

4000006650



HADIAH

KESAN HORMON KE ATAS PEMBENTUKAN JASAD SEPERTI PROTOKOM
PADA SEGMENT HUJUNG DAUN, PANGKAL DAUN DAN
HUJUNG AKAR, ORKID
CYMBIDIUM FINLAYSONIANUM

ZURIDA BINTI ISHAK

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

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PROGRAM TEKNOLOGI TUMBUHAN
SEKOLAH SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

2005

PERPUSTAKAAN UMS



1400006650



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

BORANG PENGESAHAN STATUS TESIS@

JUDUL: KUAN HORMON KELASAS PEMBENTUKAN JASA D SEPERTIPROTOKOL PADA SEGmen HUJUNG DAUN, PANGKAL DAUN DAN
HUJUNG AKAR ORKEO CYMBIDIUM FINLAYSONIANUM.Ijazah: SAINS DAN TEKNOLOGI TUMBUHANSESI PENGAJIAN: 2002 ~ 2005Saya ZURIDA BINTI ISNAK,

(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 hak milik 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



(TANDATANGAN PENULIS)

(TANDATANGAN PUSTAKAWAN)

Alamat Tetap: NO 26, JALAN LEBOR TAMAN DATI,
TAMAN MERU JAYA, JELAPANG,
30020 IPOH PERAK.DR MARIAM BT ABD LATIF

Nama Penyelia

Tarikh: 28.3.05

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 diklasaskan sebagai SULIT dan TERHAD.

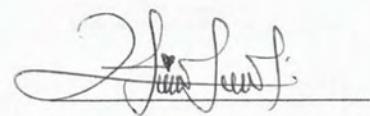
@ Tesis dimaksudkan sebagai tesis bagi Ijazah Doktor Falsafah dan Sarjana secara penyelidikan, atau disertasi bagi pengajian secara kerja kursus dan penyelidikan, atau Laporan Projek Sarjana Muda (LPSM).



PENGAKUAN

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

21 Februari 2005



ZURIDA BINTI ISHAK

HS2002-4149



UMS
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

DIPERAKUKAN OLEH

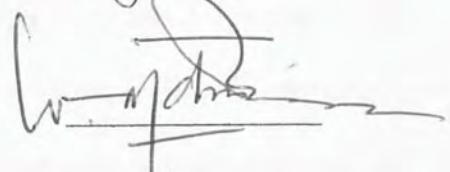
Tandatangan

1. PENYELIA

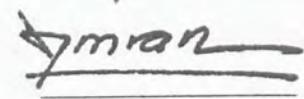
(Prof. Madya Dr. Hajah Mariam Abd Latip)

**2. PEMERIKSA 1**

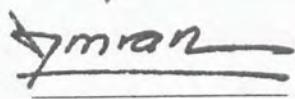
(Dr Jualang @ Azlan Bin Gansau)

**3. PEMERIKSA 2**

(Dr Wan Mohammad Bin Wan Othman)

**4. DEKAN**

(Prof. Madya Dr. Amran Ahmad)

**UMS**
UNIVERSITI MALAYSIA SABAH

PENGHARGAAN

Bersyukur ke hadrat Ilahi kerana dengan izinnya dan limpah kurniaNya dapat juga akhirnya saya menyiapkan projek tahun akhir ini walaupun dengan penuh rintangan dan dugaan. Saya juga ingin mengucapkan jutaan terima kasih kepada Prof Madya Dr Hjh Mariam Abd Latip selaku penyelia saya dalam projek ini yang banyak memberi tunjuk ajar, bimbingan dan teguran yang membina selama saya menjalankan projek ini. Segala nasihat dan sokongan moral dari beliau akan saya ingati selalu. Tidak lupa juga kepada staf-staf pembantu makmal Cik Kristina, Puan Rokiah, Puan Fatimah, Puan Doreen dan kakak-kakak pascasiswazah Puan Abiddah Abdullah yang juga banyak membantu, memberi tunjuk ajar dan turut menyumbangkan tenaga dalam mengendalikan tugas ini.

Ucapan terima kasih ini juga ditujukan kepada pengarah IBTP Datin Mariyati yang memberi kebenaran penggunaan “Image Analyser” En. Nordin, En. Azri Allihasan iaitu staf-staf di Institut Biologi Tropika dan Pemuliharaan yang turut memberi tunjuk ajar dan membantu dalam mengendalikan alat “Image Analyser”. Begitu juga rakan-rakan seperjuangan yang sentiasa meneman dan membantu saya ketika suka dan duka .

Jutaan terima kasih diucapkan kepada Encik Ishak Bin Ismail dan Puan Noraini Binti Ahmat selaku ayah dan ibu yang banyak memberi sokongan dan dorongan selama saya di sini.

