

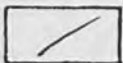
BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: MIKROPROPAGASI PAPHOPEPILUM ROTHSCHILDIANUMIjazah: SARJANA MUDA SAINS DENGAN KEPUJIANSESI PENGAJIAN: 2004 / 2005Saya SHOW YOONG THE

(HURUF BESAR)

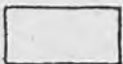
mengaku membenarkan tesis (~~LPS~~ Sarjana/Doktor Falsafah)* ini disimpan di Perpustakaan Universiti Malaysia Sabah dengan syarat-syarat kegunaan seperti berikut:

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 institusi pengajian tinggi.
4. **Sila tandakan (/)



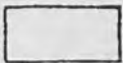
SULIT

(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

show the
(TANDATANGAN PENULIS)

DR. ZALEHA ABO AZIZ
(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: 2, LEBUH TEMBOK 4,
TAMAN PERMAI,

DR. ZALEHA ABO AZIZ
Nama Penyelia

30010 IPOH, PERAK

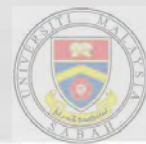
Tarikh: 28.3.2005

Tarikh: 28.3.2005

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 disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



4000006570

HADIAH



MIKROPROPAGASI *PAPHIOPEDILUM*
ROTHSCHILDIANUM

SHOW YOONG THE

PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

✓ PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2005

PERPUSTAKAAN UMS



1400006570



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

MIKROPROPAGASI *PAPHIOPEDILUM ROTHSCILDIANUM*

SHOW YOONG THE

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

PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

MAC 2005

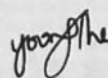


UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN

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

31 Mac 2005



SHOW YOONG THE

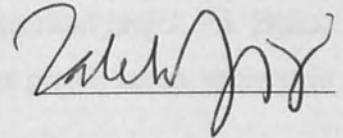
HS 2002-3119



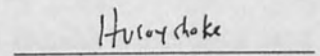
DIPERAKUKAN OLEH

Tandatangan

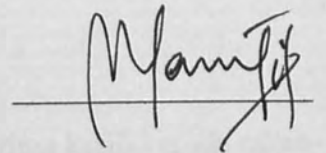
1. PENYELIA
(DR. ZALEHA ABDUL AZIZ)



2. PEMERIKSA 1
(PROF. DR. HO COY CHOKE)



3. PEMERIKSA 2
(PROF. MADYA DR. MARIAM ABDUL LATIP)



4. DEKAN
(PROF. MADYA DR. AMRAN AHMED)



PENGHARGAAN

Terlebih dahulu, saya ingin merakamkan jutaan terima kasih kepada penyelia projek tahun akhir saya, Dr. Zaleha Abdul Aziz kerana beliau telah memberi nasihat, bimbingan dan dorongan kepada saya sepanjang tempoh pelaksanaan projek ini. Beliau juga memberi tunjuk ajar dan pimpinan kepada saya sehingga projek tahun akhir saya dapat disiapkan dengan sempurna.

Di samping itu, saya ingin memberi penghargaan yang tinggi kepada Puan Rokiah Ibrahim dan Puan Radizah selaku pembantu makmal yang telah banyak membantu saya dalam penyediaan bahan bagi melicinkan pelaksanaan projek saya. Kerjasama daripada mereka amat dihargai. Saya juga ingin mengucapkan terima kasih kepada Cik Roseline yang banyak memberi tunjuk ajar dan nasihat kepada saya.

Tidak dilupakan juga saya ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada rakan-rakan seperjuangan saya yang sentiasa berada di sisi saya dan sedia memberi segala bantuan, sokongan dan galakan kepada saya bagi menyiapkan projek saya.

Akhir sekali, jutaan terima kasih ingin saya sampaikan kepada keluarga saya yang tersayang yang sentiasa memberi sokongan moral dan semangat kepada saya bagi menjayakan projek tahun akhir saya.



