



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง
การพัฒนาดาวเรืองสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมันโดยการเพาะเลี้ยงโอวูล

Improvement of Male Sterile Line (A-line) Marigold via Ovule Culture

โดย
เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2556

รหัสโครงการวิจัย มจ. 1-55-018



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง การพัฒนาสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมันโดยการเพาะเลี้ยงอวูล

Improvement of Male Sterile Line (A-line) Marigold via Ovule Culture

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2555

จำนวน 350,000.00 บาท

หัวหน้าโครงการ นางสาวเฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี

งานเสร็จสิ้นสมบูรณ์

11 มีนาคม 2556

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ข
สารบัญภาพ	ค
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	5
ผลการวิจัย	11
วิจารณ์ผลการวิจัย	23
สรุปผลการวิจัย	24
เอกสารอ้างอิง	25



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชั้นของกลีบดอกจากการ เพาะเลี้ยงโอดูล ของดาวเรือง	12
ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของดาวเรืองสายพันธุ์ต่างๆ จากการเพาะเลี้ยงโอดูล	13
ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงโอดูล สายพันธุ์ และ ชั้นกลีบดอกต่างๆ บนอาหารสูตร MS+1 mg/l TDZ +0.1 mg/l NAA และ B5+1 mg/l BA +0.1 mg/l NAA	15

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 ลักษณะของดอกดาวเรือง ที่สมบูรณ์เต็มที่พร้อมที่จะบานในวันถัดไป	9
ภาพที่ 2 ลักษณะของดอกย่อยของดาวเรืองที่อยู่ในดอกแบบฐานร่วม (head)	9
ภาพที่ 3 ลักษณะขนาดของโอวูล (ovule) ในแต่ละวงของกลีบดอก	10
ภาพที่ 4 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชั้นกลีบดอก (%)	12
ภาพที่ 5 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของสายพันธุ์ MAR 1, MAR 2, MAR 3, MAR 4, MAR 5 และ MAR 6	13
ภาพที่ 6 แสดงลักษณะการเกิดแคลลัสในการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ดาวเรือง	17
ภาพที่ 7 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการเกิดยอดของแคลลัสที่ได้จาก การเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule)	19
ภาพที่ 8 แสดงลักษณะการเกิดยอดของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล	20
ภาพที่ 9 ลักษณะของต้น ดอก และจำนวนโครโมโซมของดาวเรืองที่เป็นดิพลอยด์ และแฮพลอยด์	22
ภาพที่ 10 ลักษณะของดอกดาวเรืองสายพันธุ์แท้ที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมันได้จากการ เพาะเลี้ยงโอวูลและทำการเพิ่มโครโมโซมด้วยสาร โคลชิซิน	24

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุนทุนในการทำการวิจัยนี้ และ คณะผลิตกรรมการเกษตร ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและสถานที่ในการทำการวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัย



การพัฒนาดาวเรืองสายพันธุ์เพศผู้เป็นหมันโดยการเพาะเลี้ยงโอวูล

Improvement of Male Sterile Line (A-line) Marigold via Ovule Culture

เฉลิมศรี นนทสวัสดิ์ศรี¹

Chalerm Sri Nontaswatsri¹

¹ สาขาพืชสวนประดับ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ สันทรายเชียงใหม่ 50290

บทคัดย่อ

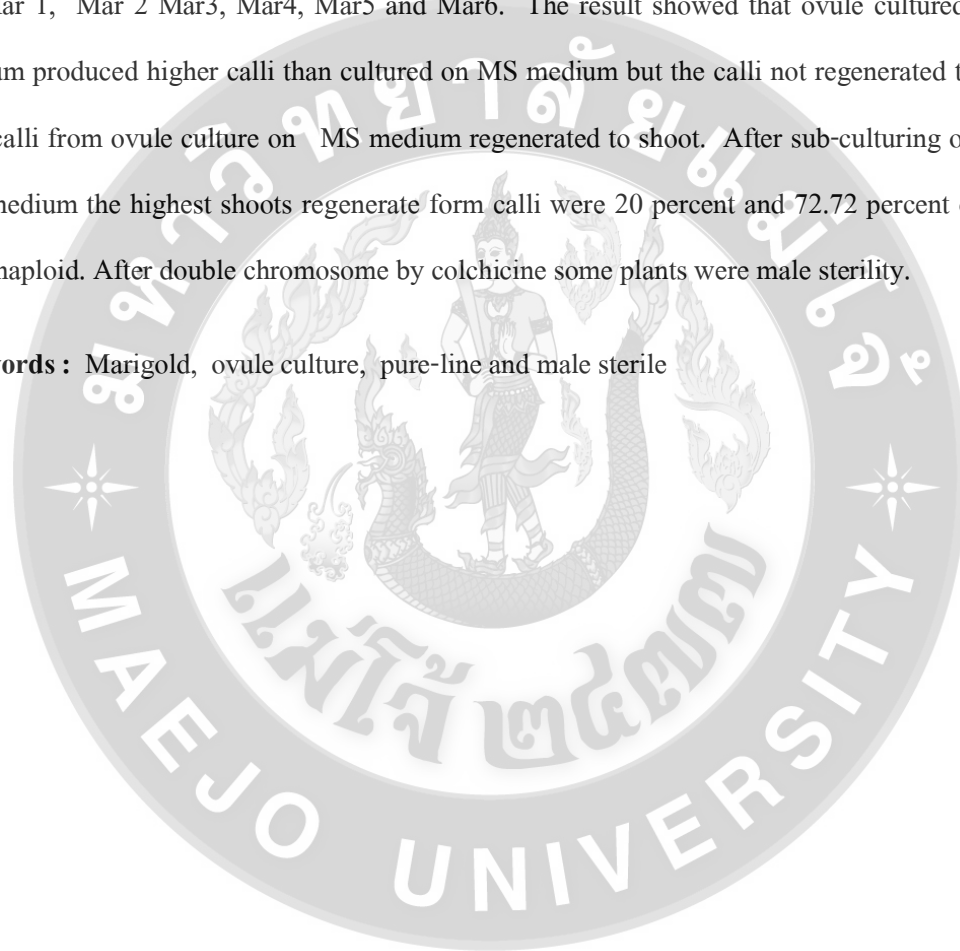
จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงโอวูลของดาวเรือง เพื่อสร้างสายพันธุ์แท้ โดยวางแผนทดลองแบบ Factorial in CRD ประกอบด้วย 3 ปัจจัยคือ ปัจจัยที่ 1 อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง มี 2 ระดับ คือ MS + 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA + น้ำตาล 30 g/l และ B5 + 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA + น้ำตาล 30 g/l ปัจจัยที่ 2 ระยะการบานของชั้นกลีบดอก มี 4 ระดับ คือ วงที่ 1 (นับจากวงนอกสุดเป็นวงที่ 1) วงที่ 2 วงที่ 3 และวงที่ 4 และ ปัจจัยที่ 3 สายพันธุ์ดาวเรือง มี 6 ระดับ คือ สายพันธุ์ MAR 1, MAR 2, MAR 3, MAR 4, MAR 5 และ MAR 6 พบว่า อาหาร B5 จะมีแคลลัสเกิดขึ้นดีและเมื่อย้ายแคลลัสไปยังอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า แคลลัสไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ ส่วนที่โอวูลที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA สามารถชักนำให้เกิดยอดและยอดมีการพัฒนาเป็นต้นมากที่สุดถึง 20 เปอร์เซ็นต์ของแคลลัสที่ย้ายลงอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต และเมื่อนำต้นดาวเรืองดังกล่าวมาตรวจสอบจำนวนโครโมโซมพบว่าต้นที่ได้มีโครโมโซมลดลงครึ่งหนึ่ง หรือต้นที่เป็นแฮพลอยด์ ได้สูงสุดเท่ากับ 72.72 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทำการเพิ่มจำนวนโครโมโซมโดยสารโคลชิซินพบว่าสามารถพบต้นดาวเรืองเพศผู้เป็นหมันเกิดขึ้น

