

**KESAN PERBEZAAN KEPEKATAN HORMON 2,4-D DAN
TDZ KE ATAS PROSES SOMATIK EMBRIOGENESIS PADA
BAHAGIAN DAUN ORKID *CYMBIDIUM FINLAYSONIANUM***

NURULASHIKIN BT ABDUL JAMIL

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

**PROGRAM TEKNOLOGI TUMBUHAN
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

Mei 2008

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: KESAN PERBEZAAN KEPEKATAN HORMON 2,4-D DAN TDZ KE ATAS PROSES SOMATIK EMBRYOGENESIS PADA BAHAGIAN KERATAN DAUN ORKID CYMBIDIUM FINLAYSONIANUM
 IJAZAH: IJAZAH SARJANA MUDA SAINS (KEPUJIAN) TEKNOLOGI TUMBUHAN.

SAYA NURULASHIKIN BT ABD. JAMIL
 (HURUF BESAR)

SESI PENGAJIAN: 2007/2008

mengaku membenarkan tesis (LPSM/Sarjana/Doktor Falsafah) ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:-

1. Tesis adalah hakmilik Universiti Malaysia Sabah.
2. Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dibenarkan membuat salinan untuk tujuan pengajian sahaja.
3. Perpustakaan dibenarkan membuat salinan tesis ini sebagai bahan pertukaran antara institutis pengajian tinggi.
4. Sila tandakan (/)

SULIT

(Mengandungi maklumat yang berdarjah keselamatan atau Kepentingan Malaysia seperti yang termaktub di dalam AKTA RAHSIA RASMI 1972)

TERHAD

(Mengandungi maklumat TERHAD yang telah ditentukan oleh organisasi/badan di mana penyelidikan dijalankan)

TIDAK TERHAD

Disahkan Oleh


 (TANDATANGAN PENULIS)


 NURULAIN BINTI ISMAIL
 LIBRARIAN
 UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

Alamat Tetap: BK 52, KG. PULAU TAMBUN, 26600 PEKAN, PAHANG.

PROF. MADYA DATIN DE. MARIAM ABO. LATIP
 Nama Penyelia

Tarikh: 2/6/08

Tarikh: _____

CATATAN:- *Potong yang tidak berkenaan.

**Jika tesis ini SULIT atau TERHAD, sila lampirkan surat daripada pihak berkuasa /organisasi berkenaan dengan menyatakan sekali sebab dan tempoh tesis ini perlu dikelaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

@Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan atau disertai bagi pengajian secara kerja kursus dan Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).

**KESAN PERBEZAAN KEPEKATAN HORMON 2,4-D DAN TDZ KE ATAS
SOMATIK EMBRIOGENESIS PADA BAHAGIAN DAUN ORKID *CYMBIDIUM*
*FINLAYSONIANUM***

NURULASHIKIN BT ABDUL JAMIL

**PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

**DISERTASI INI DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN
DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS
DENGAN KEPUJIAN**

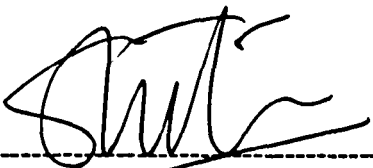
**PROGRAM TEKNOLOGI TUMBUHAN
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH**

MEI 2008

PENGAKUAN

Saya akui karya ini adalah hasil kerja saya sendiri kecuali nukilan dan ringkasan yang setiap satunya telah dijelaskan sumbernya.