Akhir kata saya ingin merakamkan setinggi-tinggi penghargaan dan ucapan terima kasih saya kepada semua individu-individu yang terlibat .

Yang Benar,

Zurida Binti Ishak.

ABSTRAK

Organogenesis pada segmen hujung daun, pangkal daun dan hujung akar spesies orkid *Cymbidium finlaysonianum* telah dikaji dengan menggunakan medium asas MS terubah iaitu media K yang ditambah dengan kombinasi hormon NAA (0.1mg/l) dengan BA (1.0, 5.0, 10 mg/l) dan kombinasi NAA (0.1mg/l) dengan TDZ (0.5, 1.0, 5.0 mg/k). . Parameter yang dicerap ialah bilangan eksplan yang menghasilkan pucuk, kalus dan jasad seperti protokom. Hasil kajian mendapati selepas 14 hari dikultur didapati eksplan akar mengalami pembengkakan yang cepat berbanding eksplan dari hujung dan pangkal daun Didapati eksplan tidak mengalami perubahan dalam penghasilan pembentukan jasad seperti protokom dan kalus tetapi pada kepekatan 0.1mg/l NAA+0.5mg/l dan 0.1mg/l NAA:1.0mg/l TDZ pengaruhan pengeluaran pucuk berlaku pada eksplan akar sahaja. Hanya satu sahaja eksplan yang berjaya membentuk jasad seperti protokom iaitu dari eksplan hujung akar yang dirawat dengan kombinasi 0.1mg/l NAA+5.0mg/l TDZ. Manakala eksplan yang berjaya membentuk pucuk adalah dua eksplan dari pangkal daun yang dirawat dengan kombinasi 0.1mg/l NAA+0.5mg/l TDZ dan 0.1mg/l NAA+1.0mg/l TDZ. Dua eksplan lagi dari hujung akar juga dirawat pada kombinasi 0.1mg/l NAA+ 0.5mg/l TDZ dan 0.1mg/l NAA+1.0mg/l TDZ. Diperhatikan pembengkakan eksplan berlaku pada awal pengkulturan sahaja dan merosot pada minggu-minggu seterusnya, manakala kalus tidak berjaya dihasilkan.

ABSTRACT

A study of organogenesis from young leaf segment of orchid spp. *Cymbidium finlaysonianum* was conducted using segment part like a leaf tip, leaf base and root tip. The explants were cultured on modified (MS) media, K media with hormone NAA 0.1mg/l and BA (1.0, 5.0, 10 mg/l) combination with NAA (0.1mg/l) and TDZ (0.5, 1.0, 5.0 mg/l). The parameters observed were the number of explant inducing callus, shoot and protocorm like body (PLB). After 14 days of culture, explant from root tip become expand compared from explant of a leaf tip and leaf base. Inducing protocorm like body (PLB) and callus was not successfully in all explant except shoot were observed on root segments culture on 0.1mg/l NAA+0.5mg/l and 0.1mg/l NAA+1.0mg/l TDZ . Only one explant was successfully from PLB from root tip explant that had been treated with the combination of 0.1mg/l NAA+5.0mg/l TDZ. While the explant that had successfully form shoot are the two explant from leaf tip that had been treated with the combination of 0.1mg/l NAA+0.5mg/l TDZ and 0.1mg/l NAA+1.0mg/l TDZ. From the observation, expansion of explant only happens at earlier stage of culturalisation and it shrank at further weeks while no callus is formed.

KANDUNGAN

| | Muka Surat. |
|---|----------------------------|
| SENARAI KANDUNGAN | |
| SENARAI JADUAL | x |
| SENARAI FOTO | xi |
| SENARAI SIMBOL | xii |
| | |
| BAB 1 | PENDAHULUAN |
| 1.1 Pengenalan | 1 |
| 1.2 Objektif Kajian | 3 |
| | |
| BAB 2 | ULASAN PERPUSTAKAAN |
| 2.1 Kultur Tisu Orkid | 4 |
| 2.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kultur Tisu Orkid | 5 |
| 2.3 Jenis-jenis Kultur Tisu Orkid | 8 |
| 2.3.1 Kultur Tisu Menggunakan Eksplan Pucuk | 8 |
| 2.3.2 Kultur Tisu Menggunakan Eksplan Daun | 8 |
| 2.3.3 Eksplan Tisu Menggunakan Eksplan Tip Akar | 9 |
| 2.3.4 Kultur Tisu Menggunakan Eksplan Protokom | 10 |
| 2.3.5 Kultur Tisu Menggunakan Eksplan Rizom | 10 |
| 2.4 Peranan Hormon dalam Kultur Tisu Orkid | 12 |
| 2.4.1 Fungsi Am Hormon dalam Kultur Tisu Orkid | 12 |
| 2.4.2 Kesan Hormon dalam Kultur Tisu Orkid | 13 |
| 2.5 Pembentukan Organogenesis pada Orkid | 14 |