คำสำคัญ : ดาวเรือง การเพาะเลี้ยงโอวูล สายพันธุ์แท้ และ เกสรเพศผู้เป็นหมัน

Abstract

A study on ovule culture of marigold for pure line production by Factorial in CRD with 3 factors. Factor 1 culture medium include two kind of medium MS medium with 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA and 30 g/l sugar and B5 medium with 1 mg/l BA+ 0.1 mg/l NAA and 30 g/l sugar. Factors 2 the layer of petal are first to fourth cycle of petals. Factor 3 varieties of marigold are Mar 1, Mar 2 Mar3, Mar4, Mar5 and Mar6. The result showed that ovule cultured on B5 medium produced higher calli than cultured on MS medium but the calli not regenerated to plant, only calli from ovule culture on MS medium regenerated to shoot. After sub-culturing onto MS free medium the highest shoots regenerate form calli were 20 percent and 72.72 percent of them were haploid. After double chromosome by colchicine some plants were male sterility.

Keywords : Marigold, ovule culture, pure-line and male sterile



คำนำ

ดาวเรืองเป็นไม้ดอกที่ได้รับความนิยมและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก ในปี
 หนึ่งๆเกษตรกรใช้เมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวนมากในแต่ละปี ซึ่งในการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่
 หนึ่งนั้นสิ่งที่สำคัญคือการสร้างสายพันธุ์พ่อแม่ ซึ่งโดยปกติการสร้างสายพันธุ์พ่อแม่ซึ่งเป็นสายพันธุ์
 แท้ที่นั้นทำได้ยากอยู่แล้ว สำหรับดาวเรืองซึ่งมีช่อดอกเป็นแบบ Head ซึ่งมีดอกจำนวนมากต่อหนึ่ง
 ช่อดอกและดอกมีขนาดเล็กยากต่อการตอนดอก การใช้ระบบเกษตรเพศผู้เป็นหมันมาช่วยทำให้สาย
 พันธุ์แม่ที่ใช้สร้างลูกผสมชั่วที่ 1 นั้นมีลักษณะเพศผู้เป็นหมันจะช่วยทำให้การผสมเกสรเพื่อสร้างสาย
 พันธุ์ลูกผสมชั่วที่หนึ่งง่ายและสะดวกมาก ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อ
 การค้า

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาสายพันธุ์เกษตรเพศผู้เป็นหมันในดาวเรือง
2. เพื่อศึกษาการเพาะเลี้ยงโอวูลของดาวเรือง

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถทราบวิธีสกัดสายพันธุ์แท้และสร้างสายพันธุ์แท้ที่เพศผู้เป็นหมันเพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์และการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1

การตรวจเอกสาร

ในการสร้างสายพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 นั้นสิ่งสำคัญคือการสร้างสายพันธุ์แท้ที่เป็นสายพันธุ์พ่อแม่ซึ่งการสร้างสายพันธุ์แท้จะใช้เวลาและค่าใช้จ่ายมาก นอกจากนี้ดาวเรืองเป็นไม้ดอกที่มีช่อดอกแบบ Head ประกอบด้วยดอก 2 ประเภทคือ Ray floret และ Disc floret ใน 1 ช่อดอกนั้นจะประกอบด้วยดอกย่อยจำนวน 200-500 ดอกซึ่งดอกย่อยจะมีขนาดเล็กทำให้การผสมเกสรทำได้ยาก จึงได้มีการพัฒนาสายพันธุ์แม่ที่เกสรเพศผู้เป็นหมันซึ่งช่วยให้ง่ายในการผสมแต่จะยากในการพัฒนาสายพันธุ์แม่ที่เกสรเพศผู้เป็นหมัน ระบบเกสรเพศผู้เป็นหมันมี 3 แบบคือ ระบบเกสรเพศผู้เป็นหมันที่เกิดจากยีนในนิวเคลียส ระบบเกสรเพศผู้เป็นหมันที่เกิดจากยีนในไซโตพลาสซึม และ ระบบเกสรเพศผู้เป็นหมันที่เกิดจากยีนในนิวเคลียสร่วมกับยีนในไซโตพลาสซึม โดยระบบเกสรเพศผู้เป็นหมันแบบเกสรเพศผู้เป็นหมันที่เกิดจากยีนในนิวเคลียสร่วมกับยีนในไซโตพลาสซึม จะนิยมใช้มากที่สุดเพราะสะดวกในการใช้ผลิตสายพันธุ์ลูกผสม

ในการสร้างสายพันธุ์แท้ปัจจุบันจะนิยมใช้วิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรแต่ในการพัฒนาสายพันธุ์แม่ที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมันไม่สามารถพัฒนาโดยการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรได้การใช้การเพาะเลี้ยงโอดูลจะสามารถแก้ปัญหานี้ได้ แม้ว่าการเพาะเลี้ยงโอดูลยังไม่นิยมแพร่หลายเท่าการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรเนื่องจากการเพาะเลี้ยงโอดูลจะยุ่งยากและได้ผลน้อยกว่าการเพาะเลี้ยงอับละอองเกสรแต่นักวิจัยจำนวนมากก็ประสบความสำเร็จในการเพาะเลี้ยงโอดูล เช่น Tosca และคณะ (1999) ได้รายงานถึงความแตกต่างของเยอร์บีร่า 4 สายพันธุ์ ในการชักนำให้เกิดแคลลัสและความสามารถในการชักนำให้เกิดยอดจากการเพาะเลี้ยงโอดูล (ovule) ในทานตะวัน Jonard และ Mazzarobba (1990) ได้รายงานถึงความสามารถในการชักนำให้เกิดแคลลัสและสามารถชักนำให้เกิดยอดในทานตะวันสายพันธุ์ป่าแต่ไม่สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ในสายพันธุ์ปลูก สำหรับการเพาะเลี้ยง ovule นั้นมักทำการเพาะเลี้ยง ovule ที่โตเต็มที่แต่ไม่ได้รับการผสม ในเยอร์บีร่า Tosca และ

คณะ (1999) และ Miyoshi และ Asakura, (1996) สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสและยอดในการเลี้ยง ovule โตเต็มที่แต่ไม่ได้รับการผสม Musial และคณะ (2001) รายงานความสำเร็จในการเพาะเลี้ยง ovule ของหอมในระยะที่ดอกเจริญมากที่สุดแต่ยังไม่บานและสามารถผลิตต้นหอมที่มีโครโมโซมลดลงครึ่งหนึ่งได้ สภาพทางสรีรวิทยาของพืชที่นำเซลล์หรืออวัยวะมาทำการเพาะเลี้ยง Afele และคณะ 1992 กล่าวว่า การขาดธาตุอาหารในขณะที่พืชได้รับอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตจะช่วยชักนำให้เกิดยอดในการเพาะเลี้ยงเซลล์สืบพันธุ์ Puddephat และคณะ (1999) ประสิทธิภาพความสำเร็จในการชักนำให้เกิดต้นในการเพาะเลี้ยงโอดุลของหอมโดยนำต้นแม่ไปปลูกที่อุณหภูมิ 10-15 °C อาหารที่ทำการเพาะเลี้ยงองค์ประกอบของธาตุอาหารและฮอร์โมนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเซลล์และอวัยวะสืบพันธุ์ของพืชนั้นเป็นปัจจัยมีผลต่อความสำเร็จในการชักนำให้เกิดยอดในการเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อเหล่านี้เป็นอย่างมาก Muren 1989 สามารถชักนำพืชที่มีโครโมโซมลดลงครึ่งหนึ่งจากการเลี้ยงโอดุลของหอมบนอาหาร B5 เป็นต้น