ABSTRAK

Objektif kajian ini adalah untuk memultiplikasikan protokorm-protokorm orkid *Paphiopedilum rothschildianum*. Protokorm-protokorm *P. rothschildianum* yang berumur tiga bulan dari tarikh pengkulturan biji benih yang dikulturkan dalam medium percambahan digunakan sebagai eksplan. Protokorm-protokorm dikulturkan dalam medium Murashige dan Skoog (MS) dengan kepekatan penuh dan separuh yang mempunyai kombinasi hormon asid 1-napthaleneasetik (NAA) dengan kepekatan 1.6 μM dan 6-benzilaminopurine (BAP) pada kepekatan yang berlainan iaitu 13 μM , 44 μM , 132 μM dan 222 μM digunakan untuk mengkaji kesan terhadap multiplikasi pucuk daripada protokorm-protokorm *P. rothschildianum*. Pengkulturan protokorm-protokorm *P. rothschildianum* dalam medium $\frac{1}{2}$ MS yang mempunyai kombinasi 1.6 μM NAA dengan 13 μM BAP dan 44 μM BAP dapat menggalakkan proliferasi pada protokorm dan perkembangan plantlet berbanding kepekatan BAP yang lain. Dalam medium $\frac{1}{2}$ MS dengan 1.6 μM NAA dengan 13 μM BAP dan 44 μM BAP, terdapat tiga protokorm yang mengalami proliferasi selepas 60 hari pengkulturan. Pengaruh pucuk daripada protokorm-protokorm *P. rothschildianum* juga bergantung kepada bahan tambahan seperti arang. Kesan penambahan arang dalam medium $\frac{1}{2}$ MS didapati merangsang pertumbuhan protokorm-protokorm dan perkembangan plantlet berbanding medium MS tanpa penambahan arang.

ABSTRACT

The objective of this research was to multiply the protocorms of *Paphiopedilum rothschildianum*. The protocorms of *P. rothschildianum* after three months from the date of seed cultured were used as explants. The protocorms were cultured on full and half strength of Murashige and Skoog (MS) media supplemented with combination of 1-naphthalene acetic acid (NAA) at 1.6 μ M and 6-benzylaminopurine (BAP) at the concentrations of 13 μ M, 44 μ M, 132 μ M and 222 μ M for induction of the multiplication of protocorms. The combination of 1.6 μ M NAA with 13 μ M BAP and 44 μ M BAP in half strength of MS medium stimulated the proliferation of protocorms and development of the protocorms into plantlets. There were three protocorms proliferated in the half strength of MS medium supplemented of 1.6 μ M NAA with 13 μ M BAP and 44 μ M BAP after 60 days of incubation. The induction of shoot from protocorms of *P. rothschildianum* also depends on supplementation of activated charcoal. The additional of activated charcoal in half strength of MS medium enhanced protocorms proliferation and the development of plantlets as compared to the full strength of MS media without additional of activated charcoal.



KANDUNGAN

	Muka Surat
HALAMAN JUDUL	i
PENGAKUAN	ii
PENGESAHAN	iii
PENGHARGAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KANDUNGAN	vii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI FOTO	xi
SENARAI SIMBOL	xii
SENARAI UNIT	xiii
SENARAI SINGKATAN	xiv
SENARAI LAMPIRAN	xv
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Pengenalan	1
1.2 Objektif kajian	3
 BAB 2 ULASAN LITERATUR	 4
2.1 Genus <i>Paphiopedilum</i>	4
2.2 Ciri-ciri umum orkid selipar	5
2.3 <i>Paphiopedilum rothschildianum</i>	6
2.4 Biji benih dan protokorm orkid	8
2.5 Mikropropagasi	9
2.6 Faktor-faktor yang mempengaruhi mikropropagasi orkid	10
2.6.1 Kominasi medium	10

a.	Komponen-komponen tak organik	11
b.	Vitamin	12
c.	Sumber karbon	13
d.	Hormon	15
e.	Arang	18
f.	Bahan kompleks tambahan	19
2.6.2	pH	21
2.6.3	Keamatan cahaya dan suhu	22
2.7	Kebaikan mikropropagasi	23
2.8	Masalah mikropropagasi	25
2.9	Aplikasi mikropropagasi dalam industri orkid	27
BAB 3 METODOLOGI		29
3.1	Bahan	29
3.1.1	Protokorm	29
3.1.2	Medium	31
3.2	Kaedah	32
3.2.1	Penyediaan larutan stok	32
3.2.2	Penyediaan larutan stok hormon	34
3.2.3	Penyediaan medium pengkulturan protokorm	35
3.2.4	Pengkulturan protokorm	37
BAB 4 KEPUTUSAN		39
4.1	Multiplikasi protokorm <i>P. rothschildianum</i> dalam medium MS	40
4.2	Multiplikasi protokorm <i>P. rothschildianum</i> dalam medium ½ MS	42
4.3	Multiplikasi protokorm <i>P. rothschildianum</i> dalam medium MS dengan kombinasi hormon 2,4-D dan TDZ	52