BAB 3 BAHAN DAN KAEDEAH

| | | |
|-------|-------------------------|----|
| 3.1 | Bahan | 15 |
| 3.1.1 | Eksplan | 15 |
| 3.1.2 | Media | 15 |
| 3.1.3 | Pengawalaturan Tumbuhan | 16 |
| 3.2 | Kaedah | 16 |
| 3.2.1 | Penyediaan Stok | 16 |
| 3.2.2 | Penyediaan Media | 17 |
| 3.2.3 | Rekabentuk Eksperimen | 20 |
| 3.2.4 | Pengkulturan | 20 |
| 3.2.5 | Penyimpanan Sampel | 21 |
| 3.2.6 | Sub-Kultur | 21 |
| 3.2.7 | Cerapan | 22 |

BAB 4 KEPUTUSAN

| | | |
|-----|--|----|
| 4.1 | Kesan Rawatan Hormon NAA, BA dan TDZ ke atas Pembengkakan Eksplan | 25 |
| 4.2 | Kesan Rawatan Hormon NAA, BA dan TDZ ke atas Pembentukan Kalus | 30 |
| 4.3 | Kesan Rawatan Hormon NAA, BA dan TDZ ke atas Pembentukan JSP | 30 |
| 4.4 | Kesan Rawatan Hormon NAA, BA dan TDZ ke atas Penmbentukan pucuk | 33 |
| 4.5 | Perubahan Eksplan Selepas Pengkulturan | 38 |

BAB 5 PERBINCANGAN

| | | |
|-----|--|----|
| 5.1 | Kesan Rawatan Hormon Kepada Eksplan Hujung Daun. | 42 |
| 5.2 | Kesan Rawatan Hormon Kepada Eksplan Pangkal Daun | 44 |
| 5.3 | Kesan Rawatan Hormon Kepada Eksplan Hujung Akar | 45 |

| | | |
|-----------------|-------------------|-----------|
| 5.4 | Kematian Eksplan | 46 |
| | | |
| BAB 6 | KESIMPULAN | |
| 6.1 | Kesimpulan. | 49 |
| 6.2 | Saranan. | 50 |
| 6.3 | Cadangan | 50 |
| RUJUKAN | | 52 |
| LAMPIRAN | | 58 |

SENARAI JADUAL

Muka surat

| | |
|---|----|
| 3.1 Sukatan penyediaan media | 19 |
| 4.1 Kesan media pada eksplan pada hari ke 14 | 28 |
| 4.2 Kesan media pada eksplan pada hari ke 28 | 29 |
| 4.3 Kesan media pada eksplan baru pada hari ke 28 | 32 |
| 4.4 Kesan media pada eksplan pada hari ke 42 | 37 |
| 4.5 Kesan media pada eksplan pada hari ke 126 | 38 |
| 4.6 Kesan media pada eksplan pada hari ke 140 | 41 |

SENARAI FOTO

| No Foto | Muka surat |
|--|------------|
| 4.1 Keadaan eksplan yang dikultur secara menegak | 24 |
| 4.2 Keadaan eksplan yang dikultur secara condong | 24 |
| 4.3 Keadaan eksplan pangkal daun pada minggu ke 8 | 27 |
| 4.4 Keadaan eksplan hujung akar pada minggu ke 16 | 27 |
| 4.5 Perubahan eksplan hujung akar membentuk akar | 31 |
| 4.6 Perubahan eksplan pangkal daun menghasilkan pucuk | 34 |
| 4.7 Perkembangan eksplan hujung akar membentuk pucuk | 36 |
| 4.8 Perubahan eksplan membentuk pucuk pada minggu ke 20 | 36 |
| 4.9 Keadaan eksplan hujung akar yang mengalami pemanjangan | 40 |

SENARAI SIMBOL

| | |
|--------------------|--|
| JSP | Jasad seperti protokom |
| % | Peratus |
| g | Gram |
| Mg | Miligram |
| l | Liter |
| ml | Mililiter |
| μM | Mikromolar |
| mm | Milimeter |
| $^{\circ}\text{C}$ | Darjah Celsius |
| HCl | Asid Hidroklorik |
| NaOH | Natrium hidrosida |
| 2,4-D | 2,4-dichlorophenoxyacetic acid |
| TDZ | N-phenyl-N'-1.2.3.-thidiazol-5-yl-urea |
| NAA | 1-naphthaleneacetic acid |
| BA | N^6 -benzyladenine |
| BAP | N^6 - benzylaminopurine |
| kPA | Kilopascal |
| UV | Sinaran ultra-ungu |
| CRD | Completely Randomised Design |

