ระยะพัฒนาการของไมโครสปอร์ในลิลลี่สายพันธุ์ฟอร์โมลองโก้ที่มีขนาดตาดอกแตกต่างกัน

STAGES OF MICROSPORE DEVELOPMENT IN VARIOUS SIZES OF *LILIUM LONGIFLORUM* VAR. *FORMOLONGO* FLOWER BUDS

สมาพร เรืองสังข์[1*] นนทวัฒน์ หุ้มแพร[1] และจิรวัฒน์ เรืองเนตร[2]

Samaporn Ruangsanka[1*] Nonthawat Homprae[1] and Jirawat Ruangnet[2]

[1]คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์

[2]สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์

[1]Faculty of Agricultural Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage

[2]The Royal Agricultural Station Inthanon

[*]corresponding author e-mail: samaporn@vru.ac.th

(Received: 26 June 2019 ; Revised: 17 September 2019 ; Accepted: 24 September 2019)

บทคัดย่อ

การปลูกลิลลี่สายพันธุ์ฟอร์โมลองโก้ (*Lilium longiflorum* var. *formolongo*) ในแปลงปลูกพบปัญหาสำคัญ คือ ต้นลิลลี่มีการเจริญเติบโตไม่สม่ำเสมอกัน เนื่องจากสภาพอากาศและปัจจัยหลายอย่างที่เป็นอุปสรรคต่อการเจริญเติบโต และส่งผลต่อการเก็บเกี่ยวผลผลิตดอกลิลลี่ การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระยะพัฒนาการของละอองเกสรในลิลลี่สายพันธุ์ฟอโมลองโก้ที่สัมพันธ์กับขนาดของดอกในระยะต่างๆ และตรวจหาขนาดของดอกที่มีการสร้างไมโครสปอร์ระยะ Tetrad ซึ่งเป็นระยะที่สามารถเพาะเลี้ยงและชักนำให้เกิดต้นอ่อนได้ โดยนำอับละอองเรณูจากดอกลิลลี่สายพันธุ์ฟอโมลองโก้ ตั้งแต่ขนาดดอก 1–2.10 ซม. อายุ 70–75 วัน นับตั้งแต่นำหัวแม่พันธุ์ลงปลูกในแปลงมาทำสไลด์ศึกษาระยะการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสด้วย Squash technique โดยใช้สีย้อม Acetocarmine ความเข้มข้น 0.002 M พบว่า ดอกที่มีขนาดตั้งแต่ 1.90–2.10 ซม. มีไมโครสปอร์อยู่ในระยะ Tetrad มากกว่าดอกขนาดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p<0.05$ มีค่าเท่ากับ 18.78% ซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมที่สุดในการนำไปวิจัยพัฒนาสายพันธุ์แท้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู

คำสำคัญ: ไมโครสปอร์ ระยะพัฒนาการ ลิลลี่สายพันธุ์ฟอร์โมลองโก้

Abstract

The key problem of Easter lily (*Lilium longiflorum* var. *formolongo*) growing in the plots are non–homogenous growth which caused by abiotic factors and led to the effect of floral harvest. This research aimed to study the development stage of the microspores from *L. longiflorum* var. *formolongo* that related to the different sizes of flower buds and to determine the sizes of flower buds that contained the tetrad microspores, which further developed to new embryoid. The anthers of the flower buds with 1.00 – 2.10 cm length and the age of 70 – 75 days after planting bulbs were dyed with Acetocarmine 0.002 M concentration then detecting stage of meiosis cell division by using Squash technique. It was found the size of flower buds during 1.90 – 2.10 cm length which contained significantly highest microspores in tetrad stage amount 18.78% at $p< 0.05$ when compared with other sizes. It was the most appropriate development stage for further research of the pure line improvement from another culture.