BAB 5 PERBINCANGAN	56
5.1 Kesan kombinasi hormon NAA dan BAP ke atas multiplikasi protokorm	57
5.1.1 Multiplikasi protokorm <i>P. rothschildianum</i> dalam medium MS	58
5.1.2 Multiplikasi protokorm <i>P. rothschildianum</i> dalam medium ½ MS	60
5.2 Multiplikasi protokorm <i>P. rothschildianum</i> dalam medium MS dengan kombinasi hormon 2,4-D dan TDZ	62
5.3 Kesan penggunaan arang ke atas multiplikasi protokorm <i>P. rothschildianum</i>	63
5.4 Faktor-faktor yang lain mempengaruhi multiplikasi protokorm	65
 BAB 6 KESIMPULAN	 68
 RUJUKAN	 70
 LAMPIRAN	 74



SENARAI JADUAL

No. Jadual	Muka Surat
3.1 Jenis-jenis rawatan yang digunakan dalam medium MS	32
4.1 Bilangan protokom yang menghasilkan pucuk dan mati yang dikulturkan dalam kombinasi medium MS dan vitamin MT (Huang <i>et al.</i> , 2001) dengan kombinasi 1.6 μ M NAA dan kepekatan BAP (μ M) yang berlainan bagi suatu tempoh pengkulturan tertentu.	46
4.2 Bilangan protokom yang mengalami perubahan berdasarkan kombinasi 1.6 μ M NAA dan kepekatan BAP (μ M) yang berlainan dalam medium $\frac{1}{2}$ MS bagi suatu tempoh pengkulturan.	47
4.3 Kombinasi bagi kepekatan hormon 2,4-D dan TDZ yang berlainan yang digunakan dalam medium MS untuk multiplikasi protokorm <i>P. rothschildianum</i> .	52
4.4 Bilangan protokom yang menghasilkan pucuk dan mati berdasarkan kepekatan 2,4-D dan TDZ (μ M) dalam medium MS (Chen <i>et al.</i> , 2004) mengikut tempoh pengkulturan tertentu.	55

SENARAI FOTO

No. Foto		Muka Surat
3.1	Protokorm-protokorm <i>P. rothschildianum</i> yang bercambah daripada biji benih dalam medium percambahan.	30
3.2	Protokorm <i>P. rothschildianum</i> yang telah bercambah daripada biji benih dalam medium percambahan yang diperhatikan di bawah mikroskop stereo.	30
4.1	Protokorm <i>P. rothschildianum</i> yang bercambah dalam medium percambahan biji benih diperhatikan di bawah mikroskop stereo.	39
4.2	Protokorm <i>P. rothschildianum</i> dikulturkan dalam medium ½ MS tanpa hormon NAA dan BAP.	48
4.3	Pengkulturan protokorm <i>P. rothschildianum</i> dalam medium ½ MS dengan 1.6 µM NAA dan 13 µM BAP.	49
4.4	Pengkulturan protokorm <i>P. rothschildianum</i> dalam medium ½ MS dengan 1.6 µM NAA dan 44 µM BAP.	50
4.5	Protokorm <i>P. rothschildianum</i> dikulturkan dalam medium ½ MS dengan 1.6 µM NAA dan 222 µM BAP.	51

SENARAI SIMBOL

=	bersamaan
&	dan
pH	darjah keasidan
/	per atau bahagi
%	peratus
±	tambah tolak
-	hingga
°C	darjah Selsius



SENARAI UNIT

mm	milimeter
cm	sentimeter
m	meter
ml	mililiter
l	liter
mg	miligram
g	gram
μM	mikromolar
mM	milimolar
M	molar
μl	mikroliter
mmol l^{-1}	milimol per liter
w/v	berat per isipadu
v/v	isipadu per isipadu

