

**BAB 6 : PERBANDINGAN KELAKUAN SEL DI ANTARA TISU EKSPLAN  
REGENERATIF DAN TISU EKSPLAN TIDAK REGENERATIF  
DALAM SISTEM KULTUR TISU.**

**6.0 PENGENALAN**

Istilah morfogenesis telah ditakrifkan oleh Tran Thanh Van (1981) sebagai merangkumi morfogenesis *de novo* struktur dan fungsi yang telah diketahui ataupun tidak, termasuk pembentukan struktur tanpa fungsi yang jelas seperti kalus atau pembentukan akar unisel. Tisu morfogenetik biasanya dirujuk sebagai tisu yang berkebolehan untuk menjalani morfogenesis dan menghasilkan tumbuhan lengkap. Istilah regenerasi tumbuhan pula didefinisikan sebagai pembentukan struktur mana-mana bahagian tumbuhan yang telah dipisah atau diasingkan secara fisiologinya daripada sesuatu tumbuhan. Proses morfogenesis ini menuruti corak yang teratur dengan pengumpulan sel-sel, tisu-tisu dan organ-organ dalam struktur yang harmoni dengan fungsi dan bentuk yang sama seperti diwarisi daripada induknya.

Menurut Tran Thanh Van (1981), di antara faktor penting untuk berlakunya morfogenesis termasuklah status sel yang diwarisi ('inherent cellular state') oleh eksplan daripada tumbuhan induknya sepanjang berada di dalam media kultur, iaitu selepas pemotongan eksplan dilakukan. Di samping itu, faktor nutrisi, fitohormon dan persekitaran kepada eksplan turut memainkan peranan penting untuk morfogenesis

berlaku. Regenerasi organ bagi sesetengah spesies boleh berlaku dengan mudah melalui penukaran nisbah hormon tumbesaran tumbuhan yang dikatakan merupakan faktor asas untuk mengawal morfogenesis. Bagi tumbuhan yang sukar untuk diregenerasi, ia boleh diatasi dengan beberapa cara seperti mengubah jenis hormon dan penyekat tumbesaran (Chang dan Hsing, 1980) contohnya dengan menggunakan kombinasi hormon GA dan BA dan bukannya kombinasi NAA dan BA, menyingkirkan 2,4-D atau agar daripada media, mengubah nisbah antara makronutrien dan mikronutrien dan penambahan bahan tertentu seperti arang (charcoal) atau sebatian organik seperti vitamin, asid amino, steroid dan lain-lain. Di samping itu, penambahan karbohidrat seperti sukrosa atau glukosa, kombinasi dan variasi cahaya (kualiti dan kuantiti cahaya) (Tran Thanh Van, 1977; Tran Thanh Van *et al.*, 1974), nilai pH (Cousson dan Tran Thanh Van, 1980), potensi air (Tran Thanh Van, 1977), suhu, gas-gas atmosfera dan bentuk bekas turut mempengaruhi morfogenesis *in vitro*.

Perbezaan morfogenesis di dalam sistem *in vitro* selalunya berlaku selepas pemotongan tisu eksplan dibuat. Bagi sesetengah spesies tumbuhan, pengasingan sel dan tisu eksplan ini cukup untuk menggalakkan pembentukan tunas *de novo*, akar atau pembentukan kalus tanpa penambahan apa-apa faktor eksogenous (Tran Thanh Van, 1981). Terdapat penyelidik yang mendapati bahawa wujudnya modifikasi perubahan metabolik dan genetik sebelum berlakunya aktiviti mitosis (pembahagian sel) dan sebaik sahaja selepas pemotongan tisu eksplan dibuat.

Perubahan metabolik dan genetik yang berlaku termasuklah perubahan organel dan nukleus, penambahan saiz nukleus dan luas endoplasmik retikulum, pembentukan polisom, penambahan resapan membran, sintesis DNA satelit (Buiatti, 1977), pemusnahan atau sintesis hormon-hormon tumbesaran, penambahan aktiviti peroksidase, sintesis aktif protein dan sebatian fenolik, penambahan respirasi dan penghasilan etilena. Peristiwa kompleks ini berlaku pada peringkat awal pengkulturan *in vitro* dan ia mengubah keadaan yang diwarisi oleh sel eksplan daripada induknya.

Bagi tisu eksplan yang tidak morfogenetik terdapat faktor-faktor perubahan genetik dan metabolik yang muncul selepas pemotongan dibuat seperti amplikasi DNA, perubahan aktiviti peroksidase, perubahan corak isozom dan metabolisme sebatian fenolik. Kesan luka, penentuan kandungan hormon tumbesaran endogenous, modifikasi enzim dan DNA perlu difahami untuk menentukan hormon eksogenous yang sesuai diberikan kepada eksplan yang dikultur, bila dan berapa nisbahnya. Bagi tumbuhan berkayu, orkid dan beberapa spesies kekacang contohnya, kesukaran morfogenetik yang ditemui adalah kerana terdapatnya simpanan atau tinggalan polifenol dan oksidasi produk seperti melanin, penambahan lignin, suberin dan kalos di seluruh permukaan eksplan yang dipotong menyebabkan perubahan komposisi media kultur serta pengambilan metabolit daripada media kepada eksplan terganggu (Tran Thanh Van, 1981).

Bagi kultur jangka panjang, kemampuan morfogenetik bagi kultur sel dan kalus didapati hilang secara beransur-ansur dengan bertambahnya masa disebabkan oleh faktor genetik dan epigenetik. Perubahan genetik yang timbul semasa pemetongan dibuat dan di sepanjang kultur *in vitro* (D'Amato, 1978a) termasuklah endoreduplikasi kromosom, fragmentasi nukleus yang menghasilkan sel-sel multinukleus dan mitosis normal atau abnormal. Perubahan-perubahan ini menghasilkan populasi sel heterogenous dengan tahap ploidi pada julat daripada diploid, aneuploid dan/atau poliploid. Perubahan kemampuan morfogenetik turut disebabkan oleh faktor perubahan epigenetik seperti pengubahsuaian kepekatan fitohormon, suhu, keadaan cahaya dan polipeptida yang diberikan (Carlson, 1979). Terdapat lima corak morfogenetik iaitu pembentukan bunga, tunas, akar (Tran Thanh Van *et al.*, 1974), struktur embrio dan kalus; atau kadangkala morfogenetik tidak berlaku langsung di mana eksplan kekal tidak berubah dan tiada pembahagian sel berlaku walaupun hormon telah ditambah. Kalus boleh dikatakan tidak morfogenetik sekiranya tisu-tisunya gagal membeza untuk membentuk organ-organ tertentu.