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

- ดอกดาวเรือง (Marigold) ที่ใช้ในการทดลอง จำนวน 6 ประชากร ได้แก่ MAR 1, MAR 2, MAR 3, MAR 4, MAR 5 และ MAR 6
- อุปกรณ์สำหรับปฏิบัติงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
- อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 2 สูตรคือ
 1. อาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/1BA + 0.1 mg/1 NAA + น้ำตาล 30 g/l⁻¹
 2. อาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/ITDZ + 0.1 mg/1 NAA + น้ำตาล 30 g/l⁻¹
- อุปกรณ์ที่ใช้ในศึกษาจำนวนโครโมโซมของต้นดาวเรือง ได้แก่ ปลายรากของต้นดาวเรืองที่ต้องการนับจำนวนโครโมโซม ขวดแก้วขนาดเล็ก สำหรับเก็บปลายราก สไลด์ (slide) แผ่นปิดสไลด์ (cover slip) ใบมีดผ่าตัดและใบมีดโกน จานแก้ว (petri-dish) และกล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope สารเคมี ได้แก่ 8-Hydroxy-chinolin (ความเข้มข้น 0.02 M) กรดอะซิติกเข้มข้น และเอธิลแอลกอฮอล์ 95

เปอร์เซ็นต์ 3:1 กรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1 โมล ลิเทียมโครโมโซม ได้แก่ Aceto-orcein

วิธีการดำเนินงาน

ทำการวางแผนทดลองแบบ Factorial in CRD มี 3 ปัจจัย คือ

ปัจจัยที่ 1 สูตรอาหารที่ใช้ มี 2 ระดับ คือ

-MS + 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA + น้ำตาล 30 g⁻¹ l

- B5 + 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA + น้ำตาล 30 g⁻¹ l

ปัจจัยที่ 2 ระยะการบานของชั้นกลีบดอก มี 4 ระดับ คือ

- วงที่ 1 (นับจากวงนอกสุดเป็นวงที่ 1)

- วงที่ 2

- วงที่ 3

- วงที่ 4

ปัจจัยที่ 3 สายพันธุ์ดาวเรือง มี 6 ระดับ คือ

- สายพันธุ์ MAR 1

- สายพันธุ์ MAR 2

- สายพันธุ์ MAR 3

- สายพันธุ์ MAR 4

- สายพันธุ์ MAR 5

- สายพันธุ์ MAR 6

กำหนดการทดลองให้มี 48 วิธีการ (2 x 4 x 6) ในแต่ละวิธีการจะมีโอวูล (ovule) 5 อัน ทำการทดลองทั้งหมดจำนวน 6 ซ้ำ

การทดลองที่ 1 การชักนำการเกิดแคลลัสจากโอวูล (ovule)

ดอกดาวเรืองที่มีลักษณะสมบูรณ์เต็มที่พร้อมที่จะบานในวันถัดไปทำความสะอาดชิ้นส่วนพื้นผิวด้วยใช้น้ำยาล้างจานนาน 2-3 นาที หลังจากนั้นทำการฆ่าเชื้อพื้นผิวด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วินาที นำชิ้นส่วนพืชแช่ในโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่มีความเข้มข้นของคลอรีน 1 เปอร์เซ็นต์ และใส่ Tween 20 2-3 หยด นาน 10 นาที และทำการล้างชิ้นส่วนพืชด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งมา

เชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 10 นาที ใช้มีดผ่าตัดผ่ารังไข่ และนำโอดูลออกจากรังไข่ภายใต้กล้องจุลทรรศน์
ชนิดสเตอริโอ (stereo microscope) นำโอดูลมาเลี้ยงบนอาหาร โดย วางโอดูลให้สัมผัสกับผิวอาหาร
ในหนึ่งจานแล้วจะมีโอดูล (ovule) 20 อัน และนำไปไว้ที่มีด

การบันทึกข้อมูล

1. เปอร์เซ็นต์เกิดแคลลัส

$$\text{โดยคำนวณจาก} \quad \frac{\text{จำนวนชิ้นส่วนที่เกิดแคลลัส}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนทั้งหมด}} \times 100$$

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (Statistical Analysis System) โดยใช้
Model Factorial in CRD และแสดงผลในรูปของตาราง ANOVA โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละ
ค่าสังเกตโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 ความสามารถในการเกิดยอดหลังจากการย้ายอาหาร

ย้ายแคลลัสจากอาหารแต่ละสูตรลงบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อ
ทำการย้ายแคลลัสแล้วนำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยง เป็นเวลาประมาณ 1 เดือน เพื่อดูการเจริญ
และพัฒนาของแคลลัส

การบันทึกข้อมูล

1. เปอร์เซ็นต์เกิดยอด ภายหลังจากการย้ายแคลลัสที่ได้จากเพาะเลี้ยงโอดูลไปยัง
อาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

$$\text{โดยคำนวณจาก} \quad \frac{\text{จำนวนแคลลัสที่เกิดเป็นต้น}}{\text{จำนวนชิ้นส่วนแคลลัสทั้งหมด}} \times 100$$

การทดลองที่ 3 ศึกษาจำนวนโครโมโซมของต้นดาวเรือง

ขั้นตอนการศึกษาจำนวนโครโมโซมของต้นดาวเรือง โดยการเตรียมปลายราก ตัดเฉพาะส่วนที่กำลังเจริญเติบโต โดยสังเกตจากรากที่มีสีขาวและปลายรากมีสีขาวขุ่นเล็กน้อยทำการหยุดการเจริญของเส้นใยสปินเดิล โดยการแช่รากในสารละลาย 8-Hydroxy-chinolin เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วล้างปลายรากด้วยน้ำกลั่นเพื่อนำไปหยุดการทำงานของเซลล์ และรักษาสภาพเซลล์ด้วย กรดอะซิติกเข้มข้น และเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 3:1 แยกเซลล์โดยการแช่ปลายรากลงในกรดไฮโดรคลอริก(HCl) เข้มข้น 1 N เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นย้อมสีเนื้อเยื่อปลายรากด้วยสีย้อม Aceto-orcein โดยแช่นาน 10 นาที ปิดด้วยแผ่นแก้วปิดสไลด์ ใช้กระดาษซับบริเวณแผ่นแก้วปิดสไลด์ กดนิ้วหัวแม่มือลงไปเพื่อให้เซลล์กระจาย และเป็นการซับสีที่มากเกินไปออกนํ้าแผ่นสไลด์ไปศึกษาดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เลือกเซลล์ที่มีการแบ่งนิวเคลียสในระยะเมตาเฟส โดยเลือกเซลล์ที่ไม่กระจายทับกัน นับจำนวนโครโมโซมแล้ว บันทึกภาพ