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Pengenalan

Cymbidium adalah genus yang paling terkenal di antara famili orkid, ia juga boleh terdapat dalam pelbagai warna yang menarik. Ini menyebabkan permintaannya di pasaran semakin meningkat dan disukai oleh peniaga bunga. Ia banyak terdapat di Jepun, Taiwan dan Filipina dan kebiasaannya didapati dalam tiga keadaan iaitu di tanam dalam tanah, hidup menumpang di atas pokok lain dan ada juga sesetengahnya yang hidup liar di tepi batu-batuan. Bunganya cantik dan 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. Ada juga spesies orkid yang berbau wangi iaitu *Cymbidium tracyanum* yang mempunyai petal yang berwarna kuning-kehijauan dengan kelopaknya berwarna merah jambu dan terdapat bintik-bintik merah (Yong *et al.*, 1990).

Yong *et al.* (1990) juga menyatakan, spesies orkid jenis *C. finlaysonianum* adalah spesis yang epifit dan juga tumbuhan yang selalu menumpang di atas pokok lain dan membentuk seperti rumpun . Pada kebiasaannya ia hidup di tanah pamah terutamanya di tepi laut. Bahagian sepal dan petalnya berwarna kuning kehijauan atau kuning keperangan dan di bahagian tengahnya berwarna ungu. Di bahagian luar sepusarnya terdapat tiga kelopak sepal kira-kira 0.8 cm dan disebelah dalamnya ada dua kelopak petal. Spesis ini tidak berjaya digunakan dalam menghasilkan teknik hibrid yang baik dalam menghasilkan komersil bunga keratan. Bentuk batang orkid pula bergantung pada cara pertumbuhannya, samada simpodium atau monopodium. Pertumbuhan simpodium adalah cara pertumbuhan yang berakhir dengan pengeluaran bunga dan boleh tumbuh di atas pokok (epifit) atau tanah.

Beberapa dekad yang lalu, teknik kultur tisu digunakan secara meluas dalam pembiakan secara *in vitro* dan teknik pengkulturan ini boleh menggunakan bahagian eksplan seperti hujung pucuk, tunas pucuk, daun dan akar dalam regenerasi planlet (Begum *et al.* 1994). Hartman *et al.* (1997) menyatakan bahawa organogenesis adalah proses penghasilan organ-organ yang membentuk jasad seperti protokom.

Menurut kajian Wimber (1965), beliau menyatakan spesies *Cymbidium* boleh digunakan dalam tisu kultur kerana eksplan daunnya berpotensi untuk menghasilkan jasad seperti protokom. Pengkulturan melalui eksplan daun juga tidak membahayakan tumbuhan induk dalam menghasilkan jasad seperti protokom, kalus dan seterusnya ia dapat berkembang menjadi tumbuhan yang lengkap (Vij *et al.*, 1984).

1.2 Objektif Kajian

Objektif kajian ini ialah:

1. Mengkaji kesan hormon ke atas pembentukan jasad seperti protokom dari eksplan hujung daun, pangkal daun dan hujung akar orkid *Cymbidium finlaysonianum*.

BAB 2

ULASAN PERPUSTAKAAN

2.1 Kultur Tisu Orkid

Kultur tisu adalah satu teknik pembiakan atau teknik mempropagasi tumbuhan secara *in vitro* dalam keadaan aseptik. Teknik pembiakan ini boleh menggunakan semua bahagian pada tumbuhan dan tidak hanya menggunakan biji benih sahaja. Pada kebiasaannya ia menggunakan eksplan dari bahagian daun, akar, pucuk dan organ lain lagi untuk membentuk tumbuhan baru iaitu seperti kalus, protokom dan pucuk. (Thorpe, 1987). Kajian terawal yang dilakukan oleh Morel (1964) dengan menggunakan orkid *Cymbidium*, didapati kebanyakan orkid jenis ini telah berjaya diklonkan dengan menggunakan teknik kultur tisu. Pada mulanya orkid monopodial sangat sukar dipropagasi melalui kultur tisu kerana memerlukan lebih pengetahuan dan kajian tentang penggunaan nutrien di dalam media pengkulturannya. Vajrabhaya dan Vajrabhaya (1970) dalam kajiannya menggunakan orkid spesies *Rhyncostylis gigantean* telah berjaya menghasilkan jasad seperti protokom dan kalus melalui eksplan daun tersebut hanya dengan menggunakan sebatian media yang murah.