SENARAI SINGKATAN

HCl	Asid hidroklorik
NaOH	Natrium hidroksida
IAA	Asid indole-3-asetik
IBA	Asid indole-3-butrik
NAA	Asid 1-naphthaleneacetik
2,4-D	Asid diklorofenoloksiacetik
BAP	6-benzilaminopurin
BA	6-benziladenin
TDZ	Thidiazuron
B5	Gamborg
MS	Murashige dan Skoog, 1962
MT	Murashige dan Tucker, 1969



SENARAI LAMPIRAN

Lampiran A	Medium MS (Murashige dan Skoog, 1962)
Lampiran B	Vitamin MT (Murashige dan Tucker, 1969)
Lampiran C	Medium MS yang mempunyai vitamin MT (Huang <i>et al.</i> , 2001)
Lampiran D	Medium ½ MS
Lampiran E	Medium MS (Chen <i>et al.</i> , 2004)



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Orkid merupakan salah satu jenis bunga hiasan yang cantik dan menarik. Bunga orkid mempunyai kepelbagaian yang banyak dari segi saiz, bentuk dan warna bunga-bunganya serta taburan yang luas. Secara taksonominya, bunga orkid mewakili famili Orchidaceae yang muncul dengan banyaknya antara tumbuhan monokotiledon, dan sangat besar antara famili bagi tumbuhan berbunga dengan 600-800 genera dan 25 000-35 000 spesies (Garay, 1960; Schultes dan Pease, 1963 dan Sheehan, 1983).

Lamb (1996) menganggarkan Borneo mempunyai 2500-3000 spesies orkid dalam 150 genera dan Sabah mempunyai kira-kira 1500-2000 spesies orkid dalam 143 genera di mana sekurang-kurangnya 30% adalah spesies-spesies yang endemik. Lamb juga menganggarkan bahawa Gunung Kinabalu mempunyai lebih daripada 1000 spesies bunga orkid dalam 126 genera (Lamb, 1996). Orkid-orkid selipar bagi genus *Paphiopedilum* mewakili sekurang-kurangnya lima spesies dalam Taman Kinabalu termasuk *P. rothschildianum* yang endemik (Wood *et al.*, 1993).

Teknik-teknik pengkulturan tisu telah menjadi semakin popular dan berguna sebagai kaedah alternatif bagi tujuan propagasi vegetatif bagi tumbuhan. Kaedah propagasi yang biasa digunakan iaitu secara percambahan biji benih, penyediaan keratan batang, pembelahan pseudobulb serta pembahagian pucuk dan keiki (plantlet) yang telah lama diamalkan memerlukan masa yang lebih panjang. Teknik-teknik mikropropagasi secara mempunyai beberapa kebaikan yang signifikan berbanding kaedah tradisional. Teknik-teknik kultur tisu dapat mengurangkan masa propagasi terutamanya bagi spesies-spesies yang mempunyai permintaan tinggi dan menghasilkan tumbuhan yang bebas daripada penyakit dan bilangan tumbuhan yang banyak daripada satu tumbuhan sahaja.

Kemajuan dalam sains dan teknologi yang moden telah membangunkan pengkulturan orkid secara komersil melalui pembenihan biji benih secara *in vitro* dan kultur meristem. Pada masa kini, perkembangan teknik-teknik pengkulturan dalam industri orkid telah membangunkan dan meningkatkan kualiti orkid, kajian fisiologikal, pemuliharaan, penyimpanan biji benih orkid dan sebagainya. Teknik-teknik mikropropagasi juga telah menjadi berguna dan penting dalam industri orkid secara komersil.

Keistimewaan bunga orkid telah mewujudkan permintaannya yang tinggi sehingga banyak spesies orkid seperti *Bulbophyllum*, *Cypripedium*, *Paphiopedilum* dan *Phalaenopsis* semakin berkurangan pada kadar yang membimbangkan. Kepupusan orkid-orkid ini disebabkan berlakunya pengumpulan bunga-bunga orkid dari habitat asalnya secara haram dan berleluasa. Di samping itu, pemusnahan habitat bunga-bunga orkid,

pembakaran dan pembukaan hutan untuk aktiviti-aktiviti pembangunan juga merupakan faktor-faktor pempupusan spesies-spesies bunga orkid.

