

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: kesan aditif terhadap germinasi *Coelosyne swaniang* dan
kesan hormon terhadap pembentukan kalus *Vanda dearei*

Ijazah: Sarjana Muda Bioteknologi

SESI PENGAJIAN: 2004 / 2005

Saya JUDITH NG

(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

Judith Ng

(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: Kg Kohiduan Duvanson,
Jalan Ketiau, 89507

Dr. Jualan Azlan Gansau
 Nama Penyelia

Penampang

Tarikh: 01 / 04 / 2005

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



400000



HADIAH

KESAN ADITIF TERHADAP GERMINASI *Coelogyne swaniana* DAN KESAN
HORMON TERHADAP PEMBENTUKAN KALUS *Vanda dearei*

JUDITH NG

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DISERTAI YANG DIKEMUKAKAN UNTUK MEMENUHI SEBAHAGIAN
DARIPADA SYARAT MEMPEROLEHI IJAZAH SARJANA MUDA SAINS
DENGAN KEPUJIAN DALAM BIOTEKNOLOGI

PROGRAM BIOTEKNOLOGI
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2005

PERPUSTAKAAN UMS



1400006390



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGAKUAN PEMERIKSA**DIPERAKUKAN OLEH**

1. PENYELIA

(Dr. Jualang Abdullah Gansau)



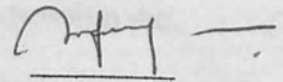
2. PEMERIKSA 1

(Dr. Zaleha Aziz)



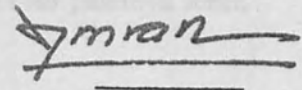
3. PEMERIKSA 2

(Dr. Wong Nyet Kui)



4. DEKAN SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI

(Prof. Madya Dr. Amran Ahmed)



PENHARGAAN

Setinggi-tinggi penghargaan diucapkan kepada Dr. Jualang Azlan Gansau selaku penyelia saya disertai dengan kesudian beliau memberi peluang untuk menjalankan kajian ini di bawah bimbingan, sokongan, tunjuk ajar dan teguran yang membina di sepanjang kajian ini dijalankan. Selain itu, ucapan terima kasih juga dirakamkan kak Rokiah sebagai pembantu makmal Sekolah Sains dan Teknologi Universiti Malaysia Sabah yang banyak membantu menyediakan bahan dan radas bagi kajian ini. Ucapan terima kasih juga kepada kak Roslina dan rakan-rakan seperjuangan yang banyak memberi dorongan dan membantu dalam dalam penulisan ini. Kepada pihak yang terlibat secara langsung atau tidak dalam menyiapkan kajian dan penulisan ini. Tanpa kalian, kajian ini pastinya lebih sukar bagi saya.



ABSTRAK

Kajian ini dijalankan untuk mengkaji kesan hormon terhadap pengaruh kalus bagi *Vanda dearei* dan kesan aditif terhadap germinasi *Coelogyne swaniana*. Pucuk daun, bahagian tengah daun, hujung daun dan akar *Vanda Dearei* digunakan sebagai eksplan. Kedua-dua kajian ini menggunakan media VW (Vacin and went). Eksplan ini dikultur ke atas media VW (Vacin and Went) dalam keadaan steril dengan kepekatan hormon BAP dan NAA yang berbeza, iaitu pada 0.5 μm , 1 μm dan 2 μm . Kombinasi dari dua hormon turut digunakan iaitu pada 0.5 μm BAP disertai dengan 1 μm NAA dan 1 μm BAP yang disertai 0.5 μm NAA. Rawatan hormon 0.5 μm BAP+ 1 μm NAA didapati sebagai hormon yang berpotensi untuk membentuk kalus dalam masa 40 hari. Manakala hormon NAA dengan kepekatan 2 μm tidak menunjukkan sebarang pembentukan kalus. Di samping itu, akar *Vanda Dearei* turut didapati sebagai eksplan yang terbaik berbanding daun untuk membentuk eksplan. Kajian untuk mengkaji kesan aditif terhadap germinasi *Coelogyne swaniana* tidak memberikan sebarang keputusan. Ini berkemungkinan biji benih yang digunakan adalah tidak matang.



