

R

PERPUSTAKAAN UNIVERSITI MALAYA

ACO- 6883
INVC...ms. 2/2/02

**KAJIAN KULTUR TISU DAN AKTIVITI SEL
CARNATION (*Dianthus caryophyllus* Linn.)
CV. GRENADIN**

OLEH

NORFARIZA BINTI A. KADIR
INSTITUT SAINS BIOLOGI
FAKULTI SAINS
UNIVERSITI MALAYA

Perpustakaan Universiti Malaya



A510573561

TESIS INI DISERAHKAN UNTUK
IJAZAH SARJANA SAINS
UNIVERSITI MALAYA
KUALA LUMPUR
2001

Buat...

*Suami tercinta-Nizam, anak-anak, emak,
ayah, adik-adik dan semua yang disayangi*

PENGHARGAAN

Alhamdulillah, dengan kekuatan yang dikurniakan Allah tugas ini akhirnya berjaya diselesaikan. Terima kasih kepada Universiti Malaya di atas bantuan geran penyelidikan yang diberi. Juga kepada Ketua Jabatan Botani (Institut Sains Biologi) yang menyediakan pelbagai kemudahan untuk menjayakan tesis ini. Setinggi penghargaan kepada penyelia yang tidak jemu menghulur bantuan dan galakan, Prof. Madya Dr. Rosna Mat Taha di atas bimbingan dan seliaannya. Begitu juga dorongan daripada rakan-rakan di Makmal C, Kak Miskiah, Kak Hasniza, Kak Ruzaimah, Azlina, Arinawati dan semua yang memberi tunjuk ajar serta nasihat berguna dalam menjayakan eksperimen-eksperimen yang dilakukan.

Terima kasih kepada pekerja-pekerja di Makmal γ -ray Jabatan Fizik, Kebun Botani, Stor Botani, pemandu, Pn. Saida dan semua di Jabatan Botani yang terlibat melapangkan masa membantu melicinkan tugas saya.

Sekalung kasih buat suami tercinta, Hairunnizam Nordin yang terus menerus memberi perangsang dan bantuan agar tesis ini dapat disiapkan. Kepada En. Yaacub yang membantu menyiapkan tesis ini-terima kasih. Istimewa untuk kakitangan KYS Melaka dan anak-anak didikku semua, bantuan dan semangat kalian menyemarakkan semangatku. Akhirnya, kepada semua yang terlibat secara langsung dan tidak langsung dalam tugas ini, semua ini takkan berjaya dilakukan tanpa penglibatan kalian semua.

Eksperimen ini telah dibantu oleh geran penyelidikan Universiti Malaya, Kuala Lumpur.

Norfariza A.Kadir
Jun 2000

ABSTRACT

Cellular behaviour in primary roots of standard length 11.15 ± 0.33 mm from four-day-old seedlings of *Dianthus caryophyllus* Linn. cv. Grenadin were studied *in vivo* and *in vitro*. Parameters such as mitotic index (MI), chromosome count, the ploidy level, the mean cell and nuclear areas and the cell doubling time (Cdt) were determined from 2 mm segments of root tips.

The MI value of the root segment decreased when transferred from *in vivo* to Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 2.0 mg/l NAA. The mean chromosome count were generally stable during 6 months in culture period with $2n=2x=30$ within the range of 25-33 chromosomes per cell. The ploidy level increased with high percentage of polyploid cells during 6 months in culture. Most of the cells also accumulated in G2-phase of the cell cycle. The mean cell and nuclear areas were stable for the initial 2 weeks and then dropped after 4 weeks until 6 months in culture. The cell doubling time increased to 96.07 h in 3 weeks culture while Cdt *in vivo* was only 66.11 h.

In tissue culture technique, nodal stem and shoot were the most responsive explants to regenerate multiple shoots compared to stem, leaf and root explants. Combination of 0.5 mg/l NAA and 1.5 mg/l BAP, pH 5.8, 30 g/l sucrose, 8 g/l agar, temperature 25 ± 1 °C and photoperiod of 16 h light and 8 h darkness were suitable for carnation regeneration. Multiple shoots were also produced when explants from shoot and nodal stem were cultured in liquid medium, 1/3 MS

medium supplemented with 30 g/l sucrose. The concentration of 30 g/l sucrose could prevent vitrification problems which often happened in carnation *in vitro*. Multiple shoots were able to regenerate better on MS medium compared to Nistch and Nistch (NN) medium. The presence of NAA hormone was more capable of inducing roots compared with IAA and 2, 4-D. BAP hormone obviously could enhance the frequency of shoot regenerations than 2iP, kinetin and zeatin. Acclimatization was successfully done and the plantlets obtained could survive in the glasshouse.