Keywords: Microspores, Developmental stage, *Lilium longiflorum* var. *formolongo*

บทนำ

ลิลลี่ เป็นไม้ดอกประเภทหัว จัดอยู่ในวงศ์ Liliaceae มีสมาชิกทั้งหมด 18 สกุล และมีประมาณ 700 ชนิด เป็นพืชอายุหลายปี มีหัวใต้ดินสะสมอาหารแบบหัวกลีบหรือหัวหอม (Bulb) (WCSP, 2019) บางชนิดดอกมีกลิ่นหอม มีหลายสี ได้แก่ สีขาว สีชมพู สีส้ม สีแดง สีม่วง และลูกผสมที่มีสองสีในดอกเดียวกัน นอกจากนี้บางสายพันธุ์ยังมีจุดประบนกลีบดอก ดอกบานได้นาน 2–4 วัน เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญที่ใช้ได้ทั้งเป็นไม้ตัดดอกและไม้กระถาง ขยายพันธุ์โดยการเพาะเมล็ด แยกหัว และเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ซึ่งเดิมมีการนำเข้าหัวพันธุ์มาปลูกบนพื้นที่สูงในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และจังหวัดเลย เนื่องจากเป็นพืชที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศที่หนาวเย็น อุณหภูมิประมาณ 12–15 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิต่ำกว่านี้ยอดจะเจริญช้า (วิกิพีเดีย, 2559)

สถานีเกษตรหลวงอินทนนท์มีการส่งเสริมอาชีพให้เกษตรกรปลูกลิลลี่สายพันธุ์ฟอร์โมลองโก้ (*Lilium longiflorum* var. *formolongo*) โดยการรับต้นลิลลี่จากมูลนิธิโครงการหลวงเชียงใหม่มาขยายพันธุ์เพิ่มจำนวน เป็นแหล่งให้เกษตรกรนำไปปลูกต่อ แต่พบว่า ต้นลิลลี่ที่ผลิตได้มีการเจริญเติบโตและการออกดอกไม่สม่ำเสมอกัน ซึ่งเกี่ยวข้องกับปัจจัยภายในต้นพืช ได้แก่ อายุพืช ฮอร์โมน ตลอดจนปัจจัยแวดล้อมภายนอก เช่น ช่วงความยาวของวัน อุณหภูมิ กลไกควบคุมการออกดอกที่มีหลายวิถี เช่น วิถีการตอบสนองต่อช่วงแสง (Photoperiod pathway) วิถี

การตอบสนองต่อความหนาวเย็น (Vernalization pathway) วิถีอัตโนมัติ (Autonomous pathway) ที่ควบคุมด้วยยีนที่เกี่ยวข้องกับการออกดอก และวิถีตอบสนองต่อฮอร์โมนจิบเบอเรลลิน (Gibberellin pathway) (เจนจิรา และคณะ, 2560) นอกจากนี้อาจเป็นผลมาจากการผสมแบบเปิด (Open pollination) ทำให้การเจริญเติบโตยังไม่ทรงตัวในสภาพแวดล้อมของประเทศไทย จึงเป็นอุปสรรคต่อการเก็บเกี่ยวผลผลิตและการจำหน่าย ทางสถานีเกษตรหลวงอินทนนท์จึงมีแนวคิดที่จะสร้างสายพันธุ์แท้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู (Anther culture) ให้ได้ต้นลิลลี่ที่มีการเจริญเติบโตในระยะใกล้เคียงกัน และมีลักษณะทางพันธุกรรมเหมือนกัน ซึ่งเป็นการสร้างพันธุ์แท้ได้เร็วกว่าวิธีการดั้งเดิมที่ต้องผสมตัวเองซ้ำหลายชั่วอายุ

การสร้างสายพันธุ์ Double haploid: DH จากวิธีการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูยังจำกัดอยู่ในลิลลี่บางชนิด (Species) เช่น มีการทดลองโดยนำอับละอองเรณูที่มีไมโครสปอร์ในระยะ Uninucleate stage ของตาดอก *Lilium longiflorum* Thunb. (Arzate–Fernandez et al., 1997) และ *Lilium formosanum* (Han & Niimi, 2005) มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ ทำให้ได้แคลลัสที่เป็นดิพลอยด์ สำหรับสร้างเป็นต้นพืช DH ได้ แต่จะมีละอองเรณูที่เป็นหมัน