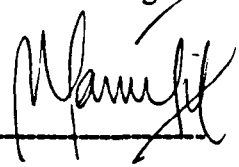
16 Mei 2008




NURULASHIKIN BT ABDUL JAMIL
HS 2004-1880

DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

1. PENYELIA**(PROF. MADYA DATIN DR. MARIAM HJ ABD. LATIP)**

2. PEMERIKSA 1**(CIK CHEE FONG TYNG)**

3. DEKAN**(SUPT/ KS PROF MADYA DR. SHARIFF A.K. OMANG)**

PENGHARGAAN

Bismillahirrahmanirrahim,

Alhamdulillah, bersyukur saya ke hadrat Ilahi di atas limpah dan kurnia dariNya, dapatlah saya menyiapkan disertasi ini. Disertasi ini sangat bermakna bagi saya kerana sudah banyak yang saya curahkan sepanjang menyiapkannya. Pelbagai cabaran dan dugaan yang telah dihadapi tetapi semuanya dapat diharungi dengan baik. Terima kasih yang tidak terhingga saya ucapkan kepada kedua ibubapa saya iaitu Tuan Haji Abdul Jamil b Hassan dan Puan Hjh.Noriahti b Mohd Shah yang banyak memberi semangat dan sokongan disepanjang hidup saya. Tidak lupa juga kepada penyelia saya iaitu Prof. Madya Datin Dr. Mariam bt Hj. Abd. Latip yang telah banyak mencurahkan ilmu, membimbing saya, dan tidak jemu-jemu menegur saya selama ini. Setiap ilmu dan nasihat Prof. akan saya jadikan pedoman dan ingatan untuk masa depan. Selain itu, orang-orang yang sentiasa menolong saya secara langsung mahupun tidak langsung seperti Cik Christina, En. Abdul Airin, dan rakan-rakan seperjuangan, Mohd. Hairi, Bee, Ayang, Kudut, Pau, Sopi, Ju, Awin, Ainul, Farah dan rakan-rakan lain yang sentiasa bersama saya baik dalam senang mahupun susah, membantu dan menguatkan semangat saya semasa saya menghadapi sebarang kesulitan.

Sekian, terima kasih.

ABSTRAK

Kajian ini dilakukan untuk mengkaji kesan kombinasi hormon 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) dan Thidiazuron (TDZ-*N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-ylurea*) terhadap somatik embryogenesis pada keratan bahagian daun *Cymbidium finlaysonianum*. Media yang digunakan adalah ½ MS bersama dengan kehadiran sukrosa sebanyak 30 g/L. Sebanyak tiga (3) kepekatan hormon 2,4-D telah digunakan iaitu 0, 3.3, 10.0 mg/L manakala kepekatan TDZ yang digunakan adalah 0, 0.1, 0.3, 0.5 dan 1.0 mg/L. Eksplan yang digunakan adalah keratan hujung daun muda dan pangkal daun muda. Parameter yang ditentukan adalah bilangan eksplan yang membentuk kalus, menghasilkan pucuk dan jasad seperti protokorm (JSP). Keputusan yang diperolehi mendapati hanya media yang ditambah dengan 0.3mg/L TDZ, dan kombinasi 3.3mg/L 2,4-D dan 0.5mg/L sahaja berjaya mengaruhkan pembentukan kalus, masing-masing dengan min 5.56% selepas 120 hari pengkulturan. Hasil kajian juga mendapati 38.89% eksplan yang dikultur pada media yang ditambah dengan 3.3mg/L 2,4-D telah menghasilkan pucuk dan 11.11% eksplan yang dikultur di dalam media yang sama telah menghasilkan JSP. Peratus kematian eksplan pada semua media adalah agak tinggi di mana untuk media yang ditambah dengan 0.1mg/L TDZ sahaja dan media dengan kombinasi 0.1mg/L TDZ dan 3.3mg/L 2,4-D mencatatkan kematian eksplan sehingga 100% selepas 100 hari dikultur.

The effect of different concentration of 2,4-D and TDZ on somatic embryogenesis process on leaf segments of *Cymbidium Finlaysonianum*.

ABSTRACT

This study was conducted to observe the effect of hormone of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and Thidiazuron (TDZ-*N-phenyl-N'-1,2,3-thidiazol-5-ylurea*) towards somatic embryogenesis on young leaf segment of *Cymbidium finlaysonianum*. The medium used was ½ MS with the presence of 30mg/L sucrose. The concentrations of 2,4-D used were 0, 3.3, and 10.0 mg/L while the TDZ were 0, 0.1, 0.3, 0.5 and 1.0 mg/L. Explants used were young leaf tip and leaf base sections. The parameters observed were the numbers of explants inducing callus, shoot, and protocorm like body (PLB). The results showed that the explants cultured in medium containing only 0.3mg/L TDZ, and combination of 3.3mg/L 2,4-D and 0.5mg/L induced callus formation, with mean of 5.56% each after 120 days in culture. The explants cultured on medium containing 3.3mg/L 2,4-D alone recorded the highest percentage producing shoots with an average 38.89% and 11.11% showed PLB formation. Results also showed that percentage of dead explants recorded from all media used was considered high. After 100 days in culture medium with 0.1mg/L TDZ alone and medium with combination of 0.1mg/L TDZ and 3.3mg/L 2,4-D showed 100% dead explants.