ABSTRACT

A study on the effect additive on germination of *Coelogyne swaniana* and the effect of hormone on the callus induction of *Vanda dearei*. Leaf bases, leaf tips and the center leaves were used as explants and inoculated onto Vacin and Went media with varying concentrations of BAP and NAA is 0.5 μm , 1 μm and 2 μm and the combination of this 2 hormone. The combination hormone treatment with 0.5 μm BAP + 1 μm NAA is the most potential hormone for callus induction in 40 days. The root was found to be a potential hormone with the concentration for callus induction of *Vanda Dearei*. Besides that, a root of *Vanda dearei* was also found as the best eksplant to be used in callus induction. The previous study about the effect aditift treatmernt on germination of *Coelogyne swaniana* have failed. This is because the seed that been used is not matured.



2.4	Biji-Benih Dan Kultur Embrio	8
2.4.1	Germinasi	8
2.4.2	Germinasi dan kemasangai biji benih	10
2.4.2	Pembentukan kalus	11
2.4.3	Ciri-ciri pertumbuhan kalus	12
2.5	Media VW (Vain and Went)	13
2.5	Peranan Aktif Dalam Pertumbuhan Dan Perkembangan Biji Benih	14
2.6	Peranan Hormon Terhadap Pengaruh Kalus	15
	KANDUNGAN	
		iii
PENGAKUAN		17
PENGESAHAN		iv
PENHARGAAN		v
ABSTRAK		vi
ABSTRACT		vii
SENARAI KANDUNGAN		viii
SENARAI JADUAL		xi
SENARAI GAMBAR FOTO		xii
SENARAI SIMBOL		xiii
BAB 1	PENDAHULUAN	1
BAB 2	ULASAN PERPUSTAKAAN	6
2.1	<i>Coelogyne swaniana</i>	6
2.2	<i>Vanda dearei</i>	7
2.3	Teknik Tisu Kultur Dan Mikropropagasi	7



2.4	Biji Benih Dan Kultur Embrio	8
2.4.1	Germinasi	8
2.4.2	Germinasi dan kematangan biji benih.	10
2.4.2	Pembentukan kalus	11
2.4.3	Ciri-ciri pertumbuhan kalus	12
2.5	Media VW (Vacin and Went)	13
2.6	Peranan Aditif Dalam Percambahan Dan Perkembangan Biji Benih	14
2.6	Peranan Hormon Terhadap Pengaruh Kalus	15
BAB 3	BAHAN DAN RADAS	17
3.1	Sumber Eksplan	17
3.2	Penyediaan Stok Media	18
3.3	Penyediaan Media Kultur	19
3.4	Penyediaan Rawatan	20
3.4.1	Kesan aditif terhadap percambahan dan perkembangan biji benih	20
3.4.2	Kesan hormon terhadap pengaruh kalus	22
3.5	Pensterilan Eksplan	23
3.5.1	Kesan aditif terhadap percambahan dan perkembangan biji benih	23
3.5.2	Kesan hormon terhadap pengaruh kalus	23
3.6	Pengkulturan Eksplan	24
3.5	Pencerapan Data	25



BAB 4 HASIL DAN PERBINCANGAN

- 4.1 Kesan Aditif Terhadap Percambahan Dan Perkembangan Biji Benih *Coelogyne swaniana* 26
- 4.2 Kesan Hormon Terhadap Pengaruh Kalus *Vanda dearei*. 30

Jadual 1: Masa untuk biji benih orkid matang

BAB 5 KESIMPULAN 39

Jadual 2: Komponen bagi media VW (Vacin and Went)

RUJUKAN 41

Jadual 3 : kepekatan dan kuantiti bagi komponen media VW 20

Jadual 4: Kepuasan peratus (%) eksplan membentuk kalus selepas 30 hari 30

Jadual 5: Kepuasan peratus (%) eksplan membentuk kalus selepas 34 hari 32

Jadual 6: Kepuasan peratus (%) eksplan membentuk kalus selepas 30 hari 33



SENARAI JADUAL:

Jadual 1: Masa untuk biji benih orkid matang selepas 2 minggu	11
Jadual 2: Komponen bagi media VW (Vacin and Went)	19
Jadual 3 : kepekatan dan kuantiti bagi komponen media VW	20
Jadual 4: Keputusan peratus (%) eksplan membentuk kalus selepas 30 hari	30
Jadual 5: Keputusan peratus (%) eksplan membentuk kalus selepas 34 hari	32
Jadual 6: Keputusan peratus (%) eksplan membentuk kalus selepas 30 hari	33



SENARAI SIMBOL

SENARAI FOTO:

BAF	Foto 1: Kesan aditif terhadap percambahan biji benih bago <i>Coelogyne swaniana</i>	27
NAA	selepas 12 minggu	
PLB	Foto 2: Kesan hormon terhadap pengaruh kalus bagi <i>Vanda dearei</i>	36
µg		
µM		
(v/v)		
(w/v)		
%		