Shoot and nodal stem explants on MS supplemented with 2.0 mg/l NAA could produce multiple shoots. Cytological studies on these regenerative tissues had been done and compared with non-regenerative tissues from root, leaf and stem explants. The MI value in roots of both tissues were high, i.e., 36-43%. But then, the MI decreased during culture. The mean chromosome was more or less 28.3 chromosomes per cell. The differences between regenerative and non-regenerative tissues were the percentage of S-phase and G2-phase of the cell cycle. In non-regenerative tissues, the percentage of S-phase and G-2 phase were higher. The percentage of polyploid cells in regenerative and non-regenerative tissues were obviously lower than *in vivo* cells. Nevertheless, the regenerative tissues had more polyploid cells compared to non-regenerative tissues. The mean cell and nuclear areas of regenerative tissues obtained were larger than non-regenerative. The Cdt of regenerative tissues, e.g., shoot was only 62.8 h and non-regenerative tissues, e.g., stem was 155.8 h. Perhaps, the ability of regenerative

medium supplemented with 30 g/l sucrose. The concentration of 30 g/l sucrose could prevent vitrification problems which often happened in carnation *in vitro*. Multiple shoots were able to regenerate better on MS medium compared to Nistch and Nistch (NN) medium. The presence of NAA hormone was more capable of inducing roots compared with IAA and 2, 4-D. BAP hormone obviously could enhance the frequency of shoot regenerations than 2iP, kinetin and zeatin. Acclimatization was successfully done and the plantlets obtained could survive in the glasshouse.

Shoot and nodal stem explants on MS supplemented with 2.0 mg/l NAA could produce multiple shoots. Cytological studies on these regenerative tissues had been done and compared with non-regenerative tissues from root, leaf and stem explants. The MI value in roots of both tissues were high, i.e., 36-43%. But then, the MI decreased during culture. The mean chromosome was more or less 28.3 chromosomes per cell. The differences between regenerative and non-regenerative tissues were the percentage of S-phase and G2-phase of the cell cycle. In non-regenerative tissues, the percentage of S-phase and G-2 phase were higher. The percentage of polyploid cells in regenerative and non-regenerative tissues were obviously lower than *in vivo* cells. Nevertheless, the regenerative tissues had more polyploid cells compared to non-regenerative tissues. The mean cell and nuclear areas of regenerative tissues obtained were larger than non-regenerative. The Cdt of regenerative tissues, e.g., shoot was only 62.8 h and non-regenerative tissues, e.g., stem was 155.8 h. Perhaps, the ability of regenerative

tissues to divide faster than non-regenerative explained their ability to produced multiple shoots.

The interesting fact about regeneration of *Dianthus caryophyllus* Linn. cv. Grenadin is that although high ploidy level was detected in regenerative cells, the tissues could still regenerate into complete plants. It shows that this species maintained the polyploid cells from *in vivo* to *in vitro* plantlets. The regenerants were successfully transferred to the soil.

ABSTRAK

Kelakuan sel akar primer carnation, *Dianthus caryophyllus* Linn. cv. Grenadin yang berusia 4 hari dengan purata panjang akar 11.15 ± 0.33 mm dan ditanam secara *in vivo* dan *in vitro* telah dikaji. Parameter seperti indeks mitosis (MI), bilangan kromosom, tahap ploidi, luas sel, luas nukleus dan masa penggandaan sel (Cdt) bagi segmen hujung akar berukuran 2 mm telah dilakukan.

Apabila segmen akar primer carnation yang ditanam secara *in vivo* dipindahkan kepada keadaan *in vitro* di atas media Murashige dan Skoog' (MS) yang ditambah dengan 2.0 mg/l NAA, purata nilai MI nya didapati menjadi lebih rendah. Purata bilangan kromosom didapati stabil sepanjang 6 bulan dikultur dengan nilai $2n=2x=30$ dan julat 25-33 kromosom per sel. Tahap ploidi meningkat dengan peratus sel poliploid yang tinggi sepanjang 6 bulan dikultur. Kebanyakan sel juga didapati berada pada fasa G2 kitaran sel. Purata luas sel dan nukleus adalah tinggi dan stabil pada 2 minggu pertama tetapi turun semula pada minggu ke 4 sehingga 6 bulan dikultur. Masa penggandaan sel bagi eksplan yang dikultur secara *in vitro* didapati lebih panjang (96.07 jam) berbanding sel-sel yang ditanam secara *in vivo* (66.11 jam).