KANDUNGAN

	Halaman
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
SENARAI KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	xi
SENARAI RAJAH	xiii
SENARAI FOTO	xiv
SENARAI SIMBOL DAN SINGKATAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif kajian	3
BAB 2 KAJIAN LITERATUR	
2.1 Orkid di Malaysia	4
2.1.1 Ciri-ciri orkid	5
2.2 <i>Cymbidium</i>	7
2.2.1 Pertumbuhan <i>Cymbidium</i>	9

2.3	<i>Cymbidium Finlaysonianum</i>	10
2.4	Propagasi orkid	12
2.4.1	Kultur tisu orkid	13
2.4.2	Kalus	16
2.4.3	Somatik embryogenesis	17
2.4.4	Media	18
2.4.5	Keperluan orkid	
	a. Cahaya	19
	b. Suhu	20
	c. Kelembapan udara	21
	d. Pergerakan udara	22
	e. Keadaan media	22
2.4.6	Keperluan nutrisi dalam media	
	a. Garam inorganik	23
	b. Sumber karbon	24
	c. Vitamin	24
	d. Hormon pengawalatur pertumbuhan	
	i Sitokinin	25
	ii Auksin	26

BAB 3 BAHAN DAN KAEDAH

3.1	Bahan	
3.1.1	Eksplan	28
3.1.2	Media kultur	29
3.2	Kaedah	31
3.2.1	Penyediaan larutan stok MS	32
3.2.2	Penyediaan larutan stok hormon	34
3.2.3	Penyediaan media ½ MS	34
3.2.4	Pengkulturan	37
3.2.5	Subkultur	38
3.2.6	Rekabentuk eksperimen	38
3.2.6	Cerapan data	39
3.2.7	Parameter	39
3.2.8	Analisis data	39

BAB 4 KEPUTUSAN

4.1	Pengaruh somatik embriogenesis pada keratan daun <i>C. finlaysonianum</i>	
4.1.2	Perubahan eksplan pada hari ke-20 selepas kultur	41
4.1.3	Perubahan eksplan pada hari ke-40 selepas kultur	44
4.1.4	Perubahan eksplan pada hari ke-60 selepas kultur	46
4.1.5	Perubahan eksplan pada hari ke-80 selepas kultur	50
4.1.6	Perubahan eksplan pada hari ke-100 selepas kultur	52
4.1.7	Perubahan eksplan pada hari ke-120 selepas kultur	56

4.2	Bilangan tunas yang terhasil per eksplan	59
-----	--	----

BAB 5 PERBINCANGAN

5.1	Kesan rawatan terhadap perubahan eksplan	
5.1.1	Kesan hormon ke atas pertumbuhan kalus	63
5.1.2	Kesan hormon ke atas pembentukan JSP	64
5.1.3	Kesan hormon ke atas penghasilan pucuk	65
5.1.4	Kesan hormon ke atas kematian eksplan	66
5.2	Kesan kombinasi hormon TDZ dan 2,4-D ke atas perubahan eksplan	69