การออกดอกของลิลลี่ถูกควบคุมด้วยยีนในกลุ่ม LFY ยีนกลุ่มนี้ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงเซลล์ในส่วนเนื้อเยื่อเจริญให้พัฒนาเป็นจุดกำเนิดดอก (Floral primodia) แล้วไปกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่ทำหน้าที่สร้างส่วนประกอบต่างๆ ของดอก (Lin et al., 2007) โดยจะพบยีน LFY 2 กลุ่มในลิลลี่ ซึ่งยีนกลุ่ม LiLFY1 ควบคุมการแสดงออกของตาดอกอ่อน และเยื่อเจริญปลายยอด (Shoot Apical Meristem: SAM) แต่ไม่เกี่ยวข้องกับราก ยอด ใบ และโครงสร้างของดอกที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้ว ยีนกลุ่มนี้จะแสดงออกโดยสร้างโปรตีน LiLFY1 ที่เป็นยีนคู่เหมือนกับโปรตีน RFL ในข้าว และโปรตีน FLL ในข้าวโพดมาก การโคลนยีน LiLFY1 อาจนำมาใช้ด้านพันธุวิศวกรรมเพื่อควบคุมระยะเวลาออกดอกในลิลลี่ได้ (Wang et al., 2008)

การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณู (Anther culture) ทำได้โดยเลือกอับละอองเรณูที่มีอายุหรือขนาดเหมาะสม นั่นคือ เซลล์ Microsporocyte ภายในอับละอองเรณูมีการพัฒนาไปเป็นไมโครสปอร์โดยกระบวนการ Microsporogenesis ด้วยการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิสจนได้ไมโครสปอร์ จำนวน 4 เซลล์ที่อยู่ภายใน Callose wall เดียวกัน ที่เรียกว่า ระยะ Tetrad ก่อนที่จะเข้าสู่กระบวนการ Microgametogenesis แยกเป็นไมโครสปอร์เซลล์เดี่ยว (Uninucleate microspore) การผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ ไมโครสปอร์จะหลุดออกจากอับละอองเรณูไปตกที่ยอดเกสรตัวเมียและพัฒนากลายเป็นสเปิร์มเพื่อปฏิสนธิกับเซลล์ไข่ในรังไข่ของลิลลี่ แต่การสร้างสายพันธุ์แท้ทำได้ด้วยการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูที่มีไมโครสปอร์ในระยะ Tetrad ซึ่งเป็นระยะก่อนที่จะเข้าสู่ระยะ Early–mid uninucleate microspore ไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ สำหรับการพัฒนาของไมโครสปอร์ระยะ Tetrad เป็นระยะที่ใกล้เคียงกับระยะ Early uninucleate มาก มีการศึกษากับพืช

หลายชนิด พบว่า การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูที่มีไมโครสปอร์ในระยะหรือใกล้เคียงกับระยะ Uninucleate จะเหมาะสมสำหรับการนำไปเพาะเลี้ยงแล้วชักนำให้เป็นแคลลัสและต้นอ่อนได้เปอร์เซ็นต์มากที่สุด (Guasmi et al., 2013; Ibrahim et al., 2014; Schaeffer, 1989) สำหรับต้นพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูจะมีโครโมโซม 1 ชุด (Haploid plant) ซึ่งสามารถเพิ่มโครโมโซมเป็น 2 ชุด (Homozygous diploid หรือ Double haploid) ซึ่งเป็นพันธุ์แท้ได้โดยใช้สาร Colchicine (อรดี, 2542)

ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระยะการพัฒนาของละอองเกสรในลิลลี่สายพันธุ์ฟอโมลองโก้ที่สัมพันธ์กับขนาดของตาดอกในระยะต่างๆ และตรวจหาขนาดของตาดอกที่มีการสร้างไมโครสปอร์ระยะ Tetrad สำหรับเป็นพื้นฐานนำไปสู่การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูให้ได้ต้นพืชใหม่ที่มีการเจริญเติบโต และมีโอกาสให้ผลผลิตดอกที่มีขนาดสม่ำเสมอกันเพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรนำไปปลูกเป็นไม้ตัดดอกเชิงเศรษฐกิจต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

วัดขนาดดอกลิลลี่สายพันธุ์ฟอร์โมลองโก้ (*Lilium longiflorum* var. *formolongo*) ที่ยังคงเป็นดอกตูมหรือเรียกว่าตาดอก (Flower bud) อายุ 70–75 วัน หลังปลูกด้วยหัวพันธุ์ โดยวัดจากปลายดอกจนถึงโคนดอกแล้วล้างทำความสะอาด ทำการผ่าดอกอย่างระมัดระวังไม่ให้โดนอับละอองเรณู จากนั้นนำอับละอองเรณูมาผ่าบนกระจกสไลด์ แล้วหยดสีย้อม Acetocarmine ความเข้มข้น 0.002 M จำนวน 1 – 2 หยด แล้วบี้อับละอองเรณูให้กระจายตัวด้วยปลายมีดผ่าตัด จากนั้นจึงปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วใช้วิธี Squash technique (สมศักดิ์ และสุมน, 2543) โดยนำกระดาษทิชชูพับครึ่งแล้วสอดสไลด์ให้ด้านที่มีกระจกปิดสไลด์อยู่ด้านใน กดเบาๆ ด้วยนิ้วหัวแม่มือให้อับเรณูแตกออก แบนราบกับสไลด์ ทำความสะอาดสไลด์บริเวณรอบนอกกระจกปิดสไลด์แล้วนำไปตรวจดูการพัฒนาของละอองเกสรระยะต่างๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเชิงประกอบ (Compound light microscope)

