

R

PERPUSTAKAAN UNIVERSITI MALAYA

A CO-65A2
INV. NMS 2/203

KAJIAN KULTUR TISU TUMBUHAN *Zinnia elegans* JACQ. DAN

***Rosa hybrida* LINN. var. Christian Dior**

OLEH

**RASHIDI BIN OTHMAN
INSTITUT SAINS BIOLOGI
FAKULTI SAINS
UNIVERSITI MALAYA**



**TESIS INI DISERAHKAN UNTUK
IJAZAH SARJANA SAINS
UNIVERSITI MALAYA
KUALA LUMPUR
(2000)**

SEKAPUR SIREH SEKALUNG BUDI

AYAHANDA & BONDA :

*Segunung harapan ku abadikan
Ku coretkan jadi hiasan, kini terserlah bukan igauan
Restu bonda membawa kejayaan, doa ayahanda menjadi kenyataan*

KEKANDA ZARINA & RAIHAN :

*Masa lampau teman sepermainan
Kini datang menghulur tangan, tiada apa yang mampu kuberikan
Sekapur sireh tanda ingatan, sekalung budi ku abadikan*

ADINDA FAZIDAH & SUHANA :

*Terpahat sebuah memori indah di ingatan
Terukir sebuah senyuman, terungkai seribu kenangan
Ku hargai sokongan kalian kutitipkan doa dan harapan
Ku harapkan perjuangan kalian menjadi impian bukan khayalan*

KESUMA HATIKU :

*Istimewa buat kesuma pujaan hatiku
Ku abadikan serangkai madah indah buatmu
Tiada seindah kata yang mampu kuluahkan, tiada sebaris ayat yang mampu ku ciptakan
Setiap langkahku ada bayanganmu setiap kejayaanku ada senyumanmu
Dirimu mekar disanubariku kerna dikau sumber ilhamku*

PENGHARGAAN

Dengan Nama Allah Yang Amat Pengasih Lagi Amat Menyayangi

Pertama sekali saya ingin memanjatkan kesyukuran saya kehadrat Ilahi kerana dengan limpah kurnia dan rahmatNya akhirnya saya dapat menyempurnakan kajian dan penulisan saya

Buat Profesor Madya Dr Rosna Bte Mat Taha, penyelia yang saya kagumi dan saya hormati, terima kasih yang tidak terhingga diucapkan di atas segala khidmat nasihat, teguran dan tunjukajar yang diberikan. Semoga Allah menambahkan rahmatnya di atas segala jasa baik beliau

Penghargaan khas buat semua kakitangan Urusetia IRPA terutamanya Unit Pengurusan R&D di atas Bantuan Kewangan Skim Pasca Siswazah dan juga Bantuan Penyelidikan Jangka Pendek (Vot F 397/97 dan F 0229/98)

Tidak lupa juga buat Cik Ruzaimah Sadimin, Cik Hasniza Abdullah, Cik Miskiah Tijan, Puan Norfariza, Profesor Madya Dr Norzulaani Khalid, Puan Rosmawati Hashim, Puan Rozita Muslim, Puan Zubaidah Ramli, Cik Siti Maisarah, Puan Norazlina, Cik Norazian dan Encik Izdihar Ishak. Segala bantuan dan tunjukajar yang diberikan akan terpahat di ingatan buat selama-lamanya

Akhir sekali buat rakan seperjuangan Mohd Azmi Muda, Mohd Fauzi, Mohd Zahriezan, Mohd Khairi, Zanariah, Nordiana, Hartina, Japareng serta semua sahabat handai, kakitangan ISB dan buat semua mereka yang terlibat dalam menjayakan penyelidikan ini diucapkan berbanyak terima kasih

Rashidi Bin Othman

ABSTRACT

Tissue culture studies were carried out on two species of ornamental plants, namely *Zinnia elegans* Jacq. and *Rosa hybrida* L. var. 'Christian Dior'. In *Zinnia elegans* Jacq., some cytological studies were also done but in *R. hybrida*, the same aspect of work could not be done due to the failure of promoting root growth in culture as well as the seeds were not available. Thus, no roots from *in vivo* and *in vitro* systems could be obtained. Changes in cellular behaviour usually occur when cells or tissues are transferred from *in vivo* to *in vitro* system. It has been shown that cells and tissues in some species of dicotyledons are capable of regeneration, possess some cellular characteristics opposite to that of cells or tissues that cannot give rise to plantlets or even from the *in vivo* plant. Therefore, the purpose of the cytological work in this project is to check the cellular behaviour in *in vivo* and *in vitro* systems by determining their mitotic indices, chromosome numbers, nuclear DNA contents, ploidy levels, cell and nuclear areas and cell doubling times. By assessing these parameters, it might be possible to distinguish the cellular behaviour of *in vitro* plants compared with *in vivo* plants. If any variation occurs in nuclear and cellular compositions of these *in vitro* tissues, this can lead to somaclonal variation.