Pemilihan tisu eksplan untuk memulakan kultur juga merupakan faktor penting memandangkan kecekapan organogenik dan kestabilan genetik selalunya lebih baik di dalam tisu-tisu muda yang sedang berkembang (Demarly, 1986; Wernicke dan Brettell, 1980). Bagi beberapa spesies tumbuhan, kalus dan regenerasi yang dihasilkan didapati lebih seragam jika tisuanya diambil daripada tisu muda atau meristem hujung berbanding daripada internod (ruas) batang atau akar (D'Amato, 1977a; De Jong dan

Custer, 1986; Murashige dan Nakano, 1967). Contohnya, pucuk-pucuk berganda daripada eksplan meristem didapati mempunyai variasi fenotip dan tahap ploidi yang lebih rendah berbanding daripada batang (Miyazaki dan Tashiro, 1978). Selain daripada itu banyak sel-sel aneuploid didapati di dalam regeneran yang dikultur daripada umbisi (tuber) kentang berbanding daripada daunnya (Karp, 1986).

Variasi mungkin berlaku pada tumbuhan yang diregenerasikan daripada kultur tisu. Keadaan ini dinamakan variasi somaklon (Larkin dan Scowcroft, 1981). Variasi boleh digalakkan melalui proses *in vitro* dengan cara menambah bahan-bahan biokimia tertentu dan tekanan. Walaupun ketepatan genetik bagi regeneran boleh dijamin, tetapi tiada teknik propagasi *in vitro* yang boleh menjamin penghasilan genotip atau tumbuhan 'true-to-type'. Dalam banyak kajian yang dijalankan, perubahan semasa kelakuan sel tumbuhan telah didapati berlaku apabila dikultur secara *in vitro* (Swartz, 1991). Variasi sitologi bagi kultur sel dan tumbuhan regeneran berbanding tumbuhan induknya adalah disebabkan oleh beberapa faktor termasuklah variasi sitologi yang mungkin telah sedia wujud di dalam eksplan, terutama bagi spesies polisomatik (D'Amato, 1975, 1977b). Bagi spesies ini dan spesies bukan polisomatik, pemilihan eksplan adalah penting untuk menentukan berlakunya variasi dari segi kelakuan sel *in vitro*. Di kalangan spesies yang dikaji, genotip eksplan juga mungkin menjadi penentu yang penting bagi berlakunya variasi kromosom (Mc Coy *et al.*, 1982). Regim kultur (tempoh subkultur dan keadaan fizikal media) dan komponen media terutamanya hormon dan pengawalatur tumbesaran didapati mempunyai pengaruh ke

atas status kelakuan sel-sel kultur (Bayliss, 1977b). Variasi kromosom juga bertambah dengan tempoh masa kultur *in vitro* dijalankan. Didapati wujud korelasi positif di antara kestabilan kromosom dengan kapasiti regeneratif bagi sel kultur (Mahfouz *et al.*, 1983; Murashige dan Nakano, 1967). Ketidakstabilan kromosom lebih kerap berkaitan dengan pertumbuhan kalus yang tidak diorganisasikan (Bayliss, 1980; D'Amato, 1977b) berbanding kestabilan kultur tisu yang terorganisasi (organised) seperti yang dimulakan daripada eksplan meristem (D'Amato, 1975; 1977b).

Tujuan eksperimen ini dijalankan adalah untuk mengkaji dan membandingkan kelakuan sel bagi tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif dengan menentukan status kelakuan selnya seperti nilai indeks mitosis (MI), bilangan kromosom, kandungan DNA nukleus, luas sel, luas nukleus dan masa penggandaan sel (Cdt). Sekiranya berlaku variasi dalam komposisi sel dan nukleus bagi tisu-tisu yang dikultur secara *in vitro* ini, ia mungkin boleh menyebabkan berlakunya variasi somaklonal. Namun begitu, sekiranya komposisi sel di dalam adalah stabil, peluang untuk mendapatkan regeneran yang sama dengan induk sepatutnya adalah tinggi. Dengan kata lain, tisu-tisu atau sel-sel yang dicirikan oleh corak kelakuan sel yang tertentu boleh dijangka sama ada ia boleh membentuk plantlet atau kekal dalam struktur yang tidak diorganisasikan seperti kalus.

Di dalam eksperimen ini, tisu eksplan regeneratif yang digunakan adalah daripada eksplan batang bernod dan pucuk yang merupakan tisu paling responsif untuk menghasilkan pucuk-pucuk berganda. Tisu tidak regeneratif pula adalah tisu eksplan daun, batang dan akar yang didapati gagal menghasilkan pucuk berganda serta membentuk kalus dan akar sahaja. Semua eksplan ini dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0 mg/l NAA. Daripada eksperimen ini, kelakuan sel eksplan daripada anak cambah yang sama boleh diperhatikan dan perbezaan yang wujud di antara tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif boleh dibandingkan. Di samping itu, kelakuan sel bagi regenerasi *in vitro* yang dihasilkan daripada tisu regeneratif telah dibandingkan dengan sel-sel akar carnation yang ditanam secara *in vivo*.

## **6.2 BAHAN DAN KAEDAH**

### **6.2.1 Pensterilan dan Penyediaan Kultur Eksplan**

Biji benih *Dianthus caryophyllus* disterilkan dengan kaedah yang sama seperti bahagian 5.2.4.1 (m.s. 111) dan dicambahkan di atas media MS asas tanpa hormon selama 3 minggu. Eksplan daun, batang, batang bernod dan akar daripada anak cambah berusia 3 minggu dipotong dan dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0mg/l NAA. Selepas 3 minggu dikultur, didapati eksplan pucuk dan batang bernod merupakan tisu regeneratif yang mampu membentuk plantlet lengkap. Sementara itu, eksplan batang, daun dan akar didapati cuma membentuk kalus dan

akar yang banyak tanpa penghasilan pucuk. Tisu eksplan batang, daun dan akar ini dikelaskan sebagai tisu eksplan tidak regeneratif. Akar-akar daripada semua eksplan yang digunakan telah dipotong selepas 3 minggu dikultur untuk kajian kelakuan sel. Bagi plantlet lengkap yang diregenerasikan daripada kultur eksplan pucuk dan batang bermod, plantlet-plantlet ini dipindahkan ke atas media MS tanpa hormon untuk tumbesarannya. Akar-akar regeneran yang berusia 2 dan 3 bulan turut digunakan di dalam kajian ini. Akar-akar ini diawetkan di dalam larutan 3:1 (v/v) etanol : asid asetik glasial dan penentuan dijalankan ke atas nilai indeks mitosis (MI), bilangan kromosom, kandungan DNA nukleus, luas sel, luas nukleus dan masa penggandaan sel (Cdt).