BAB 6	KESIMPULAN	71
--------------	-------------------	-----------

RUJUKAN	73
----------------	-----------

SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
3.1 Elemen dan komponen dalam media MS (Murashige & Skoog, 1962)	29
3.2 Kombinasi kepekatan bagi hormon 2,4-D dan TDZ	31
3.3 Jenis-jenis rawatan media dengan kombinasi hormon yang berlainan	36
4.1 Hasil ANOVA pada 20 hari selepas kultur	41
4.2 Hasil ANOVA pada 40 hari selepas kultur	44
4.3 Hasil analisis Duncan pada hari ke-40 selepas kultur bagi eksplan yang mati	46
4.4 Hasil ANOVA pada 60 hari selepas kultur	47
4.5 Hasil analisis Duncan pada hari ke-60 selepas kultur. bagi eksplan yang menghasilkan JSP	49
4.6 Hasil analisis Duncan pada hari ke-60 selepas kultur. bagi eksplan yang mati	49
4.7 Hasil ANOVA pada 80 hari selepas kultur	50
4.8 Hasil analisis Duncan pada hari ke-80 selepas kultur bagi eksplan yang mati	52
4.9 Hasil ANOVA pada 100 hari selepas kultur	54
4.10 Hasil analisis Duncan pada hari ke-100 selepas kultur bagi eksplan yang menghasilkan pucuk	54
4.11 Hasil analisis Duncan pada hari ke-100 selepas kultur bagi eksplan yang mati	55

4.11	Hasil ANOVA pada 120 hari selepas kultur	56
4.12	Hasil analisis Duncan pada hari ke-120 selepas kultur bagi eksplan yang menghasilkan pucuk	58
4.12	Hasil analisis Duncan pada hari ke-120 selepas kultur bagi eksplan yang mati	58
4.12	Hasil ANOVA terhadap bilangan tunas per piring petri yang terhasil	59

SENARAI RAJAH

No. Rajah	Muka Surat
3.1 Carta alir menunjukkan keseluruhan kerja-kerja yang dilakukan	32
4.1 Peratus eksplan yang menghasilkan kalus, pucuk, JSP dan eksplan yang mati pada 20 hari selepas kultur	42
4.2 Peratus eksplan yang menghasilkan kalus, pucuk, JSP dan eksplan yang mati pada 40 hari selepas kultur	45
4.3 Peratus eksplan yang menghasilkan kalus, pucuk, JSP dan eksplan yang mati pada 60 hari selepas kultur	48
4.4 Peratus eksplan yang menghasilkan kalus, pucuk, JSP dan eksplan yang mati pada 80 hari selepas kultur	51
4.5 Peratus eksplan yang menghasilkan kalus, pucuk, JSP dan eksplan yang mati pada 100 hari selepas kultur	53
4.6 Peratus eksplan yang menghasilkan kalus, pucuk, JSP dan eksplan yang mati pada 120 hari selepas kultur	57
4.7 Peratus bilangan tunas per piring petri yang terhasil pada hari ke-120 hari selepas kultur	60

SENARAI FOTO

No. Foto		Muka Surat
2.1	Orkid <i>Cymbidium finlaysonianum</i>	11
3.1	Eksplan yang digunakan	28
4.1	Eksplan yang membentuk JSP	43
4.2	Eksplan yang menghasilkan pucuk	43
4.3	Eksplan yang membentuk kalus	55
4.5	Eksplan yang menghasilkan lebih dari satu tunas pada hari ke-120	61

SENARAI SIMBOL DAN SINGKATAN

°C	darjah Celcius
2, 4-D	2,4- dichlorophenoxyacetic acid
ANOVA	Analisis varians
B	Boron
BA	benzyladenine
BAP	benzylaminopurine
Ca	Kalsium
cm	sentimeter
Cu	Kuprum
Fe	Ferum
g/L	gram perliter
H₂O	air
HCl	asid hidroklorik
IAA	Indoleacetic acid
IBA	indole butyric acid
IPA	isopentenyl adenosine
K	Kalium
KC	Knudson C
kPa	kilo Pascal
L	liter
Mg	Magnesium

mg/L	miligram per liter
mL	mililiter
mm	milimeter
Mn	Mangan
Mo	Molibdenum
MS	Murashige dan Skoog
N	normality
N	Nitrogen
NAA	naphtalene acetic acid
Na₂EDTA	natrium EDTA
NaOH	natrium hidroksida
P	Fosforus
PBZ	paclobutrazol
PLB	pembentukan jasad seperti protokom
S	Sulfur
SPSS	Pakej pengaturcaraan statistik
TDZ	Thidiazuron
Tria	Triacontanol
UV	ultra violet
VW	Vacin dan Went
Zn	Zink