2.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi Kultur Tisu Orkid

Terdapat banyak faktor yang mempengaruhi perkembangan eksplan ini iaitu dari segi sumber eksplan, media, kepekatan dan jenis hormon yang diberikan, faktor cahaya, teknik pengkulturan dan keadaan persekitaran. Pada kebiasaannya pemilihan jenis eksplan yang dikultur amat penting untuk memastikan penghasilan JSP, kalus dan pucuk. Antara jenis eksplan yang digunakan ialah dari segmen hujung daun, pangkal daun, hujung akar, pucuk, tunas, protokom dan sebagainya. Di antara pelbagai jenis eksplan ini, eksplan yang mudah dipropagaskan adalah dari segmen protokom dan akar. Menurut kajian yang dijalankan oleh Pindel dan Miczynski (1996) dengan menggunakan eksplan dari akar dan daun orkid *Cymbidium*, beliau mendapati eksplan akar lebih cepat menghasilkan kalus berbanding dengan eksplan daun.

Faktor media juga memberi kesan pada perkembangan eksplan. Tetapi pada kebiasaannya penggunaan media cecair adalah lebih berkesan berbanding media pepejal. Pamfil (2002) menyatakan penggunaan media cecair dalam pengkulturan eksplan adalah lebih berkesan dan mempercepatkan penghasilan kalus dan protokom berbanding dengan menggunakan media pepejal. Ini terbukti dengan penggunaan orkid *Cymbidium*, didapati peratusan pembentukan protokom menggunakan media cecair adalah sebanyak 86 peratus meningkat berbanding menggunakan media pepejal. Selain itu antara kebaikan media cecair ini, ia dapat merangsang pembentukan JSP atau kalus dengan sekata pada seluruh bahagian eksplan. Ia juga dapat membantu pembentukan planlet dan juga merangsang pembesaran saiz planlet, berwarna hijau pekat dan sihat. Kepekatan hormon

yang diberikan pada media pengkulturan perlu sesuai dengan perkembangan planlet. Ada sesetengah kepekatan hormon yang dapat merangsang pertumbuhan eksplan tetapi ada juga yang bersifat menindas dan menyebabkan kematian eksplan.

Menurut kajian yang telah dibuat oleh Chang *et al.* (2000), ke atas kesan *N*-phenyl-*N*-1,2,3-thidiazol-5-yl urea (TDZ) ke atas perkembangan tunas orkid *Cymbidium*, antara beberapa hormon yang dirawat pada eksplan tersebut seperti 1-naphthalene-acetic acid (NAA) dan *N*⁶-benzyladenine (BA), diperhatikan hormon TDZ lebih merangsang pembentukan tunas eksplan tersebut. Selain itu TDZ adalah dari kumpulan sitokin yang merangsang percambahan pucuk pada tumbuhan berkayu dan juga dapat meningkatkan kadar percambahan JSP.

Dalam kajian yang dilakukan oleh Vajrabhaya dan Vajrabhaya, (1970), penggunaan sumber eksplan yang matang dan muda amat penting iaitu dari segi fisiologi dan keadaan keperluan nutriennya untuk proses pengeluaran jasad seperti protokom, kalus dan pucuk. Penggunaan eksplan dari daun yang matang tidak menunjukkan sebarang perubahan dalam penghasilan pucuk atau JSP. Beliau menyatakan pada awal pengkulturan eksplan berwarna hijau, tetapi setelah minggu ke-10 terdapat perubahan warna perang pada eksplan dan kehadiran fenolik pada media. Walau pun dengan penambahan arang teraktif yang berfungsi untuk mengurangkan sebatian fenolik, tetapi eksplan masih keperangan dan mengalami kematian. Manakala hanya sedikit atau tiada langsung fenolik yang dihasilkan pada permukaan media menggunakan eksplan daun muda. Walau bagaimanapun, kejayaan perkembangan planlet ini dicapai dengan

penggunaan media cecair berbanding sebahagian sahaja yang dicambahkan menggunakan media pepejal. Selain dari itu, dengan penggunaan eksplan daun orkid dapat dipropagasikan menjadi jasad seperti protokom melalui media pepejal manakala pembentukan pucuk adventitus dapat diperolehi dari percambahan eksplan dari kultur *in vitro*.