Dalam kajian kultur tisu, eksplan batang bernod dan pucuk yang berusia 3 minggu didapati paling responsif untuk regenerasi pucuk berganda berbanding eksplan batang, daun dan akar. Media optimum untuk regenerasi pucuk adalah media MS yang ditambah dengan 0.5 mg/l NAA dan 1.5 mg/l BAP, pH 5.8, 30 g/l sukrosa, 8

g/l agar, suhu 25 ± 1 °C dan kalacahaya 16 jam cahaya serta 8 jam gelap. Pucuk berganda juga boleh dihasilkan apabila eksplan pucuk dan batang bernod dikultur di dalam media 1/3 MS yang ditambah dengan 30 g/l sukrosa. Sukrosa yang berkepekatan 30 g/l didapati dapat menghindar masalah vitrifikasi yang kerap berlaku pada carnation *in vitro*. Media Murashige dan Skoog didapati lebih sesuai digunakan untuk regenerasi pucuk berbanding media Nistch dan Nistch. Hormon NAA lebih baik daripada IAA dan 2, 4-D untuk menginduksi akar dan hormon BAP pula didapati lebih baik daripada 2iP, kinetin dan zeatin untuk regenerasi pucuk berganda. Aklimatisasi berjaya dilakukan dan pokok carnation hidup subur di rumah kaca.

Oleh kerana dari kajian kultur tisu menunjukkan cuma eksplan pucuk dan batang bernod sahaja yang berjaya membentuk pucuk berganda apabila dikultur di atas MS yang ditambah dengan 2.0 mg/l NAA, kajian sitologi telah dijalankan ke atas tisu eksplan regeneratif itu. Tisu yang tidak regeneratif di atas media MS yang ditambah dengan 2.0 mg/l NAA, iaitu, tisu eksplan akar, batang dan daun turut dikaji untuk perbandingan. Didapati nilai MI kedua-dua jenis tisu regeneratif dan tidak regeneratif adalah tinggi, iaitu antara 36-43%. Namun begitu, nilai MI semakin berkurangan apabila semakin lama di dalam kultur. Purata bilangan kromosom didapati hampir sama dengan purata 28.3 kromosom per sel. Perbezaan yang ditunjukkan adalah peratus sel pada fasa S dan G2 bagi tisu tidak regeneratif yang didapati lebih tinggi berbanding tisu regeneratif. Peratus sel poliploid bagi kedua-dua jenis tisu didapati lebih rendah daripada sel-sel akar yang ditanam secara *in vivo*. Namun begitu, tisu eksplan regeneratif mempunyai

peratus sel poliploid yang lebih tinggi daripada sel tisu tidak regeneratif. Luas sel dan luas nukleus tisu regeneratif juga didapati lebih besar berbanding tisu tidak regeneratif. Masa penggandaan sel eksplan regeneratif seperti pucuk didapati cuma 62.8 jam manakala bagi eksplan tidak regeneratif seperti batang adalah 155.8 jam. Keupayaan tisu regeneratif untuk membahagi dalam masa yang lebih singkat mungkin menjelaskan kemampuannya untuk regenerasi menghasilkan pucuk berganda.

Yang menarik tentang regenerasi carnation cv. Grenadin ini adalah walaupun eksplan regeneratifnya mempunyai banyak sel-sel poliploid dengan peratus yang tinggi, ia masih mampu meregenerasikan pucuk berganda yang banyak. Spesis ini didapati mengekalkan sifat poliploid sel induk *in vivonya* apabila dikultur secara *in vitro*. Regeneran juga berjaya diaklimatisasikan dan tiada perbezaan fenotip diperhatikan.

KANDUNGAN	muka surat
PENGHARGAAN	i
ABSTRACT	ii
ABSTRAK	v
KANDUNGAN	viii
SENARAI JADUAL	xii
SENARAI GRAF	xvi
SENARAI RAJAH	xviii
SENARAI PLAT	xxvii
SINGKATAN	xxix
BAB 1.0 PENGENALAN DAN TINJAUAN PERPUSTAKAAN	1
BAB 2.0 TUMBESARAN AKAR MELAWAN MASA:	
EKSPERIMEN PIAWAIAN	38
2.1 PENGENALAN	38
2.2 BAHAN DAN KAEDAH	41
2.3 KEPUTUSAN	42
2.4 RINGKASAN KEPUTUSAN	50
BAB 3.0 KAJIAN SITOLOGI KE ATAS AKAR PRIMER	
<i>Dianthus caryophyllus</i> Linn. YANG DITANAM	
SECARA <i>IN VIVO</i>	51
3.1 PENGENALAN	51
3.2 BAHAN DAN KAEDAH	58
3.2.1 Penyediaan slaid tetap	58