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Orkid merupakan sejenis tumbuhan hiasan yang banyak terdapat di Malaysia terutamanya di bahagian Borneo. Genus orkid mengandungi bilangan spesies yang banyak. Namun begitu, beberapa spesies orkid telah pun pupus akibat dari proses pemodenan. Justeru, orkid yang masih tinggal ini perlu dipelihara dan dipulihara supaya tidak turut pupus. Orkid boleh dipropagasikan dengan cara seksual dan aseksual. Tumbuhan yang dipropagasi melalui biji benih akan mengambil masa yang panjang (Bose *et al.*, 1991) untuk berbunga dan pertumbuhannya pula adalah tidak seragam.

Dalam keadaan semulajadi, pertumbuhan orkid adalah satu proses yang memakan masa yang lama. Oleh itu, suatu langkah perlu diambil untuk mempercepatkan proses ini.

Penggunaan hormon ke atas orkid membantu mempercepatkan proses tumbesaran orkid tersebut. Antara hormon yang sering digunakan adalah hormon asid 2,4-diklorophenoxyacetic (2,4-D) dan Thidiazuron (TDZ).

Genus *Cymbidium* adalah genus yang paling terkenal di antara famili orkid, ia juga boleh terdapat dalam pelbagai warna yang menarik. Hal ini telah menjadikan orkid ini menjadi satu keperluan penting dalam industri tanaman hiasan dan tanaman berpasu. Kebiasaannya orkid jenis ini boleh didapati dalam tiga keadaan iaitu ditanam di tanah, hidup menumpang di atas pokok lain dan ada juga sesetengahnya hidup liar di tepi batu-batuan. Bunganya terdiri daripada pelbagai warna yang menarik iaitu putih, kuning-kehijauan, perang, merah jambu, dan merah yang boleh dilihat di hujung batang pokok dan hanya sesetengah sahaja yang boleh mengembang (Yong *et al.*, 1990).

Spesies orkid *C. finlaysonianum* adalah spesies epifit yang hidup menumpang di atas pokok lain dan membentuk seperti rumpun (Yong *et al.*, 1990). Bahagian sepal dan petal bunganya berwarna kuning-kehijauan atau kuning keperangan dan di bahagian tengahnya berwarna ungu. Pada bahagian luar pusatnya terdapat tiga kelopak sepal kira-kira 0.8 cm dan disebelah dalamnya ada dua kelopak petal. Orkid ini merupakan orkid simpodium.

Dr. Lewis Knudson dari Universiti Cornell telah memperkenalkan kaedah percambahan biji benih orkid secara asimbiotik pada tahun 1922. Sejak itu, teknik kultur tisu telah digunakan secara meluas untuk mempropagasikan spesies orkid dan hibridnya

secara besar-besaran (Rao, 1977). Cara asimbiotik bagi kultur biji benih melibatkan percambahan biji benih dan pemindahan anak pokok yang sedang tumbuh ke dalam satu medium agar yang mengandungi segala nutrien tumbuhan yang diperlukan oleh tumbuhan tersebut di bawah keadaan aseptik.

Propagasi secara *in vitro* membolehkan percambahan embrio orkid yang tidak matang di samping memendekkan kitaran pertumbuhan. Hal ini adalah disebabkan orkid yang dikulturkan berada di dalam persekitaran yang terkawal dan tiada persaingan dengan kulat atau bakteria. Spesies orkid *Cymbidium* telah menjadi orkid yang pertama dikulturkan dengan menggunakan hujung daun sebagai eksplan.

1.2 Objektif Kajian

Objektif kajian ini adalah:

1. Mengkaji kesan hormon 2,4-D dan TDZ ke atas proses somatik embriogenesis pada keratan bahagian daun orkid *C. finlaysianum*.
2. Menentukan kepekatan hormon secara individu atau kombinasi yang paling sesuai ke atas proses somatik embriogenesis pada keratan bahagian daun orkid *C. finlaysianum*.