However, if cellular composition in the culture system is stable then most probably the regenerative potential is greater. In other words, it may be possible to predict whether tissues or cells characterized by a particular pattern of cellular behaviour are capable of growing into a plantlet or will remain as unorganized structure, i.e callus.

From the first experiment, it was found that the primary root elongation of *Z. elegans* was optimum on the fifth day with a value of 40.82 ± 15.39 mm. Thus, the root segment with an elongation in the range of 25.43 to 56.21 mm has been adopted as the standard length for the *in vivo* and *in vitro* cytological studies. *In vivo* cytological studies on *Z. elegans* revealed that the mitotic index (MI) measured was $13.47 \pm 0.46\%$, the chromosome number observed was $2n = 23$, the average cell and nuclear area values were $113.55 \pm 4.44 \mu\text{m}^2$ and $40.58 \pm 0.95 \mu\text{m}^2$ respectively. The cell doubling time (Cdt) obtained *in vivo* was 133 hours, whereas from the *in vitro* study, mitotic index (MI) measured was $15.60 \pm 0.20\%$, the chromosome number observed was $2n = 23$, average cell and nuclear area values were $92.40 \pm 5.70 \mu\text{m}^2$ and $36.86 \pm 1.44 \mu\text{m}^2$ respectively. While the cell doubling time obtained was shorter, i.e. 96 hours. For distribution of nuclear DNA content from *in vivo* system, it was observed that most of the cells are in G2 (55.62%) phase, followed by polyploid cells (33.75%) and S (14.37%) phase of the cell cycle. Whereas in the *in vitro* system, the distribution of nuclear DNA content was quite similar with *in vivo* system with most of the cells are in G2 (41.62%), followed by polyploid (38.38%) and S (20%) phase of the cell cycle. Cytological and morphological studies showed that *Z. elegans* was stable in culture even though polyploid cells were observed both in *in vivo* and *in vitro* systems, but no variation or morphological disorder were detected either in cellular stage or at morphological level. The polyploid cells were observed both in *in vivo* and *in vitro* systems because the source of *Z. elegans* explants was taken from the F1 hybrid plant. Therefore polyploid cells were already found in the cell cycle of the intact plant. By exposing the cells to culture conditions, enhance more cells to become polyploid.

The rooting of *Z. elegans* was discovered to be favourable in Murashige and Skoog (MS) media without any hormone additives. Root cultures cannot regenerate shoots in MS (1962) medium supplemented either with BAP alone (0.5 – 3.0mg/l) or in combination with NAA (0.01-3.0mg/l). Nevertheless, other explants sources were also utilized such as leaf, stem, cotyledon and hypocotyl to get an efficient regeneration system for clonal propagation of *Z. elegans* in *in vitro* system. All the explants except the hypocotyl were unable to regenerate shoots in MS medium supplemented with cytokinin alone (0.005 – 5.0mg/l) such as BAP, Kinetin or Thidiazuron (TDZ) or in combination with auxin (0.05 – 5.0mg/l) such as NAA, IAA, IBA or 2,4-D. For shoot multiplication, the optimum medium needed was MS supplemented with 1.0 mg/l Zeatin from the hypocotyl explant. As for *Rosa hybrida* L. var. 'Christian Dior', the rooting was not observed at all throughout the experiment, while for shoot multiplication, the best result was observed on MS medium supplemented with 3.0 mg/l BAP from the axillary bud explant. Other explants such as leaf, stem and petiole were unable to regenerate shoots in MS medium supplemented with BAP alone (1.0 – 5.0mg/l) or in combination with NAA (1.0 – 5.0mg/l).

ABSTRAK

Kajian kultur tisu telah dilakukan ke atas dua spesies tumbuhan hiasan iaitu *Zinnia elegans* Jacq. dan *Rosa hybrida* L. var. 'Christian Dior'. Untuk kajian kelakuan aktiviti sel, ianya hanya melibatkan spesies *Z.elegans* sahaja. Manakala untuk *R. hybrida* ianya tidak dapat dilakukan kerana ketiadaan biji benih dan akar untuk dijadikan data-data indeks piawai dari sistem *in vivo*. Perubahan di dalam kelakuan aktiviti sel selalu didapati apabila sel-sel atau tisu-tisu dipindahkan dari keadaan *in vivo* kepada *in vitro*. Bagi kebanyakan spesies tumbuhan dikotiledon telah didapati bahawa ciri-ciri sel yang berkeupayaan untuk regenerasi berbeza dengan ciri-ciri sel yang tidak dapat hasilkan regenerasi dan juga berbeza dengan sel-sel dalam tumbuhan induk. Justeru itu tujuan utama kajian sitologi dilakukan adalah untuk memerhatikan aktiviti-aktiviti sel di dalam sistem *in vivo* dan *in vitro* dengan menentukan nilai Indeks Mitosis (MI), bilangan kromosom, kandungan DNA nukleus, tahap ploidi, purata luas sel dan nukleus serta masa penggandaan sel (Cdt) untuk perbandingan. Dengan menilai parameter-parameter ini adalah mudah untuk menentukan kelakuan aktiviti sel bagi tumbuhan dari sistem *in vivo* berbanding sistem *in vitro*. Jika terdapat sebarang perubahan di dalam aktiviti kelakuan sel atau nukleus di dalam sitem *in vitro*, ini memungkinkan kewujudan variasi somaklon. Walaupun demikian jika aktiviti kelakuan sel adalah stabil dan normal keupayaan sel-sel atau tisu-tisu untuk membentuk kalus atau regenerasi membentuk tumbuhan lengkap adalah lebih tinggi.