การบันทึกข้อมูล

1.เปอร์เซ็นต์การเกิดแฮพลอยด์

โดยคำนวณจาก

จำนวนที่เป็นเกิดแฮพลอยด์ x 100

จำนวนต้นทั้งหมด

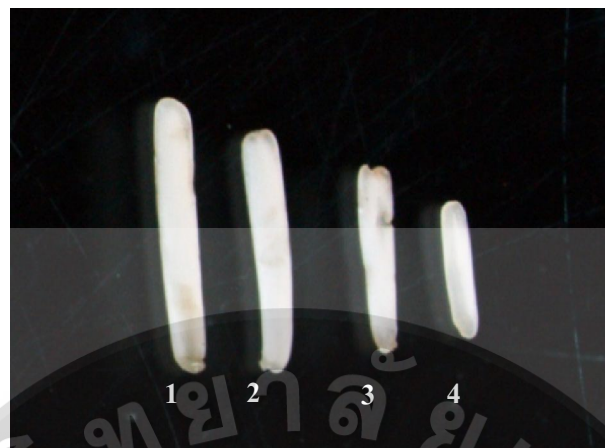


ภาพที่ 1 ลักษณะของดอกดาวเรือง ที่สมบูรณ์เต็มที่พร้อมที่จะบานในวันถัดไป



ระยะการบานของดอกย่อย (วงที่ 1)

ภาพที่ 2 ลักษณะของดอกย่อยของดาวเรืองที่อยู่ในดอกแบบฐานร่วม (head)



ภาพที่ 3 ลักษณะขนาดของโอวูล (ovule) ในแต่ละวงของกลีบดอก

หมายเหตุ

1 คือ โอวูลจากกลีบดอกวงที่ 1 (นับจากกลีบดอกวงนอกสุด)

2 คือ โอวูลจากกลีบดอกวงที่ 2

3 คือ โอวูลจากกลีบดอกวงที่ 3

4 คือ โอวูลจากกลีบดอกวงที่ 4

ผลการวิจัย

จากการศึกษาการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ของดาวเรือง จำนวน 6 สายพันธุ์ บนอาหารสังเคราะห์ 2 สูตร คือ อาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ และ 0.1 mg/l INAA และอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA และ 0.1 mg/l INAA โดยนำโอวูล (ovule) ของดาวเรืองในแต่ละการบานของชั้นกลีบดอก นำมาชักนำให้เกิดแคลลัสได้ผลการทดลองดังนี้

การเกิดแคลลัส

จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ของดาวเรืองเพื่อทำการศึกษากการเกิดแคลลัส พบว่ากรรมวิธีการต่าง ๆ (Treatment) ต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสูตรอาหาร (Medium) มีผลต่อการทำให้เกิดแคลลัสมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนชั้นของกลีบดอก (Layer) พบว่า วงที่ 1 และ 2 สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด และสายพันธุ์ (Cultivar) MAR 1 ชักนำให้เกิดแคลลัสสูงสุด และพบปฏิกริยาร่วมระหว่างสูตรอาหารกับสายพันธุ์ ($M \times C$) แต่ไม่พบปฏิกริยาร่วมระหว่างสูตรอาหารกับชั้นของกลีบดอก ($M \times L$), ชั้นของกลีบดอกกับสายพันธุ์ และสูตรอาหารกับชั้นของกลีบดอกกับสายพันธุ์ ($M \times L \times C$) (ตารางภาคผนวกที่ 1) (ตารางที่ 5)

อิทธิพลของชั้นของกลีบดอกในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ของดาวเรืองพบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย ชั้นของกลีบดอก วงที่ 1 และ วงที่ 2 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด คือ 26.20 และ 26.16 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ วงที่ 3 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 24.86 เปอร์เซ็นต์ และวงที่ 4 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสต่ำที่สุดคือ 23.94 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 3) (ภาพที่ 4)

อิทธิพลของสายพันธุ์ในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ของดาวเรืองพบว่า มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดย สายพันธุ์ MAR 1 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด คือ 28.39 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สายพันธุ์ MAR 6 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัส คือ 26.67 เปอร์เซ็นต์ และ สายพันธุ์ MAR 4, MAR 5, MAR 3 และ MAR 2 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสที่ต่ำ คือ 25.09, 24.02, 23.97 และ 23.62 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) (ภาพที่ 5)

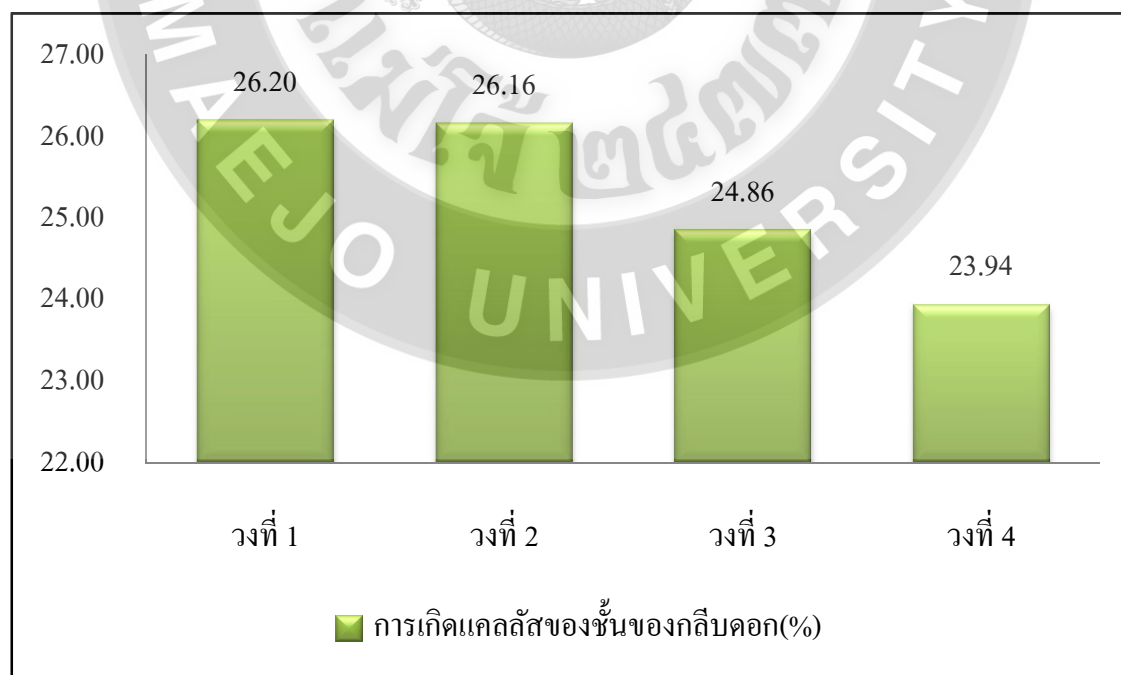
ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชั้นของกลีบดอกจากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ของดาวเรือง(%)

ชั้นของกลีบดอก(Layer)	การเกิดแคลลัสของชั้นของกลีบดอก(%)
วงที่ 1	26.20 ^a
วงที่ 2	26.16 ^a
วงที่ 3	24.86 ^{ab}
วงที่ 4	23.94 ^b
Sig.	*
C.V. (%)	7.57

หมายเหตุ

*มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ตามการเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