3.2.2	Pengiraan indeks mitosis (MI)	60
3.2.3	Bilangan kromosom	60
3.2.4	Penyediaan slaid tetap teknik 'non-squash'	61
3.2.5	Pengukuran luas sel dan luas nukleus	62
3.2.6	Penentuan kandungan DNA nukleus	62
3.2.7	Penentuan masa penggandaan sel (Cdt)	63
3.3	KEPUTUSAN	65
3.4	RINGKASAN KEPUTUSAN	76
BAB 4.0 PENGKULTURAN SEGMENT AKAR DAN KAJIAN		
SITOLOGI KE ATAS AKAR <i>Dianthus caryophyllus</i> Linn.		
YANG DITANAM SECARA <i>IN VITRO</i>		77
4.1	PENGENALAN	77
4.2	BAHAN DAN KAEDAH	81
4.2.1	Penentuan media optima untuk pertumbuhan akar dan regenerasi tumbuhan	82
4.2.2	Penentuan hormon yang sesuai	83
4.2.3	Penentuan indeks mitosis (MI) <i>in vitro</i>	83
4.2.4	Penentuan bilangan kromosom <i>in vitro</i>	85
4.2.5	Pengukuran kandungan DNA nukleus <i>in vitro</i>	85
4.2.6	Pengukuran luas sel dan luas nukleus <i>in vitro</i>	86
4.2.7	Pengiraan masa penggandaan sel (Cdt) <i>in vitro</i>	86
4.3	KEPUTUSAN	87
4.4	RINGKASAN KEPUTUSAN	102

5.0 REGENERASI *Dianthus caryophyllus* Linn. CV. GRENADIN

SECARA <i>IN VITRO</i>	104
5.1 PENGENALAN	104
5.2 BAHAN DAN KAEDAH	107
5.2.1 Bekalan biji benih dan eksplan	107
5.2.2 Penyediaan media kultur	108
5.2.3 Teknik aseptik	110
5.2.4 Kaedah kultur tisu	111
5.2.4.1 Pensterilan biji benih	111
5.2.4.2 Percambahan biji benih	112
5.2.4.3 Kesan hormon ke atas eksplan	112
5.2.4.4 Kesan auksin dan sitokinin berbeza ke atas eksplan	113
5.2.4.5 Kesan sukrosa ke atas eksplan dan vitrifikasi	113
5.2.4.6 Kultur eksplan di dalam media cecair	114
5.2.4.7 Kesan media Nistch dan Nistch (NN) ke atas eksplan	114
5.2.4.8 Kesan NAA ke atas pertumbuhan akar	115
5.2.4.9 Pemandahan plantlet ke tanah	117
5.3 KEPUTUSAN	122
5.4 RINGKASAN KEPUTUSAN	161
BAB 6.0 PERBANDINGAN KELAKUAN SEL ANTARA TISU EKSPLAN REGENERATIF DAN TISU EKSPLAN TIDAK REGENERATIF <i>Dianthus caryophyllus</i> Linn.	

DALAM SISTEM KULTUR TISU	162
6.1 PENGENALAN	162
6.2 BAHAN DAN KAEDAH	162
6.2.1 Pensterilan dan penyediaan kultur eksplan	168
6.2.2 Penentuan indeks mitosis (MI)	169
6.2.3 Pengiraan bilangan kromosom	170
6.2.4 Pengukuran kandungan DNA nukleus	171
6.2.5 Pengukuran luas sel dan luas nukleus	171
6.2.6 Penentuan masa penggandaan sel (Cdt)	171
6.3 KEPUTUSAN	172
6.4 RINGKASAN KEPUTUSAN	195
BAB 7.0 PERBINCANGAN	197
BAB 8.0 KESIMPULAN	228
RUJUKAN	234
APENDIKS 1	254
APENDIKS 2	258