Dari kajian terhadap *Z.elegans* ke atas pemanjangan akar primer didapati umur yang optima adalah pada hari kelima dengan kepanjangan 40.82 ± 15.39 mm.

Segmen akar ini dengan julat kepanjangan 25.43 – 56.21 mm telah digunakan sebagai panjang piawai untuk kajian sitologi dalam keadaan *in vivo* dan *in vitro*. Kajian sitologi *in vivo* ke atas *Z. elegans* memberikan keputusan nilai indeks mitosis sebanyak $13.47 \pm 0.46\%$, bilangan kromosom $2n = 23$, purata luas sel dan nukleus sebanyak $113.55 \pm 4.44 \mu\text{m}^2$ dan $40.58 \pm 0.95 \mu\text{m}^2$. Masa penggandaan sel pula adalah 133 jam dalam sistem *in vivo*. Kajian sitologi *in vitro* pula mendapati nilai indeks mitosis adalah $15.60 \pm 0.20\%$, bilangan kromosom $2n = 23$, purata luas sel dan nukleus sebanyak $92.40 \pm 5.70 \mu\text{m}^2$ dan $36.86 \pm 1.44 \mu\text{m}^2$. Masa penggandaan sel adalah 96 jam sahaja. Taburan kandungan DNA nukleus di dalam sel-sel akar primer *Z. elegans* yang ditanam secara *in vivo* menunjukkan kebanyakan sel-sel berada pada fasa G2 (55.62%). Ini diikuti oleh sel-sel poliploid (33.75%) dan fasa S (14.37%) dan tiada sebarang sel yang berada pada fasa G1(0%). Manakala taburan kandungan DNA nukleus terhadap sel akar primer *Z. elegans* yang ditanam secara *in vitro* pula didapati kebanyakan daripada sel-sel ini berada pada fasa G2 (41.62%), ini diikuti oleh poliploid (38.38%) dan fasa S (20%). Pengukuran kandungan DNA nukleus menunjukkan terdapatnya kehadiran poliploid di dalam sistem *in vivo* dan *in vitro*. Dengan mendedahkan sel-sel kepada persekitaran *in vitro*, menambahkan lagi peratus sel-sel poliploid. Ini berkemungkinan kerana biji benih *Z. elegans* yang digunakan dalam kajian ini adalah jenis hibrid. Keadaan poliploid ini hanya kelihatan pada peringkat genotip sahaja dan bukannya pada peringkat fenotip.

Bagi *Z. elegans*, media optima untuk pembentukan akar adalah media Murashige dan Skoog (MS) tanpa hormon. Eksplan akar didapati tidak berupaya untuk regenerasi di dalam media MS samada dengan BAP sendirian (0.5 – 3.0mg/l) atau kombinasi dengan NAA (0.01 – 3.0mg/l). Walau bagaimanapun selain

menggunakan eksplan akar, eksplan-eksplan lain turut digunakan seperti daun, batang, kotiledon dan hipokotil. Kesemua eksplan ini kecuali eksplan hipokotil didapati tidak berupaya untuk regenerasi lengkap pada media MS yang dibekalkan samada dengan sitokinin sendirian (0.005 – 5.0mg/l) seperti BAP, Kinetin dan Thiadizuron (TDZ) atau kombinasi dengan auksin (0.05 – 5.0mg/l) seperti NAA, IAA, IBA dan 2,4-D. Manakala untuk penggandaan pucuk adalah paling sesuai menggunakan media MS yang telah ditambah dengan 1.0mg/l Zeatin dari eksplan hipokotil. Untuk *Rosa hybrida* L. var. ‘Christian Dior’ pula tiada sebarang akar yang diperolehi sepanjang eksperimen ini dijalankan. Media optima untuk penggandaan pucuk adalah media MS yang telah ditambah dengan 3.0mg/l BAP dari eksplan tunas sisi. Eksplan-eksplan lain seperti daun, batang dan petiol didapati tidak berupaya untuk regenerasi lengkap pada media MS yang dibekalkan dengan BAP sendirian (1.0 – 5.0mg/l) atau kombinasi dengan NAA (1.0 – 5.0mg/l).