#### **6.2.2 Penentuan Indeks Mitosis (MI)**

Selepas 3 minggu dikultur, akar yang terbentuk daripada semua eksplan diawetkan di dalam larutan 3:1 (v/v) etanol : asid asetik glasial. Perlakuan yang sama turut dilakukan ke atas plantlet yang berusia 2 dan 3 bulan daripada tisu eksplan regeneratif. Slaid-slaid tetap disediakan dengan menggunakan pewarnaan Feulgen dan teknik 'squash' seperti yang telah diterangkan di dalam bahagian 3.2.1 (m.s. 58). Untuk setiap perlakuan, nilai MI (peratus jumlah sel yang sedang membahagi daripada semua sel yang dikira) telah dihitung. 1500 sel telah dikira dan sekurang-kurangnya 3 slaid digunakan bagi setiap perlakuan yang dijalankan.



### **6.2.3 Bilangan Kromosom**

Akar-akar yang terbentuk daripada kultur eksplan batang bernod, pucuk, batang, daun dan akar yang berusia 3 minggu serta daripada plantlet yang berusia 2 dan 3 bulan telah diawetkan di dalam larutan 3:1 (v/v) etanol : asid asetik glasial. Slaid tetap dengan pewarnaan Feulgen dan teknik 'squash' disediakan seperti yang diterangkan di dalam bahagian 3.2.1 (m.s. 58). Bilangan kromosom dikira daripada sel-sel akar meristem yang sedang menjalani peringkat metafasa. Sekurang-kurangnya 15 sel metafasa dikira daripada setiap perlakuan.

### **6.2.4 Pengukuran Kandungan DNA Nukleus**

Prosedur yang sama seperti diterangkan di dalam bahagian 3.2.6 (m.s. 62) telah dijalankan untuk pengukuran kandungan DNA nukleus. Slaid-slaid tetap bagi akar-akar daripada eksplan batang bernod, pucuk, batang, daun dan akar yang berusia 3 minggu serta akar daripada plantlet yang berusia 2 dan 3 bulan disediakan seperti yang diterangkan di dalam bahagian 6.2.2. Slaid-slaid ini diperhatikan di bawah mikroskop cahaya dan dianalisa dengan menggunakan sistem 'image analyser' VIDAS 21 seperti yang diterangkan di dalam bahagian 3.2.6 (m.s. 62).

### **6.2.5 Penentuan Luas Sel dan Luas Nukleus**

Slaid-slaid tetap bagi akar daripada eksplan batang bernod, pucuk, batang, daun dan akar yang berusia 3 minggu serta daripada plantlet yang berusia 2 dan 3 bulan diawet dan diwarnakan dengan pewarnaan Feulgen yang akan mewarnakan keseluruhan luas nukleus. Akar-akar ini tidak ditekan (non-squash) dan diwarnakan sekali lagi (counterstain) dengan pewarna 'light green' yang akan mewarnakan keseluruhan luas sel. Slaid-slaid ini dilihat di bawah mikroskop cahaya dan dianalisa dengan menggunakan sistem 'image analyser' untuk mengukur luas sel dan luas nukleus bagi setiap perlakuan yang dijalankan seperti yang diterangkan di dalam bahagian 3.2.5 (m.s. 61).

### **6.2.6 Penentuan Masa Penggandaan Sel (Cdt)**

Biji benih *Dianthus caryophyllus* yang disterilkan telah dicambah seperti yang diterangkan di dalam bahagian 5.2.4.1 (m.s. 111). Eksplan batang bernod, pucuk, batang, daun dan akar yang berusia 3 minggu dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0mg/l NAA. Selepas 3 minggu dikultur, akar-akar yang terbentuk diambil dan didedahkan kepada 0.025% (w/v) larutan kolkisin selama 6 jam. Pada setiap 1 jam, sekurang-kurangnya 6 akar diawetkan di dalam larutan 3:1 (v/v) etanol : asid asetik glasial. Slaid-slaid ini disediakan seperti yang diterangkan di dalam bahagian 3.2.1 (m.s. 58) dan pemerhatian dibuat menggunakan mikroskop cahaya.

Peratus sel-sel yang menjalani peringkat profasa dan metafasa ditentukan. Enam akar pada masa 0 jam juga diawet sebagai data kawalan dan nilai indeks mitosis (MI) ditentukan daripadanya.

Graf perkaitan di antara peratus pengumpulan metafasa yang diinduksikan daripada larutan kolkisin dan masa pendedahan kepada kolkisin telah diplotkan. Kadar sel pada peringkat metafasa digunakan untuk mengira purata masa penggandaan sel dengan menggunakan formula Clowes (1961) seperti yang diterangkan di dalam bahagian 3.2.7 (m.s. 63).

### **6.3 KEPUTUSAN**

Tisu tidak regeneratif daripada eksplan batang, daun dan akar yang dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0mg/l NAA didapati menghasilkan akar yang banyak tetapi gagal membentuk pucuk-pucuk berganda. Manakala tisu regeneratif daripada eksplan batang bernod dan pucuk mampu menghasilkan 1-5 plantlet lengkap selepas 3 minggu dikultur di atas media yang sama. Plantlet lengkap daripada eksplan batang bernod dan pucuk ini kemudiannya disubkulturkan ke atas media MS asas untuk tumbesaran lanjut. Akar-akar daripada kesemua regeneran yang berusia 3 minggu selepas dikultur dan daripada plantlet yang berusia 2 serta 3 bulan digunakan di sepanjang kajian kelakuan sel dijalankan.

### 6.3.1 Penentuan Nilai Indeks Mitosis (MI)

#### a) Tisu eksplan tidak regeneratif

Purata nilai indeks mitosis (MI) bagi sel-sel akar yang terbentuk daripada eksplan batang dan akar didapati lebih tinggi dan berbeza dengan bererti ( $p < 0.05$ ) berbanding sel-sel akar daripada eksplan daun. Purata nilai MI bagi sel-sel akar daripada eksplan batang adalah 43.33%, akar (43.77%) dan daripada eksplan daun cuma 36.56%. Data yang didapati daripada eksperimen ini ditunjukkan di dalam Jadual 20 dan Rajah 17.

#### b) Tisu Eksplan Regeneratif

Purata nilai indeks mitosis (MI) bagi sel-sel akar daripada eksplan pucuk yang berusia 3 minggu selepas dikultur didapati lebih tinggi tetapi tidak berbeza dengan bererti ( $p > 0.05$ ) berbanding daripada batang bernod. Purata nilai MI bagi sel sel akar daripada eksplan pucuk adalah 43.74% dan 39.82% daripada eksplan batang bernod. Nilai MI ini juga didapati tinggi tetapi tidak berbeza dengan bererti ( $p > 0.05$ ) jika dibandingkan dengan sel-sel akar daripada eksplan batang dan akar yang berusia 3 minggu selepas dikultur.