BAB I
SENARAI SIMBOL

BAP	6-Benylaminopurine
NAA	α -Naphthaleneacetic acid
PLB	protocorm like body
Cm	sentimeter
μ g	mikrogram
μ m	mikromolar
(v/v)	volume/ volume
(w/v)	weight/ volume
%	peratus



BAB 1

PENDAHULUAN

Orkid merupakan bunga yang mudah ditemui di setiap kawasan di bumi, walaubagaimanapun bilangan dan kepadatan orkid adalah berbeza bergantung kepada latitud suatu kawasan. Sebanyak 3000 spesies telah direkodkan di Columbia, 660 di Mexico, 100 di Amerika Syarikat dan hanya 14 di Alaska. Manakala di Britain adalah sebanyak 53 spesies (Lecoufle,1993). Borneo dianggarkan mempunyai 148 hingga 450 genera orkid iaitu merangkumi 10% dari jumlah spesies dunia (Lamb,191).

Untuk beberapa dekad, orkid boleh didapati dalam pelbagai saiz, bentuk, warna serta haruman yang merupakan simbolik ke pada misteri dan luar biasa. Dengan reputasi ini, orang awam telah menyedari kelebihan orkid dan sekaligus menggalakkan industri orkid hibrid. Beberapa fakta menarik mengenai orkid turut disertakan, iaitu:

- I. Orkid dianggarkan mempunyai 25,000-30,000 spesies di di seluruh dunia. Ini memungkinkan famili orkid (Orchidaceae) adalah famili terbesar iaitu lebih besar



- dari famili bunga matahari (Asteraceae), famili rumput (Poaceae), famili bunga mawar (Rosaceae) dan famili kekacang (Fabaceae).
- II. Orkid dipercayai menduduki semua habitat termasuk hutan tropika hingga tebing laut, kawasan tundra hingga kawasan yang setengah gurun.
 - III. Bunga orkid digambarkan bunga yang kepelbagaian dan pelik di dunia. Ini kerana bunga orkid boleh didapati dalam pelbagai bentuk, warna yang digambarkan memiliki setiap warna pelangi disertai dengan wangian flora yang kepelbagaian.

Coelogyne swaniana adalah tumbuhan epifit, iaitu tumbuhan yang menumpang pada tumbuhan lain untuk mendapatkan sumber makanan dan perlindungan. Orkid epifit dianggap sebagai satu model tumbuhan yang menarik untuk dikaji dari aspek pertumbuhan dan metabolisme (Marion, 1979).

Vanda dearei merupakan satu spesies endemik Borneo. *Vanda dearei* mempunyai nilai komersial yang tinggi kerana mempunyai bau wangi di samping memiliki bunga bewarna kuning tanpa tompokan yang mencacatkan. *Vanda dearei* berbunga setiap tahun tetapi spesies ini perlu sentiasa terdedah pada suhu yang panas secara konsisten (Williams dan Kramer, 1980).

Germinasi orkid dilakukan di dalam makmal disebabkan benih orkid kurang bercambah secara semulajadi. Ini kerana hubungan orkid dengan kulat yang begitu spesifik menyebabkan hanya beberapa benih yang terjatuh di kawasan yang terdapat kulat tertentu yang akan membekalkan keperluan nutrien akan bercambah. Germinasi

orkid di dalam makmal dapat membantu memperbanyakkan jumlah anak benih orkid yang bercambah (Hodgson et al. 1991).

Sejak Moerl (1960) melaporkan mengkultur hujung pucuk *Cymbidium*, banyak genus orchidaceae dilaporkan menggunakan teknik tisu kultur melalui sistem efisien mikropropagasi. Kebanyakan orkid komersial yang penting telah melalui propagasi menggunakan teknik tisu kultur untuk membentuk PLB (protocorm like body) atau kalus. Pada kebanyakan spesies tumbuhan, regenerasi tumbuhan dari tisu kalus, terutama sekali kalus embriogenik yang dianggap mempunyai 'totipotent' yang tinggi, iaitu kemampuan sel tumbuhan untuk menghasilkan tumbuhan baru setelah dikultur di dalam media yang sesuai telah dikenalpasti sebagai salah satu teknik asas untuk mikropropagasi dan aplikasi dari bioteknologi. Bagi orkid, laporan yang berjaya terhadap regenerasi dari kalus embriogenik adalah terhad. Sajise dan Sagawa (1991) membuat laporan pertama melalui pembentukan kalus dari *Phalaenopsis* tanpa penerangan yang terperinci mengenai kaedah pembentukan kalus (Ichihashi, 1992). Bagi *Phalaenopsis*, pembentukan kalus dihasilkan melalui PLB (protocorm like body) yang telah dikultur dari bahagian daun, pucuk dan batang tumbuhan (Ishii et al., 1998).