1. วางแผนการทดลอง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design: CRD) มี 4 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธี มีจำนวนการทดลอง 3 ซ้ำ ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ขนาดดอก 1.00 – 1.20 ซม.

กรรมวิธีที่ 2 ขนาดดอก 1.30 – 1.50 ซม.

กรรมวิธีที่ 3 ขนาดดอก 1.60 – 1.80 ซม.

กรรมวิธีที่ 4 ขนาดดอก 1.90 – 2.10 ซม.

2. การคำนวณเปอร์เซ็นต์ของระยะไมโครสปอร์ในดอกลิลลี่สายพันธุ์ฟอร์โมลองโก้ที่มีขนาดแตกต่างกัน

$$\% \text{ ของระยะไมโครสปอร์} = \frac{(\text{จำนวนระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์} \times 100)}{\text{จำนวนไมโครสปอร์ทั้งหมดที่นับได้ในดอกแต่ละขนาด}}$$

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์ของระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์ที่ได้ไปวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) ด้วยโปรแกรม The SPSS (Version 22.0; Bangkok, Thailand) และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัย

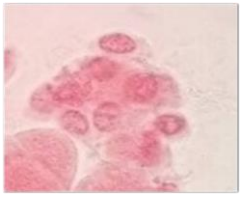
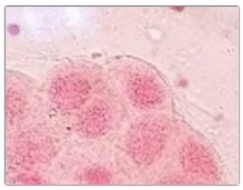
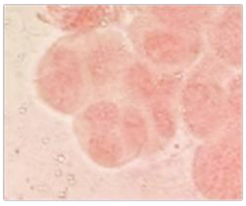
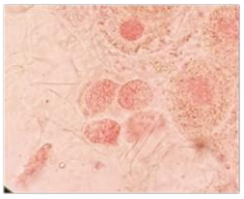
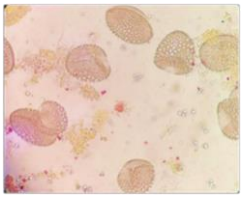
จากการศึกษาระยะการพัฒนาของไมโครปอร์ โดยแบ่งการศึกษาตามขนาดดอกตูมตั้งแต่ความยาว 1.00 – 2.10 ซม. พบค่าเปอร์เซ็นต์ของการพัฒนาในระยะต่างๆ ดังตารางที่ 1 โดยการพัฒนาของไมโครสปอร์อยู่ในระยะที่ 1 Late anaphase I – early telophase I สามารถพบได้ในดอกที่มีขนาด 1.00–1.20 ซม. มากกว่าดอกขนาดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น $p<0.05$ สำหรับการพัฒนาของไมโครสปอร์ในระยะที่ 2 Prophase II พบได้มากในดอกขนาด 1.30–1.50 ซม. ส่วนการพัฒนาของไมโครสปอร์ในระยะที่ 3 Telophase II พบได้มากในดอกขนาด 1.30–1.80 ซม. และการพัฒนาของไมโครสปอร์ในระยะที่ 4 Tetrad พบได้มากในดอกขนาด 1.60–2.00 ซม. นอกจากนี้การพัฒนาของไมโครสปอร์ในระยะที่ 5 Released microspore พบในดอกขนาด 1.90–2.10 ซม. ลักษณะการพัฒนาของไมโครสปอร์ระยะต่างๆ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ร้อยละของเซลล์ไมโครสปอร์ในดอกลิลลี่สายพันธุ์ฟอร์โมลองโก้ที่มีการพัฒนาในระยะต่างกัน