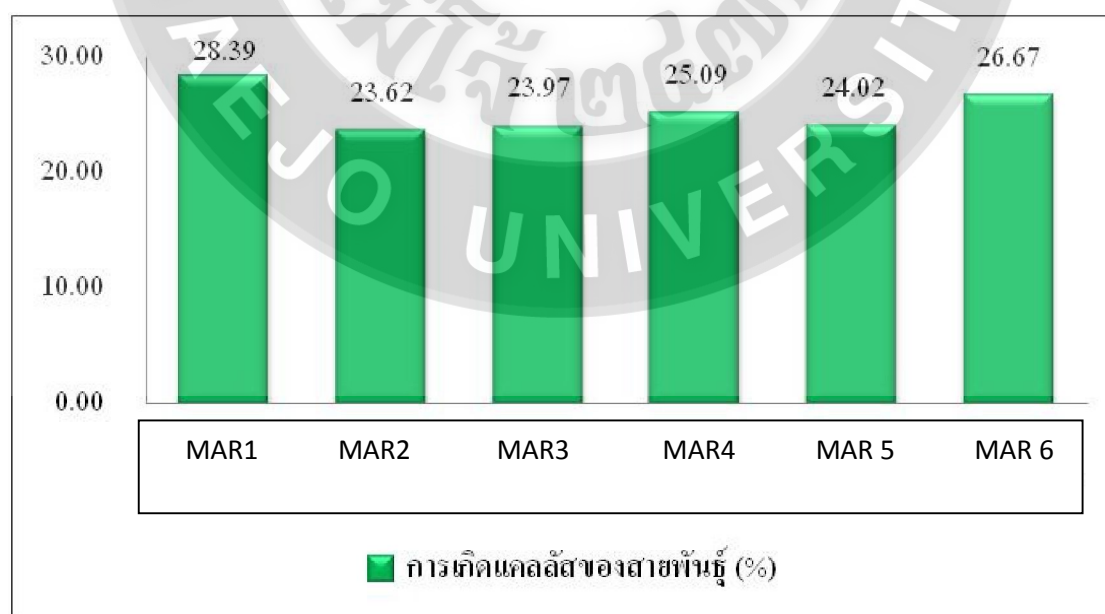


ภาพที่ 4 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของชั้นกลีบดอก (%)

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของดาวเรืองสายพันธุ์ต่างๆ จากการเพาะเลี้ยงโอดูล

สายพันธุ์(Cultivar)	การเกิดแคลลัสของสายพันธุ์ (%)
MAR 1	28.39 ^a
MAR 2	23.62 ^b
MAR 3	23.97 ^b
MAR 4	25.09 ^b
MAR 5	24.02 ^b
MAR 6	26.67 ^{ab}
Sig.	*
C.V.(%)	3.02

หมายเหตุ *มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ตามการเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)



ภาพที่ 5 แผนภูมิแสดงค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสของสายพันธุ์ MAR 1, MAR 2, MAR 3, MAR 4, MAR 5 และ MAR 6

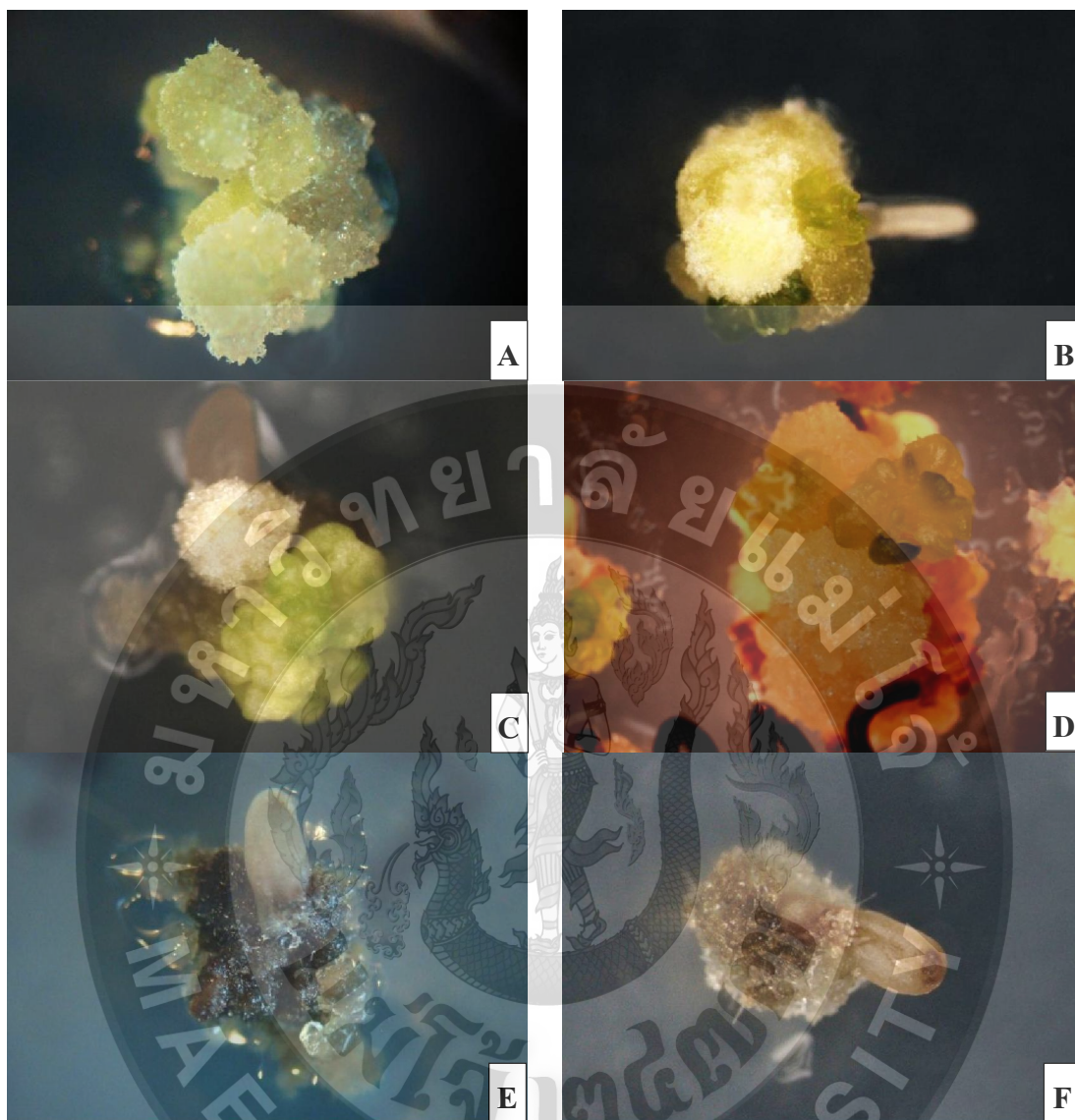
อิทธิพลของอาหารในการชักนำให้เกิดแคลลัสเมื่อเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) บนสูตรอาหาร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงกว่าอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA โดยมีเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยคือ 16.11 และ 11.25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และในการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ชั้นของกลีบดอกวงที่ 3 ของ สายพันธุ์ MAR 1 บนอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA พบว่าสามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้สูงที่สุด คือ 43.33 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ ชั้นของกลีบดอกวงที่ 2 ในสายพันธุ์ MAR 1 บนอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA คือ 36.67 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชั้นของกลีบดอกวงที่ 4 ในสายพันธุ์ MAR 3 บนอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA, ชั้นของกลีบดอกวงที่ 3 ในสายพันธุ์ MAR 1 และ ชั้นของกลีบดอกวงที่ 4 ในสายพันธุ์ MAR 2 บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA ไม่สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ (ตารางที่ 5)



ตารางที่ 3 ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงโอวูล สายพันธุ์ และชั้นกลีบดอกต่างๆ บนอาหารสูตร MS+1 mg/l TDZ +0.1 mg/l NAA และ B5+1 mg/l BA +0.1 mg/l NAA