SENARAI JADUAL**muka surat**

Jadual 1	Peratus percambahan biji benih dan panjang akar primer \pm sisihan piawai yang ditentukan selama 5 hari.	48
Jadual 2	Purata indeks mitosis (MI) bagi sel-sel akar primer yang berusia 4 hari dan ditanam secara <i>in vivo</i> .	68
Jadual 3	Purata luas sel dan luas nukleus bagi sel-sel akar primer carnation yang ditanam secara <i>in vivo</i> .	70
Jadual 4	Taburan kandungan DNA nukleus bagi sel-sel akar primer carnation yang ditanam secara <i>in vivo</i> .	70
Jadual 5	Hubungan di antara peratus frekuensi profasa, metafasa dan indeks mitosis apabila sel-sel akar primer carnation <i>in vivo</i> didedahkan kepada 0.025% kolkisin selama 6 jam.	74
Jadual 6	Media yang digunakan untuk penentuan hormon paling sesuai untuk regenerasi akar.	84
Jadual 7	Purata MI akar carnation yang dikultur secara <i>in vitro</i> di atas media MS yang ditambah dengan 2 mg/l NAA sepanjang 6 bulan kajian.	90
Jadual 8	Bilangan dan julat kromosom sel-sel akar carnation yang dikultur secara <i>in vitro</i> sepanjang 6 bulan kajian.	91
Jadual 9	Purata nilai luas sel dan luas nukleus bagi sel-sel akar carnation yang dikultur secara <i>in vitro</i> .	96
Jadual 10	Taburan kandungan DNA nukleus bagi sel-sel akar carnation yang dikultur secara <i>in vitro</i> .	98

Jadual 11	Hubungan di antara peratus frekuensi profasa, metafasa dan indeks mitosis sel-sel akar carnation yang berusia 3 minggu dan dikultur secara <i>in vitro</i> apabila didedahkan kepada 0.025% kolkisin selama 6 jam.	100
Jadual 12	Media MS dengan pelbagai kombinasi hormon yang digunakan untuk menentukan media optima bagi regenerasi carnation.	109
Jadual 13	Media NN dengan pelbagai kombinasi hormon yang digunakan untuk menentukan media optima bagi regenerasi carnation.	116
Jadual 14	Kesan hormon ke atas pembentukan akar, kalus dan regenerasi pucuk bagi eksplan yang dikultur secara <i>in vitro</i> .	125
Jadual 15	Kesan auksin dan sitokinin yang berbeza ke atas eksplan yang dikultur secara <i>in vitro</i> .	140
Jadual 16	Kesan kepekatan sukrosa yang berbeza ke atas eksplan pucuk	145
Jadual 17	Peratus percambahan biji benih carnation di atas media MS dan NN	150
Jadual 18	Kesan kombinasi dan kepekatan hormon apabila eksplan dikultur di atas media NN	151
Jadual 19	Prosedur aklimatisasi tumbuhan carnation	158
Jadual 20	Perbandingan nilai MI bagi sel-sel akar daripada tisu regeneratif dan tidak regeneratif.	175

Jadual 21	Perbandingan bilangan kromosom bagi sel-sel akar daripada tisu regeneratif dan tidak regeneratif.	179
Jadual 22	Perbandingan taburan DNA nukleus bagi sel-sel akar daripada tisu regeneratif dan tidak regeneratif.	181
Jadual 23	Perbandingan purata luas sel, luas nukleus dan nisbah luas nukleus / luas sel bagi sel-sel akar daripada tisu regeneratif dan tidak regeneratif.	184
Jadual 24	Perbandingan Cdt bagi sel-sel akar daripada tisu regeneratif dan tidak regeneratif.	188
Jadual 25	Perbandingan kelakuan sel bagi sel-sel akar daripada tisu regeneratif dan tidak regeneratif.	192

Apendiks II

Jadual 1 App. II	Kesan hormon ke atas penghasilan akar	258
Jadual 2 App. II	Hubungan di antara peratus frekuensi profasa, metafasa dan indeks mitosis apabila eksplan batang yang berusia 3 minggu didedahkan kepada 0.025% kolkisin selama 6 jam.	259
Jadual 3 App. II	Hubungan di antara peratus frekuensi profasa, metafasa dan indeks mitosis apabila eksplan daun yang berusia 3 minggu didedahkan kepada 0.025% kolkisin selama 6 jam.	261
Jadual 4 App. II	Hubungan di antara peratus frekuensi profasa, metafasa dan indeks mitosis apabila eksplan	

	akar yang berusia 3 minggu didedahkan kepada 0.025% kolkisin selama 6 jam.	263
Jadual 5 App. II	Hubungan di antara peratus frekuensi profasa, metafasa dan indeks mitosis apabila eksplan Batang bernod yang berusia 3 minggu didedahkan kepada 0.025% kolkisin selama 6 jam.	265
Jadual 6 App. II	Hubungan di antara peratus frekuensi profasa, metafasa dan indeks mitosis apabila eksplan pucuk yang berusia 3 minggu didedahkan kepada 0.025% kolkisin selama 6 jam.	267