Dari kajian Withner (1974), berdasarkan pengaruh orientasi terhadap perkembangan eksplan, didapati pengkulturan secara mendatar pada orkid spesies *Dendrobium aphylloides* dan *Dendrobium moschatum* menunjukkan pertumbuhan yang maksimum pada tunas pucuknya berbanding pengkulturan secara menegak. Beliau juga menyatakan kesan gas karbon dioksida pada kultur berbeza-beza mengikut spesies orkid. Kepekatan karbon dioksida antara 0.03-0.04 peratus dapat menghadkan pertumbuhan eksplan. Kebanyakan spesies orkid menyerap oksigen dalam keadaan gelap dan melakukan fotosintesis seperti pada tumbuhan sukulen. Manakala bagi orkid tropika, karbon dioksida bukan penghalang pada proses fotosintesis. Selain itu, keupayaan menyerap karbon dioksida pada waktu malam adalah dipengaruhi oleh kandungan asid dalam udara.

2.3 Jenis-jenis Kultur Tisu Orkid

2.3.1 Kultur Tisu Menggunakan Eksplan Pucuk

Segmen dari spesies *Cymbidium* yang pertama sekali dipropagasikan adalah menggunakan eksplan hujung akar dan seterusnya menggunakan hujung pucuk. Pada masa kini pengkulturan melalui hujung pucuk dapat menyeragamkan genetik induk iaitu dengan cara percambahan luar di mana heterozigotnya dihasilkan dalam progeni. Walau bagaimanapun cara ini memerlukan kajian yang lebih mendalam lagi bagi tumbuhan monopodial (Vij *et al.*, 1984).

Dalam kajian yang dilakukan oleh Nayak (1997), beliau melaporkan selain hujung akar, segmen pucuk juga boleh digunakan dalam propagasi bagi orkid spesies *C. aloifolium*, *Dendrobium apphyllum* dan *D. moschatum* untuk mengaruhkan pembentukan pucuk baru.

2.3.2 Kultur Tisu Menggunakan Eksplan Daun

Dalam teknik mikropropagasi *in vitro*, kebanyakan eksplan diambil dari bahagian meristem. Melalui kajian Pindel *et al.* (1996), antara pengkulturan menggunakan eksplan dari bahagian akar dan tunas pucuk, didapati eksplan yang diambil dari tisu muda menunjukkan perkembangan yang baik. Arditti *et al.* (1993) pula menyatakan, segmen daun yang diambil dari pokok dewasa tidak langsung menghasilkan jasad seperti

protokom berbanding dengan segmen yang diambil dari eksplan muda berjaya menghasilkan JSP dengan cepat dan aktif.

2.3.3 Kultur Tisu Menggunakan Eksplan Tip Akar

Pindel *et al.* (1996) menyatakan, pengkulturan menggunakan eksplan akar sering dilakukan kerana eksplan akar dapat membentuk dan menghasilkan JSP dan kalus dengan mudah. Walau bagaimanapun sesetengah penggunaan eksplan akar tidak berjaya dihasilkan disebabkan faktor kepekatan hormon yang diberikan menyebabkan penindasan kepada pertumbuhan JSP dan kalus. Beliau mengkaji sebanyak 45 spesies orkid dari eksplan hujung akar dan didapati kajianya gagal menghasilkan JSP. Keputusan yang diperolehi mendapati sebahagian eksplan menghasilkan kalus, protokom dan ada juga yang berkembang menjadi akar yang memanjang, manakala ada sebahagian eksplan pula yang mengalami kematian.

Selain itu kajian yang dilakukan oleh Park *et al.* (2002) dengan menggunakan eksplan dari orkid *Cymbidium*, selepas dua bulan didapati 86 peratus eksplan daun mula membentuk tunas dan kalus. Penggunaan ABA dan ancymidol dapat menyingkatkan proses pengakaran eksplan. Manakala melalui pengkulturan pada orkid *Doritaenopsis* pula, didapati eksplan hujung akar dapat menghasilkan jasad seperti protokom melalui dua pengaruh iaitu dari bahagian meristem akar dan juga sel-sel korteks.

2.3.4 Eksplan Tisu Menggunakan Eksplan Protokom

Cheng *et al.* (2000) menyatakan anak benih yang dikultur selama beberapa bulan dan membentuk protokom boleh diaruhkan menjadi kalus dan digandakan di dalam proses regenerasi tumbuhan. Apabila menggunakan eksplan dari orkid spesies *Phalaenopsis*, bilangan pembentukan JSP yang dihasilkan sangat sedikit. Ini terjadi kerana semasa pengkulturan ia memerlukan masa yang terlalu lama untuk pertumbuhan dan penggandaan jasad seperti protokom.