สูตรอาหาร (Medium)	สายพันธุ์ (Cultivar)	ชั้นของกลีบดอก (Layer)				Mean -C
		วงที่ 1	วงที่ 2	วงที่ 3	วงที่ 4	
MS+1 mg/l TDZ +0.1 mg/l NAA	MAR 1	20.00 ^{bcdef}	13.33 ^{cdefg}	0.00 ^g	6.67 ^{efg}	10.00
	MAR 2	13.33 ^{cdefg}	16.67 ^{bcdefg}	6.67 ^{efg}	0.00 ^g	9.17
	MAR 3	13.33 ^{cdefg}	13.33 ^{cdefg}	13.33 ^{cdefg}	6.67 ^{efg}	11.67
	MAR 4	13.33 ^{cdefg}	10.00 ^{defg}	16.67 ^{bcdefg}	20.00 ^{bcdefg}	15.00
	MAR 5	13.33 ^{cdefg}	6.67 ^{efg}	3.33 ^{fg}	10.00 ^{defg}	8.33
	MAR 6	20.00 ^{bcdef}	13.33 ^{cdefg}	13.33 ^{cdefg}	6.67 ^{efg}	13.33
Mean-L						11.25
B5+1 mg/l BA +0.1 mg/l NAA	MAR 1	33.33 ^{abc}	36.67 ^{ab}	43.33 ^a	30.00 ^{abcde}	35.83
	MAR 2	6.67 ^{efg}	10.00 ^{defg}	13.33 ^{cdefg}	3.33 ^{fg}	8.33
	MAR 3	16.67 ^{bcdefg}	10.00 ^{defg}	3.33 ^{fg}	0.00 ^g	7.50
	MAR 4	10.00 ^{defg}	13.33 ^{cdefg}	6.67 ^{efg}	13.33 ^{cdefg}	10.83
	MAR 5	10.00 ^{defg}	16.67 ^{bcdefg}	20.00 ^{bcdefg}	3.33 ^{fg}	12.50
	MAR 6	16.67 ^{cdefg}	30.00 ^{abcd}	13.33 ^{cdefg}	26.67 ^{abcde}	21.67
Mean-L						16.11

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ใช้ตัวอักษรเหมือนกัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ตามการเปรียบเทียบแบบ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

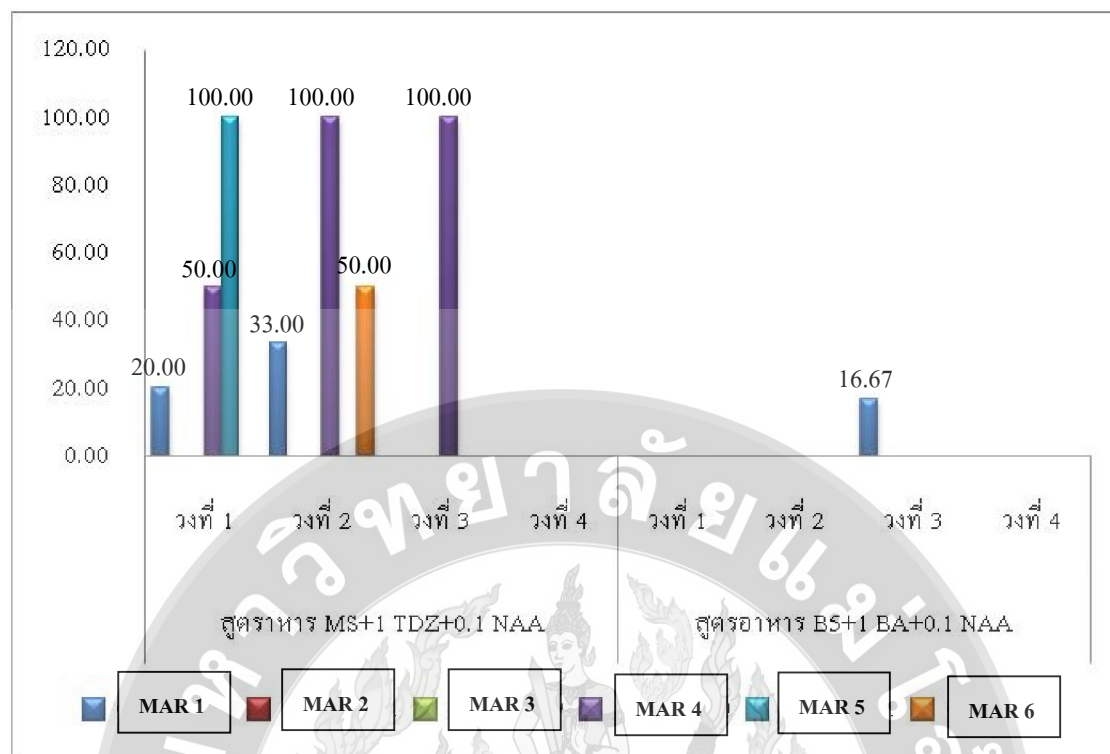


ภาพที่ 6 แสดงลักษณะการเกิดแคลลัสในการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) คาวเรือง

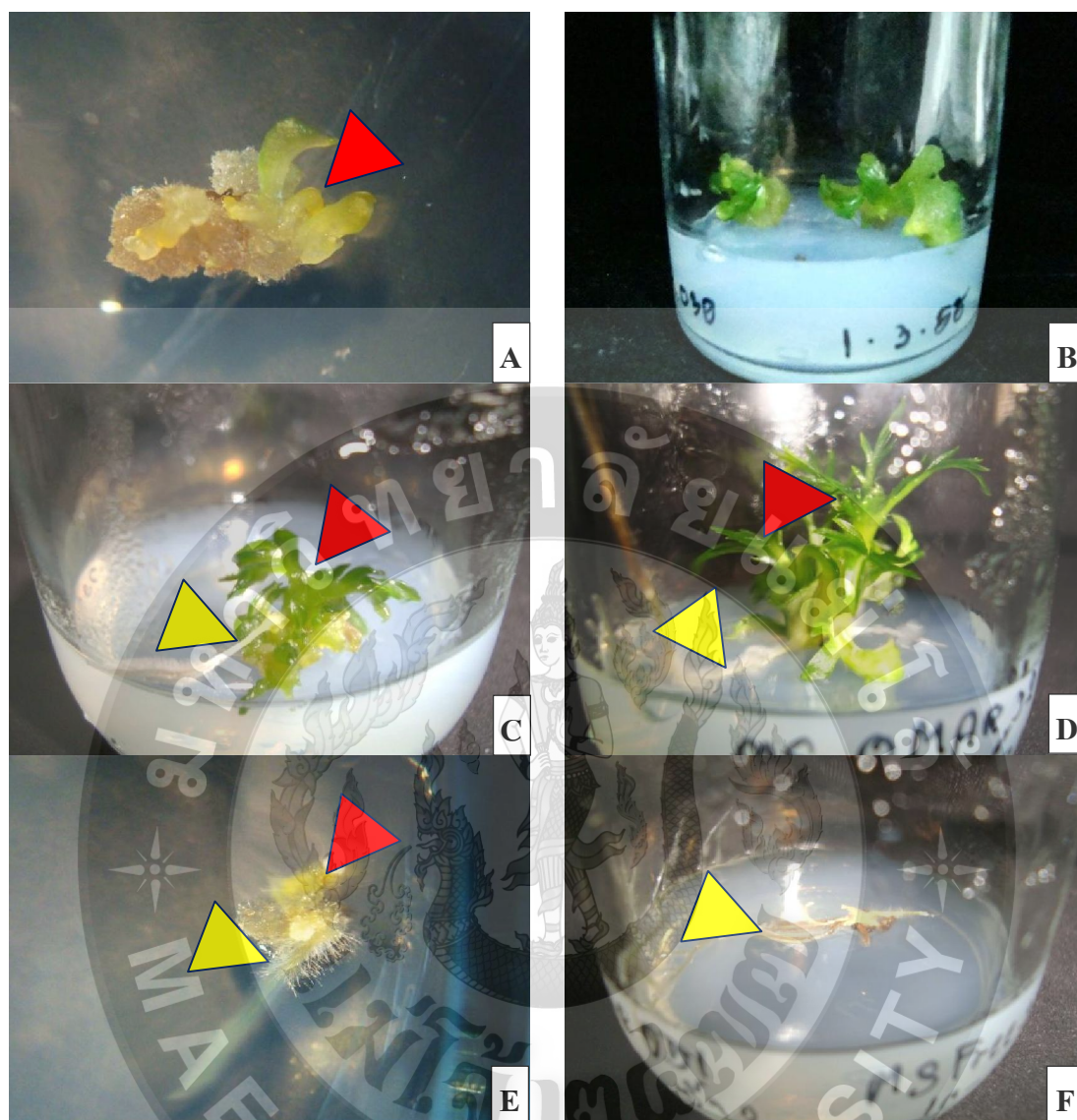
- (A) ลักษณะการเกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 3 สัปดาห์
- (B) ลักษณะการเกิดแคลลัสในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์
- (C, D) ลักษณะของแคลลัสเริ่มมีการเกิดยอดในอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg -l NAA
- (E, F) ลักษณะการเกิดแคลลัสในอาหารอาหาร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA +0.1 mg/l NAA เมื่อเพาะเลี้ยงได้ 20 วัน

การเกิดยอดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule)

จากการศึกษาการเกิดยอดจากแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ของดาวเรืองเมื่อย้ายไปเลี้ยงบนอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA สามารถเกิดยอดได้ดีกว่าแคลลัสที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA โดยพบว่า ชั้นของกลีบดอก วงที่ 1, 2 และ 3 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดตั้งแต่ 20 -100 เปอร์เซ็นต์บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ที่สูงกว่า แคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) บนอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA (ภาพที่ 7) เมื่อทำการย้ายแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ของดาวเรืองบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA ไปเพาะเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต พบว่า แคลลัสสามารถพัฒนาไปเป็นยอดได้ และหลังจากการเพาะเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์สามารถพัฒนาได้ทั้งยอดและราก (ภาพที่ 8 (B-D)) ส่วนแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ของดาวเรืองบนอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA หลังจากการเพาะเลี้ยงได้ 4 สัปดาห์ พบว่า แคลลัสมีการเกิดยอดไม่ดี และแคลลัสส่วนใหญ่มีการพัฒนาไปเป็นราก (ภาพที่ 8 (E, F))



ภาพที่ 7 แผนภูมิแสดงเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการเกิดยอดของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยง
โอรุส



ภาพที่ 8 แสดงลักษณะการเกิดยอดของแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอรุล

- (A) ลักษณะของแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA ที่พร้อมทำการย้ายไปยังอาหารใหม่ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต
- (B-D) ลักษณะการเกิดยอดของแคลลัสบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA ๕เมื่อย้ายไปยังอาหารใหม่ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต
- (E, F) ลักษณะการเกิดรากของแคลลัสบนอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA เมื่อย้ายไปยังอาหารใหม่ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต

หมายเหตุ

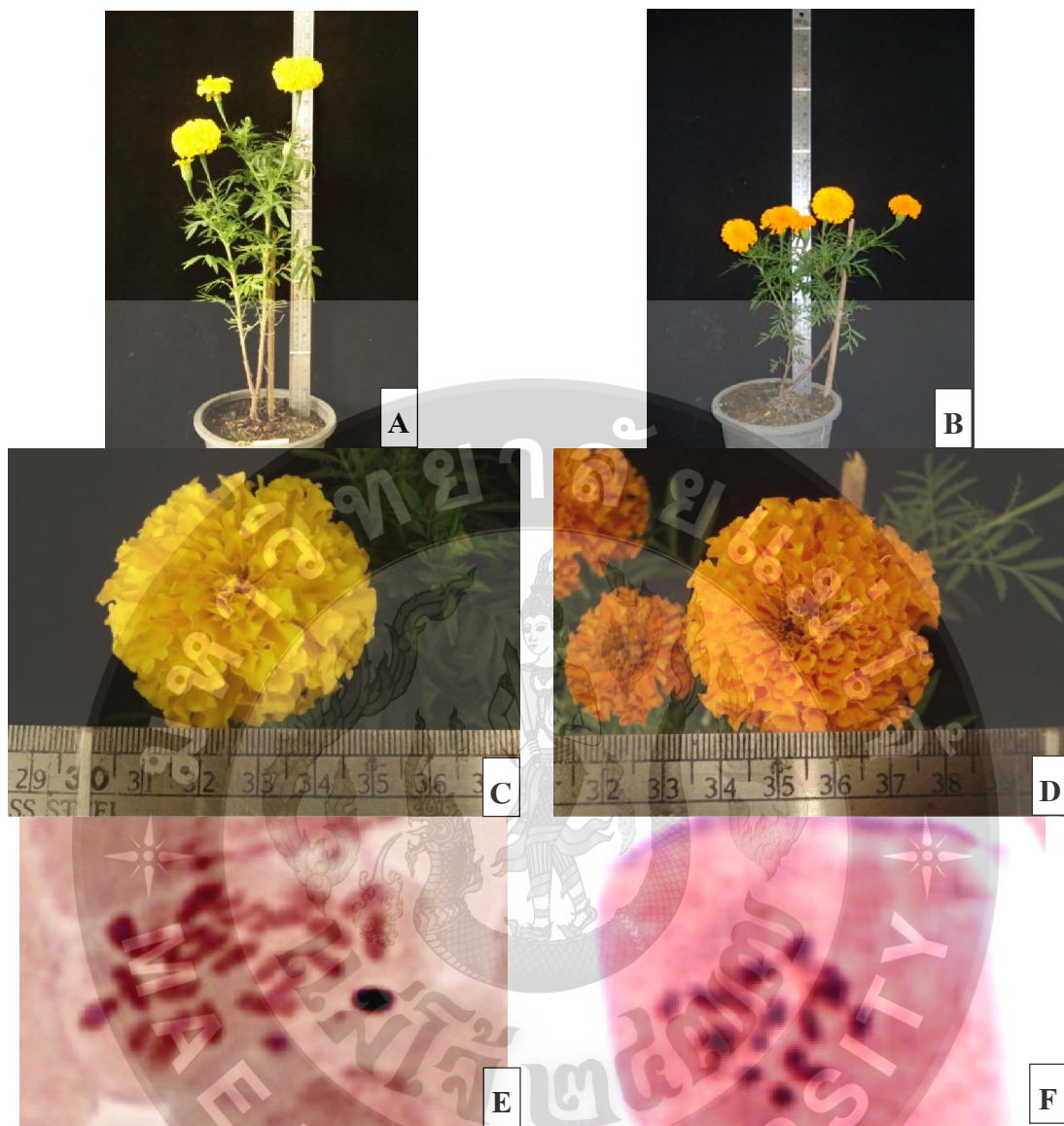
ลูกศรสีแดง คือ ลักษณะการเกิดยอด

ลูกศรสีเหลือง คือ ลักษณะการเกิดราก

การตรวจสอบจำนวนโครโมโซม

จากการตรวจสอบจำนวนโครโมโซมของต้นดาวเรืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) พบว่า จำนวนโครโมโซมของดาวเรืองลดลง จากดาวเรืองเรื่องปกติ(ดิพลอยด์) จะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n = 24$ โดยโครโมโซมของดาวเรืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) มีโครโมโซมเท่ากับ $2n = 12$ ซึ่งเป็น แฮพลอยด์ (ภาพที่ 9 (E, F))และต้นดาวเรืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) มีเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการเกิดต้นแฮพลอยด์ เท่ากับ 72.72 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำต้นดาวเรืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ออกปลูก พบว่า ดาวเรืองต้นที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n = 24$ (ดิพลอยด์) สามารถเจริญเติบโตได้ปกติ ส่วนดาวเรืองต้นที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n = 12$ (แฮพลอยด์) มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า ต้นมีลักษณะแคระ และดอกเล็ก เมื่อเปรียบเทียบกับดาวเรืองต้นปกติ (ภาพที่ 9 (A-D))