menggunakan eksplan akar, eksplan-eksplan lain turut digunakan seperti daun, batang, kotiledon dan hipokotil. Kesemua eksplan ini kecuali eksplan hipokotil didapati tidak berupaya untuk regenerasi lengkap pada media MS yang dibekalkan samada dengan sitokinin sendirian (0.005 – 5.0mg/l) seperti BAP, Kinetin dan Thiadizuron (TDZ) atau kombinasi dengan auksin (0.05 – 5.0mg/l) seperti NAA, IAA, IBA dan 2,4-D. Manakala untuk penggandaan pucuk adalah paling sesuai menggunakan media MS yang telah ditambah dengan 1.0mg/l Zeatin dari eksplan hipokotil. Untuk *Rosa hybrida* L. var. ‘Christian Dior’ pula tiada sebarang akar yang diperolehi sepanjang eksperimen ini dijalankan. Media optima untuk penggandaan pucuk adalah media MS yang telah ditambah dengan 3.0mg/l BAP dari eksplan tunas sisi. Eksplan-eksplan lain seperti daun, batang dan petiol didapati tidak berupaya untuk regenerasi lengkap pada media MS yang dibekalkan dengan BAP sendirian (1.0 – 5.0mg/l) atau kombinasi dengan NAA (1.0 – 5.0mg/l).

TAJUK	ISI KANDUNGAN	MUKASURAT
JUDUL.....i	
PENGHARGAAN.....ii	
ABSTRACT.....iii	
ABSTRAK.....vi	
ISI KANDUNGAN.....ix	
SENARAI JADUAL.....xii	
SENARAI RAJAH.....xiv	
SENARAI PLAT.....xvi	
SENARAI APENDIKS.....xxii	
SENARAI SINGKATAN KATA.....xxiii	
BAB 1 PENGENALAN		
1.1 PENGENALAN <i>Zinnia elegans</i> Jacq.....3	
1.2 PENGENALAN <i>Rosa hybrida</i> Linn. varieti ‘Christian Dior’.....6	
1.3 KAJIAN KULTUR TISU DAN KEPENTINGANNYA9	
1.4 KAJIAN KULTUR TISU KE ATAS FAMILI COMPOSITAE.....11	
1.5 KAJIAN KULTUR TISU KE ATAS FAMILI ROSACEAE.....15	
1.6 KAJIAN AKTIVITI SEL KE ATAS AKAR PRIMER TUMBUHAN.....20	
BAB 2 PERTUMBUHAN AKAR BERBANDING MASA : SATU EKSPERIMENT PIAWAIAN		
2.1 TUJUAN EKSPERIMENT37	
2.2 BAHAN DAN KADEAH41	
2.3 KEPUTUSAN.....42	
2.4 RINGKASAN KEPUTUSAN.....44	
BAB 3 KAJIAN SITOLOGI <i>In vivo</i> KE ATAS AKAR PRIMER <i>Zinnia elegans</i> Jacq.		
3.1 TUJUAN EKSPERIMENT45	
3.2 BAHAN DAN KADEAH49	
3.2.1 Penyediaan Slaid Kekal.....49	
3.2.2 Penentuan Indeks Mitosis (MI)50	
3.2.3 Bilangan Kromosom.....50	
3.2.4 Pengukuran Kandungan DNA Nukleus.....50	
3.2.5 Pengukuran Purata Luas Sel dan Nukleus.....51	
3.2.6 Penentuan Masa Penggandaan Sel (Cdt).....52	

TAJUK**ISI KANDUNGAN****MUKASURAT**

3.3 KEPUTUSAN.....	53
3.3.1 Penentuan Indeks Mitosis (MI) Ke Atas Akar Primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang Ditanam Secara <i>in vivo</i>	53
3.3.2 Bilangan Kromosom.....	54
3.3.3 Kandungan DNA Nukleus.....	54
3.3.4 Purata Luas Sel dan Nukleus.....	56
3.3.5 Masa Penggandaan Sel (Cdt).....	56
3.4 RINGKASAN KEPUTUSAN.....	61
BAB 4 PENGKULTURAN SEGMENT AKAR DAN KAJIAN KELAKUAN SEL <i>In vitro</i> KE ATAS <i>Zinnia elegans</i> Jacq.	
4.1 TUJUAN EKSPERIMEN	62
4.2 BAHAN DAN KAEADAH	66
4.2.1 Penentuan Media Optima Untuk Pembentukan Akar dan Regenerasi Tumbuhan.....	66
4.2.2 Pemilihan Kombinasi Hormon Yang Sesuai.....	67
4.2.3 Langkah-Langkah Percambahan dan Pengkulturan Untuk Kajian Sitologi Sel-Sel Akar Primer yang Dikultur Secara <i>in vitro</i>	69
4.2.4 Penentuan Indeks Mitosis (MI).....	69
4.2.5 Bilangan Kromosom.....	70
4.2.6 Pengukuran Kandungan DNA Nukleus.....	70
4.2.7 Pengukuran Purata Luas Sel dan Nukleus.....	70
4.2.8 Penentuan Masa Penggandaan Sel (Cdt).....	70
4.3 KEPUTUSAN.....	72
4.3.1 Pemerhatian Am Kultur Akar.....	72
4.3.2 Indeks Mitosis (MI).....	73
4.3.3 Bilangan Kromosom.....	73
4.3.4 Penentuan Kandungan DNA Nukleus.....	74
4.3.5 Purata Luas Sel dan Nukleus.....	74
4.3.6 Masa Penggandaan Sel (Cdt).....	75
4.4 RINGKASAN KEPUTUSAN.....	84
BAB 5 KAJIAN KULTUR TISU KE ATAS TANAMAN HIASAN <i>Zinnia elegans</i> Jacq.	
5.1 TUJUAN EKSPERIMEN.....	86
5.2 BAHAN DAN KAEADAH	103
5.2.1 Percambahan Biji Benih, Pensterilan Eksplan dan Kaedah Kultur.....	103
5.2.2 Penentuan Kombinasi Hormon BAP dan NAA yang Sesuai.....	103
5.2.3 Penentuan Kombinasi Hormon BAP dan NAA Untuk Pembentukan Pucuk.....	104