BAB 2

KAJIAN LITERATUR

2.1 Orkid di Malaysia

Pelbagai jenis spesies orkid yang boleh didapati di Malaysia. Di Kepulauan Borneo, terdapat 2500 hingga 3000 spesies orkid dan sebanyak 34.4% adalah endemik (Chan *et al.*, 1994).

Orkid tergolong dalam famili Orchidaceae, iaitu famili yang terbesar bagi tumbuhan berbunga. Di Malaysia, terdapat sebanyak 220 genus dengan 1, 750 spesies orkid. Iklim Malaysia yang bersuhu tinggi dan seragam, berkelembapan tinggi dan kadar hujan yang tinggi sepanjang tahun menggalakkan pembentukan hutan hujan tropika yang 20% daripadanya adalah merupakan habitat orkid epifitik dan daratan. Walau bagaimanapun, bilangan spesies ini semakin berkurangan. Ini kerana, usaha-usaha pembukaan hutan yang semakin berleluasa untuk tujuan pembangunan. Oleh itu, usaha pemuliharaan orkid perlu dilakukan supaya tumbuhan unik ini tidak pupus secara berterusan (Abd. Karim & Hairani, 1989).

2.1.1 Ciri-ciri Orkid

Terdapat dua jenis orkid yang utama iaitu epifitik dan daratan. Kebanyakan orkid di kawasan temperat terdiri daripada orkid daratan dan orkid yang terdapat dikawasan tropika adalah orkid epifit. Selain dua jenis orkid ini, terdapat juga orkid yang tumbuh di atas batu-batuan, dan orkid dari jenis ini dipanggil orkid litofit. Jika dilihat dari corak pertumbuhannya, orkid boleh dibahagikan kepada dua kumpulan, iaitu monopodial dan simpodial.

Orkid monopodial termasuklah orkid-orkid dari genus *Vanda*, *Angraecum*, *Aerides*, *Phalaenopsis* dan *Doritis* (Margaret *et al.*, 1991). Perkataan monopodial ini berasal dari bahasa Greek iaitu *mono-* yang bermaksud satu dan *podo-* yang bermaksud kaki. Ini merujuk kepada orkid yang mempunyai hanya satu batang dan kesemua daunnya akan tumbuh di sepanjang batang tersebut. Orkid jenis ini tidak mempunyai pseudobulb dan juga merupakan orkid jenis memanjat.

Orkid simpodial pula terdiri daripada genus *Cattleya*, *Dendrobium*, *Lycaste*, *Oncidium*, *Cymbidium*, *Odontoglossum*, *Encyilia*, *Epidendrum*, *Coelogyne* and *Phaius* (Margaret *et al.*, 1991). Perkataan simpodium ini berasal daripada bahasa Greek iaitu *sym-* yang juga bermaksud satu dan *podo-* yang bermaksud kaki. Gabungan perkataan ini merujuk kepada suatu bahagian orkid yang dipanggil pseudobulb ataupun bebawang palsu kerana ia membengkok pada bahagian pangkal batang.

Bahagian batang ini akan menyimpan makanan dan air yang membolehkan orkid jenis ini terus hidup walaupun keadaan persekitaran panas dan kering. Batang pokok ini bersambung pada bahagian rizom iaitu pada bahagian bawah orkid. Kebanyakan spesies orkid termasuk di dalam kumpulan simpodial ini.

Secara umumnya bunga orkid akan terdiri daripada sepal, petal, stamen dan pistil. Gabungan stamen dan pistil dinamakan sebagai kolum. Bunga orkid kebiasaannya akan mempunyai tiga kelopak sepal pada bahagian luar dan dua kelopak petal pada bahagian dalam. Kelopak petal yang ketiga akan terubahsuai membentuk satu struktur yang dipanggil labelum atau bibir. Debunga orkid terletak di dalam pundi yang dikenali sebagai polinia dan ovari bunga boleh terdapat pada bahagian bawah petal. Kapsul biji benih orkid boleh menghasilkan diantara 1,000 hingga 1,000,000 biji benih.