Pada masa kini, populasi bagi *P. rothschildianum* semakin berkurangan di habitat asalnya kerana berlakunya pemusnahan habitatnya. Oleh sebab itu, *P. rothschildianum* merupakan salah satu jenis flora yang mendapat perlindungan dan jagaan daripada Taman Negara Kinabalu. Teknik-teknik kultur tisu secara *in vitro* merupakan salah satu cara untuk memelihara dan melindungi orkid ini daripada pupus. Selain daripada itu, biji benih bagi *P. rothschildianum* susah bercambah secara semula jadi di habitatnya. Orkid *P. rothschildianum* juga mengambil masa yang panjang untuk dibiak secara vegetatif. Justeru itu, pelbagai bahagian bagi orkid ini, termasuk biji benih, daun, pucuk, akar dan kudup bunga digunakan sebagai eksplan dan dikulturkan secara *in vitro*.

1.2 Objektif kajian

Objektif bagi projek ini adalah menilai kombinasi hormon dan media yang sesuai untuk multiplikasi protokorm-protokorm orkid *Paphiopedilum rothschildianum*.



BAB 2

ULASAN LITERATUR

2.1 Genus *Paphiopedilum*

Pfitzer memperkenalkan genus *Paphiopedilum* pada tahun 1886 dan membahagikan orkid selipar kepada empat genera (Comber, 2001). *Paphiopedilum* digolongkan dalam subfamili Cypripedioideae. *Cypripedium*, *Paphiopedilum*, *Phragmipedium*, dan *Selenipedium* merupakan genera dalam subfamili Cypripedioideae. Genus *Paphiopedilum* mempunyai tujuh subgenera iaitu *Barbata*, *Cochlopetalum*, *Coryopedilum*, *Paphiopedilum*, *Pardalopetalum*, *Brachypetalum* (*Concoloria*) dan *Parvisepalum* (Cribb, 1998).

Paphiopedilum berasal daripada bahasa Greek. ‘Paphian’ yang merujuk kepada gelaran bagi *Aphrodite* (atau Venus) manakala ‘pedilon’ bermaksud selipar. *Paphiopedilum* dikenali sebagai orkid selipar di mana bahagian bawah kelopak bunga berbentuk seperti selipar. Taburan bagi genus *Paphiopedilum* adalah dari India Selatan, Nepal, Bhutan, India Timur Laut dan Burma menyeberangi China Selatan ke Hong Kong, Asia Tenggara, Kepulauan Malaya, Filipina, New Guinea dan Kepulauan Solomon.

2.2 Ciri-ciri umum orkid selipar

Orkid selipar adalah berbeza daripada orkid-orkid yang lain dalam struktur bunganya: kehadiran bibir dan mempunyai dua anter dapat memberi perbezaan yang penting dan nyata (Cribb, 1997). Orkid selipar merupakan tumbuhan teresterial, litofita atau epifit. Corak pertumbuhan bagi orkid selipar adalah simpodial di mana pertumbuhannya berterusan dengan penukaran ranting-rantingnya. Setiap pertumbuhan ranting adalah terhad dan membentuk pseudobulb yang menghasilkan beberapa daun, di mana pertumbuhannya berhenti apabila gugusan bunga-bunga terbentuk.

Orkid-orkid selipar mempunyai daun-daun yang menarik. Daun-daun *Paphiopedilum* mempunyai berbagai-bagai bentuk seperti daun yang lurus secara mendatar atau berbentuk bujur yang berwarna hijau atau ditandai oleh tompok-tompok warna yang berbeza-beza. Pada lazimnya, susunan daun-daunnya adalah berbentuk seperti kipas dalam dua barisan. Susunan bunga-bunga pada batang *Paphiopedilum* adalah secara menegak yang mempunyai satu atau lebih bunga.

Bunga-bunga bagi orkid *Paphiopedilum* adalah besar dan beraneka warna dan corak. Bunga-bunga orkid selipar mempunyai sepal dorsal yang tegak manakala sepal-sepal lateralnya digabung bersama untuk membentuk satu *synsepal* yang terpaut di belakang bibir. Petal-petalnya yang terbentang luas adalah lebih panjang daripada sepal-sepal. Bibir bagi orkid selipar adalah berbentuk seperti selipar atau kantung yang

kembang dan mendalam. Bentuk-bentuk dan corak-corak bagi daun dan bunga dapat membezakan spesies-spesies orkid selipar dalam genus *Paphiopedilum*.