Selepas 2 bulan dikultur, purata nilai MI bagi sel-sel akar regeneran daripada kedua-dua eksplan didapati telah menurun. Bagi plantlet yang diregenerasikan daripada eksplan batang bernod, didapati nilai MI bagi sel-sel akar yang berusia 2 bulan

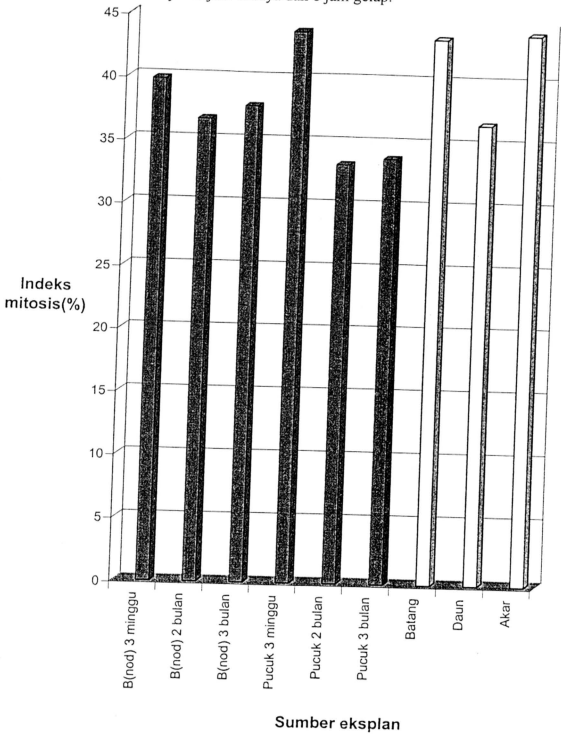
(36.66%) dan 3 bulan (37.76%) menurun berbanding pada usia 3 minggu selepas dikultur (39.82%), tetapi penurunan ini tidak berbeza dengan bererti ( $p>0.05$ ). Bagi sel-sel akar daripada eksplan pucuk pula, nilai MI didapati turun dan berbeza dengan bererti ( $p<0.05$ ) selepas 2 bulan (33.23%) berbanding pada usia 3 minggu selepas dikultur (43.74%). Namun begitu, nilai MI pada usia 2 bulan didapati hampir sama dengan plantlet yang berusia 3 bulan selepas dikultur (33.74%). Data yang didapati daripada eksperimen ini ditunjukkan di dalam Jadual 20 dan Rajah 17.

**Jadual 20** : Perbandingan nilai purata indeks mitosis (MI) bagi sel-sel akar daripada tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif apabila dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0 mg/l NAA, suhu  $25 \pm 1^\circ \text{C}$  dengan kala cahaya 16 jam cahaya dan 8 jam gelap.

Tisu eksplan regeneratif			Tisu eksplan tidak regeneratif			
Sumber eksplan	Usia selepas kultur	MI $\pm$ S <sub>E</sub> (%)	Sumber eksplan	Usia selepas kultur	MI $\pm$ S <sub>E</sub> (%)	
B(nod)	3 minggu	39.82 $\pm$ 1.32	Batang	3 minggu	43.33 $\pm$ 2.24	
	2 bulan	36.66 $\pm$ 1.63		Daun	3 minggu	36.56 $\pm$ 0.46
	3 bulan	37.76 $\pm$ 3.24			Akar	3 minggu
Pucuk	3 minggu	43.74 $\pm$ 1.63				
	2 bulan	33.23 $\pm$ 0.92				
	3 bulan	33.74 $\pm$ 1.23				

B(nod) = batang bernod

**Rajah 17** : Perbandingan nilai indeks mitosis, MI bagi sel-sel akar daripada tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif apabila dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0mg/l NAA, suhu  $25 \pm 1$  °C dengan kala cahaya 16 jam cahaya dan 8 jam gelap.



### 6.3.2 Penentuan Bilangan Kromosom

#### a) Tisu eksplan tidak regeneratif

Purata bilangan kromosom bagi sel-sel yang berasal daripada eksplan batang, daun dan akar yang berusia 3 minggu selepas dikultur didapati hampir sama dan tidak berbeza dengan bererti ( $p > 0.05$ ) di antara satu sama lain. Bagi eksplan batang, bilangan kromosomnya adalah  $25.1 \pm 2.1$  dengan julat 23 - 30. Eksplan daun pula mempunyai bilangan kromosom  $27.1 \pm 4.2$  dengan julat 22 - 33 sementara bilangan kromosom eksplan akar adalah  $27.2 \pm 3.1$  dengan julat 22 - 34. Data yang diperolehi disenaraikan di dalam Jadual 21 dan Rajah 18.

#### b) Tisu eksplan regeneratif

Purata bilangan kromosom sel-sel akar daripada tisu eksplan batang bernod yang berusia 3 minggu adalah  $27.5 \pm 2.3$  dengan julat 23 - 30 dan didapati tidak berbeza dengan bererti ( $p > 0.05$ ) jika dibandingkan dengan bilangan kromosom sel-sel akar daripada plantlet yang berusia 2 bulan, iaitu  $29.7 \pm 0.6$  dengan julat 28 - 30 dan daripada plantlet berusia 3 bulan, iaitu  $28.9 \pm 1.1$  dengan julat 27 - 30.

Bagi eksplan pucuk pula, purata bilangan kromosom bagi sel-sel akar yang berusia 3 minggu adalah  $28.3 \pm 0.6$  dengan julat 23 - 30. Purata bilangan kromosom bagi sel-



sel akar plantlet yang berusia 2 bulan dan 3 bulan didapati tidak berbeza dengan bererti ( $p>0.05$ ) iaitu  $29.1 \pm 0.8$  dengan julat 28 - 31 bagi plantlet yang berusia 2 bulan dan  $28.7 \pm 1.2$  dengan julat 27 - 30 bagi plantlet berusia 3 bulan. Data bagi pemerhatian ini disenaraikan di dalam Jadual 21 dan Rajah 18.

### 6.3.3 Penentuan Kandungan DNA Nukleus

#### a) Tisu eksplan regeneratif

Taburan kandungan DNA nukleus sel-sel akar daripada eksplan batang yang berusia 3 minggu selepas dikultur (Rajah 31 App. II) adalah di antara 2.4C - 11C. Ia menunjukkan bahawa tiada sel yang berada pada fasa G1 edaran sel. Didapati 21.3% sel berada pada fasa S, 10.7% pada fasa G2 dan 68% sel didapati mengandungi kandungan DNA nukleus yang lebih daripada 4.8C.

Bagi sel-sel akar daripada eksplan daun yang berusia 3 minggu selepas dikultur (Rajah 32 App. II) taburan kandungan DNA nukleusnya adalah di antara 2.6C - 10C. Ia juga menunjukkan bahawa tiada sel berada pada fasa G1, 21.5% pada fasa S, 18.8% pada fasa G2 dan 59.7% selnya mengandungi kandungan DNA nukleus melebihi 4.8C.

Bagi sel-sel akar daripada kultur eksplan akar yang berusia 3 minggu pula (Rajah 33 App. II) taburan kandungan DNANYa adalah di antara 2.2C - 10C. Cuma 0.7% sel

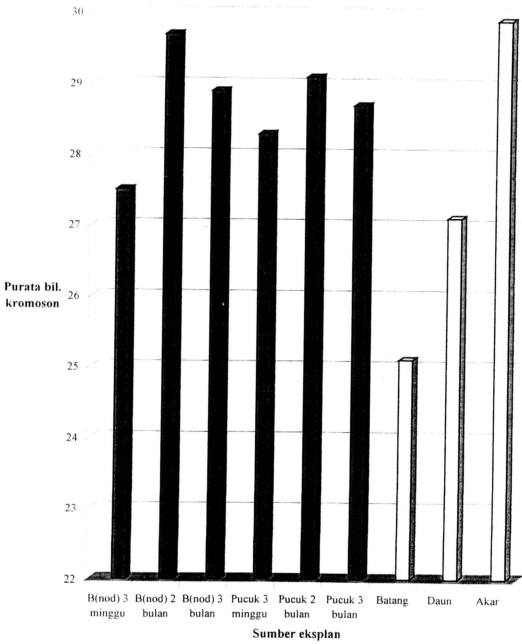
**Jadual 21**

Perbandingan purata bilangan kromosom dan julatnya bagi sel-sel akar daripada tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif apabila dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0mg/l NAA, kalacahaya 16 jam cahaya dan 8 jam gelap serta suhu  $25 \pm 1^{\circ} \text{C}$ .

TISU EKSPAN REGENERATIF				TISU EKSPAN TIDAK REGENERATIF			
Sumber eksplan	Usia selepas kultur	Purata bilangan kromosom	Julat	Sumber eksplan	Usia selepas kultur	Purata bilangan kromosom	Julat
B(nod)	3 minggu	27.5	23-30	Batang	3 minggu	25.1	23-30
	2 bulan	29.7	28-30				
	3 bulan	28.9	28-30	Daun	3 minggu	27.1	22-33
Pucuk	3 minggu	28.3	23-30	Akar	3 minggu	29.9	27-33
	2 bulan	29.1	27-30				
	3 bulan	28.7	27-30				

B(nod) = batang bernod

**Rajah 18** : Perbandingan purata bilangan kromosom bagi sel-sel akar daripada tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif apabila dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0 mg/l NAA, suhu  $25 \pm 1$  °C dengan kalacahaya 16 jam cahaya dan 8 jam gelap.



yang berada pada fasa G1, 10.4% pada fasa S, 21.4% pada fasa G2 dan peratus nukleus poliploidnya adalah sebanyak 67.53% (Jadual 22).

#### **b) Tisu eksplan regeneratif**

Taburan kandungan DNA nukleus bagi sel-sel akar daripada tisu eksplan batang bernod yang berusia 3 minggu (Rajah 34a App. II) adalah di antara 2.9C - 15.0C. Tiada sel yang berada pada fasa G1, 5.3% sahaja pada fasa S, 15.2% pada fasa G2 dan kebanyakannya adalah poliploid (79.5%). Selepas 2 bulan dikultur (Rajah 34b App. II), taburan kandungan DNA nukleusnya didapati di antara 2.1C - 10.0C dengan 2% selnya berada pada fasa G1, 6.5% pada fasa S, 31.2% pada fasa G2 dan peratus sel yang mengandungi kandungan DNA melebihi 4.8C menurun kepada 60.4%. Pada usia 3 bulan selepas dikultur (Rajah 34c App. II), taburan kandungan DNANYa adalah 2.8C - 11C dan tiada sel berada pada fasa G1, 8.3% pada fasa S, 29% pada fasa G2 dan nukleus poliploidnya adalah 62.8%.

Bagi sel-sel akar yang diregenerasikan daripada eksplan pucuk yang berusia 3 minggu selepas dikultur (Rajah 35a App. II), taburan kandungan DNA nukleusnya adalah di antara 1.9C - 10.0C. 2.1% sel berada pada fasa G1, 17.2% pada fasa S, 18.6% pada fasa G2 dan 62.1% mempunyai kandungan DNA yang melebihi 4.8C. Selepas 2 bulan dikultur (Rajah 35b App. II), taburan kandungan DNANYa adalah di

antara 2.1C - 12C dengan 0.7% sel berada pada fasa G1, 16.9% pada fasa S, 10.1% pada fasa G2 dan sehingga 72.3% selnya mempunyai kandungan DNA melebihi 4.8C. Seterusnya, selepas 3 bulan dikultur (Rajah 35c App.II), taburan kandungan DNA nukleusnya adalah di antara 2.5C - 12C dengan tiada sel pada fasa G1, 6% sel pada fasa S, 12.8% pada fasa G2 dan nukleus poliploidnya meningkat sehingga 81.2%. Data bagi keputusan di atas disenaraikan di dalam Jadual 22.

#### **6.3.4 Penentuan Luas Sel dan Luas Nukleus**

##### **a) Tisu eksplan tidak regeneratif**

##### **i) Purata Luas Sel**

Daripada pemerhatian yang dijalankan, didapati purata luas sel profasa bagi akar daripada eksplan batang dan daun adalah lebih kecil berbanding luas sel daripada eksplan akar. Purata luas sel akar daripada eksplan batang yang berusia 3 minggu adalah  $69.56 \pm 0.37 \mu\text{m}^2$  (Rajah 36a App. II). Bagi akar daripada eksplan daun pula, purata luas selnya didapati lebih kecil iaitu  $58.76 \pm 0.25 \mu\text{m}^2$  (Rajah 37a App. II) dan purata luas sel daripada eksplan akar yang berusia 3 minggu pula adalah  $83.27 \pm 0.32 \mu\text{m}^2$  (Rajah 38a App. II).

**Jadual 22**

: Perbandingan peratus sel yang berada pada fasa G1, S, G2 dan poliploid bagi sel-sel akar daripada tisu regeneratif dan tidak regeneratif apabila dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0 mg/l NAA, suhu 25 ± 1 °C dan kalcahaya 16 jam cahaya dan 8 jam gelap.

Sumber eksplan	Usia selepas kultur	Taburan kandungan DNA, $\Sigma$	Peratus sel pada fasa cdaran sel (%)			
			G1	S	G2	Poliploid
<b>TISU EKSPPLAN REGENERATIF</b>						
B(nod)	3 minggu	2.9-15.0	0.0	5.3	15.2	79.5
	2 bulan	2.1-10.0	2.0	6.5	31.2	60.4
	3 bulan	2.8-11.0	0.0	8.3	29.0	62.8
Pucuk	3 minggu	1.9-10.0	2.1	17.2	18.6	62.1
	2 bulan	2.1-12.0	0.7	16.9	10.1	72.3
	3 bulan	2.5-12.0	0.0	6.0	12.8	81.2
<b>TISU EKSPPLAN TIDAK REGENERATIF</b>						
Batang	3 minggu	2.4-11.0	0.0	21.3	10.7	68.0
Daun	3 minggu	2.6-10.0	0.0	21.5	18.8	59.7
Akar	3 minggu	2.2-10.0	0.7	10.4	21.4	67.5

## ii) Purata Luas Nukleus

Perubahan luas nukleus didapati berkadar terus (selari) dengan perubahan luas sel di mana, semakin besar nilai luas sel semakin besar juga nilai luas nukleusnya. Purata luas nukleus bagi akar daripada eksplan batang berusia 3 minggu adalah  $18.59 \pm 0.07 \mu\text{m}^2$  (Rajah 36b App. II). Bagi akar daripada eksplan daun, purata luas nukleusnya adalah  $12.73 \pm 0.05 \mu\text{m}^2$  (Rajah 37b App. II) dan purata luas sel akar daripada eksplan akar pula adalah  $17.66 \pm 0.06 \mu\text{m}^2$  (Rajah 38b App. II). Data keputusan bagi purata luas sel dan luas nukleus ini disenaraikan di dalam Jadual 23 dan Rajah 19.

## b) Tisu eksplan regeneratif

### i) Purata Luas Sel

Purata luas sel bagi tisu eksplan regeneratif didapati lebih besar berbanding tisu tidak regeneratif. Daripada pemerhatian yang dibuat ke atas luas sel bagi akar yang diregenerasikan daripada eksplan batang bernod, didapati purata luas selnya bertambah apabila semakin lama berada di dalam media kultur. Kultur berusia 3 minggu didapati mempunyai luas sel  $87.76 \pm 0.21 \mu\text{m}^2$  (Rajah 39a App. II). Selepas 2 bulan, purata luas selnya menjadi  $95.45 \pm 0.32 \mu\text{m}^2$  (Rajah 40a App. II) dan selepas 3 bulan dikultur, purata luas selnya meningkat tetapi tidak berbeza dengan bererti ( $p > 0.05$ ) kepada  $114.41 \pm 0.38 \mu\text{m}^2$  (Rajah 41a App. II).

Bagi sel-sel akar yang diregenerasikan daripada eksplan pucuk pula, didapati purata luas sel bagi akar yang berusia 3 minggu adalah  $94.33 \pm 0.44 \mu\text{m}^2$  (Rajah 42a App. II). Selepas 2 bulan dikultur, purata luas selnya meningkat kepada  $134.42 \pm 0.47 \mu\text{m}^2$  (Rajah 43a App. II) dan selepas 3 bulan, purata luas selnya menurun semula dengan bererti ( $p < 0.05$ ) kepada  $117.11 \pm 0.61 \mu\text{m}^2$  (Rajah 44a App. II).

## II) Purata Luas Nukleus

Purata luas nukleus bagi sel-sel akar yang diregenerasikan daripada eksplan batang bernod dan pucuk didapati berkadar terus dengan luas selnya, di mana semakin besar luas sel maka semakin besar juga nilai luas nukleusnya. Luas nukleus tisu regeneratif juga didapati lebih besar berbanding tisu tidak regeneratif. Purata luas nukleus bagi sel-sel akar yang diregenerasikan daripada eksplan batang bernod yang berusia 3 minggu adalah  $24.78 \pm 0.09 \mu\text{m}^2$  (Rajah 39b App. II). Selepas 2 bulan dikultur, luas nukleusnya hampir tidak berubah iaitu  $24.07 \pm 0.07 \mu\text{m}^2$  (Rajah 40b App. II) dan selepas 3 bulan, purata luas nukleusnya menjadi lebih besar tetapi tidak berbeza dengan bererti ( $p > 0.05$ ) iaitu  $32.15 \pm 0.10 \mu\text{m}^2$  (Rajah 41b App. II).

Bagi sel-sel akar yang diregenerasikan daripada eksplan pucuk pula, purata luas nukleus bagi plantlet berusia 3 minggu adalah  $22.67 \pm 0.10 \mu\text{m}^2$  (Rajah 42b App. II). Selepas 2 bulan dikultur, purata luas nukleusnya meningkat dengan bererti ( $p < 0.05$ ) kepada  $34.76 \pm 0.11 \mu\text{m}^2$  (Rajah 43b App. II) dan selepas 3 bulan, purata luas



nukleusnya menjadi  $30.29 \pm 0.12 \mu\text{m}^2$  (Rajah 44b App. II). Data bagi keputusan di atas diringkaskan di dalam Jadual 23 dan Rajah 19.

### **6.2.5 Penentuan Masa Penggandaan Sel (Cdt)**

Berdasarkan kepada keputusan eksperimen di dalam bahagian 4.3.1 (m.s. 88), didapati kultur akar yang berusia 3 minggu mempunyai nilai MI yang tertinggi dan telah digunakan untuk kajian penentuan nilai masa penggandaan sel (Cdt) bagi eksplan daripada tisu regeneratif dan tidak regeneratif.

#### **a) Tisu eksplan tidak regeneratif**

Bagi sel-sel akar daripada eksplan batang, persamaan graf regresi linear  $Y = 0.445x + 2.568$  dengan koefisien korelasi 0.97 telah didapati (Graf 4). Oleh itu nilai masa penggandaan sel (Cdt) yang dikira menggunakan formula Clowes (1961) adalah 155.8 jam. Bagi sel-sel akar daripada eksplan daun, persamaan  $Y = 0.889x + 2.857$  dengan koefisien korelasi 0.95 telah didapati (Graf 5). Nilai masa penggandaan selnya adalah lebih cepat berbanding eksplan batang iaitu 78 jam. Bagi sel-sel daripada eksplan akar pula (Graf 6) persamaan  $Y = 0.72x + 3.918$  dengan koefisien korelasi 0.99 telah didapati dengan menunjukkan nilai masa penggandaan selnya sebanyak 96.1 jam. Bagi data keputusan di atas disenaraikan di dalam Jadual 2, 3 dan 4 App. II.

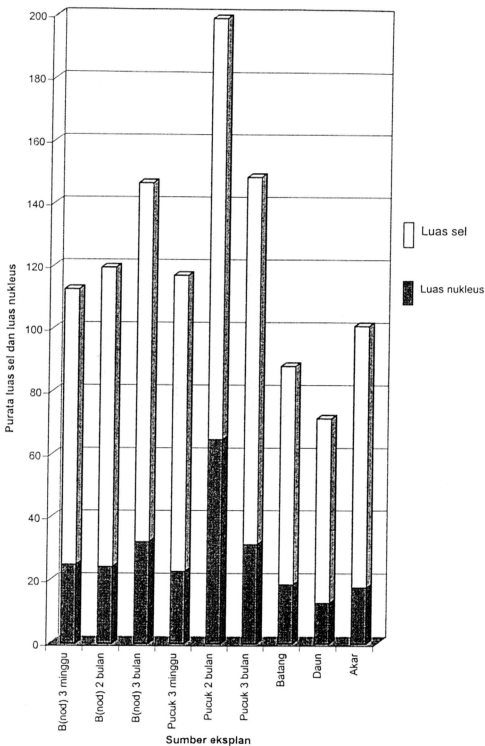
**b) Tisu eksplan regeneratif**

Masa penggandaan sel (Cdt) bagi sel-sel akar daripada eksplan batang bernod yang berusia 3 minggu menunjukkan graf regresi linear dengan persamaan  $Y = 0.924x + 3.372$  dan koefisien korelasi 0.96 (Graf 7). Oleh itu, nilai masa penggandaan selnya adalah 75 jam. Bagi sel-sel akar daripada eksplan pucuk pula, nilai masa penggandaan sel yang didapati adalah paling cepat berbanding semua eksplan yang dikaji iaitu 62.8 jam dengan persamaan regresi linera  $Y = 1.104x + 5.524$  dan koefisien korelasi 0.94 (Graf 8). Data bagi keputusan ini disenaraikan di dalam Jadual 5 dan 6 App. 2. Perbandingan Cdt bagi sel-sel akar regeneratif dan tidak regeneratif ditunjukkan di dalam Jadual 24 dan Rajah 20

**Jadual 23** : Perbandingan purata luas sel, luas nukleus dan nisbah luas nukleus/luas sel bagi sel-sel akar daripada tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif apabila dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0 mg/1 NAA, suhu 25 ± 1 °C dan kalacahaya 16 jam cahaya dan 8 jam gelap.

Sumber eksplan	Usia selepas kultur	Purata Luas Sel ± S <sub>E</sub> (µm <sup>2</sup> )	Purata Luas Nukleus ± S <sub>E</sub> (µm <sup>2</sup> )	Nisbah luas nukleus/luas sel
<b>TISU EKSPPLAN REGENERATIF</b>				
B(nod)	3 minggu	87.76 ± 0.21	24.78 ± 0.09	0.28
	2 bulan	95.45 ± 0.32	24.07 ± 0.07	0.25
	3 bulan	114.41 ± 0.38	32.15 ± 0.10	0.28
Pucuk	3 minggu	94.33 ± 0.44	22.67 ± 0.10	0.24
	2 bulan	134.42 ± 0.47	34.76 ± 0.11	0.26
	3 bulan	117.11 ± 0.61	31.29 ± 0.12	0.26
<b>TISU EKSPPLAN TIDAK REGENERATIF</b>				
Batang	3 minggu	69.56 ± 0.37	18.59 ± 0.07	0.27
Daun	3 minggu	58.76 ± 0.25	12.73 ± 0.05	0.22
Akar	3 minggu	83.27 ± 0.32	17.66 ± 0.06	0.121

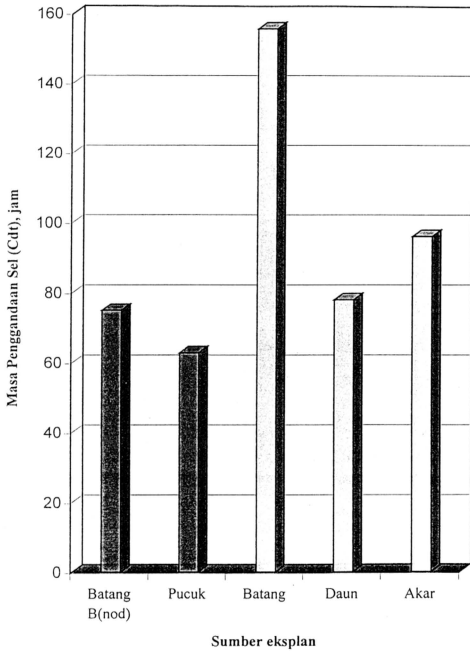
**Rajah 19** : Perbandingan purata luas sel dan luas nukleus ( $\mu\text{m}^2$ ) bagi sel-sel akar daripada tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif apabila dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0 mg/l NAA.



**Jadual 24** : Perbandingan masa penggandaan sel (Cdt) bagi sel-sel akar daripada tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif yang berusia 3 minggu selepas dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0 mg/l NAA, suhu  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$  dan kalacahaya 16 jam cahaya serta 8 jam gelap.

TISU REGENERATIF		TISU TIDAK REGENERATIF	
Sumber eksplan	Cdt (jam)	Sumber eksplan	Cdt(jam)
Batang bernod	75.0	Batang	155.8
Pucuk	62.8	Daun	78.0
		Akar	96.1

**Rajah 20** : Perbandingan masa pengandaan sel (Cdt) bagi sel-sel akar daripada tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif apabila dikultur di atas MS yang ditambah dengan 2.0 mg/l NAA, suhu  $25 \pm 1$  °C dan kalacahaya 16 jam cahaya serta 8 jam gelap.



### **6.3 Perbandingan Kelakuan Sel Di antara Sel-sel Akar Regeneran *In Vitro* Dan Sel-sel Akar Carnation Yang Ditanam Secara *In Vivo*.**

Perbandingan nilai indeks mitosis (MI), bilangan kromosom, julat kromosom, luas sel, luas nukleus, kandungan DNA nukleus dan masa penggandaan sel bagi sel-sel akar regeneran *in vitro* telah dilakukan dengan sel-sel akar dari carnation yang ditanam secara *in vivo*. Perbandingan ini dijalankan di antara regeneran yang berasal daripada eksplan batang bernod dan pucuk yang berusia 3 minggu, 2 bulan dan 3 bulan selepas dikultur di atas media MS yang ditambah dengan 2.0mg/l NAA dengan akar anak cambah carnation yang ditanam secara *in vivo* dan berusia 4 hari. Perbandingan kelakuan sel ini diringkaskan di dalam Jadual 25 (m.s. 192).

Didapati purata nilai indeks mitosis bagi sel-sel akar regeneran daripada eksplan batang bernod yang terbentuk selepas 3 minggu dikultur ialah 39.82%, 36.66% selepas 2 bulan dan 37.76% selepas 3 bulan dikultur. Nilai-nilai ini didapati tidak berbeza dengan bererti ( $p>0.05$ ) jika dibandingkan dengan nilai indeks mitosis bagi sel-sel akar carnation yang ditanam secara *in vivo* (43.51%). Bagi sel-sel akar regeneran daripada eksplan pucuk, nilai indeks mitosisnya adalah 43.74% selepas 3 minggu dikultur dan menurun dengan bererti ( $p<0.05$ ) selepas 2 bulan iaitu 33.23% dan 3 bulan (33.74%) dikultur. Nilai indeks mitosis bagi sel-sel akar regeneran daripada eksplan pucuk yang dikultur selepas 2 dan 3 bulan didapati menurun dan

berbeza dengan bererti ( $p < 0.05$ ) jika dibandingkan dengan sel-sel akar carnation yang ditanam secara *in vivo* (43.51%).

Walaupun terdapat sedikit perbezaan dalam nilai indeks mitosis, didapati bilangan dan julat kromosom bagi kesemua sel-sel akar regeneran adalah tidak berbeza dengan bererti ( $p > 0.05$ ) jika dibandingkan dengan sel-sel akar carnation yang ditanam secara *in vivo*. Sel-sel akar regeneran yang dihasilkan juga didapati mempunyai peratus sel poliploid yang lebih rendah iaitu 60.4 - 79.5% berbanding sel-sel daripada tumbuhan *in vivo* (94.7%). Di samping itu, peratus sel pada peringkat G1, S dan G2 bagi regeneran juga adalah lebih tinggi berbanding tumbuhan *in vivo*. Didapati terdapat perbezaan yang bererti ( $p < 0.05$ ) di antara luas sel dan luas nukleus sel-sel akar regeneran dengan sel-sel akar carnation yang ditanam secara *in vivo*. Purata luas sel regeneran daripada eksplan batang bernod dan pucuk didapati lebih kecil iaitu 87.76 - 134.42  $\mu\text{m}^2$  berbanding luas sel tumbuhan yang ditanam secara *in vivo* ( $142.90 \pm 0.59 \mu\text{m}^2$ ). Masa penggandaan sel (Cdt) bagi sel-sel akar carnation yang ditanam secara *in vivo* (66.1 jam) didapati lebih cepat berbanding sel-sel akar daripada eksplan batang bernod (75.0 jam) tetapi lebih lambat berbanding eksplan pucuk (62.8 jam).



**Jadual 25** : Perbandingan kelakuan sel di antara sel-sel akar regeneran *in vitro* yang berusia 3 minggu, 2 bulan dan 3 bulan selepas dikultur daripada eksplan batang bernod dan pucuk (tisu regeneratif) dengan sel-sel akar yang ditanam secara *in vivo*.

Kelakuan sel-sel akar meristem carnation	<i>In vivo</i>		Regeneran 3 minggu		Regeneran 2 bulan		Regeneran 3 bulan	
			B(nod)	Pucuk	B(nod)	Pucuk	B(nod)	Pucuk
MI ± SE (%)	43.51 ± 2.14		39.82±1.63	43.74±1.63	36.33±1.63	33.23±0.92	37.76±3.24	33.74±1.23
Bilangan kromosom	29.7		27.5	28.3	29.7	29.1	28.9	28.7
Julat Kromosom	29-30		23-30	23-30	28-30	27-30	28-30	27-30
Taburan DNA (C)	3.5-13.0		2.9-15.0	1.9-10.0	2.1-10.0	2.1-12.0	2.8-11.0	2.5-12.0
%G1	0.0		0.0	2.1	1.0	0.7	0.0	0.0
%S	1.3		5.3	17.2	6.5	16.9	8.3	6.0
%G2	4.0		15.2	18.6	31.2	10.1	29.0	12.8
% Poliploid	94.7		79.5	62.1	60.4	72.3	62.8	81.2
Luas sel, µm <sup>2</sup>	142.90 ± 0.59		87.76±0.21	94.33±0.44	95.45±0.32	134.42±0.47	141.41±0.38	117.11±0.61
Luas nukleus, µm <sup>2</sup>	26.59 ± 0.09		24.78±0.09	22.67±0.10	24.07±0.07	34.76±0.11	32.15 ±0.10	30.29±0.12
Nisbah Luas Nukleus/ Luas Sel	0.19		0.28	0.24	0.25	0.26	0.28	0.26
Cdt (jam)	66.1		75.0	62.8	-	-	-	-

#### 6.4 RINGKASAN KEPUTUSAN

1. Secara umumnya, purata nilai indeks mitosis (MI) bagi tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif adalah tinggi pada usia 3 minggu selepas dikultur iaitu di antara 36 - 43%. Bagi akar plantlet yang berasal daripada eksplan pucuk dan batang bernod, purata nilai indeks mitosisnya didapati menurun apabila semakin lama berada di dalam kultur.
2. Purata bilangan kromosom bagi kedua-dua tisu eksplan regeneratif dan tidak regeneratif menunjukkan bilangan yang hampir sama dengan purata 28.3. Julat bilangan kromosom bagi tisu regeneratif adalah di antara 23 – 31 dan 22-34 bagi tisu eksplan tidak regeneratif. Nilai bilangan kromosom yang pernah dilaporkan oleh Carolin (1957) ialah  $2n=30$ .
3. Kandungan DNA nukleus bagi tisu eksplan tidak regeneratif menunjukkan terdapatnya sel-sel poliploid pada peratusan yang tinggi (59-68%). Tiada fasa G1 bagi eksplan batang dan daun dan cuma 0.65% bagi eksplan akar, 10-21% pada fasa S dan 10-21% lagi pada fasa G2. Bagi tisu regeneratif pula, peratus sel poliploidnya didapati lebih tinggi berbanding tisu tidak regeneratif iaitu di antara 60-81% dan hanya 0.2% sahaja berada pada fasa G1, 5-17% pada fasa S dan 19-31% lagi pada fasa G2.

4. Purata luas sel dan luas nukleus bagi tisu tidak regeneratif didapati jauh lebih kecil berbanding tisu regeneratif. Bagi sel-sel akar yang diregenerasikan daripada eksplan batang bernod, didapati purata luas selnya bertambah apabila semakin lama berada di dalam kultur. Bagaimanapun, secara umumnya luas nukleus didapati berkadar terus dengan penambahan luas selnya dengan nisbah yang hampir sama bagi kesemua sumber eksplan yang dikaji, di mana semakin besar luas sel maka semakin besar juga luas nukleusnya.
  
5. Masa penggandaan sel (Cdt) bagi akar tisu eksplan regeneratif didapati lebih cepat berbanding tisu eksplan tidak regeneratif.
  
6. Regeneran *in vitro* adalah pada keadaan yang stabil dibandingkan dengan carnation yang ditanam secara *in vivo* walaupun terdapat beberapa perbezaan di antara keduanya. Peratus sel poliploid, luas sel dan luas nukleus regeneran didapati lebih rendah berbanding carnation yang ditanam secara *in vivo*. Regeneran yang berasal daripada eksplan yang berbeza juga menunjukkan perbezaan nilai indeks mitosis (MI) dan masa penggandaan sel (cdt) apabila dibandingkan dengan sel-sel carnation *in vivo*. Namun begitu, bagi kesemua sel-sel akar regeneran yang dikaji, bilangan kromosom dan julatnya didapati berada pada nilai yang sama seperti sel-sel akar carnation *in vivo*.