SENARAI GRAF

muka surat

Graf 1	Tumbesaran akar piawai	49
Graf 2	Persamaan regresi daripada hubungan di antara peratus frekuensi metafasa melawan masa pendedahan kepada kolkisin (jam) bagi sel-sel akar yang dikultur secara <i>in vivo</i> .	75
Graf 3	Persamaan regresi daripada hubungan di antara peratus frekuensi metafasa melawan tempoh pendedahan kepada 0.025% kolkisin bagi sel-sel akar yang dikultur secara <i>in vitro</i> .	101
Graf 4	Persamaan regresi daripada hubungan di antara peratus frekuensi metafasa melawan tempoh pendedahan kepada 0.025% kolkisin bagi sel-sel akar daripada eksplan batang yang berusia 3 minggu selepas dikultur secara <i>in vitro</i> .	260
Graf 5	Persamaan regresi daripada hubungan di antara peratus frekuensi metafasa melawan tempoh pendedahan kepada 0.025% kolkisin bagi sel-sel akar daripada eksplan daun yang berusia 3 minggu selepas dikultur secara <i>in vitro</i> .	262
Graf 6	Persamaan regresi daripada hubungan di antara peratus frekuensi metafasa melawan tempoh pendedahan kepada 0.025% kolkisin bagi sel-sel akar daripada eksplan akar yang berusia 3 minggu	

	selepas dikultur secara <i>in vitro</i> .	264
Graf 7	Persamaan regresi daripada hubungan di antara peratus frekuensi metafasa melawan tempoh pendedahan kepada 0.025% kolkisin bagi sel-sel akar daripada eksplan batang bernod yang berusia 3 minggu selepas dikultur secara <i>in vitro</i> .	266
Graf 8	Persamaan regresi daripada hubungan di antara peratus frekuensi metafasa melawan tempoh pendedahan kepada 0.025% kolkisin bagi sel-sel akar daripada eksplan pucuk yang berusia 3 minggu selepas dikultur secara <i>in vitro</i> .	268

SENARAI RAJAH	muka surat
Rajah A	Pengukuran panjang akar primer 47
Rajah 1	1a) Taburan luas sel bagi sel-sel akar primer yang ditanam secara <i>in vivo</i> 71
	1b) Taburan luas nukleus bagi sel-sel akar primer yang ditanam secara <i>in vivo</i> 71
Rajah 2	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation yang ditanam secara <i>in vivo</i> . 73
Rajah 3	Ringkasan kaedah kultur tisu 120
Rajah 4	Ringkasan kaedah kultur eksplan carnation di dalam media cecair 121
Rajah 5	Kesan hormon ke atas eksplan daun 129
Rajah 6	Kesan hormon ke atas eksplan batang 130
Rajah 7	Kesan hormon ke atas eksplan batang bernod 131
Rajah 8	Kesan hormon ke atas eksplan akar 132
Rajah 9	Kesan hormon ke atas eksplan pucuk 133
Rajah 10	Kesan auksin dan sitokinin berbeza ke atas eksplan daun 142
Rajah 11	Kesan auksin dan sitokinin berbeza ke atas eksplan batang 143
Rajah 12	Kesan auksin dan sitokinin berbeza ke atas eksplan pucuk 144
Rajah 13	Kesan media NN berhormon ke atas eksplan batang 153
Rajah 14	Kesan media NN berhormon ke atas eksplan daun 154

Rajah 15	Kesan media NN berhormon ke atas eksplan batang bernod	155
Rajah16	Kesan media NN berhormon ke atas eksplan pucuk	156
Rajah 17	Perbandingan nilai MI bagi sel-sel akar dari tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif	176
Rajah 18	Perbandingan purata bilangan kromosom bagi sel-sel akar dari tisu regeneratif dan tidak regeneratif	180
Rajah 19	Perbandingan purata luas sel dan luas nukleus bagi sel-sel akar dari tisu regeneratif dan tidak regeneratif.	185
Rajah 20	Perbandingan Cdt bagi sel-sel akar dari tisu regeneratif dan tidak regeneratif	189

Apendiks II

Rajah 1App. II	1a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 1 hari selepas dikultur	
	1b) Taburan luas nukleus carnation berusia 1 hari selepas dikultur	269
Rajah 2 App. II	2a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 2 hari selepas dikultur	
	2b)Taburan luas nukleus carnation berusia 2 hari selepas dikultur	270
Rajah 3 App. II	3a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 3 hari selepas dikultur	