2.3 *Paphiopedilum rothschildianum*

Taman Negara Kinabalu mempunyai lima jenis spesies orkid selipar yang terdiri daripada genus *Paphiopedilum* iaitu *P. dayanum*, *P. hookerae*, *P. javanicum*, *P. lowii* dan *P. rothschildianum*. Empat daripada spesies-spesies tersebut adalah tumbuhan litofita dan satu (*P. lowii*) adalah tumbuhan epifit (Wood *et al.*, 1993). Antara spesies-spesies tersebut, *P. rothschildianum* adalah satu-satunya orkid selipar yang jarang dijumpai di sekitar Gunung Kinabalu.

P. rothschildianum dikategorikan dalam subgenus *Coryopedilum* (Cribb, 1998). Nama *P. rothschildianum* berasal daripada gelaran seorang yang terhormat dari Victoria iaitu Baron Ferdinand de Rothschild (Chan *et al.*, 1994). *P. rothschildianum* dikenali sebagai *aristocrat of all the Slipper Orchids* dan dijumpai oleh John Whitehead di Gunung Kinabalu pada tahun 1894 (Lamb, 1996).

P. rothschildianum merupakan tumbuhan teresterial atau litofita yang tumbuh di permukaan batuan yang curam. Pada lazimnya, *P. rothschildianum* tumbuh dalam kelompok yang besar. Struktur pertumbuhan bagi orkid selipar ini adalah secara simpodial, di mana pemanjangan batang adalah terhad dan terbatas pada satu tahap

tertentu seperti orkid-orkid selipar yang lain. Pertumbuhan yang baru dilanjutkan pada rizom yang pendek. Tunas yang baru akan tumbuh dari rizom tersebut.

P. rothschildianum mempunyai 2 hingga 4 bunga-bunga yang besar pada batangnya yang tegak. Bunga-bunga berbulu pada tengah-tengah uratnyanya dan berwarna hijau atau kuning muda dengan berjalur ungu. Sepal dorsal, *synsepal* dan petal-petalnya berwarna putih kekuning-kuningan dengan uratnyanya yang berwarna kuning dengan merah keperangan. Petal-petalnya yang lebar dan terbentang luas adalah seperti gaya penari tarian Sumazau yang lemah gemalai. Bibirnya berwarna kuning keemasan dan meliputi warna ungu. Daun-daun bagi *P. rothschildianum* adalah berwarna hijau dan tidak padat pada dasar batangnya (Cribb, 1998).

Orkid selipar ini tumbuh di kawasan yang bertanah gambut atau di permukaan batu dan biasanya tumbuh di kawasan yang bercahaya atau terteduh di bawah pokok-pokok yang rendah. *P. rothschildianum* hanya didapati di tiga kawasan lereng curam sekitar Gunung Kinabalu tetapi pada masa kini, satu daripada kawasan tersebut telah pupus. Habitat-habitat bagi *P. rothschildianum* di sekitar Gunung Kinabalu menghadapi ancaman akibat daripada aktiviti-aktiviti pembalakan, perlombongan, perpindahan kawasan pertanian serta pengumpulan orkid secara haram dan berleluasa.

RUJUKAN

- Arditi, J. dan Ernst, R., 1993. *Micropropagation Of Orchids*. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Bajaj, Y.P.S., 1991. *Biotechnology in Agriculture and Forestry 17: High-Tech and Micropropagation I*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York.
- Bajaj, Y.P.S., 1992. *Biotechnology in Agriculture and Forestry 20: High-Tech and Micropropagation IV*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York.
- Banks, D.P., 1999. *Tropical Orchids of Southeast Asia*. Periplus Editions (HK) Ltd.
- Bhojwani, S.S. dan Razdan, M.K., 1983. *Plant Tissue Culture: Theory and Practice*. Elsevier Science Publisher B.V.
- Chan, C.L., Lamb, A., Shim, P.S. dan Wood, J.J, 1994. *Orchid of Borneo Vol. 1: Introduction and A Selection of Species*. The Sabah Society, Kota Kinabalu, Sabah.
- Chen, T.Y., Chen, J.T. dan Chang, W.C., 2002. Multiple Shoot Formation And Plant Regeneration From Stem Nodal Explants Of *Paphiopedilum* Orchids. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* **38**, 595-597.
- Chen, T.Y., Chen, J.T. dan Chang, W.C., 2004. Plant regeneration through direct shoot bud formation from leaf cultures of *Paphiopedilum* orchids. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **76**, 11-15.