ISI KANDUNGAN

TAJUK	MUKASURAT
5.2.4 Penentuan Media Untuk Pembentukan Pucuk Dengan Pelbagai Kombinasi Auksin dan Sitokinin Berdasarkan Kajian Terdahulu Terhadap Famili Compositae.....	105
5.2.5 Penentuan Kepekatan Sitokinin Yang Terbaik Untuk Pembentukan Pucuk.....	106
5.3 KEPUTUSAN.....	108
5.3.1 Penentuan Julat Kombinasi Hormon BAP dan NAA yang Sesuai Untuk Pembentukan Kalus, Pucuk dan Akar.....	108
5.3.2 Penentuan Kepekatan BAP dan NAA yang Sesuai Untuk Inisiasi Pucuk.....	109
5.3.3 Penentuan Pelbagai Kombinasi Auksin dan Sitokinin Untuk Inisiasi Pucuk.....	110
5.3.4 Penentuan Kepekatan Sitokinin yang Terbaik Untuk Inisiasi Pucuk.....	111
5.4 RINGKASAN KEPUTUSAN.....	121
 BAB 6 KAJIAN KULTUR TISU KE ATAS <i>Rosa hybrida L.</i> ‘Christian Dior’	
6.1 TUJUAN EKSPERIMEN.....	123
6.2 BAHAN DAN KAEDAH.....	130
6.2.1 Sumber Eksplan dan Teknik Pensterilan.....	130
6.2.2 Penyediaan Media.....	130
6.2.3 Pengkulturan Eksplan Ke Atas Media.....	131
6.2.4 Penentuan Kombinasi Hormon BAP dan NAA yang Sesuai.....	132
6.2.5 Penentuan Kombinasi Hormon Untuk Pembentukan Pucuk.....	133
6.2.6 Penentuan Kombinasi Hormon Untuk Pembentukan Akar.....	134
6.3 KEPUTUSAN.....	135
6.3.1 Kombinasi Hormon BAP dan NAA yang Terbaik Untuk Pembentukan Kalus.....	135
6.3.2 Kombinasi Hormon BAP dan NAA yang Terbaik Untuk Pembentukan Pucuk.....	153
6.3.3 Pembentukan Akar.....	158
6.4 RINGKASAN KEPUTUSAN.....	161
 BAB 7 PERBINCANGAN.....	162
 KESIMPULAN.....	192
 BIBLIOGRAFI.....	195
 APENDIKS.....	229

TAJUK	ISI KANDUNGAN	MUKASURAT
	5.2.4 Penentuan Media Untuk Pembentukan Pucuk Dengan Pelbagai Kombinasi Aksin dan Sitokinin Berdasarkan Kajian Terdahulu Terhadap Famili Compositae.....	105
	5.2.5 Penentuan Kepekatan Sitokinin Yang Terbaik Untuk Pembentukan Pucuk.....	106
5.3 KEPUTUSAN.....		108
	5.3.1 Penentuan Julat Kombinasi Hormon BAP dan NAA yang Sesuai Untuk Pembentukan Kalus, Pucuk dan Akar.....	108
	5.3.2 Penentuan Kepekatan BAP dan NAA yang Sesuai Untuk Inisiasi Pucuk.....	109
	5.3.3 Penentuan Pelbagai Kombinasi Aksin dan Sitokinin Untuk Inisiasi Pucuk.....	110
	5.3.4 Penentuan Kepekatan Sitokinin yang Terbaik Untuk Inisiasi Pucuk.....	111
5.4 RINGKASAN KEPUTUSAN.....		121
BAB 6 KAJIAN KULTUR TISU KE ATAS <i>Rosa hybrida L.</i> ‘Christian Dior’		
6.1 TUJUAN EKSPERIMEN.....		123
6.2 BAHAN DAN KAEDAH.....		130
	6.2.1 Sumber Eksplan dan Teknik Pensterilan.....	130
	6.2.2 Pengediaan Media.....	130
	6.2.3 Pengkulturan Eksplan Ke Atas Media.....	131
	6.2.4 Penentuan Kombinasi Hormon BAP dan NAA yang Sesuai.....	132
	6.2.5 Penentuan Kombinasi Hormon Untuk Pembentukan Pucuk.....	133
	6.2.6 Penentuan Kombinasi Hormon Untuk Pembentukan Akar.....	134
6.3 KEPUTUSAN.....		135
	6.3.1 Kombinasi Hormon BAP dan NAA yang Terbaik Untuk Pembentukan Kalus.....	135
	6.3.2 Kombinasi Hormon BAP dan NAA yang Terbaik Untuk Pembentukan Pucuk.....	153
	6.3.3 Pembentukan Akar.....	158
6.4 RINGKASAN KEPUTUSAN.....		161
BAB 7 PERBINCANGAN.....		162
KESIMPULAN.....		192
BIBLIOGRAFI.....		195
APENDIKS.....		229