Kecantikan dan keunikan bentuk dan warna bunga-bunga orkid membuatkan ramai peminat orkid telah menjadikan bunga orkid sebagai koleksi tanaman mereka. Mereka juga akan sentiasa mencari dan menambahkan spesies-spesies baru dalam koleksi mereka (Rebecca *et al.*, 1990).

RUJUKAN

- Abdul Karim A. G., & Hairani H., 1989. *Perambatan Orkid Melalui Kultur Tisu*. Universiti Kebangsaan Malaysia, Bangi.
- Arditti, J., 1967. Factors Affecting The Germination of Orchid Seeds. *The Botanical Review*, Vol. 33. University of California. California. 1-30.
- Arditti, J., & Ernst, R., 1993. *Micropropagation of Orchids*. John Wiley and Sons, Inc.
- Arditti, J., & Goh, C. J., 1981. Tissue culture of orchids. *Australia*. 64-67
- Arditti, J., & Harrison, C. R., 1978. Physiological Changes During The Germination of *Cattleya aurantica* (Orchidaceae). *Botanical Gaz.* 139 (2). University of Chicago. 180-189.
- Bajaj, Y. P. S., 1977. Protoplast isolation, culture and somatic hybridization. Dlm: Reinert, J. Dan Bajaj, Y. P. S. (pnyt.) *Applied and Fundamental Aspectss of Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Springer-Verlag, Berlin, 467-496.
- Biondi, S., & Thorpe, T. A., 1981. *Plant Tissue Culture: Methods and Applications in Agriculture*. Academic Press Inc., New York.

- Bose, T. K., Mitra, S. K. & Sadhu, M. K., 1991. *Propagation of Tropical and Subtropical Horticultural Crops*. Naya Prokash, Calcutta.
- Capelle, S. C., Mok, D. W. S., Kirchner, S. C. & Mok, M. C., 1983. Effects of Thidiazuron on cytokinin autonomy and the metabolism of N⁶-(Y²-isopentyl) [8-14c] adenosine in callus tissues of *Phaseolus lunatus* L. *Plant Physiol* 73, 796-802.
- Chan, C. L., Lamb, A., Shim, P. S., & Word, J. J., 1994. *Orchids of Borneo: Introduction and A Selection of Species*, Vol. 1. Royal Botanic Gardens Kew. England. 243-249.
- Chang, C. & Chang, W. C., 1998. Plant regeneration from callus culture of *Cymbidium ensifolium* var. *misericors*. *Plant Cell Rep.* 19, 143-149.
- Chen, J. T., & Chang, W. C., 1999. Direct somatic embryogenesis on leaf explants of *Oncidium Gower Ramsey* and subsequent plant regeneration. *Plant Cell Rep.* 19, 143-149.
- Chen, J. T., & Chang, W. C., 2000. Effects of Thidiazuron on bud development of *Cymbidium sinesens* Wild *in vitro*. *Plant Cell Regulation* 30, 171-175.

- Chen, J. T., Chang C., & Chang, W. C., 2002. Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from callus cultures of *Oncidium* (Orchidaceae). *Plant Science* **160** (2160), 87-93.
- Comber. J. B., & Betham, 1990. *Orchids of Java*, Royal Botanic Garden Kew.
- Dillon, G. W., 1963. Simple rules of orchid culture. *How to grow orchids*, Bull. March. American Orchid Society.187-189.
- Debergh, P. C., & Meane, L. J., 1981. A scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Hortikultur* **14**, 335-345.
- Fasolo F., Zimmerman R. H. dan Fordman, I., 1989. Adventitious shoot formation on excised leaves of *in vitro* grown shoots of apple cultivars. *Plant Cell Tissue Org. Cultivar*. **16**, 75-87.
- Fay, M. F., 1992. Conservation of rare and endangered plants using *in vitro* methods. Dlm: *In cellular and Development Biology*. 1-4.
- Huetteman, C. A. Dan Precce, J. E., 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell Tissue Org. Culture*. **33**, 105-119.
- Johri, M. M., dan Mitra, D., 2001. Action of plant hormones. *Current Science* **80**, 199-205.