	3b) Taburan luas nukleus carnation berusia 3 hari selepas dikultur	271
Rajah 4 App. II	4a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 4 hari selepas dikultur	
	4b) Taburan luas nukleus carnation berusia 4 hari selepas dikultur	272
Rajah 5 App. II	5a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 7 hari (1 minggu) selepas dikultur	
	5b) Taburan luas nukleus carnation berusia 7 hari (1 minggu) selepas dikultur	273
Rajah 6 App. II.	6a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 2 minggu selepas dikultur	
	6b) Taburan luas nukleus carnation berusia 2 minggu selepas dikultur	274
Rajah 7 App. II	7a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 3 minggu selepas dikultur	
	7b) Taburan luas nukleus carnation berusia 3 minggu selepas dikultur	275
Rajah 8 App. II	8a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 4 minggu selepas dikultur	
	8b) Taburan luas nukleus carnation berusia 4 minggu selepas dikultur	276
Rajah 9 App. II	9a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 5 minggu selepas dikultur	

	9b) Taburan luas nukleus carnation berusia 5 minggu selepas dikultur	277
Rajah 10 App. II.	10a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 6 minggu selepas dikultur	
	10b) Taburan luas nukleus carnation berusia 6 minggu	278
Rajah 11 App. II.	11a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 7 minggu	
	11b) Taburan luas nukleus carnation berusia 7 minggu	279
Rajah 12 App. II.	12a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 8 minggu (2 bulan) selepas dikultur	
	12b) Taburan luas sel profasa bagi nukleus carnation berusia 8 minggu (2 bulan)	280
Rajah 13 App. II.	13a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 12 minggu (3 bulan) selepas dikultur	
	13b) Taburan luas nukleus carnation berusia 12 minggu (3 bulan)	281
Rajah 14 App. II.	14a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 4 bulan selepas dikultur	
	14b) Taburan luas nukleus carnation berusia 4 bulan selepas dikultur	282
Rajah 15 App. II.	15a) Taburan luas sel profasa bagi sel carnation berusia 6 bulan selepas dikultur	

	15b) Taburan luas nukleus carnation berusia 6 bulan selepas dikultur	283
Rajah 16 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 1 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	284
Rajah 17 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 2 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	284
Rajah 18 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 3 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	285
Rajah 19 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 4 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	285
Rajah 20 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 7 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	286
Rajah 21 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 14 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	286
Rajah 22 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 21 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	287
Rajah 23 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi	

	sel-sel akar carnation selepas 28 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	287
Rajah 24 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 35 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	288
Rajah 25 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 42 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	288
Rajah 26 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 48 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	289
Rajah 27 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 56 hari dikultur secara <i>in vitro</i>	289
Rajah 28 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 3 bulan dikultur secara <i>in vitro</i>	290
Rajah 29 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 4 bulan dikultur secara <i>in vitro</i>	290
Rajah 30 App. II.	Taburan kandungan DNA nukleus (nilai <u>C</u>) bagi sel-sel akar carnation selepas 6 bulan dikultur secara <i>in vitro</i>	291
Rajah 31 App. II	Taburan kandungan DNA nukleus bagi	

	sel-sel akar daripada eksplan batang berusia 3 minggu selepas dikultur	291
Rajah 32 App. II	Taburan kandungan DNA nukleus bagi sel-sel akar daripada eksplan daun berusia 3 minggu selepas dikultur	292
Rajah 33 App. II	Taburan kandungan DNA nukleus bagi sel-sel akar daripada eksplan akar berusia 3 minggu selepas dikultur	292
Rajah 34 App. II	Taburan kandungan DNA nukleus bagi sel-sel akar daripada eksplan batang bernod berusia a) 3 minggu selepas dikultur b) 2 bulan selepas dikultur c) 3 bulan selepas dikultur	293 293 294
Rajah 35 App. II	Taburan kandungan DNA nukleus bagi sel-sel akar daripada eksplan pucuk berusia a) 3 minggu selepas dikultur b) 2 bulan selepas dikultur c) 3 bulan selepas dikultur	294 295 295
Rajah 36 App. II	a) Purata luas sel daripada eksplan batang berusia 3 minggu b) Purata luas nukleus daripada eksplan batang berusia 3 minggu	296 296
Rajah 37 App. II	a) Purata luas sel daripada eksplan daun berusia 3 minggu selepas dikultur	297