SENARAI JADUAL

JADUAL	MUKASURAT
3.1 Nilai purata MI, bilangan kromosom dan masa penggandaan sel bagi sel akar primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang ditanam secara <i>in vivo</i>	57
3.2 Taburan kandungan DNA nukleus yang berada pada fasa G1, S, G2 dan yang menjadi poliploid bagi sel-sel akar primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang ditanam secara <i>in vivo</i>	57
3.3 Purata luas sel, luas nukleus serta nisbah luas nukleus : luas sel akar primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang ditanam secara <i>in vivo</i>	57
4.1 Respons yang ditunjukkan oleh eksplan akar <i>Zinnia elegans</i> Jacq. di dalam media MS yang mengandungi hormon BAP dan NAA dengan kepekatan dan kombinasi yang berbeza yang dikultur pada $25\pm1^{\circ}\text{C}$ di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap.....	76
4.2 Nilai purata MI, bilangan kromosom dan masa penggandaan sel bagi sel akar primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. berusia 5 hari yang ditanam secara <i>in vitro</i>	80
4.3 Taburan kandungan DNA nukleus yang berada pada fasa G1, S, G2 dan yang menjadi poliploid bagi sel-sel akar primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. berusia 5 hari yang ditanam secara <i>in vitro</i>	80
4.4 Purata luas sel, luas nukleus serta nisbah luas nukleus : luas sel akar primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. berusia 5 hari yang ditanam secara <i>in vitro</i>	80
5.1 Respons yang ditunjukkan oleh eksplan daun dan batang <i>Zinnia elegans</i> Jacq. terhadap kombinasi hormon BAP dan NAA yang dikultur di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$ untuk mendapatkan julat yang sesuai bagi pembentukan kalus, pucuk dan akar. Media asas ialah MS (1962).....	112
5.2 Respons yang ditunjukkan oleh eksplan hipokotil, daun dan batang <i>Zinnia elegans</i> Jacq. terhadap kombinasi hormon BAP dan NAA yang dikultur di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$ untuk inisiasi pucuk. Media asas ialah MS (1962).....	113

JADUAL	SENARAI JADUAL	MUKASURAT
5.3	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan hipokotil, daun dan batang <i>Zinnia elegans</i> Jacq. terhadap pelbagai kombinasi hormon auksin dan sitokinin yang dikultur di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$ untuk inisiasi pucuk. Media asas ialah MS (1962).....	114
5.4	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan hipokotil <i>Zinnia elegans</i> Jacq. terhadap pelbagai kombinasi hormon sitokinin yang dikultur di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$ untuk inisiasi pucuk. Media asas ialah MS (1962).....	115
6.1	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan daun, batang dan petiol <i>Rosa hybrida</i> L. ‘Christian Dior’ terhadap kombinasi hormon BAP dan NAA yang dikultur di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$. Media asas ialah MS (1962).....	137
6.2	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan tunas sisi <i>Rosa hybrida</i> L. ‘Christian Dior’ terhadap kombinasi hormon BAP dan NAA yang dikultur di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$ untuk inisiasi pucuk. Media asas ialah MS (1962).....	155
6.3	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan pucuk berganda <i>Rosa hybrida</i> L. ‘Christian Dior’ terhadap NAA yang dikultur di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$ untuk inisiasi akar. Media asas ialah MS (1962).....	159