ภาพที่ 9 ลักษณะของต้น ดอก และจำนวนโครโมโซมของดาวเรืองที่เป็นดิพลอยด์ และแฮพลอยด์

(A) ลักษณะของต้นดาวเรือง ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n = 24$

(B) ลักษณะของต้นดาวเรือง ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n = 12$

(C) ลักษณะของดอกดาวเรือง ที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n = 24$

(D) ลักษณะของดอกดาวเรืองที่มีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n = 12$

(E) จำนวนโครโมโซมดาวเรือง (ดิพลอยด์) $2n = 24$

(F) จำนวนโครโมโซมดาวเรือง (แฮพลอยด์) $2n = 12$

วิจารณ์ผลการวิจัย

อิทธิพลของสูตรอาหารต่อการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) คาวเรืองจากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ของคาวเรืองบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA และอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสพบว่าอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA และอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสที่แตกต่างกัน และเมื่อทำการย้ายแคลลัสไปยังอาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโตพบว่า แคลลัสที่จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) บนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA สามารถพัฒนาไปเป็นต้นได้ดีกว่า แคลลัสที่จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) บนอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA

อิทธิพลของชั้นของกลีบดอกในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ของคาวเรืองพบว่า ชั้นของกลีบดอกวงที่ 1 และ 2 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากกว่า ชั้นของกลีบดอกวงที่ 3 และ 4 แสดงว่าดอกที่มีอายุน้อยกว่าจะพัฒนาไปเป็นต้นได้ดีกว่าเช่นเดียวกับ ทดลองของ Bhat and Murthy (2007) ทำการเพาะเลี้ยงโอวูลที่ยังไม่ผ่านการปฏิสนธิ ของ *niger* (*Guizotia abyssinica* (L. f.) โดยการเก็บโอวูล (ovule) ที่จะมีการบานของดอกตั้งแต่ 0, 1 และ 2 วัน มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์พบว่า ดอกที่มีอายุ 0 วันคือดอกที่จะบานในวัดถัดไปมีเปอร์เซ็นต์เกิดแคลลัสมากที่สุด

อิทธิพลของสายพันธุ์ในการชักนำให้เกิดแคลลัสจากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ของคาวเรืองพบว่า สายพันธุ์ MAR 1 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสมากที่สุด รองลงมาคือ สายพันธุ์ MAR 6 มี และ สายพันธุ์ MAR 4, MAR 5, MAR 3 และ MAR 2 มีเปอร์เซ็นต์การเกิดแคลลัสที่ต่ำ

การตรวจสอบจำนวนโครโมโซม จากการตรวจสอบจำนวนโครโมโซมของต้นคาวเรืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) พบว่า จำนวนโครโมโซมของคาวเรืองลดลง จากคาวเรืองเรื้องปกติ (ดิพลอยด์) จะมีจำนวนโครโมโซมเท่ากับ $2n=24$ โดยโครโมโซมของคาวเรืองที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) มีโครโมโซมเท่ากับ $2n=12$ ซึ่ง Bhat and Murthy (2007) กล่าวว่า การเพาะเลี้ยงโอวูลที่ยังไม่ผ่านการปฏิสนธิ ของ *niger* (*Guizotia abyssinica* (L. f.) สามารถสร้างพืชแฮพลอยด์ได้โดยมีจำนวนโครโมโซมลดลงครึ่งหนึ่ง

ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยง โอวูลสามารถสร้างต้นคาวเรืองแฮพลอยด์ได้และเมื่อนำต้นคาวเรืองดังกล่าวมาเพิ่มจำนวนโครโมโซมโดยการให้สารโคลชิซินพบว่าสามารถสร้างต้นสายพันธุ์แท้ของคาวเรืองและบางต้นแสดงลักษณะเพศผู้เป็นหมันได้



ภาพที่ 10 ลักษณะของดอกดาวเรืองสายพันธุ์แท้ที่มีเกสรเพศผู้เป็นหมันได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูล
และทำการเพิ่มโครโมโซมด้วยสารโคลชิซิน

สรุปผลการวิจัย

การเพาะเลี้ยงโอวูล (ovule) ดาวเรือง ของดาวเรืองบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA และอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA พบว่าอาหารสูตร B5 ที่ประกอบด้วย 1 mg/l BA + 0.1 mg/l NAA สามารถชักนำให้เกิดแคลลัสได้ดีกว่าอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA แต่ไม่สามารถพัฒนาเป็นยอดได้ ส่วนแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูลดาวเรืองบนอาหารสูตร MS ที่ประกอบด้วย 1 mg/l TDZ + 0.1 mg/l NAA สามารถพัฒนาเป็นต้นได้หลังจากย้ายลงสู่อาหารที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต เมื่อนำต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโอวูลมาทำการนับจำนวนโครโมโซมพบว่า ต้นที่ได้มีโครโมโซมเป็นแฮพลอยด์ถึง 72.72 เปอร์เซ็นต์

เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย

- Afele J.C., L.W. Kannenberg, R. Keats, S. Sohota, and E. B. Swanson, 1992. Increased induction of microspore embryos following manipulation of donor plant environment and culture temperature in corn (*Zea mays* L.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*. 28: 87-90.
- Bhat, J.G. and H.N. Murthy. 2007. Haploid Plant Regeneration from Unpollinated Ovule Cultures of Niger (*Guizotia abyssinica* (L.f.) Cass.). *Plant Physiology*. 55: 241-245
- Jonard R. and A. Mazzarobba, 1990. In Bajaj Y.P.S. *Biotechnology in Agriculture and Forestry* 10, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, pp. 485-501.
- Miyoshi K. and N. Asakura, 1996. Callus induction, regeneration of haploid plants and chromosome doubling in ovule cultures of pot gerbera (*Gerbera jamesonii*), *Plant Cell Report* 16: 1-5.
- Muren R.C. 1989. Haploid plant induction from unpollinated ovaries in onion. *Hortscience*: 24(5) 833-834.
- Musial K., B. Bohanec and L. Prywara, 2001. Embryological study on gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.) *Sex Plant Reproduction* 13:335-341.
- Puddephat I.J., H.T. Robinson, B.M. Smith and J. Lynn, 1999. Influence of stock plant pretreatment on gynogenic embryo induction from flower buds of onion. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 57: 145-148.
- Tosca A. L. Arcara and P. Frangi, 1999. Effect of genotype and season on gynogenesis efficiency in *Gerbera*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 59:77-80.