Kajian saya melibatkan dua spesies iaitu *Coelogyne swaniana* dan *Vanda dearei*. Kedua-dua spesies mempunyai kepentingan yang bebezanya. Diantara kepentingan kedua-dua spesies ini ialah:



I. Minyak wangi

Vanda Dearei adalah orkid yang sesuai untuk dikomersialkan dari aspek minyak wangi. Ini kerana *Vanda Dearei* mempunyai wangian flora yang mengagumkan. Tambahan pula pada ketika ini minyak wangi menjadi satu kemestian bagi masyarakat pada masa kini. Bidang ini semakin berkembang dengan munculnya lagi aromaterapi, iaitu pelbagai wangian digunakan untuk merangsangkan beberapa saraf untuk tujuan kesihatan.

II. Komersial

Coelogyne swaniana dan *Vanda deraei* mempunyai nilai komersial, walaubagaimanapun *Vanda dearei* mendahului *Coelogyne* dalam aspek ini. Ini kerana *Vanda dearei* mempunyai bunga yang besar dan disukai ramai dan *Vanda* sebenarnya merupakan antara genera yang banyak diusahakan dalam industri sebagai orkid hibrid. *Coelogyne* cuba dikomersialkan beberapa pihak dengan kelebihan sebagai orkid tropika yang kurang memerlukan penjagaan rapi di samping keunikan tersendiri yang ada pada orkid ini.

III. Perubatan

Bidang ini kurang mendapat perhatian kerana tidak mempunyai kajian saintifik yang tetap. Walaubagaimanapun, masyarakat india dan cina menggunakan *Coelogyne* sebagai ubat gigi dan ubat penahan sakit.



Berikut adalah objektif kajian saya :

- I. Mengkaji kesan air kelapa, jus tomato dan ekstrak pisang terhadap germinasi *Coelogyne swaniana*
- II. Mengkaji kesan hormon NAA (α -Naphthaleneacetic acid) dan BAP (6-Benylaminopurine) terhadap pembentukan kalus *Vanda dearei*.

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 *Coelogyne swaniana*

Coelogyne swaniana adalah sejenis orkid epifit tropika yang berasal di altitud 3000 meter dari paras laut. Orkid epifit mempunyai akar dan epidemis yang telah dibesarkan supaya lebih sesuai untuk penyerapan air. Batang akar bagi orkid epifit turut sama, dan dibesarkan untuk penyerapan air, maka batang orkid epifit adalah lebih besar dan sebalik atau pseudobulb.

Coelogyne swaniana mempunyai sepal dan kelopak bunga yang berwarna putih atau krim yang menghalu ke bawah, manakala bahagian bawah kelopak bunga adalah berwarna kuning keperangan. Warna ini berbeza dengan beberapa kal. warna putih, kelopak warna coklat terang apabila diletakkan di bahagian atas. Bahagian bawah mempunyai 7 hingga 9 urat besar dengan panjang 2.5- 3.35 x 0.54- 0.65cm, manakala bahagian sisi sepal mempunyai 3 hingga 7 urat dan, berbentuk kelai dan tajam di bahagian hujung. *Coelogyne swaniana* mempunyai daun yang hijau dengan 3.5(7) urat



BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 *Coelogyne swaniana*

Coelogyne swaniana adalah sejenis orkid epifit tropika yang berada di altitud 2000 meter dari paras laut. Orkid epifit mempunyai akar dan epidermis yang telah diubahsuai supaya lebih sesuai untuk penyerapan air. Batang akar bagi orkid epifit turut sama, iaitu diubahsuai untuk penyerapan air, maka batang orkid epifit adalah lebih besar dan tebal atau pseudob.