RAJAH**SENARAI RAJAH****MUKASURAT**

2.1	Graf Indeks Piawai Pertumbuhan Akar Primer Berbanding Masa.....	43
3.1	Graf Masa Penggandaan Sel (Cdt) menunjukkan perkaitan di antara peratus kekerapan metafasa berbanding tempoh dedahan kepada 0.025% kolchisin sel-sel akar primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang ditanam secara <i>in vivo</i>	58
3.2	Taburan kandungan DNA sel akar primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang ditanam secara <i>in vivo</i>	59
3.3	Taburan luas sel akar primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang ditanam secara <i>in vivo</i>	59
3.4	Taburan luas nukleus sel akar primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang ditanam secara <i>in vivo</i>	60
4.1	Graf Masa Penggandaan Sel (Cdt) menunjukkan perkaitan di antara peratus kekerapan metafasa berbanding tempoh dedahan kepada 0.025% kolchisin bagi sel-sel akar <i>in vitro</i> <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang berusia seminggu.....	81
4.2	Taburan kandungan DNA sel akar <i>in vitro</i> <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang berusia 5 hari.....	82
4.3	Taburan luas sel akar <i>in vitro</i> <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang berusia 5 hari.....	82
4.4	Taburan luas nukleus sel akar <i>in vitro</i> <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang berusia 5 hari.....	83
6.1	Purata berat segar kalus eksplan daun <i>Rosa hybrida</i> L. var. Christian Dior di atas media MS dengan pelbagai kombinasi BAP dan NAA di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap pada suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$	149
6.2	Purata berat segar kalus eksplan batang <i>Rosa hybrida</i> L. var. Christian Dior di atas media MS dengan pelbagai kombinasi BAP dan NAA di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap pada suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$	150
6.3	Purata berat segar kalus bagi eksplan petiol <i>Rosa hybrida</i> L. var. Christian Dior yang dikultur di atas media MS dengan pelbagai kombinasi BAP dan NAA di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap pada suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$	151

RAJAH**SENARAI RAJAH****MUKASURAT**

6.4

Purata berat segar kalus bagi keseluruhan eksplan
Rosa hybrida L. var. Christian Dior yang dikultur di atas
media MS dengan pelbagai kombinasi BAP dan NAA di
bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap pada suhu $25\pm1^{\circ}\text{C}$152

3.1	Bilangan kromosom pada peringkat metafasa bagi sel akar primer <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang telah ditanam secara <i>in vivo</i> iaitu $2n = 23$ dan berjulat di antara 18 – 28.....	55
4.1	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan akar <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang telah dikultur di dalam media MS dengan pelbagai kombinasi hormon di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap pada suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$	77
4.2	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan akar <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang telah dikultur di dalam media MS dengan pelbagai kombinasi hormon. (a) 0.5 mg/l BAP (b) 2.0 mg/l NAA (c) 1.5 mg/l NAA (d) 1.0 mg/l NAA (e) 0.5 mg/l NAA (f) 0.25 mg/l NAA.....	78
4.3	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan akar <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang telah dikultur di dalam media MS dengan pelbagai kombinasi hormon. (a) 3.0 mg/l BAP dan 3.0 mg/l NAA (b) 3.0 mg/l BAP dan 2.0 mg/l NAA (c) 3.0 mg/l BAP dan 1.0 mg/l NAA (d) 3.0 mg/l BAP (e) 2.0 mg/l BAP (f) 1.0 mg/l BAP.....	79
5.1	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan hipokotil <i>Zinnia elegans</i> Jacq. selepas 4 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon auksin dan sitokinin yang dikultur di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$ untuk inisiasi pucuk (a) 0.025 mg/l Kinetin + 0.25 mg/l NAA (b) 0.15 mg/l Kinetin + 0.25 mg/l NAA (c) 0.50 mg/l Kinetin + 1.0 mg/l IAA (d) 0.50 mg/l Kinetin + 0.05 mg/l IAA (e) 1.0 mg/l Kinetin + 0.125 mg/l IAA (f) 1.0 mg/l Kinetin + 0.25 mg/l IAA.....	116

5.2	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan hipokotil <i>Zinnia elegans</i> Jacq. selepas 4 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon auksin dan sitokinin yang dikultur di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$ untuk inisiasi pucuk (a) 0.50 mg/l Kinetin + 0.50 mg/l IBA (b) 1.25 mg/l Kinetin + 0.50 mg/l 2,4-D (c) 0.007 mg/l TDZ + 0.125 mg/l NAA (d) 0.005 mg/l TDZ + 0.25 mg/l NAA (e) 0.125 mg/l TDZ + 0.125 mg/l IAA (f) 0.125 mg/l BAP + 0.125 mg/l IBA.....	117
5.3	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan hipokotil <i>Zinnia elegans</i> Jacq. selepas 4 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon sitokinin yang dikultur di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$ untuk inisiasi pucuk (a) MS (Tanpa Hormon) (b) MS + 0.5 mg/l Zeatin (c) MS + 1.0 mg/l Zeatin (d) MS + 1.0 mg/l BAP.....	118
5.4	Respons yang ditunjukkan oleh eksplan hipokotil <i>Zinnia elegans</i> Jacq. selepas 4 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon sitokinin yang dikultur di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap dengan suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$ untuk inisiasi pucuk (a) MS + 1.5 mg/l Zeatin (b) MS + 2.0 mg/l Zeatin (c) MS + 2.5 mg/l Zeatin (d) MS + 3.0 mg/l BAP.....	119
5.5	(a) Plantlet lengkap <i>Zinnia elegans</i> Jacq. berumur 7 minggu yang telah dikultur pada suhu $25 \pm 1^\circ\text{C}$ di bawah 16 jam cahaya dan 8 jam gelap di dalam media MS tanpa hormon untuk pembentukan akar dan tumbesaran seterusnya sebelum dipindah ke tanah (b) Tumbuhan lengkap <i>Zinnia elegans</i> Jacq. yang berbunga di dalam pasu selepas 12 minggu dipindahkan ke tanah.....	120