Berpandukan kajian Park *et al.* (2003) menggunakan spesies *Doritaenopsis* hibrid, eksplan yang diambil secara nipis dapat menghasilkan JSP apabila diberikan kepekatan hormon TDZ yang tinggi. Jasad seperti protokom biasanya dapat dicambahkan terus pada bahagian epidermis dan bahagian kultur nipis. Selain itu, bahagian eksplan yang dipotong nipis dapat meningkatkan penghasilan JSP berbanding menggunakan segmen daun tebal.

2.3.5 Eksplan Tisu Menggunakan Eksplan Rizom

Pengkulturan dengan menggunakan rizom boleh dilakukan untuk menghasilkan pucuk, kalus dan mata tunas dengan menggunakan kepekatan hormon yang sesuai. Misalnya kajian yang dibuat oleh Chang *et al.* (2000) telah mendapati bahawa rizom *C. senesens* yang terbentuk dari pembiakan biji benih dapat menghasilkan mata tunas pucuk apabila dirawat dengan TDZ pada kepekatan 0.01-1.0 mg/l. Apabila dikultur dengan media yang

mempunyai paras TDZ dibawah paras tersebut didapati rizom mengganda. Selain itu pembentukan mata tunas pucuk juga diperhatikan pada rizom *C. ensifolium* var. *misericors* yang dikultur pada media yang mengandungi kedua-dua auksin dan sitokinin (Chang *et al.*, 2002). Pada regenerasi selanjutnya, rizom juga boleh dikultur untuk menghasilkan kalus seperti yang dilihat pada rizom *C. ensifolium* var. *misericors* yang dikultur pada medium $\frac{1}{2}$ MS dan mengandungi kombinasi hormon 2,4-D dan TDZ. Pengkulturan pada media tersebut dapat menghasilkan kalus yang totipoten pada rizomnya.

Teknik kultur tisu menggunakan rizom adalah sangat berguna dan mempunyai kelebihan kerana tidak merosakkan induknya. Hasil pengkulturan menggunakan rizom telah berjaya diperolehi dalam kajian Vij *et al.* (1984) ke atas rizom *Eulophia hormusjii* *duth*. Beliau melaporkan rizom telah mengeluarkan pucuk setelah 8 minggu dikultur dan keputusan yang terbaik diperolehi dengan penggunaan kombinasi hormon 1-naphthalenea-cetic acid (NAA) dan thidiazuron (TDZ) yang menunjukkan pembentukan tunas pucuk setelah dikultur selama 6 minggu.

Rizom dari spesies *C. ensifolium* telah mengalami pertumbuhan yang cepat dengan penggunaan hormon N⁶-benzyladenine (BA) 30 μ M dan arang teraktif yang merangsang pertumbuhan rizom. Hasil ini didapati daripada kajian Lu *et al.* (2001) ke atas *C. ensifolium* dengan menggunakan media MS yang didedahkan pada cahaya selama 16 jam. Selain itu, didapati pertumbuhan rizom bergantung pada peningkatan kepekatan hormon BA.

RUJUKAN

- Arditti, J. dan Ernst, R., 1993. *Micropropagation of Orchids*. John Wiley & Sons, New York.
- Begum, A. A., Tamaki, M. dan Kako S., 1994. Formation of protocorm-like bodies (PLB) and shoot development through *In Vitro* culture of outer tissue of *Cymbidium* PLB. *J. Japan. Soc Hort Sci* **63**(3), 663-673.
- Chang, C. dan Chang W. C., 2000. Effect of thidiazuron on bud development of *Cymbidium sinesens* Wild *in vitro*. *Plant Growth Regulation* **30**: 171-175
- Chen, J. T., Chang, C. dan Chang, W. C., 2002. Efficient plant regeneration through somatic embryogenesis from callus cultures of *Oncidium* (Orchidaceae). *Plant Science* **160** (2160), 87-93
- Chen, J. T., Chang, C. dan Chang, W. C., 2003. Cytokinins promotion of flowering in *Cymbidium ensifolium* var. *misericors* *in vitro*. *Plant Growth Regulation* **39**, 217-221.
- Chen, J. T., Chang, C. dan Chang, W. C., 1999. Direct somatic embryogenesis on leaf explants of *Oncidium* ‘Grower Ramsey’ and subsequent plant regeneration. *Plant Cell Reports* **19**, 143-149.

Earnst, R., 1975. *Studies in asymbiotic culture of orchid*. American Orchid Society Bulletin. 12-18.

Gu, Z., Higaki, P. C., Nishida M. M., Arditti, J. dan Nyman, L. P., 1987. The effect of benzyladenine, 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid, and Indoleacetic acid on shoot-tip cultures of *Cymbidium lindleyana* 2 (2), 88-90.

Hartman, H. T., Kester D. E., Davies, F. T., Robert, JR. dan Geneva Z., 1997. *Plant propagation, principle & practice*. Prentice-Hall United State of America.