- Le, B. V., Phuong N. T. H. L. T. A., & Van, K. T. T., 1999. High frequency shoot regeration from *Rhynchostylis gigantea* (Orchidaceae) using thin cell layers. *Plant Growth Regulations* 28, 179-185.
- Lim-Ho, C. L., & Lee, G. C., 1987. Clonal propagation of *Oncidium* from dormant buds on flower stalks. *Malay Orchids Review*. 22, 495-497.
- Lu. C. Y., 1993. The use of Thidiazuron in tissue culture. *In-vitro cell dev Biol* 29, 92-96.
- Margaret, H., Paine, R., & Anderson, N., 1991. *Letts Guide to Orchids of the World*. Charles Letts & Co Ltd., England.
- Mok, M. C., Mok, D. W. S., Armstrong, D. J., Shudo K., Isogai Y., & Okamoto T, 1987. Cytokinin activity of N-phenyl-N-1,2,3-thi-diazol-5-yl urea (thidiazuron). *Phytochemistry* 21, 1509-1511.
- Murashige, T. & Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiology Plant* 15,472.
- Murthy, B. N. S., Murch, S. J. & Praveen K. Saxena, 1998. Review Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. *Society for in vitro Biology*, 98, 1071-2690.

Nurain M. R., 1999, *Siri Tanaman Bunga-bunga Dalam Landskap: Orkid*. Dewan Bahasa & Pustaka, Kuala Lumpur.

Oluf L. G., & Jerry P. S., 1981. Nutrition, media and characteristics of plant cell and tissue cultures. Dlm: Stefania Biondin and Trevor A. Tharpe (pnyt.) *Plant Tissue Culture*. Academic Press, New York, 21-43.

Park, S. Y., Yeung, E. C., Chakrabarthy, D., & Paek, K. Y., 2002. An efficient direct induction of protocorm like bodies from leaf subepidermal cells of *Doritaenopsis* hybrid using thin section culture. *Plant Reports* 21, 46-51.

Pindell, A., & Miczynski, K., 1996. Regeneration og *Cymbidium* orchids from leaf and root explants. *Folia Horticulture* 8, 95-105.

Randall, P. N., & Michael, G. B., 2001. Control of *in Vitro* contamination of explants from greenhouse and field-grown tress. *In Vitro Cell: Dev. Biol.* US Department of Agriculture. 468-471.

Rao, A. N., 1977. Tissue culture in the orchid industry. Dlm: Reinert, J. & Bajaj, Y. P. S. (pnyt.) *Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Springer-Verlag, Berlin, 44-69.

- Rebecca, Tyson, dan Northen., 1990. *Home Orchid Growing*, 4th Edition Revised Edition. Prentice Hall Press. New York. 9-129, 305-313.
- Ruth, A. T., Margie, A. T., Joseph, O. F. III, & Roberta, H. S., 1991. *Mycobacterium scrofulaceum*: a bacterial contaminant in plant tissue culture. *Plant Science*, 78. Elsevier Scientific Publishers Ireland Ltd., Ireland. 231-235.
- Stewart, J., 1989. Orchid propagation by tissue culture techniques-past, present and future. Dlm: Pritchard, H. W. (pnt.) *Modern Methods in Orchid Conservation – The Role of Physiology, Ecology, and Management*. Cambridge University Press, Cambridge, 87-100.
- Teo, C. K. H., 1978. Methods of aseptic culture in orchid propagation. *Proc. Symp on orchidology*, 1978, Orchid Soc. S. E. Asia, Singapore, 56-59.
- Teo, C. K. H., dan Neumann, K. H., 1978. The culture of protoplast isolated from *Renantanda* Rosalind Cheok. *Orchid Rev.* 86, 156-158.
- Thorpe, T. A., 1978. *Plant Tissue Culture, Methods and Applications in Agriculture*. Department of Biology, University of Calgary.
- Vermeulen, J. J., 1991. *Orchids of Borneo*. Volume 2. Print & Co, Kuala Lumpur.

Yeomann, M. M., 1973. Tissue (callus) Cultures – Techniques. Dlm: Street H.E. (pnyt.)

Plant Tissue and Cell Cultures. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 31-58.