Coelogyne swaniana mempunyai sepal dan kelopak bunga yang berwarna putih atau krim yang menghalo ke bawah, manakala bahagian bawah kelopak bunga adalah berwarna kuning keperangan. Warna ini berselang dengan beberapa kali warna putih, terdapat warna coklat terang apabila diteliti di bahagian apeks. Bahagian bawah mempunyai 7 hingga 9 urat daun dengan panjang 2.5- 3.33 x 0.55- 1.05cm. manakala bahagian sisi sepal, mempunyai 5 hingga 7 urat daun, berbentuk bulat dan tajam di bahagian hujung. *Coelogyne swaniana* mempunyai daun yang bujur dengan 3. 5 (-7) urat



daun utama, 7.5- 40 x 1.8-10cm dengan 3.5- 14.5cm panjang. Mempunyai rizom yang panjang dan menjalar, berbentuk agak lebar serta mempunyai panjang 3.5- 14.5cm (Dudley Clayton, 2002).

2.2 *Vanda dearei*

Vanda adalah bahasa sanskrit yang digunakan untuk menggambarkan orkid vandaceous yang tumbuh di kawasan asalnya. Vanda adalah monopodial dan tergolong dalam orkid epifit yang boleh dibahagikan kepada 2 kumpulan berdasarkan ciri-ciri daun. Kumpulan pertama mempunyai daun yang berbentuk (strap-shaped) dan yang kedua adalah 'terete leaves'. Vanda mempunyai bunga sepanjang 1-4 inci dan popular kerana sering digunakan sebagai korsaj. Sepalnya adalah sama bentuk dan warna dengan sepal dorsal dan selaunya lebih luas.

Selain itu, spesies dikatakan mempunyai haruman floral yang disukai ramai di samping warna yang kuning tanpa warna lain yang mengubah warna bunga ini.

2.3 Teknik Tisu Kultur Dan Mikropropagasi

Propagasi secara komersial berdasarkan teknik tisu kultur telah dimulakan di Amerika Syarikat. Pada 30 tahun yang lalu, tisu kultur berdasarkan propagasi tumbuhan telah muncul sebagai salah satu teknologi pertanian global. Di antara tahun 1986 dan 1993, pengeluaran tumbuhan tisu kultur telah meningkat sebanyak 50%, dan begitu juga



tahun berikutnya. Pada tahun 1990-1994, industri mikropropagasi melanda eropah disebabkan permintaan pengeluaran eropah telah meningkat.

2.4 Biji Benih Dan Kultur Embrio

Kejayaan kajian Knudson (1951) terhadap *Cymbidium* menyebabkan ramai pengkaji kini menggunakan teknik Knudson dan mula melakukan percambahan orkid dalam bikar dan tabung uji di bawah keadaan makmal.

Kajian ini telah dilakukan samada untuk mengkaji kesan pertumbuhan dan percambahan biji benih melalui propagasi, terutama orkid hibrid untuk tujuan komersial.

2.4.1 Germinasi

Germinasi adalah satu proses apabila lapisan testa benih dilembutkan dengan air dan suhu tertentu diwujudkan. Secara ringkas, definisi mudah bagi germinasi adalah perubahan atau perkembangan biji benih kepada proses percambahan benih.

Benih orkid adalah kecil, bewarna terang dan dihasilkan dalam kuantiti yang banyak. Jumlah benih boleh mencapai sehinggalah 3000 benih dalam 1 kapsul. Secara purata, panjang benih adalah 0.05mm hingga 6.0mm. manakala, lebar benih adalah sekitar 0mm dan berat benih boleh mencapai 0.31 μ g hingga 24 μ g (Arditti dan Abdul Karim, 2000).



Benih orkid tidak mempunyai simpanan makanan. Benih ini bergantung kepada sejenis kulat untuk hidup. Apabila benih orkid menjadi lembap, ia akan terbuka dan mula tumbuh sebagai satu tumbuhan yang baru. Walaubagaimanapun, jika tidak terdapat kulat pada masa tersebut, benih orkid akan mati. Perhubungan antara kulat dan benih orkid akan membantu proses pertumbuhan kedua-dua pihak iaitu melalui pembentukan mycorrhiza.

Semasa germinasi, benih orkid memerlukan sumber karbon dan sebagainya. Ini disebabkan ketiadaan simpanan makanan menyebabkan benih tidak mempunyai tenaga yang tersimpan. Setelah orkid membentuk kloroplas, orkid boleh membentuk gula sendiri.

