

<b>Thesis Title</b>	Chrysanthemum Improvement Using Somaclonal Selection	
<b>Author</b>	Miss Patcharin Kengkarj	
<b>Degree</b>	Doctor of Philosophy (Biotechnology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>	<div>Assoc. Prof. Dr. Prasartporn Smitamana      Chairperson</div> <div>Prof. Dr. Yukihiro Fujime                      Member</div> <div>Assoc. Prof. Kesinee Ramingwong          Member</div>	

## ABSTRACT

Novel chrysanthemum somaclones were obtained through the petal segment culture of 13 commercial cultivars. The petal segments were cultured on modified MS (Murashige and Skoog, 1962) medium supplemented with either 0.5 mg.l<sup>-1</sup> NAA and 1.5 mg.l<sup>-1</sup> BAP or 1.0 mg.l<sup>-1</sup> NAA and 3.0 mg.l<sup>-1</sup> BAP, callus formation was observed in all tested cultivars. Numerous shoots were directly induced from the different petal segments when cultured on the same media. Root induction from excised shoots and water soaked plantlets became normal plantlets after 1 and 2 weeks of being cultured on the free hormone MS medium, respectively.

Morphological variation observed from the field trials of the derived clones was found to be depending on a specific cultivar. The variation varied greatly in the cultivars having a red or purple color than those with a white or cream colored petal. The variation was difficult to detect as the pigment accumulation was different in each petal color. The major variants within the same cultivar were found only in color and

inflorescence shape deviation, whereby leaf and stem characters remained unchanged. Enormous variations were found in the 'Pinkgin' cultivar in which color changed from magenta to dark red. The morphological variation among somaclones remained stable both under Thai and Japanese environments, except color intensity showed some different.

The morphological differences of the tested somaclones were shown to be highly correlated using RAPD pattern analysis. RAPD markers, using 10 primers could better separate each cultivar at 80% similarity value. All the somaclones could be singly separated at 90% similarity. However, the great level of variability of RAPD patterns in chrysanthemum rendered these RAPD fragments as good candidates for somaclonal and cultivar identification.

The results from this study revealed the potential increase in range of floral color and morphological changes of petal segment culture, thus this technique would be effectively used for novel plant production.

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์**

การปรับปรุงพันธุ์เบญจมาศโดยการคัดเลือกจากความ  
แปรปรวนของเซลล์

**ผู้เขียน**

นางสาวพัชรินทร์ เก่งกาจ

**ปริญญา**

วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์**

รศ. ดร. ประสาทพร สมิตะมาน

ประธานกรรมการ

Prof. Dr. Yukihiro Fujime

กรรมการ

รศ. เกศินี ระมิงค์วงศ์

กรรมการ

**บทคัดย่อ**

จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนของกลีบดอกของเบญจมาศพันธุ์การค้า 13 สายพันธุ์ สามารถผลิตสายต้นของเบญจมาศที่มีลักษณะแปลกใหม่โดยการเลี้ยงส่วนของกลีบดอกของเบญจมาศพันธุ์การค้า 13 สายพันธุ์บนอาหาร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เพิ่ม  $0.5 \text{ mg.l}^{-1}$  NAA,  $1.5 \text{ mg.l}^{-1}$  BAP หรือ  $1.0 \text{ mg.l}^{-1}$  NAA,  $3.0 \text{ mg.l}^{-1}$  BAP สามารถสร้างแคลลัสได้กับทุกพันธุ์ที่ทดลอง สามารถชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากขึ้นโดยตรงบนอาหารเดียวกันนี้ จากนั้นสามารถชักนำให้เกิดรากจากส่วนของยอดได้หลังจากเลี้ยงบนอาหาร MS ที่ปราศจากฮอร์โมนประมาณ 1 สัปดาห์ และส่วนของยอดที่เกิดอาการฉ่ำน้ำ สามารถกลับคืนมาเป็นยอดปกติได้หลังจากนำมาเลี้ยงเพียง 2 สัปดาห์บนอาหาร MS ที่ปราศจากฮอร์โมน

จากการปลูกทดสอบสายต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่วนของกลีบดอกพบว่าความแปรปรวนทางสัณฐานวิทยานั้นแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ โดยพันธุ์ดอกสีแดงและสีม่วงมีความแปรปรวนสูงกว่าพันธุ์ดอกสีขาวและสีครีม การวัดความแปรปรวนทำได้ยากเนื่องมาจากการสะสม

สมของรงควัตถุในแต่ละพันธุ์แตกต่างกัน ความแปรปรวนส่วนใหญ่ในสายพันธุ์เดียวกันจะเกิดในส่วนของสีและรูปร่างของดอก โดยที่ลักษณะใบและลำต้นไม่เปลี่ยนแปลง สำหรับสายพันธุ์ ‘Pinkgin’ นั้นพบว่าเกิดความแปรปรวนอย่างเด่นชัด คือ สีดอกเปลี่ยนจากสีม่วงไปเป็นสีแดงเข้ม ลักษณะความแปรปรวนนี้ยังคงแสดงออกเหมือนกันทั้งที่ปลูกในสภาพแวดล้อมของประเทศไทยและญี่ปุ่น เพียงแต่ความเข้มของสีดอกแตกต่างกัน

ความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาของสายต้นที่ทำการศึกษานี้แสดงความสัมพันธ์กันสูงโดยการวิเคราะห์โดยวิธี RAPD ด้วยไพรเมอร์ 10 ชนิด พบว่าสามารถแยกเบญจมาศแต่ละสายพันธุ์ออกจากกันได้ทั้งค่าความคล้ายคลึงกัน 80% และสำหรับสายต้นของแต่ละสายพันธุ์สามารถแยกออกจากกันได้ทั้งค่าความคล้ายคลึงกัน 90% อย่างไรก็ตาม ความแปรปรวนในระดับสูงของการวิเคราะห์ด้วยแถบของ RAPD แสดงให้เห็นว่า RAPD เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการจำแนกสายพันธุ์และสายต้นของเบญจมาศ

ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากส่วนของกลีบดอกมีศักยภาพสูงในการเพิ่มความหลากหลายของสีดอกและการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา ฉะนั้นเทคนิคนี้จึงมีประสิทธิภาพที่จะใช้ผลิตพืชพันธุ์ใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University

All rights reserved