- Cribb, P., 1997. *Slipper Orchids of Borneo*. Natural History Publications (Borneo) Sdn. Bhd, Kota Kinabalu, Sabah.
- Cribb, P., 1998. *The Genus Paphiopedilum*. Ed. ke-2. Natural History Publications (Borneo) Sdn. Bhd., Kota Kinabalu, Sabah.
- Comber, J.B., 2001. *Orchids of Sumatra*. Natural History Publication (Borneo), Kota Kinabalu, Sabah.
- Elliott, J., 2002. *Orchid Growing In The Tropics*. Ed. Times. Orchid Society of South East Asia, Singapore.
- Endress, R., 1994. *Plant Cells Biotechnology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York.
- Ernst, R., 1974. The Use of Activated Charcoal in Asymbiotic Seedling Culture of *Paphiopedilum*. *America Orchid Society*, 35-38.
- Gamborg, O.L. and Philips, G.C., 1995. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture: Fundamental Methods*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York.
- Garay, L. A., 1960. On the origin of the Orchidaceae. *Bot Mus Leaflets Harv Univ* **19**, 57-96.
- George, E.F., 1993. *Plant Propagation by Tissue Culture: Part 1 The Technology*. Exegetics Limited, England.
- George, E.F., 1993 dan 1996. *Plant Propagation by Tissue Culture: Part 2 In Practice*. Exegetics Limited, England.



- Huang, L.C., Lin, C.J., Kou, C.I., Huang, B.L. dan Murashige, T., 2001. Paphiopedilum Cloning In Vitro. *Scientia Horticulture* **91**, 111-121.
- Kyte, L. dan Kleyn, J., 1999. *Plants From Test Tubes: An Introduction to Micropropagation*. Ed. ke-3. Timber Press, Inc., USA.
- Lamb, A., 1996. *Orchids*. Wong, K.M. dan Philipps, A. (ed), *Kinabalu: Summit of Borneo*. The Sabah Society, Kota Kinabalu.
- Lin, Y.H., Chang, C. dan Chang, W.C., 2000. Plant regeneration from callus of a *Paphiopedilum* hybrid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **62**, 21-25.
- Razdan, M.K., 1993. *An Introduction To Plant Tissue Culture*. Intercept, Andover, Hampshire, UK.
- Reinert, J. dan Bajaj, Y.P.S., 1995. *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture*. Ed. ke-4. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin Heidelberg.
- Schultes, R.E. dan Pease, A.S., 1963. *Generic names of orchids, their origin and meaning*. Acad Press, New York.
- Saiprasad, G.V.S., Raghuveer, P., Khetarpal, S. dan Chandra, R., 2003. Effect of various polyamines on production of protocorms-like bodies in orchid-*Dendrobium* 'Sonia'. *Scientia Horticulturae*, 1-8.
- Sebanek, J., 1992. *Plant Physiology*. Elsevier Science Publisher, Amsterdam.
- Sheehan, T.J., 1983. Recent advances in botany propagation and physiology of orchids. In: Janick J (ed) *Hortic Rev* **5**, 279-315



- Smith, H. dan Mantell, S.H., 1983. *Plant Biotechnology*. Cambridge University Press.
- Thorpe, T.A., 1981. *Plant Tissue Culture: Methods And Applications In Agriculture*. Academic Press Inc., London.
- Wong, K.M. dan Chan, C.L., 1997. *Mount Kinabalu: Borneo's Magic Mountain An Introduction To The Natural History of One of The World's Great Natural Monuments*. Natural History Publications (Borneo) Sdn. Bhd, Sabah.
- Wood, J.J., Beaman, R.S. dan Beaman J.H., 1993. *The Plants of Mount Kinabalu 2: Orchids*. Royal Botanic Garden, Kew.