Hoelters J. dan Zimmer K., 1991. Spross regeneration an Wurzel spitzen Von Orchideen vitro. V. Vermehrung anderer Orchideen nach dem an Mormodes histris entwickelten Verfahren. Gartenbau-wissenschaft, 56(3), 114-117

Leiferti, C. dan Waites, W. M., 1990. Plant Tissue Cultur. Newslett. Int. Assoc. 60, 2-13.

Le, B. V., Phuong, N. T. H., L. T. A. dan Van, K. T. T., 1999. Hight frequency shoot regeneration from *Rhynchostylis gigantae* (orchidaceae) using thin cell layers. *Plant Growth Regulation* 28, 179-185.

Lu, I., Sutter E. dan Burger, D., 2001. Relationships between benzyladenine uptake, endogenous free IAA levels and peroxidase activities during upright shoot induction of *Cymbidium ensifolium* cv. Yuh Hwa rhizomes *in vitro*. *Plant Growth Regulation* **35**, 161-170.

Morel, G., 1964. Tissue culture- a new means of clonal propagation of orchids. Amerika. Orchid. Sos. **33** 473-478.

Nayak, N. R., Patnaik, S. dan Rath S. P., 1997a. In vitro propagation of three epiphytic Orchids, *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw., *Dendrobium apphllum* (Roxb.) Fisch. And *Dendrobium moschatum* (Buch-Ham) Sw. through thidiazuron-induced high frequency shoot proliferation. *Scientia Horticulture* **71**, 243-250.

Nayak, N. R., Patnaik, S. dan Rath S. P., 1997b. Direct shoot regeneration from foliar of an epipihytic orchid, *Acampe praeorsa* (Roxb.) Blatter and McCann. *Plant Cell Reports* **16**, 583-586

Nayak, N. R., Sahoo, Susmita., Patnaik S. dan Rath S. P., 2002. Establishment of thin.cross (TCS) culture method for rapid micropopagation of *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw. and *Dendrobium nobile* Lindl. (Orchidaceae). *Scientia Horticulturae* **94**, 107-116.

Pamfil, D., 2002. *Liquid systems for in vitro Mass Propagation of Plants*. University of Agricultur Sciences and Veterinary Medicine. Romania.

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

Parka S. Y., Murthya H. N. dan Paek K. Y., 2003. Protocorm like bodies induction and subsequente. *Plant Science*. **164** (6), 919-923.

Pindel, A. dan Miczynski K., 1996. Regeneration of *Cymbidium* orchids from leaf and root explants. *Folia Horticulturae* **8**, 95-105.

Schiavo, F. L., 1995. Early events in embryogenesis. *Biotechnology in agriculture and forestry*. **32** 21.

Tanaka, M., Takamura T., Watanabe, H., Endo M., Yanagi T. dan Okamoto, K., 1998. In vitro growth of *Cymbidium* plantlets cultured under superbright red and blue light-emitting diodes (LEDs). *Jurnal of Horticultural Science & Biotechnology* **73**, 39-44.

Thorpe, T. A., 1978. *Plant Tissue Culture,Methods and Applications in Agriculture*. Department of Biology, Universities of Calgary.

Vajrabhaya, M. dan T. Vajrabhaya., 1970. Tissue culture of *Rhynchostylis gigantae*. *Orchid Soc.* **39**, 907-910.

Vij, S. P. dan Pathak P., 1990. Micropopagation of *Dendrobium chrysanthum* wall.through pseudobulb segments. *J. Orchid Soc. India* **3**(12) 25-28.

Vij, S. P. dan Pathak P., 1990. Micropopagation of orchids throught leaf segment. *J. Orchid Soc. India* **4**(12), 69-68.

Vij, S. P., Sood A., dan Plaha K. K., 1984. Propagation of *Rhynchostylis Retusa* BL. (Orchidaceae) by direct organogenesis from leaf segment culture. *Bot Gaz* **145** (2), 210-214.

Vij, S. P dan Sharma V., 1996. Regenerative competence of *Vanda Cristata* Perianth.segments: a study *in vitro* . *J. Orchid Soc. India* **10** (1-2), 25-29.

Wimber., D. E., 1963. Clonal multiplication of *Cymbidiums* through tissue culture of the shoot meristem. *Amer Orchide Soc. Bull.* **32** 105-107

Withner, C. L., 1974. *Development ini orchide physiology*. Dim Withner, C. L (editor). *The orchide scientific studies*. 129-160. NewYork. John Wiley and Sons Inc.

Zaharah Hassan dan Rozlaily Zainol, 1991. *Penanaman Orkid*. Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia.