรในอาหารดังกล่าวที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตไปเป็นคัพภะเทียมโดยตรงไม่ผ่านแคลลัสเกิดได้น้อยมากเพียง 1.2 % และใช้เวลานาน 65 วัน เมื่อนำอับละอองเกสรดาวเรือง #19 ไปเลี้ยงบนอาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพบว่า NAA 0.1 และ 0.5 มก./ล. มีผลทำให้อับละอองเกสรเกิดแคลลัสได้มากกว่าที่ระดับ 0 และ 0.01 มก./ล. เช่นเดียวกับ KIN 1 มก./ล. ที่ทำให้เกิดแคลลัสมากกว่าระดับ 0 0.01 และ 0.1 มก./ล. และการเลี้ยงอับละอองเกสรบนอาหารที่เติม KIN ร่วมกับ 2,4-D นั้นไม่พบผลร่วมระหว่างสาร 2 ชนิด แต่พบว่า KIN 1 มก./ล. มีผลทำให้อับละอองเกสรเกิดแคลลัสได้มากกว่าไม่มี KIN แต่เปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสไม่ต่างกัน เมื่อใช้ 2,4-D แตกต่างกัน

การเติมน้ำมะพร้าว 200 มล./ล. ทำให้เปอร์เซ็นต์การเกิด embryogenic callus น้อยกว่าที่ 100 มล./ล. หรือไม่เติมน้ำมะพร้าวเลย ส่วนซูโครสที่ระดับสูงสุด คือ 160 ก./ล. ก็ทำให้เกิด embryogenic callus ได้น้อยกว่าการเติมซูโครส 20 40 และ 80 ก./ล. ซูโครสและน้ำมะพร้าวมีผลร่วมกัน ในการทำให้เกิดแคลลัส นอกจากนี้ยังพบว่า สารอินทรีย์ต่างๆ ได้แก่ yeast extract myo-inositol (ที่ความเข้มข้นมากกว่า 100 มก./ล.) casein hydrolysate และ

L-asparagine ที่เติมลงในอาหารไม่ทำให้เกิดผลแตกต่างอย่างเด่นชัดทั้งด้านคุณภาพ และเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากอับละอองเกสร แต่ L-glutamine 200-800 มก./ล. และ adenine sulphate 40 และ 60 มก./ล. เปอร์เซ็นต์การเกิด embryogenic callus ของอับละอองเกสรน้อยกว่าที่พบบนอาหารที่ไม่เติมสารดังกล่าว แคลลัสที่เกิดเป็นจำนวนน้อยเหล่านั้นสามารถพัฒนาไปเป็นคัพภะเทียมได้ดี และสามารถเลี้ยงได้นานถึง 45 วัน

ดอกที่เก็บเวลา 20.00 น. เมื่อนำมาเลี้ยง ให้แคลลัสที่มีคุณภาพดีที่สุด การเก็บดอกไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ. เป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำมาเลี้ยง มีแนวโน้มให้แคลลัสจำนวนน้อยกว่า และไม่เกิดราก

เมื่อนำ embryogenic callus ที่เกิดขึ้นย้ายมาเลี้ยงบนอาหารวุ้น สามารถชักนำให้พัฒนาเป็นคัพภะเทียมบนอาหารที่เติม BAP 2 และ 5 มก./ล. หรือ ZEA 5 มก./ล. embryogenic callus บางอันบนอาหารที่มี ZEA 5 มก./ล. พัฒนาต่อเป็นคัพภะเทียมระยะที่เริ่มมียอด แต่อาหารที่ไม่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตพัฒนาไปเป็นราก

การนับโครโมโซมจากแคลลัสที่เกิดขึ้นบนอาหารที่มี 2,4-D และ KIN อย่างละ 1 มก./ล. พบว่ามี 24 แท่ง ในขณะที่นับจากปลายรากพบหลายจำนวนคือ 12 14 16 18 และ 24

Thesis Title Factors Influencing Marigold (*Tagetes erecta* Linn.) Anther Grown *in vitro*

Author Miss Laongsree Pimaiklang

M.S. Agriculture (Horticulture)

Examining Committee

Assist. Prof. Dr. Pimchai Apavatjrut	Chaiman
Assoc. Prof. Dr. Thipmani Paratasilpin	Member
Lecturer Dr. Chuntana Suwanthada	Member
Lecturer Phrek Gypmantasiri	Member

Abstract

A series of study on the effects of factors influencing the development of marigold (*Tagetes erecta* Linn.) *in vitro*-grown anther culture shown that the sizes of flower producing suitable stage of microspore for culturing i.e. uninucleate depended on the clones tested. Suitable flower length of marigold #16, #17 and #19 were 2.5 and 2.0 mm. respectively. Modified liquid Gamborg (1968) basal medium by adding Murashige and Skoog (1962) FeEDTA was more suitable than the other basal media tested. On the medium devoided of growth regulator, the cultured anthers developed into embryoids via direct embryogenesis. However, only 1.2 % was found at 65 days after culturing.

The anthers from marigold #19 produced higher percentage of callus on the medium added 0.1 mg./l. and 0.5 mg./l. NAA than when it was used at 0 and 0.01 mg./l.

When KIN was combined with 2,4-D, no interaction was found, but 1 mg./l. induced more callus than when no KIN was added. 2,4-D from 0-1 mg/l. did not show any significant effect on callus formation.

Coconut water added to the medium at 200 ml./l. promoted lower percentage of embryogenic callus than when 0 and 100 ml./l. did. The highest concentration of sucrose at 160 g./l. also induced less callus than when 20, 40 and 80 g./l. were used. Coconut water had interaction with sucrose on callus production. Organic additives, i.e. yeast extract, myo-inositol (concentration higher than 100 mg./l.), casein hydrolysate and L-asparagine did not show substantial effect on both quality and percentage of callus formation. L-glutamine from 200-800 mg./l. and also adenine sulphate at 40 and 60 mg./l. reduced percentages of the cultures forming callus to lower than when they were not used. Interestingly, the low percentages of the callus formed could develop into embryoids when the cultures were cultured longer to 45 days.

The cultured anthers from the flower buds collected at 20.00 hrs. yielded good quality of callus. Pre-treatment by keeping the flower buds at 4 °C 7 days prior to culturing, also showed less callus, but the callus had good quality. The embryogenic callus transfered onto the agar medium containing 2 and 5 mg./l. BAP or 5 mg./l. ZEA could develop into embryoids. Some embryogenic callus on the medium containing ZEA at 5 mg./l. developed further into young shoot from the embryoids. But some root formed on the cultures grown on the medium with no hormones. Chromosome count from the callus grown on 2,4-D and KIN medium each at 1 mg./l. was 24, whereas several chromosome numbers from the root tips were found i.e. 12, 14, 16, 18 and 24.