ขนาดตาดอก (ซม.)	ระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์				
	ระยะที่ 1 Late Anaphase I / Early Telophase I)	ระยะที่ 2 (Prophase II)	ระยะที่ 3 (Telophase II)	ระยะที่ 4 (Tetrad)	ระยะที่ 5 (Released microspore)
1.00 – 1.20	20.33^{a}	11.78^{b}	0^{b}	0^{b}	0^{b}
1.30 – 1.50	14.44^{b}	19.67^{a}	8.33^{a}	0^{b}	0^{b}
1.60 – 1.80	0^{c}	4.67^{bc}	4.67^{a}	16.33^{a}	0^{b}
1.90 – 2.10	0^{c}	0^{c}	0.33^{b}	18.78^{a}	18.78^{a}
P value	**	**	**	**	**

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน และ ** ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

ตารางที่ 2 ลักษณะการพัฒนาของไมโครสปอร์ในระยะต่างๆ ที่แตกต่างกันของดอกลิลลี่สายพันธุ์ฟอร์โมลองโก้

ระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์	ภาพการพัฒนาของไมโครสปอร์
ระยะที่ 1 กระบวนการพัฒนา Microsporogenesis การแบ่งเซลล์แบบ Meiosis I ระหว่างระยะ Late Anaphase I ถึงระยะ Early Telophase I **หมายเหตุ** ภายในเซลล์แต่เซลล์จะมีเพียงหนึ่งนิวเคลียส	
ระยะที่ 2 กระบวนการพัฒนา Microsporogenesis การแบ่งเซลล์แบบ Meiosis II ระยะ Prophase II **หมายเหตุ** ภายในหนึ่งเซลล์มีการแบ่งตัวของนิวเคลียสเป็นสองนิวเคลียส กลุ่มโครโมโซมติดสีเข้ม	
ระยะที่ 3 กระบวนการพัฒนา Microsporogenesis การแบ่งเซลล์แบบ Meiosis II ระยะ Telophase II **หมายเหตุ** ภายในหนึ่งเซลล์มีการแบ่งตัวของนิวเคลียสแบบทวีคูณ คือ จากสองนิวเคลียสเป็นสี่นิวเคลียส แต่ยังไม่มีการแบ่ง cytoplasm	
ระยะที่ 4 กระบวนการพัฒนา Microsporogenesis สิ้นสุดการแบ่งเซลล์แบบ Meiosis II ระยะ Tetrad **หมายเหตุ** ภายในหนึ่งเซลล์มีการแบ่งตัวของนิวเคลียสแบบทวีคูณ คือ จากสองนิวเคลียสเป็นสี่นิวเคลียส และมีการแบ่ง Cytoplasm แต่ยังอยู่ในผนัง Callose wall เดียวกัน	
ระยะที่ 5 Released microspore Early-uninucleate microspore **หมายเหตุ** อับละอองเรณูจะแตกออก ไมโครสปอร์จะหลุดออกมาและจะเริ่มมีการพัพนากลายเป็นเรณู (Pollen)	

อภิปรายผล

การพัฒนาของไมโครสปอร์อยู่ในระยะ Tetrad พบมากในดอกลิลลี่สายพันธุ์ฟอร์โมลองโก้ที่มีขนาดความยาวของตาดอก 1.90–2.10 ซม. ซึ่งเป็นขนาดดอกที่เหมาะสมในการให้ไมโครสปอร์ที่สามารถนำไปเพาะเลี้ยงด้วยวิธี Anther culture เพื่อสร้างสายพันธุ์แท้ของ *Lilium longiflorum* var. *formolongo* ได้ เนื่องจากเป็นระยะที่ใกล้เคียงกับระยะ Uninucleate microspore มาก และเป็นตาดอกที่มีขนาดเล็กกว่าตาดอกของ *Lilium longiflorum* Thunb. ซึ่งอาจต้องมีความยาว 3.00–4.60 ซม. จึงจะมี Early และ Mid uni–nucleate microspores เมื่อนำละอองเรณูเหล่านี้มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร N6 Medium ที่ผ่านการทำ Cold pretreatment ภายใต้ความมืด จะได้แคลลัสที่สามารถชักนำและพัฒนาเป็นต้นอ่อนใหม่ได้ในเปอร์เซ็นต์ที่สูง (Arzate–Fernandez et al., 1997)