	b) Purata luas nukleus daripada eksplan daun berusia 3 minggu selepas dikultur	297
Rajah 38 App. II	a) Purata luas sel daripada eksplan akar berusia 3 minggu selepas dikultur	298
	b) Purata luas nukleus daripada eksplan batang berusia 3 minggu selepas dikultur	298
Rajah 39 App. II	a) Purata luas sel daripada eksplan batang bernod berusia 3 minggu selepas dikultur	299
	b) Purata luas nukleus daripada eksplan batang bernod berusia 3 minggu selepas dikultur	299
Rajah 40 App. II	a) Purata luas sel daripada eksplan batang bernod berusia 2 bulan selepas dikultur	300
	b) Purata luas nukleus daripada eksplan batang bernod berusia 2 bulan selepas dikultur	300
Rajah 41 App. II	a) Purata luas sel daripada eksplan batang bernod berusia 3 bulan selepas dikultur	301
	b) Purata luas nukleus daripada eksplan batang bernod berusia 3 bulan	301
Rajah 42 App. II	a) Purata luas sel daripada eksplan pucuk berusia 2 minggu	302
	b) Purata luas nukleus daripada eksplan pucuk berusia 3 minggu selepas dikultur	302
Rajah 43 App. II	a) Purata luas sel daripada eksplan pucuk berusia 2 bulan selepas dikultur	303

	b) Purata luas nukleus daripada eksplan pucukg berusia 2 bulan selepas dikultur	303
Rajah 44 App. II	a) Purata luas sel daripada eksplan pucuk berusia 3 bulan selepas dikultur	304
	b) Purata luas nukleus daripada eksplan pucuk berusia 3 bulan selepas dikultur	304

SENARAI PLAT**muka surat**

Plat 1	A. Tumbuhan 'intact' <i>Dianthus caryophyllus</i> Linn.	
	B. Pelbagai warna carnation yang dikomersilkan	28
Plat 2	A. Teknik percambahan biji benih untuk menentukan panjang akar piawai	
	B. Percambahan biji benih secara epigeal	45
Plat 3	Peringkat metafasa sel meristem akar carnation yang ditanam secara <i>in vivo</i> menunjukkan bilangan kromosom $2n = 30$.	69
Plat 4	Peringkat metafasa sel akar carnation selepas 7 hari dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2mg/l NAA menunjukkan:	
	A. 27 kromosom	92
	B. 33 kromosom	92
Plat 5	Pucuk berganda terbentuk daripada eksplan daun	134
Plat 6	Pucuk berganda terbentuk daripada eksplan batang bernod	135
Plat 7	Pucuk berganda terbentuk daripada eksplan pucuk	137
Plat 8	Vitrifikasi dikesan pada daun pucuk berganda	146
Plat 9	Vitrifikasi dikesan pada batang pucuk berganda	146
Plat 10	Kesan pemulihan plantlet yang mengalami vitrifikasi apabila eksplan daripada media cecair dipindahkan ke media pepejal.	149
Plat 11	Regeneran carnation <i>in vitro</i> selepas 2 bulan	

	dipindahkan ke tanah	159
Plat 12	Regeneran carnation <i>in vitro</i> selepas 5 bulan dipindahkan ke tanah.	160

SINGKATAN

2,4-D	: Asid 2, 4, Diklorofenoksi asetik
BA = BAP	: Benziladenin, 6-benzilaminopurin
<u>C</u>	: nilai <u>C</u> , kandungan DNA per genom haploid
°C	: darjah Celsius
Cdt	: masa penggandaan sel
cm	: sentimeter
CMV	: Carnation Mottle Virus
cv.	: kultivar
DAPs	: Protein Anti-HIV <i>Dianthus</i>
DNA	: Asid Deoksiribonukleik
g	: gram
g/l	: gram per liter
G1	: Fasa sebelum sintesis DNA
G2	: Fasa selepas sintesis DNA
GA ₃	: Asid Giberelik
G0	: Peringkat rehat, terletak di luar kawasan prolifera- tif kitaran sel
j	: jam
IAA	: Acid Indolasetik
IBA	: Asid Indolbutirik
kDa	: kilo Dalton

kg/m ²	: kilogram per meter persegi
klux	: kilo lux
Kin	: kinetin
L	: Liter
LD	: hari panjang
mg/l	: miligram per liter
M	: Molar
MI	: Indeks Mitosis
min	: menit
ml	: mililiter
mm	: milimeter
MS	: Murashige dan Skoog
NAA	: Acid Naftalene Asetik
NN	: Nistch dan Nistch
r.p.m.	: pusingan per menit
RNA	: Asid Ribonucleik
S	: Fasa sintesis DNA
SD	: hari pendek
v/v	: isipadu/isipadu
w/v	: berat/isipadu
μm	: mikrometer
μM	: mikro Molar