Terdapat 6 tahap perkembangan benih orkid untuk membentuk plantlet dari proses germinasi, iaitu:

- I. Benih yang belum tergeminati
- II. Benih yang membengkak
- III. Protokom
- IV. Protokom membesar dengan tumbuhnya 1 daun
- V. Protokom membesar dengan tumbuhnya 2 daun
- VI. Plantlet membesar dan membentuk sistem akar



2.4.2 Germinasi dan kematangan biji benih.

Terdapat beberapa laporan menunjukkan biji benih yang tidak matang boleh digerminasi. Orkid milik kepada 11 genera iaitu *Aerides*, *Brassacola*, *Cattleya*, *Doritis*, *Epindrium*, *Oncidium*, *Phalaenopsis*, *Renanthera*, *Broughtania*, dan *Vanda* adalah contoh orkid yang boleh digerminasi walaupun biji benih adalah tidak matang. Bergantung kepada genus atau spesies kajian, masa terpendek bagi biji benih adalah 40-85 hari untuk biji benih matang dan boleh dikulturkan.

Biji benih *Cattleya aurantica* mengalami germinasi di bawah keadaan terang dan germinasinya adalah terencat jika dikulturkan tanpa cahaya. Protokom terbentuk dalam masa 6 minggu. Selepas 7 minggu, kultur ini dipindahkan dari keadaan tanpa cahaya kepada keadaan bercahaya. Kemudian, germinasi orkid berkembang kepada protokom. Bagi *Vanda*, perkembangan pod adalah lengkap dalam masa 16-17 minggu, menghasilkan biji benih yang matang. Biji benih dikultur dari pod yang berusia 2 minggu pada medium yang dtambahkan dengan jus tomato atau air kelapa menunjukkan biji benih yang tidak matang mengalami germinasi lebih kurang 4-6 minggu lebih awal.



Jadual 1: Masa untuk biji benih orkid matang

Genus	Masa untuk biji benih matang	Masa biji benih boleh dikultur	Rujukan
Dendrodium	270-360 hari	120 hari	Ito (1955)
Dendrodium	95 hari	69 hari	Nimoto dan Sagawa (1960)
Phalaenopsis	130-150 hari	90 hari	Rao dan Avadhansi (1964)
Vnda	110-120 hari	50 hari	Withner (1955)
Vanilla	150-180 hari	60 hari	

2.4.2 Pembentukan kalus

Tisu yang belum terorganisasi seperti akar dan atau stem boleh berubah dengan cepat dan membentuk sekumpulan sel yang belum membahagi iaitu kalus. Maka, dapat disimpulkan definisi bagi kalus adalah sekumpulan sel yang belum membahagi atau mengalami perbezaan.

Tisu yang telah terorganisasi seperti akar atau stem boleh berubah kepada proliferasi kalus sekiranya dikultur yang mengandungi spesifik hormon untuk tumbesaran seperti IAA, NAA, IBA, BTOA, 2,4-D, kinetin dan hormon yang diterbitkan dari purine.



RUJUKAN

Altman, A., 1998. *Agricultural Biotechnology*. Marcel Dekker, INC.

Arditti, J., dan Abdul Karim Abdul Ghani. 2000. *Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications*. New Phyto

Dudley Clayton, 2002. *The Genus Coelogyne A Synopsis*. Natural History Publications

Hodgson, m., Anderson dan Paine., 1991. *Lets Guide To Orchids Of The World*. Charles Letts & Co. Ltd. london

Lamb, A., 1991. *Orchid of sabah and Sarawak*. Dlm Kiew,R. (Ed.)

Lecoufle. M,1993. *Orchids Care and Cultivation*. Cassell Publishers Limited.

Ichihashi, S., 1992. Micropropagation of Phalaenopsis through the culture of lateral buds from young flower stalks. *Lindleyana*

Ishii, Y. Takamura, dan Tanaka, M., 1998. Callus induction and somatic embryogenesis of Phalaenopsis. *Plant Cell Report*



- Marion., 1979. *Orchids Genera Illustrated*. Van Nostrand Reinhold Company. New York
- Pridgeon, A. dan Marrison. A., 1992. *Orchids Of The World*. Kevin Weldan & Associates Pty. Ltd. Sydney
- Reinsert. J, dan Bajaj. Y.P.S., 1976. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Narosa Publishing House. New Delhi
- Teoh, E.G., 1989. *Orchids Of Asia*. Times Book International
- Triigiano. N, dan Raton Boca, 1999. *Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory*.
- Mukherji, S., dan Ghosh A.K., 1996. *Plant Physiology*. Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited. New Delhi
- Thimann, K. V., 1935. On The Plant Growth Hormone Produced By *Rhizopus sinuis.*, J. *Biol. Chem.*
- Srivasta,.L. M., 2002. *Plant growth and development*. Academic Press
- Williams. B., Kramer. J., 1980. *Orchids For Everyone*. Salamander Books Ltd. England