ข้อเสนอแนะสำหรับการทดลองขั้นต่อไปควรนำตาดอกขนาดที่เหมาะสมจากผลการทดลองครั้งนี้ไปเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูบนอาหารสังเคราะห์ต่างชนิดกัน โดยการเติมสารส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์พืช หรือผ่านการทำ Pretreatment และสภาวะการเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูที่แตกต่างกัน เพื่อเปรียบเทียบหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่จะทำให้ได้ Double haploid callus และ Double haploid plants ตามต้องการ

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาระยะการพัฒนาไมโครสปอร์ที่สัมพันธ์กับขนาดดอกของลิลลี่ฟอโมลองโก้ พบว่า ขนาดดอก 1.90–2.10 ซม. มีระยะการพัฒนาของไมโครสปอร์อยู่ในระยะ Tetrad และ Released Microspore มากที่สุด คือ ร้อยละ 18.78 ดังนั้นดอกที่มีความยาว 1.90–2.10 ซม. จึงเป็นดอกที่มีขนาดเหมาะสมในการนำไปเพาะเลี้ยงด้วยวิธี Anther culture เพื่อสร้างสายพันธุ์แท้ของ *Lilium longiflorum* var. *formolongo* ในการนำไปส่งเสริมการปลูกเป็นไม้ตัดดอกเศรษฐกิจแก่เกษตรกร เนื่องจากมีความสม่ำเสมอของการให้ผลผลิตดอกในแปลงปลูกได้ดี

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับการสนับสนุนด้านวัสดุอุปกรณ์ในการทดลองจากสถานีเกษตรหลวงอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

เจนจิรา มาหา จรีรัตน์ มงคลศิริวัฒนา อมรทิย์ เมืองพรหม และสุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. (2560). ลักษณะเชิงโมเลกุลของยีนกำหนดรหัสโปรตีน APETALA2 ที่ตอบสนองต่อช่วงแสงในข้าว (*Oryza sativa* L.) ที่ไวและไม่ไวต่อช่วงแสง. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 25**(2), 287–301.

ลิลี.(2559). สืบค้นเมื่อ 17 กันยายน 2562, จากวิกิพีเดีย https://th.wikipedia.org/wiki/ลิลี

สมศักดิ์ อภิสิทธิวาณิช และสุมน มาสุธน. (2543). การศึกษาโครโมโซมพืชด้วยการย้อมเซลล์. **วารสารวิทยาศาสตร์สมาคมวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย, 54**(3), 178–180.

อรดี สหวัชรินทร์. (2542). **เทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช**. (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Arzate–Fernandez, A–M., Nakazaki, T., Yamaata, H. & Tanisaka, T. (1997). Production of double–haploid plants from *Lilium longiforum* Thumb. anther culture. **Plant Science, 123**(1–2), 179–187.

Guasmi, F., Elfalleh, W., Hannachi, H., Feres, K., Touil, L., Marzougui, N., Triki, T. & Ferchichi, A. (2013). Influence of Various Physical Parameters on Anther Culture of Barley. **Journal of Plant Nutrition, 36**(5), 836–847.

Han, D.–S. & Niimi, Y. (2005). Production of haploid and double haploid plants from anther–derived callus of *Lilium formosanum*. **ISHS Acta Horticulturae, 673**(2), 389–393.

Ibrahim, A. M., Kayat, F. B., Hussin, Z. E. S. M., Susanto, D. & Ariffulah, M. (2014). Determination of Suitable Microspore Stage and Callus Induction from Anthers of Kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.). **The Scientific World Journal, 2014**(1), 1–5.

Lin, M.K., Belanger, H., Lee, Y. J., Varkonyi–Gasic, E., Taoka, K., Miura, E. Xoconostle–Cázares, B., Gendler, K., Jorgensen, R. A., Phinney, B., Lough, T. J. & Lucas, W. J. (2007). FLOWERING LOCUS T protein may act as the long–distance florigenic signal in the cucurbits, **Plant Cell, 19**(5), 1488–1506.

Schaeffer, G. W. (1989). Role of Microspores and Anther Culture in Advancing Technologies. **Advances in Cell Culture, 7**, 161–182.

Wang, A.–j., Tang, J.–f., Zhao, X.–y. & Zhu, L.–h. (2008). Isolation of *LiLFY1* and its expression in lily (*Lilium longiflorum* Thunb.). **Agricultural Sciences in China, 7**(9), 1077–1083.

WCSP. (2019). **World Checklist of Selected Plant Families**. Retrieved September, 6, 2019, from http://wcsp.science.kew.org/ Royal Botanic Garden Kew Science: Kew.org.