6.1	Pembentukan kalus daripada eksplan daun <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (a) 1.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (b) 1.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (c) 1.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA (d) 1.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA (e) 1.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA.....	139
6.2	Pembentukan kalus daripada eksplan daun <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (a) 2.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (b) 2.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (c) 2.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA (d) 2.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA (e) 2.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA.....	140
6.3	Pembentukan kalus daripada eksplan daun <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (a) 3.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (b) 3.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (c) 3.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA (d) 3.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA (e) 3.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA.....	141
6.4	Pembentukan kalus daripada eksplan daun <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (a) 4.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (b) 4.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA (c) 4.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA (d) 5.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (e) 5.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (f) 5.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA.....	142

6.5	Pembentukan kalus daripada eksplan batang <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (a) 1.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (b) 1.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (c) 1.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA (d) 1.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA (e) 1.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA.....	143
6.6	Pembentukan kalus daripada eksplan batang <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (a) 2.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (b) 2.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (c) 2.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA (d) 2.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA (e) 2.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA.....	144
6.7	Pembentukan kalus daripada eksplan batang <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (a) 3.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (b) 3.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (c) 3.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA (d) 3.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA (e) 3.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA.....	145
6.8	Pembentukan kalus daripada eksplan batang <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (a) 4.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (b) 4.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA (c) 4.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA (d) 4.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA (e) 5.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (f) 5.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA.....	146

6.9	Pembentukan kalus daripada eksplan petiol <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (a) 1.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (b) 1.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (c) 1.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA (d) 1.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA (e) 2.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (f) 2.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA.....	147
6.10	Pembentukan kalus daripada eksplan petiol <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (a) 2.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA (b) 2.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA (c) 3.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (d) 3.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA (e) 3.0 mg/l BAP + 4.0 mg/l NAA (f) 3.0 mg/l BAP + 5.0 mg/l NAA.....	148
6.11	Pembentukan pucuk daripada eksplan tunas sisi <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (a) 1.0 mg/l BAP (b) 2.0 mg/l BAP (c) 3.0 mg/l BAP (d) 1.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (e) 1.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (f) 1.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA.....	156
6.12	Pembentukan pucuk daripada eksplan tunas sisi <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan pelbagai kombinasi hormon BAP dan NAA (g) 2.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (h) 2.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (i) 2.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA (j) 3.0 mg/l BAP + 1.0 mg/l NAA (k) 3.0 mg/l BAP + 2.0 mg/l NAA (l) 3.0 mg/l BAP + 3.0 mg/l NAA.....	157

PLAT**SENARAI PLAT****MUKASURAT**

6.13	Kesan pelbagai kepekatan NAA untuk penghasilan akar terhadap eksplan pucuk <i>R. hybrida</i> selepas 8 minggu dikultur pada media MS dengan (a) Tanpa hormon (b) 1.0 mg/l NAA (c) 2.0 mg/l NAA (d) 3.0 mg/l NAA (e) 4.0 mg/l NAA (f) 5.0 mg/l NAA.....	160
------	--	-----

SENARAI APENDIKS

APENDIKS

MUKASURAT

APENDIKS 1

Penyediaan Larutan Feulgen.....	229
Penyediaan Air SO ₂	229
Penyediaan Larutan 'Light Green'	229
Proses Dehidrasi Dalam Penyediaan Slaid Tetap.....	230
Kandungan Media MS (Murashige and Skoog, 1962).....	231

SINGKATAN KATA

μm^2	mikrometer persegi
μM	mikromolar
2,4-D	Asid 2,4-diklorofenoksiasetik
BAP	Benzilaminopurin
$^\circ\text{C}$	Celcius
cm	sentimeter
DNA	asid deoksiribonukleik
DPX	agen pelekatan
GA ₃	Asid Giberelik
HCl	Asid Hidroklorik
IAA	Asid 3-indol Asetik
IBA	Asid indol butirik
kPa	kilo Pasca
L.	Linn.
mg/l	miligram per liter
g/l	gram per liter
mm	milimeter
NAA	Asid α -naftalena asetik
SE	standard error/ sisihan piawai
TDZ	Thidiazuron
TMV	Virus mosaik tembakau
v/v	isipadu per isipadu
var.	variety
w/v	berat per isipadu